

# HPLC-ICP-MS 测定动物源性水产品中的形态砷

## ICPMS-036

**摘要：**参考 SN/T 3933-2014《出口食品中砷形态的测定方法高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱》标准，建立了一种测定动物源性食品中形态砷的高效液相色谱电感耦合等离子体质谱法(HPLC-ICP-MS)。样品经过处理后，采用高效液相色谱 LC-20Ai 对不同形态砷进行分离，电感耦合等离子体质谱 ICPMS-2030 检测进行定量分析。线性范围在 1~50 ng/mL 范围内回归系数大于 0.9997，准确度值 95.9~104.9%，重现性 RSD 低于 3.01%，方法检出限 1.10~1.90 μg/kg，适用于动物源性食品中形态砷的分析。

**关键词：**形态砷 食品安全 HPLC-ICP-MS

砷是地壳中第 20 种最常见的元素，是环境中广泛存在的有毒元素之一。砷能以四种不同的价态 ( $As^{3-}$ 、 $AsO$ 、 $As^{3+}$  和  $As^{5+}$ ) 存在，无机砷的主要形态是胂 ( $As^{3-}$ )、亚砷酸盐 ( $As^{3+}$ ) 和砷酸盐 ( $As^{5+}$ )。在食品的卫生学评估中，由于砷元素的毒理学性质，需要检测食品中砷的含量水平。其中海产品砷含量最高，是人体摄入砷的重要来源之一，而元素的毒性与元素的存在形态密切相关，以砷化合物的半致死量 LD50 计，其毒性依次为  $AsH_3 > As(III) > As(V) > MMA(甲基砷) > DMA(二甲基砷) > TMAO(三甲基砷氧) > AsC(砷胆碱) > AsB(砷甜菜$

碱)，表明不同形态砷的毒性不同，无机砷的毒性最大，有机砷的毒性较小，而砷胆碱和砷甜菜碱常被认为是无毒的。因此在食品分析中，测定砷的含量是，进行砷的形态分析十分必要，以无机砷及有机砷的不同毒性大小来综合评价，比用砷的总量来评价更具有科学性。

本文参考 SN/T3933-2014《出口食品中砷形态的测定方法高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法》标准，采用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用对动物源性水产品进行砷形态分析。

## 实验部分

### 1.1 对照品

砷酸、亚砷酸、甲基砷、二甲基砷购于国家标准物质中心。

### 1.2 实验检材

市售海白虾、河虾和干虾米

### 1.3 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用系统。具体配置为 LC-20Ai×2 输液泵，DGU-20A<sub>3</sub> 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS Version 1.02 工作站；AY-120 电子天平(日本岛津公司)；Vortex-5 微型涡旋混合仪(中国其林贝尔公司)；Allegra 64R 低温高速离心机(美国 Beckman 公司)；KQ5200DA 数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)；Advantage A10 超纯水仪(瑞士 Milli-Q 公司)；T-25 basic 均质仪(德国 IKA 公司)。

### 1.4 试剂

甲醇购自德国 Merck 公司；实验用水由 Milli-Q 水净化系统经去离子与二次净化制得；碳酸铵及其他试剂购自国药集团；胃蛋白酶购自 Beijing Lablead Biotech Co., Ltd；电子级盐酸购自 DUKSAN。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 对照品溶液配制

超纯水配制浓度分别为 0.0、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 及 50.0 ng/mL 的混合标准溶液。

### 2.2 人工胃液的配制

移取 5.3 mL 浓盐酸，加水约 800 mL 与胃蛋白酶 10 g，混匀，加水稀释至 1000 mL，现用现配。

### 2.3 样品的处理方法

为称量样品具备代表性，对不低于 500 g 可食用的动物源性水产品进行均质处理。称取 2.5 g(精确到 0.01 g)，加入“2.2 人工胃液的配制”所述胃液，定容至 25 mL，将混合液转移至离心管中，涡旋混匀 2 min，超声提取 2 h。为避免超声时间过长引起水浴温度升高，水浴中加入冰块控制水温。6000 r/min 离心 10 min，收集上层清液，过 0.45 μm 滤膜，进 HPLC-ICP-MS 分析。

### 2.4 色谱条件

色谱柱：DionexIonPac™ AS19 4×250 mm

进样量：20 μL

流动相：A- 水 B-40 mM 碳酸铵水溶液

洗针液：10% 甲醇水溶液

流速：1.2 mL/min

洗脱程序：梯度洗脱

柱温：30 °C

Time	Module	Action	Value
0.00	Pump	B Conc.	2
10	Pump	B Conc.	100
15	Pump	B Conc.	100
16	Pump	B Conc.	2
30	Controller		Stop

### 2.5 质谱条件

等离子体参数：

高频功率：1.20 kW

雾化室温度：5°C

辅助气流速：1.10 L/min

高频频率：27.12 MHz

炬管类型：Mini

碰撞池参数：

雾化室：旋流

碰撞气种类：He

采样深度：5.0 mm

碰撞气流速：6.0 mL/min

等离子体气流速：8.0 L/min

池电压：-21 V

载气流速：0.70 L/min

能量过滤器电压：7.0 V

雾化器类型：同轴

### 2.6 方法学考察

#### 2.6.1 专属性考察

对空白进行进行考察，排除系统干扰，并且考察四种有毒形态砷的分离度以及有毒形态砷和无毒形态砷之间的分离度，以确保实际样品分析过程中造成假阳性检出。

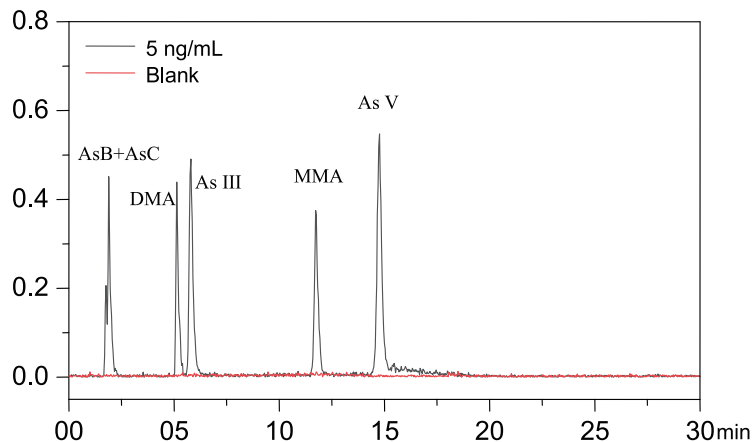


图1 四种有毒形态砷和两种无毒形态砷色谱图

### 2.6.2 线性关系考察

按“2.1 对照品溶液的配制”项下规定进行标准曲线系列浓度的配制，记录各成分的峰面，以浓度（浓度均以 As 计）与峰面积比值做线性回归绘制标准曲线，结果如下所示。

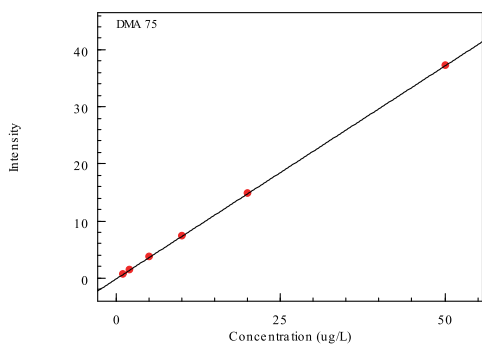


图2 DMA校准曲线  $r=1.0000$   
 $Conc.=1.3422*I+0.0460$

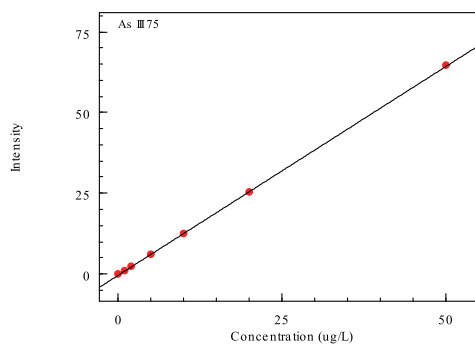


图3 As III的校准曲线  $r=1.0000$   
 $Conc.=0.7702*I+0.2023$

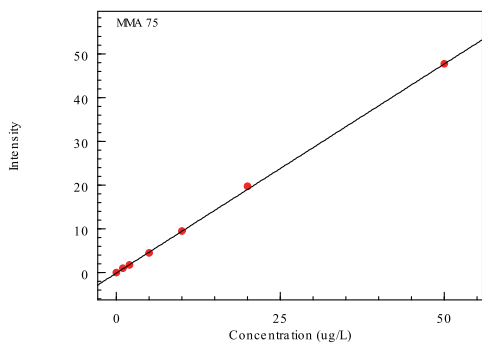


图4 MMA的校准曲线  $r=0.9999$   
 $Conc.=1.0477*I-0.0386$

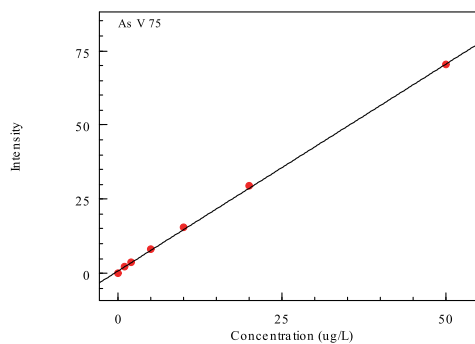


图5 As V校准曲线  $r=0.9997$   
 $Conc.=0.7166*I-0.6851$

### 2.6.3 线性准确度考察

对线性各个校准点进行准确度的考察，结果如下：

表2 准确度结果

Conc. (ng/mL)	Accuracy (%)			
	DMA	As III	MMA	As V
1.0	100.77	101.73	103.96	99.43
2.0	102.52	100.31	97.05	95.88
5.0	100.36	97.72	95.98	102.06
10.0	99.17	99.40	98.34	104.93
20.0	99.95	99.39	103.18	102.54
50.0	100.03	100.14	99.58	99.34

#### 2.6.4 回收率考察

对某市售白虾进行均质取样，并对其进行高中低浓度添加，按“2.3 样品的处理方法”进行处理后进 HPLC-ICP-MS 分析，考察回收率。结果如下：

表3 回收率考察(%)

添加浓度 (ng/mL)	DMA	As III	MMA	As V
1	109.0	106.1	105.0	100.0
2	95.0	102.8	105.0	100.3
10	103.0	100.0	102.0	98.6

#### 2.6.5 检出限考察

对浓度为 1 ng/mL 样品溶液考察四种有毒形态砷的信噪比，折算信噪比  $S/N=3$  时检出限以及  $S/N=10$  定量限，结果如下：

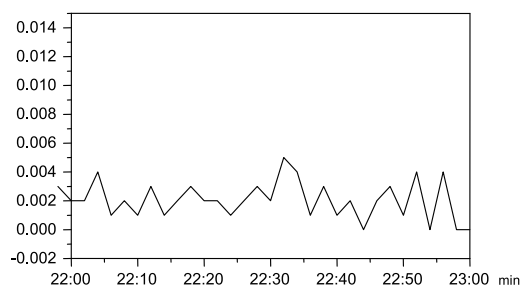


图5 基线考察

表4 灵敏度考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	仪器定量限 (ng/mL)	方法定量限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
DMA	0.19	1.90	0.63	6.30
As III	0.18	1.80	0.59	5.90
MMA	0.17	1.70	0.57	5.70
As V	0.11	1.10	0.37	3.70

## 2.7 动物源性水产品测试及重现性考察结果

对市售海白虾、河虾以及干虾米进行四种有毒形态砷的测试，每类商品平行三次测试，计算待测物质浓度以及保留时间重现性并以相对标准偏差 RSD% 表示，待测物质浓度结果以  $\bar{X} \pm SD$  (ng/mL) 表示。

表5 动物源性水产品测试结果(ng/mL)

样品名称	DMA	As III	MMA	As V
海白虾	N.D.	1.207±0.031	N.D.	0.414±0.013
河虾	N.D.	1.343±0.035	N.D.	0.678±0.020
干虾米	18.467±0.115	3.487±0.047	3.827±0.115	7.040±0.050

注：N.D. 未检出

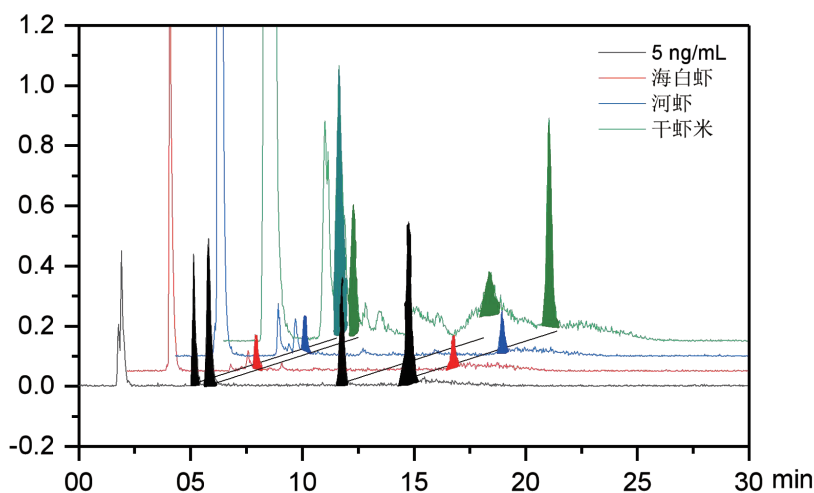


图6 实际样品色谱图

表6 动物源性水产品重现性考察结果(RSD%)

样品名称	DMA		As III		MMA		As V	
	浓度	Rt	浓度	Rt	浓度	Rt	浓度	Rt
海白虾	N.D.	N.D.	2.53	0.22	N.D.	N.D.	3.16	0.14
河虾	N.D.	N.D.	2.61	0.29	N.D.	N.D.	2.98	0.20
干虾米	0.62	0.12	1.36	0.21	3.01	0.33	0.71	0.04

注：N.D. 未检出

## 结论

参考 SN/T 3933-2014《出口食品中砷形态的测定方法高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱》标准，建立一种测定动物源性食品中形态砷的高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法。方法灵敏度高，方法检出限 1.10~1.90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，重现性好 RSD% 低于 3.01%，可排除无毒形态砷干扰适用于动物源性食品中形态砷的分析。