

使用氢化物发生法-ICP-MS 高通量测定大米中的无机砷

应用简报

食品安全

作者

Ásta H. Pétursdóttir^{1,3}、Stanislav Musil^{1,2}、Nils Friedrich¹、Andrea Raab¹、Eva M. Krupp¹ and Jörg Feldmann¹

¹ TESLA-Trace Element Speciation Laboratory, University of Aberdeen, Aberdeen, AB24 3UE, Scotland, UK

² Institute of Analytical Chemistry of the ASCR, Brno, Czech Republic

³ Matis, Environment and Genetics Department, Reykjavik, Iceland



摘要

本文开发出了一种利用氢化物发生 (HG) 技术与 ICP-MS 分离并检测食品中无机砷 (iAs) 的快速而灵敏的方法。31 种市售大米中的无机砷含量测定值均低于现行中国法规中规定的最大浓度 (ML) 150 µg/kg。对 HG-ICP-MS 和 HPLC-ICP-MS 获得的数据进行比较后发现两种分析技术的检测限相当。

HG-ICP-MS 是大规模筛选大米等食品样品的理想选择，因为这一技术仅需耗费传统 HPLC-ICP-MS 方法通常所需时间的一小部分，且分析性能不受任何影响。



Agilent Technologies

前言

为确保食品安全，应对食品中的砷类化合物等潜在毒性化学物质浓度进行密切监测。然而，砷类化合物的毒性取决于所含该元素的化学形态或“种类”而非总浓度。亚砷酸盐 (As(III)) 和砷酸盐 (As(V)) 等无机砷公认具有高毒性和致癌性，而单甲基胂酸 (MMA) 和二甲基胂酸 (DMA) 等有机砷的毒性较低 [1]。由于这种毒性差异的存在，因此大量研究致力于开发可靠而耐用的不同砷形态分离方法，以实现有毒性形态的特异性定量分析。

虽然不同形态的色谱分离与随后的 ICP-MS 形态特异性定量分析已经成为了食品样品中痕量元素分离的公认首选方法，但还存在许多比高效液相色谱 (HPLC) 更省时更经济的砷形态分析非色谱策略 [2,3]。

本文重点介绍利用氢化物发生 (HG) 技术和 ICP-MS 对大米样品中的无机砷进行形态分析。大米是世界上大部分人口的重要食物来源，但由于水稻吸收了土壤中的砷而使大米中的无机砷浓度相对较高。土壤中的砷可能天然存在，也可能来自人为来源，例如 20 世纪 70 年代前人们曾大量使用含砷农药。显然目前迫切需要一种简单而快速的分析方法来筛查大量样品中的无机砷以确保食品安全。

现行法规

中国已出台的法规中规定大米中无机砷的最大浓度 (ML) 为 0.15 mg/kg [4]，南美洲贸易集团则规定大米中总砷的最大浓度为 0.3 mg/kg [5]。食品污染法典委员会举行第八次会议后，世界卫生组织 (WHO) 建议精白米中的无机砷浓度不得超过 0.2 mg/kg [6]。美国和欧盟尚未针对大米中的无机砷浓度进行立法，但美国 FDA 和欧洲标准化委员会 (CEN) 已启动了致力于建立食品中无机砷测定标准方法的项目。

本研究评估了大米样品中无机砷测定的替代方法，证明无需采用耗时的色谱方法也可进行无机砷形态分析。

实验部分

化学品与标准品

所有标准溶液和样品均采用超纯水 (> 18 MΩ cm) 制备。

化学品/标准品	目的	来源
1002 mg/L 砷标准储备溶液	总砷浓度校准与 HG 测定	Merck, UK
二甲基胂酸钠 (DMA, 98%)	HPLC-ICP-MS 测定	ChemService, USA
铊: 1 µg/L	HG 测定中的内标	Specpure, Alfa Aesar, Germany
铊: 25 µg/L	总砷/形态分析中的内标	Specpure, Alfa Aesar, Germany
硝酸 (69%)		Fluka, UK
硝酸铵 (98+%)		Sigma-Aldrich, UK
铵溶液 (28%) 和碳酸铵		BDH, UK
过氧化氢 (> 30% w/v)、磷酸铵、氢氧化钠 (*实验纯)		Fisher Scientific, UK
盐酸 (32%, *实验纯)	氢化物发生反应	Fisher Scientific, UK
硼氢化钠 (99%)		Acros Organics, UK
消泡剂 B 乳浊液		Sigma-Aldrich (USA)

除另有说明，所有化学品均至少为分析级 (AR)。

*LR = 实验室级纯度

样品与参比物质

样品中包括 31 种购自本地商店的不同大米以及 12 种在受控砷暴露环境下生长的大米。使用咖啡研磨机将市售大米样品的子样品 (30 g) 研磨成均匀的细粉。将 IMEP-107 大米 (比利时赫尔参比物质和测量研究所) 和美国国家标准技术研究院 (NIST) 1568a 米粉 (Gaithersburg, MD, USA) 两种大米参比物质用作无机砷浓度测定的质量控制。

样品前处理

在测定总砷含量时，每份样品取 0.15 g 置于敞口消解容器中，加入 1 mL 浓 HNO_3 和 2 mL H_2O_2 (30% w/w)，并在 CEM Mars 微波系统中进行消解。使用去离子水将所有样品稀释至最终体积为 30 mL。

利用 HPLC-ICP-MS 进行无机砷形态分析时，取大米样品 0.1 g 加入 10 mL 1% HNO_3 和 1% H_2O_2 中进行提取 (5 min 50 °C, 5 min 75 °C, 10 min 95 °C)。采用 HG-ICP-MS 进行分析时样品提取物制备与上述方法相同。此外采用 1% HNO_3 和 1% H_2O_2 以与样品相同的方式配制校准标样。分析前将每份样品在 13000 rpm 下离心 10 min。

仪器 — 氢化物发生法

针对安捷伦 ICP-MS 集成进样系统 (ISIS) 的氢化物发生附件可用于砷等气态氢化物形成元素的高灵敏度分析。图 1 显示了本研究中所用的 HG-ICP-MS 配置。通过 ASX-500 自动进样器进样，并通过 ISIS 蠕动泵 (PP1) 将样品运输至氢化物发生器。样品在混合线圈中与 HCl (5M)、 NaBH_4 (2% (w/v)) 和消泡剂 B 乳液混合后进入气液分离器。随后含有无机砷（以挥发性氢化物形式存在）的气态样品随 ICP-MS 尾吹气路控制的氦气流被输送至 ICP-MS 雾化室。 Rh 内标 (IS) 通过常规气动雾化器引入 ICP-MS 雾化室，创造出湿润的等离子体条件。方法开发的详细信息请参见之前的文献 [7]。最佳运行条件如表 1 所示。

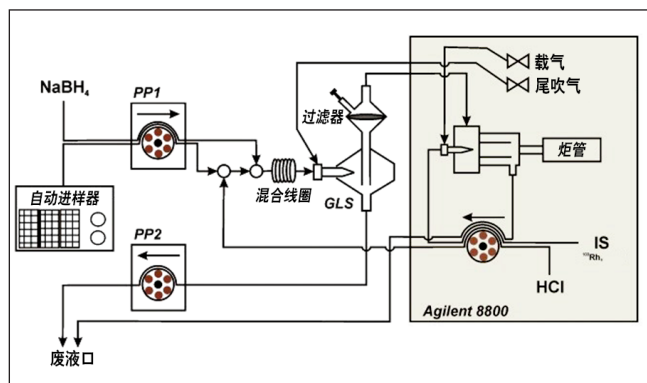


图 1. 本研究中所用 HG-ICP-MS 配置示意图

表 1. 氢化物发生法的运行参数

参数	值
样品流速 (mL/min)	0.5
HCl 流速 (mL/min)	2.5
NaBH_4 流速 (mL/min)	0.5
反应线圈体积 (mL)	0.23
HG 氦气流速 (L/min)	0.3
内标雾化的氦气流速 (L/min)	0.85 - 0.95

在酸性条件下利用 NaBH_4 进行处理后，无机砷可有效转为成挥发性砷 (AsH_3)，而有机结合的砷化合物未被转化，或仅形成了挥发性较弱的砷类化合物，如沸点为 35 °C 的二甲砷 (CH_3)₂ AsH 。加入高浓度盐酸可进一步减少挥发性较弱的砷类化合物的产生，而无机砷几乎全部转化为砷，从而无需使用色谱技术进行形态分离即可对无机砷进行单独测定。

仪器 — ICP-MS

将 HG 与 Agilent 8800 串联四极杆 ICP-MS (ICP-MS/MS) 串联以实现砷的检测。由于 ICP-MS/MS 有助于对潜在干扰物进行监测与控制，因此与传统四极杆 ICP-QMS 相比更适用于初始方法开发。由于通过 HG 的砷选择性形成过程中必不可少的高浓度 HCl 增加了氯形成的 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ 对砷 (m/z 75) 造成干扰的机会，因此这一点非常重要。

使用 ICP-MS/MS 测定砷的首选方法是利用质量转换方法，在该方法中 As^+ 与反应池气体氧气 (O_2) 发生反应转化成了 AsO^+ ，然后作为 m/z 91 的 As^+ 子离子得到测定。ICP-MS/MS 能够在 MS/MS 模式下运行，在该模式中两个四极杆均作为单位质量过滤器运行。如果将 Q1 设置为 m/z 75，则仅有砷和原位质量干扰引入反应池，因此目标子离子 $^{75}As^{16}O^+$ m/z 91 的潜在干扰可被排除。而在初始研究中 [7]，氧气反应模式（其中以 m/z 91 AsO^+ 的形式对砷进行间接测定）和无气体模式（其中以 m/z 75 对砷进行直接测定）下获得的 HG 结果之间并不存在差异，表明尽管使用高浓度 HCl 也不存在显著的氯化物干扰。因此可在 Agilent 7900 ICP-MS 等四极杆 ICP-MS 仪器中采用相同的氯化物发生法对砷进行测定。

为将 HG-ICP-MS/MS 结果与成熟 HPLC-ICP-MS 方法所得的结果进行比较，我们将 Agilent 1100 HPLC 连接至 ICP-MS/MS。实验中采用 Hamilton PRP X-100 阴离子交换柱 (10 μ m, 4.6 \times 250 mm)，流动相为 20 mM 碳酸铵 (pH 8.5)，流速为 1 mL/min。

表 2. ICP-MS/MS 运行条件

参数	总砷含量测定		
	ICP-MS/MS	HG-ICP-MS/MS	HPLC-ICP-MS/MS
RF 功率 (W)	1550		
载气流速 (L/min)	1.19	0.93	1.13
尾吹气流速 (L/min)*		0.3	
雾化室温度 (°C)	2		
采样深度 (mm)	8		
提取透镜 1 (V)	-4	0.5	0
提取透镜 2 (V)	-185	-170	-200
四极杆模式	单四极杆	MS/MS	
反应池气体模式与流速 (%)	无气体	O_2 (30)	

*用作氯化物发生法中的吹扫气

结果与讨论

质量控制

如表 3a 所示，ICP-MS/MS 测定出的 NIST 1568a 和 IMEP-107 中的总砷浓度与各自标准值和分析能力测试值均呈现出良好的一致性。使用 HG-ICP-MS/MS 测得的 NIST 1568a 和 IMEP-107 中的无机砷形态分析结果与使用 HPLC-ICP-MS/MS 测定的结果和报告值保持高度一致 (表 3b)。

表 3a. ICP-MS/MS 测得的 NIST 1568a 和 IMEP-107 中的总砷浓度

	总砷	
	ICP-MS/MS (μ g/kg)	标准值 (μ g/kg)
NIST 1568a	295 \pm 6, (n = 3)	290 \pm 30
IMEP-107	173 \pm 1, (n = 3)	*172 \pm 18

* 分析能力测试

表 3b. 使用 HG-ICP-MS/MS 和 HPLC-ICP-MS/MS 测得的无机砷结果

	无机砷		
	HG-ICP-MS/MS (μ g/kg)	HPLC-ICP-MS/MS (μ g/kg)	报告值 (μ g/kg)
NIST 1568a	94 \pm 8 (n = 3)	105 \pm 4 (n = 3)	94 \pm 12 [7]
IMEP-107	100 \pm 11 (n = 15)	110 \pm 12 (n = 15)	107 \pm 14 [8]

两种 QC 物质均获得了良好的色谱柱回收率，其中 NIST 1568a 为 101 \pm 4% (n = 3)，IMEP-107 为 98 \pm 9% (n = 12)。对 IMEP-107 随每批样品共同进行了分析，通过这些多次测量结果对“日内”RSD 和“日间”RSD 进行了计算。HG 和 HPLC 的日内 RSD 平均值为 3%，所有测定日中的所有重复测定均值 RSD 为 11%。结果显示两种方法的重现性和重复性相似。分析每批样品时均对空白样品进行了分析。

HG-ICP-MS/MS 和 HPLC-ICP-MS/MS 结果比较

多种大米中的总砷提取效率普遍较高，平均值为 91% \pm 10%，范围为 73% - 111%。对于最大浓度而言，接受研究的所有样品中无机砷含量均低于 150 μ g/kg，因此均未超过现行中国最大浓度和 FAO/WHO 联合食品法典委员会的无机砷建议最大浓度规定。所有样品的 HPLC 色谱柱回收率均可实现定量分析 (94% \pm 10%)。

表 4a 和 4b 中汇总了无机砷、DMA 和总砷的测定值。HG-ICP-MS 和 HPLC-ICP-MS 测得的无机砷结果显示出了良好的一致性。大米中存在的主要砷形态为无机砷和 DMA，MMA 仅存在痕量水平。在使用 HCl (5 M) 和 NaBH₄ 选择性生成砷的方法中，AsH₃ 几乎是所形成的唯一产物，而仅有少量 DMA 产生约 2% - 4% 的二甲砷贡献。砷暴露环

境中生长大米的分析结果同样确定了这一点 (表 4b)。尽管样品含有高浓度 DMA，但 HG-ICP-MS 测得的无机砷与 HPLC-ICP-MS 测得的结果仍具有良好一致性。MMA 可通过该方法形成甲基砷，转化率约为 40%；但由于大米中通常不含 MMA 或仅含痕量 MMA，因此应不会对无机砷的定量分析造成影响。

表 4a. HG-ICP-MS/MS 和 HPLC-ICP-MS/MS 测得的 31 种大米产品中无机砷的形态分析结果。表中还给出了 DMA 和 MMA 的结果以及 ICP-MS/MS 测得的总砷浓度。结果均以数值 ± SD 表示，形态分析结果中 n = 3，总砷测定中 n = 2 或 3

大米产品	HG iAs (µg/kg)	HPLC iAs (µg/kg)	HPLC DMA (µg/kg)	HPLC MMA* (µg/kg)	总砷 (µg/kg)
Arborio Risotto 米	113 ± 13	120 ± 18	63 ± 7	< LOQ	236 ± 15
有机 ArbRis 米	109 ± 12	119 ± 13	60 ± 8	< LOD	150 ± 7
印度香米, 1	41 ± 4	53 ± 7	8 ± 1	< LOD	100 ± 12
印度香米, 2	76 ± 6	88 ± 6	28 ± 4	< LOD	91 ± 8
印度香米 (精米)	72 ± 11	69 ± 9	24 ± 1	< LOD	240 ± 5
有机印度香米 (精米)	95 ± 3	104 ± 3	21 ± 2	< LOD	117 ± 13
糙米	127 ± 6	137 ± 5	35 ± 2	< LOD	205 ± 2
日本米	101 ± 5	99 ± 5	123 ± 1	< LOQ	252 ± 10
长粒米 (精米)	89 ± 2	85 ± 1	16 ± 1	< LOD	121 ± 11
长粒米, 1	103 ± 2	94 ± 1	218 ± 9	< LOQ	392 ± 23
长粒米, 2	40 ± 2	52 ± 10	39 ± 3	< LOQ	111 ± 8
长粒米 (精米)	47 ± 2	61 ± 4	19 ± 4	< LOD	102 ± 9
有机长粒米 (糙米)	111 ± 7	131 ± 14	54 ± 7	< LOQ	207 ± 15
有机米 (精米)	65 ± 4	65 ± 2	11 ± 1	< LOD	92 ± 4
Paella 米, 1	60 ± 5	65 ± 2	38 ± 1	1.2 ± 0.1	136 ± 1
Paella 米, 2	66 ± 4	70 ± 3	17 ± 1	< LOD	121 ± 6
西班牙 Paella 米	67 ± 2	67 ± 3	13 ± 1	< LOD	109 ± 7
布丁米	124 ± 9	125 ± 11	44 ± 5	< LOD	202 ± 4
米粉	40 ± 1	46 ± 5	19 ± 2	< LOD	102 ± 6
Carnaroli Risotto 米	81 ± 2	82 ± 4	84 ± 2	< LOD	210 ± 15
Risotto 米	97 ± 11	114 ± 10	72 ± 9	< LOQ	221 ± 17
FLG 泰国米 (精米)	88 ± 3	102 ± 3	52 ± 5	< LOD	197 ± 9
泰国茉莉香米	61 ± 4	64 ± 3	49 ± 5	< LOD	143 ± 3
泰国茉莉香米 (精米)	62 ± 4	62 ± 3	49 ± 2	< LOD	171 ± 5
越南米纸	21 ± 2	28 ± 1	< LOQ	< LOD	58 ± 10
精白米	71 ± 5	76 ± 5	14 ± 4	< LOQ	124 ± 1
整粒糙米	133 ± 2	127 ± 2	151 ± 12	7.2 ± 0.3	370 ± 19

*LOQ: HG-ICP-MS/MS: 5 µg/kg, HPLC-ICP-MS/MS: 1.1 µg/kg LOD: HG-ICP-MS/MS: 1.5 µg/kg, HPLC-ICP-MS/MS: 0.3 µg/kg

表 4b. HG-ICP-MS/MS 和 HPLC-ICP-MS/MS 测得的 12 种砷暴露环境中生长的稻谷样品中的无机砷形态分析结果。表中还给出了通过 HPLC-ICP-MS/MS 得出的 DMA 和 MMA 结果以及 ICP-MS/MS 测得的总砷浓度。结果均以数值 \pm SD 表示，形态分析结果中 $n = 3$ ，总砷测定中 $n = 2$ 或 3

大米样品	HG iAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	HPLC iAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	HPLC DMA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	HPLC MMA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总砷 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
低砷暴露 1	229 \pm 2	230 \pm 2	66 \pm 1	< LOD	323 \pm 19
低砷暴露 2	184 \pm 4	209 \pm 8	275 \pm 10	< LOD	484 \pm 5
低砷暴露 3	213 \pm 25	213 \pm 8	168 \pm 7	< LOQ	384 \pm 21
低砷暴露 4	287 \pm 7	288 \pm 13	42 \pm 4	< LOQ	350 \pm 15
低砷暴露 5	372 \pm 34	380 \pm 29	101 \pm 2	< LOQ	489 \pm 20
低砷暴露 6	184 \pm 4	184 \pm 5	79 \pm 1	< LOD	292 \pm 11
高砷暴露 1	208 \pm 8	223 \pm 4	91 \pm 4	< LOD	332 \pm 7
高砷暴露 2	240 \pm 2	220 \pm 11	790 \pm 5	7 \pm 1	1015 \pm 59
高砷暴露 3	258 \pm 14	237 \pm 11	660 \pm 25	5 \pm 1	923 \pm 6
高砷暴露 4	426 \pm 16	438 \pm 22	214 \pm 6	1.2 \pm 0.4	630 \pm 100
高砷暴露 5	399 \pm 55	374 \pm 45	798 \pm 61	1.7 \pm 0.4	1259 \pm 48
高砷暴露 6	249 \pm 14	245 \pm 14	494 \pm 8	< LOD	746 \pm 35

表 4a 中的结果显示了所有市售大米产品中的无机砷浓度均低于 FAO/WHO 食品法典委员会的 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 建议最大浓度和 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的中国法规最大浓度，即使修正了无机砷提取物的低回收率后也是如此。如果仅以总砷浓度评估砷含量，则 32% (31 个样品中的 10 种) 样品超过了食品法典委员会的建议最大浓度，且 42% (31 个样品中的 13 种) 超过了现行中国法规最大浓度。研究得出市售大米样品中以无机砷形态存在的砷占总砷浓度的 26% - 84%。

在检出 MMA 的样品中，多数样品中的 MMA 浓度低于 LOQ，且任何样品中的 MMA 浓度均未超过 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。这与美国 FDA 开展的大规模调查（共检测约 1300 多个大米样品）中获得的结果一致 [9]。在美国 FDA 的调查中，97% 或以上大米产品中的 MMA 浓度低于 LOD 或 LOQ (13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下)。仅 1% 的样品含有 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上的 MMA，最高报告浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由此可以假定 MMA 在大米总砷浓度中并非决定性因素，这一低浓度下的 MMA 不会影响 HG-ICP-MS/MS 对无机砷的测定结果。

结论

本研究使用安捷伦氢化物发生器/ISIS 联用 Agilent 8800 ICP-MS/MS 对 43 种大米样品提取物中低 ppb 水平的无机砷 (iAs) 进行了测定。HG-ICP-MS/MS 获得的结果与 HPLC-ICP-MS/MS 结果在较宽的线性范围内均呈现良好的一致性，且具有相似的检测限。

在通过微波提取进行简单的样品前处理后利用 HG-ICP-MS/MS 对无机砷和 DMA 进行了快速在线分离。之前的研究结果显示 HG-ICP-MS/MS 的总运行时间仅为 4 分钟/样品 (5 次重复测定)，而 HPLC 进行一次测定通常需要 5 - 10 分钟/样品 [10]。由于无需进行色谱峰积分，因此 HG 方法的数据处理也非常简单。

全新 HG-ICP-MS 方法实现了更快的分析时间、更高的通量和简单可靠的操作。这使该方法极其适用于筛查大量食品样品，以满足不断增加的食品（尤其是大米产品）中无机砷常规测定要求。

更多信息

关于本研究的完整记述，请参见出版物：

Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring by Ásta H. Pétursdóttir, Nils Friedrich, Stanislav Musil, Andrea Raab, Helga Gunnlaugsdóttir, Eva M. Krupp and Jörg Feldmann, *Anal. Methods*, 2014, 6, 5392-5396. DOI: 10.1039/C4AY00423J.

参考文献

1. European Food Safety Authority, Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* 2009, 7(10):1351.
2. Rasmussen, R. R.; Qian, Y. T.; Sloth, J. *J. Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 405, 7851–7857.
3. Vieira, M. A.; Grinberg, P.; Bobeda, C. R. R.; Reyes, M. N. M.; Campos, R. C. *Spectrochim. Acta, Part B: At. Spectrosc.* 2009, 64, 459–476.
4. U.S. Department of Agriculture: China, Peoples Republic of FAIRS Product Specific Maximum Levels of Contaminants in Foods 2006; China, 2006.
5. Codex Committee on Contaminants in Food - March 2012 Report. Joint FAO/WHO Food standards programme. Sixth session. CX/CF 12/6/8. 2012.
6. Report of the Eighth Session of the Codex Committee on Contaminants in Foods, 2014. CL 2014/11-CF. FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.
7. de la Calle, M. B.; Emteborg, H.; Linsinger, T. P. J.; Montoro, R.; Sloth, J. J.; Rubio, R.; Baxter, M. J.; Feldmann, J.; Vermaercke, P.; Raber, G., Does the determination of inorganic arsenic in rice depend on the method? *Trac-Trends Anal. Chem.* 2011, 30, (4), 641-651.
8. Tyson, J., The Determination of Arsenic Compounds: A Critical Review. *ISRN Analytical Chemistry* 2013, 2013, 24.
9. FDA, U. Analytical Results from Inorganic Arsenic in Rice and Rice Products Sampling; 2013.
10. Stanislav Musil, Ásta H. Pétursdóttir, Andrea Raab, Helga Gunnlaugsdóttir, Eva Krupp, and Jörg Feldmann, Speciation without Chromatography Using Selective Hydride Generation: Inorganic Arsenic in Rice and Samples of Marine Origin, *Anal. Chem.* 2014, 86, 993–999.

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16日，中国出版

出版号：5991-6055CHCN



Agilent Technologies