

使用 HPLC-ICP-MS 快速测定精白米中的五种砷形态

应用简报

食品安全

作者

Bing Yue

中国北京国家食品安全风险评估中心

Juane Song、Ke Xie、Zhao-jun Yun
和 Jian-qiu Mi

安捷伦科技公司，中国北京



前言

众所周知，砷 (As) 是一种有毒元素，可存在于环境和食品中。因此，多个国家和地区对其进行了严格监管。然而，由于砷的生物毒性在很大程度上取决于其化学形态，因此砷形态分析比总砷分析更为重要。例如，如果已知一种海藻样品含有高浓度砷，但主要以 AsB 形式存在，那么食用该样品就没有潜在风险，因为 AsB 是无毒的。在砷的五种主要形态 As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 中，只有两种无机形态 (As(III) 和 As(V)) 是有毒的。这些无机砷还对人体有致癌作用，因此尤其需要对食品中的无机砷进行测定。以大米为主食的国家对大米中的砷特别关注。水稻可从土壤和水中吸收砷。与其他农作物相比，水稻的生长需要大量的水，因此更可能发生砷积聚。

本研究展示了使用配备 Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱的 Agilent 1260 HPLC 系统与 Agilent 7900 ICP-MS 联用对大米中有毒砷形态的快速测定方法。



Agilent Technologies

实验部分

仪器

将包含四元泵、自动进样器和真空脱气机的 Agilent 1260 HPLC 系统与 Agilent 7900 CP-MS 联用。使用 PFA 管线将色谱柱出口端轻松连接至 ICP-MS 雾化器。在整个分析过程中, Agilent ZORBAX SB-Aq (部件号 880975-914, 4.6 mm 内径 x 250 mm, 5 μ m) 反相色谱柱保持在室温下运行。流动相为 20 mM 柠檬酸和 5 mM 己烷磺酸钠, 用氢氧化钠调节至 pH = 4.3。实验中对 5 μ L 和 100 μ L 两种进样量进行了评估。HPLC 和 ICP-MS 操作参数见表 1。

配备八极杆反应池系统 (ORS⁴) 碰撞/反应池 (CRC) 的 Agilent 7900 ICP-MS 能在多种干扰条件下对砷进行高灵敏度和高特异性分析。一些法规指导中规定必须使用盐酸提取食品样品以模拟胃内条件。而在本研究中, 基于 ArCl 和 CaCl 形成的多原子离子可能对砷的唯一同位素 (m/z 75) 造成质谱干扰。然而, 在氦气模式下运行 7900 ICP-MS ORS⁴ 可有效去除这类基体中多原子对砷的干扰。

表 1. Agilent 1260 HPLC 和 7900 ICP-MS 的运行条件

ICP-MS 参数	
RF 功率	1550 W
取样深度	8 mm
载气	0.6 L/min
尾吹气	0.5 L/min
反应池气体	He, 4 mL/min
KED	3 V
监测的同位素	⁷⁵ As、 ³⁵ Cl
驻留时间	1.0 s/ ⁷⁵ As; 0.1 s/ ³⁵ Cl
HPLC 参数	
流动相	等度洗脱, 20 mM C ₆ H ₈ O ₇ 和 5 mM C ₆ H ₁₃ NaO ₃ S, 用 NaOH 调节至 pH = 4.3
色谱柱	Agilent ZORBAX SB-Aq
流速	1.2 mL/min
温度	室温
进样量	5 μ L 或 100 μ L
运行时间	4 min

化学品与试剂

As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 的标准储备溶液购自 NIMC (中国北京国家计量科学研究院)。高纯柠檬酸 ($\geq 99.5\%$)、己烷磺酸钠 ($\geq 98\%$) 和氢氧化钠 ($\geq 99.99\%$) 购自 Sigma Aldrich 化学品公司 (英国)。使用超纯级 HNO₃ (英国 Sigma Aldrich 公司) 进行样品前处理。

样品前处理

精白米购自中国以下地区: 江苏、福建、辽宁、重庆和江西。

将精白米样品碾碎并用 30 目滤网过筛, 制成米粉。称取 1.00 g 米粉置于聚丙烯离心管 (50 mL) 中。加入 15 mL 0.15 M HNO₃, 然后涡旋混合 30 秒。将盖紧盖的管在室温下放置过夜; 然后置于 90 °C 烘箱中 2.5 小时, 每 30 分钟振荡 30 秒。提取完成后, 将样品置于 4 °C 冰箱中冷却。将冷却的米粉悬浊液以 8000 rpm 离心 15 分钟, 然后用 0.22 μ m 聚醚砜 (PES) 过滤器对上清液进行过滤。在 4 °C 下储存滤液并在 24 小时内完成分析, 以最大限度减少砷的形态间转换。

结果与讨论

分离与定量

制备 6 种不同浓度的校准标准溶液 (含 5 种砷形态): 1 ppb、5 ppb、10 ppb、50 ppb、100 ppb 和 200 ppb, 并进行分析。10 ppb 校准标准溶液 (进样量 5 μ L) 的色谱图显示 5 种砷形态均在 4 分钟内得到良好分离 (图 1)。所得结果用于绘制砷形态校准曲线, 如图 2 所示。

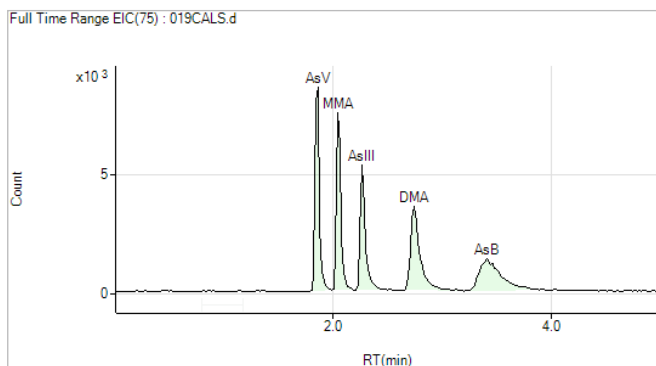


图 1. 10 ppb 砷（以砷元素浓度计）形态混合物标准品的色谱图（进样量 5 μL ）

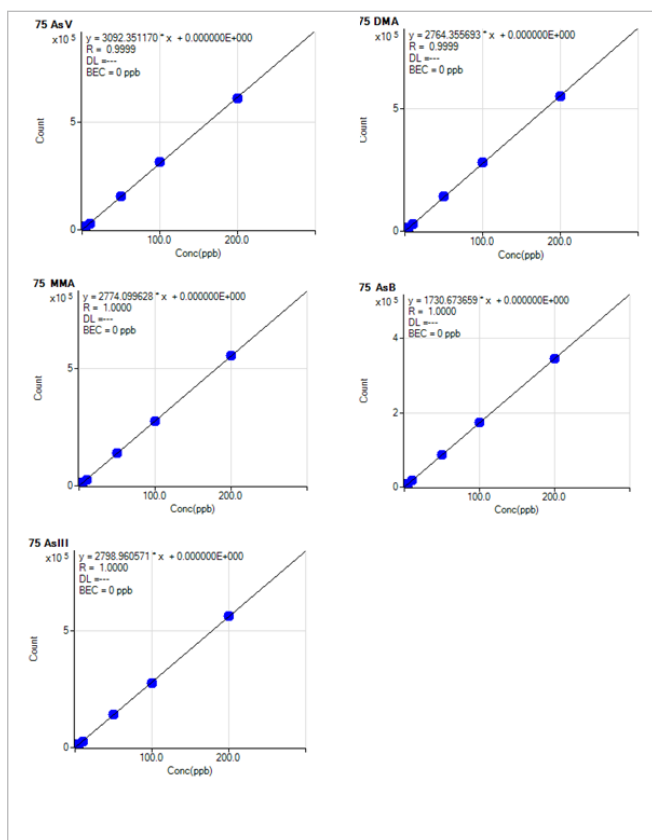


图 2. As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 的校准图显示出良好线性

检测限

每种砷形态的检测限 (DL) 按照等同于标准品色谱图的色谱峰-峰基线噪音 (S/N) 三倍的浓度进行计算。结果汇总于表 2。如表中所示，当进样量为 5 μL 时，5 种砷形态的检测限介于 0.106 - 0.667 ppb 之间，当进样量为 100 μL 时，则介于 0.010 - 0.042 ppb 之间。

表 2. As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 在 5 μL 和 100 μL 进样量下的检测限 (ppb)

进样量 (μL)	As(V)	MMA	As(III)	DMA	AsB
5	0.106	0.121	0.187	0.267	0.667
100	0.010	0.012	0.025	0.028	0.042

图 3 显示 50 ppt 砷形态标准品混合物的色谱图（进样量 100 μL ），展示了此方法的超痕量分析能力。

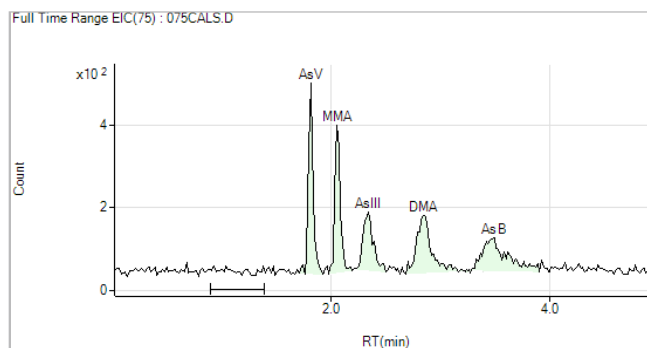


图 3. 50 ppt 砷形态混合物的色谱图（进样量 100 μL ）

有证标准物质 (CRM) 分析

此方法用于分析 NIST 1568a 和 NIST 1568b 2 种米粉有证标准物质。尽管 NIST 1568a 中仅认证了总砷含量 (290 \pm 30 ppb)，但许多文献已对 CRM 进行了良好表征。按上述样品前处理方法提取 2 种 CRM，并分析 5 种砷形态。

表 3 和 4 汇总了 2 种 CRM 中无机砷形态、MMA、DMA 和总砷含量的定量结果、认证值或文献中的报道值。本研究中，由无机砷、MMA、DMA 和 AsB 的总和计算得到总砷含量。如表中所示，NIST 1568b 中无机砷 (iAs) 和两种 CRM 中总砷含量的定量结果与认证值一致，且均处于标准偏差内。每种砷形态的定量结果同样与文献中报道的值一致 [1-4]。

表 3. NIST 1568b 米粉中砷形态的定量分析结果^a

	As(V) (µg/kg)	MMA (µg/kg)	As(III) (µg/kg)	DMA (µg/kg)	iAs ^b (µg/kg)	总砷 (µg/kg)
本研究	62.0 ± 5.1	10.6 ± 1.3	36.8 ± 5.8	179 ± 7	98.8 ± 3.6	288.4
认证值		11.6 ± 3.5		180 ± 12	92 ± 10	285±14

^a 数值为 10 次进样的平均值 ± SD, ^b 无机砷: As(III) 和 As(V) 的总和

表 4. 本研究中测定的 NIST 1568a 米粉中砷形态的定量结果与文献值的比较^a。
NIST 1568a 中总砷含量的认证值为 290 ± 30 ppb

	As(V) (µg/kg)	MMA (µg/kg)	As(III) (µg/kg)	DMA (µg/kg)	iAs ^b (µg/kg)	总砷 (µg/kg)
参考文献 [1]	44±2	12±0.8	52±1	173±2	100	281±2
参考文献 [2]	50.3±2.9	14.9±3.9	63.4±3.5	144±4.5	113.7	272.8±9.9
参考文献 [3]	53.7±3.3	14.8±1.8	54.7±1.4	165±8	108.4	288.2
参考文献 [4]		13.6±2.5		168.0±2.2	104.3±4.4	286.1±3.8
本研究	64±5	14±2	57±4	140±4	121	275±4

^a 数值为 10 次进样的平均值 ± SD, ^b 无机砷: As(III) 和 As(V) 的总和

加标样品回收率

本研究测定了 5 种砷形态的加标样品回收率。将 As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 的混合液分别以 1 ppb、5 ppb 和 10 ppb 的浓度加标至三种大米样品萃取物中。平行制备三份溶液（加标样品 1、2 和 3）。如表 5 所示，每份加标溶液中各个浓度下的所有砷形态均获得了良好的回收率，均介于 85% - 110% 之间。

表 5. 加标样品回收率结果（进样量 5 µL）

样品名称	加标浓度	As(V)		MMA		As(III)		DMA		AsB	
		浓度 (ppb)	回收率 (%)	浓度 (ppb)	回收率 (%)	浓度 (ppb)	回收率 (%)	浓度 (ppb)	回收率 (%)	浓度 (ppb)	回收率 (%)
大米 # 1		0.48	–	未检出	–	4.60	–	0.48	–	未检出	–
加标样品 1	1 ppb	1.38	89.2%	1.02	101.5%	5.65	105.6%	1.54	106.1%	1.03	103.2%
加标样品 2		1.43	94.5%	0.96	96.2%	5.51	90.8%	1.42	93.9%	1.07	106.5%
加标样品 3		1.47	98.1%	0.95	94.3%	5.52	92.2%	1.45	97.4%	0.98	98.4%
大米 # 2		1.14	–	未检出	–	5.82	–	1.32	–	未检出	–
加标样品 1	5 ppb	5.52	87.6%	4.96	99.2%	10.98	103.2%	6.23	98.3%	4.82	96.3%
加标样品 2		5.65	90.1%	4.77	95.3%	10.88	101.3%	6.45	102.6%	4.97	99.4%
加标样品 3		5.77	92.5%	4.34	86.7%	11.35	110.6%	6.62	106.1%	5.13	102.6%
大米 # 3		0.28	–	未检出	–	3.44	–	0.73	–	未检出	–
加标样品 1	10 ppb	9.65	93.7%	9.68	96.8%	13.35	99.1%	9.72	89.9%	8.91	89.1%
加标样品 2		9.89	96.1%	10.08	100.8%	12.97	95.3%	10.29	95.6%	9.54	95.4%
加标样品 3		9.53	92.5%	10.62	106.2%	13.10	96.6%	10.65	99.2%	10.48	104.8%

精密度

通过对大米样品重复进样 10 次测定方法的精密度。表 6 列出了所有砷形态的浓度结果，表明 10 次分析均具有出色的重现性。所有砷形态的 %RSD 均小于 4%，无机砷的 %RSD 小于 2%。

表 6. 大米 # 4 的重现性结果（n = 10, 进样量 5 µL）

样品	As(V) (µg/kg)	MMA (µg/kg)	As(III) (µg/kg)	DMA (µg/kg)	AsB (µg/kg)	iAs (µg/kg)
大米 # 4-1	56.10	未检出	107.32	22.29	未检出	163.42
大米 # 4-2	55.23	未检出	110.39	24.74	未检出	165.62
大米 # 4-3	56.97	未检出	107.30	23.10	未检出	164.27
大米 # 4-4	57.68	未检出	108.51	24.19	未检出	166.18
大米 # 4-5	57.16	未检出	108.46	23.64	未检出	165.62
大米 # 4-6	56.10	未检出	108.52	24.82	未检出	164.62
大米 # 4-7	56.43	未检出	108.89	23.96	未检出	165.32
大米 # 4-8	57.27	未检出	107.90	22.37	未检出	165.17
大米 # 4-9	56.18	未检出	109.56	22.70	未检出	165.73
大米 # 4-10	56.71	未检出	108.76	23.35	未检出	165.47
平均值	56.58	–	108.56	23.52	–	165.14
% RSD	1.3%	–	0.9%	3.9%	–	0.5%

市售大米样品分析

20 种市售大米样品中的砷浓度测定结果列于表 7 中。如表中所示，20 种大米样品中均含有 As(V)、As(III) 和 DMA。大米样品中的无机砷和 DMA 含量差异很大，可能反映了原水稻生长环境中的砷浓度。虽然各样品中的有毒无机砷浓度不同，但所有大米样品中的无机砷含量均低于食品法典委员会的建议上限 0.2 mg/kg。

表 7. 20 种大米样品中 5 种砷形态的定量结果 (µg/kg)

样品名称	As(V)	MMA	As(III)	DMA	AsB	iAs
大米 # 1	7.27	未检出	68.97	7.16	未检出	76.24
大米 # 2	17.15	未检出	87.23	19.77	未检出	104.38
大米 # 3	4.26	未检出	51.57	10.93	未检出	55.83
大米 # 4	56.10	未检出	107.32	22.29	未检出	163.42
大米 # 5	17.31	未检出	147.2	26.38	未检出	164.73
大米 # 6	12.52	未检出	75.82	8.79	未检出	88.35
大米 # 7	7.14	未检出	53.84	2.67	未检出	68.94
大米 # 8	14.4	未检出	106.14	27.27	未检出	120.54
大米 # 9	14.49	未检出	72.24	29.51	未检出	86.73
大米 # 10	13.73	未检出	101.68	39.41	未检出	115.41
大米 # 11	20.50	未检出	87.04	285.21	未检出	107.55
大米 # 12	22.78	未检出	70.94	160.77	未检出	93.72
大米 # 13	23.74	未检出	122.19	34.53	未检出	145.94
大米 # 14	13.85	未检出	59.79	361.82	未检出	73.64
大米 # 15	16.38	未检出	91.34	83.42	未检出	125.38
大米 # 16	18.48	未检出	110.58	32.25	未检出	129.06
大米 # 17	10.83	未检出	61.56	6.69	未检出	72.39
大米 # 18	16.96	未检出	105.14	209.49	未检出	122.1
大米 # 19	36.04	未检出	97.17	176.12	未检出	133.22
大米 # 20	16.35	未检出	74.55	587.49	未检出	90.9

结论

本研究采用 Agilent 1260 Infinity LC 与 Agilent 7900 ICP-MS 联用对精白米中的 5 种砷形态进行了分离。该方法分析速度快，可在四分钟内测定包括毒性相关无机形态 As(III) 和 As(V) 在内的 5 种砷形态，同时具有出色的灵敏度、准确度和精密度。采用在氦气模式下运行的 ORS⁴ 池可去除对砷的任何潜在干扰，例如 ArCl⁺。

在 20 种大米样品中均检测出了不同浓度的无机砷和 DMA。然而，所有样品均未超过食品法典委员会的建议限值 0.2 mg/kg。

本文中列出的经验证方法适用于快速测定大米和其他食品样品中的痕量 As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB。

参考文献

1. Narukawa T., Inagaki K., Kuroiwa T., Chiba K, 'The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS' [J], *Talanta* 77, 2008, 427-432
2. Huang J H, Ilgen G, 'Blank value, adsorption, preconcentration, and preservation for arsenic speciation of the environmental water samples' [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 512:1-10.
3. Caruso J.A, B'Hymer C, Heitkemper D.T., 'An evaluation of extraction techniques for arsenic species from freeze-dried apple sample' [J]. *Analyst*, 2001, 126: 136-140.
4. Toni Llorente-Mirandes et al., 'A fully validated method for the determination of arsenic species in rice and infant cereal products', *Pure Appl. Chem.*, 2012, vol. 84, No. 2, 225-238

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015

2015年7月15日出版

出版号：5991-5933CHCN

