

HPLC-ICP-MS 测定饲料中的有机砷

ICPMS-057

摘要：参考 SN/T 2316-2009 《动物源性食品中阿散酸、硝苯砷酸、洛克沙砷残留量检测方法液相色谱 - 电感耦合等离子体 / 质谱法》标准，建立了一种测定饲料中阿散酸、卡巴砷、硝苯砷酸、洛克沙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 对不同有机砷进行分离，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 1~500 ng/mL 范围内回归系数大于 0.9999，样品回收率 95.3%~105.8%，精密度 RSD 低于 9.67%，方法检出限 2.67~8.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，适用于饲料中有机砷的分析。

关键词：有机砷 饲料 HPLC-ICP-MS

有机砷类药物是一类抗菌促生长药物，具有促生长、改善饲料效率的作用，并且对产蛋和毛色均有较好作用。常用的有机砷作为饲料添加剂主要有洛克沙砷 (Roxarsone) 和阿散酸 (4-Arsanilic Acid)。1964 年 FDA 允许洛克沙砷用于鸡饲料，1983 年正式批准用作猪、鸡的促生长剂。我国农业部 1996 年批准了有机砷制剂的使用，随后我国逐渐开始大量生产，并广泛用于畜禽饲养业。

虽然有机砷对于畜牧业的发展具有重要意义，但过量的有机砷添加可使动物中枢神经失调，并促使脑病和视神经萎缩的发病升高，与此同时有机砷可通过食物链蓄积威胁人类健康。因此，监控洛克沙砷等有机砷的使用和潜在危害，有必要建立准确可靠的检测方法。

本文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 联用通过优化色谱条件以及前处理条件实现了对饲料中的四种有机砷的检测分析。

实验部分

1.1 对照品

卡巴砷 (Carbarsone) 购自 TRC 试剂公司 (Toronto Research Chemicals)；洛克沙砷 (Roxarsone)、硝苯砷酸 (Nitarsone)、阿散酸 (4-Arsanilic Acid) 购自德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH。

1.2 实验检材

市售进口饲料

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 \times 2 输液泵，DGU-20A₃ 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；三氟醋酸 (TFA) 购自 J&K Scientific Ltd.

■ 结果与讨论

2.1 对照品溶液配制

以甲醇为溶剂配制各对照品 1 mg/mL 储备液。以超纯水为溶剂，配制系列浓度对照品混合溶液，浓度分别为 0.0、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0 及 500.0 ng/mL 的混合标准溶液。

2.2 样品的处理方法

称取 1.5 g 饲料于 10 mL 试管中，加入 5 mL 提取液（甲醇 - 水 =3:7），在室温下超声提取 20 min，置于 12000 r/min 高速离心机上离心 20 min，将上层清液转移到干净 10 mL 容量瓶中，超纯水定容。过 0.45 μ m 微孔滤膜后进 HPLC-ICP-MS 分析。

2.3 色谱条件

色谱柱：IntertustainC185 μ m4.6 \times 250 mm
流动相：A-0.1%TFA 水溶液；B- 甲醇 =95:5
流速：1.5 mL/min
柱温：40 $^{\circ}$ C

进样量：20 μ L
洗针液：10% 甲醇水溶液
洗脱程序：等度洗脱

2.4 质谱条件

等离子体参数：
高频功率：1.20 kW
辅助气流速：1.10 L/min
炬管类型：Mini
雾化室：旋流
采样深度：5.0 mm
等离子体气流速：8.0 L/min
载气流速：0.70 L/min
雾化器类型：同轴

雾化室温度：5 $^{\circ}$ C
高频频率：27.12 MHz
碰撞池参数：
碰撞气种类：He
池电压：-21 V
碰撞气流速：6.0 mL/min
能量过滤器电压：7.0 V

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察

对空白进行考察，排除系统干扰，以确保实际样品分析过程中造成假阳性检出。

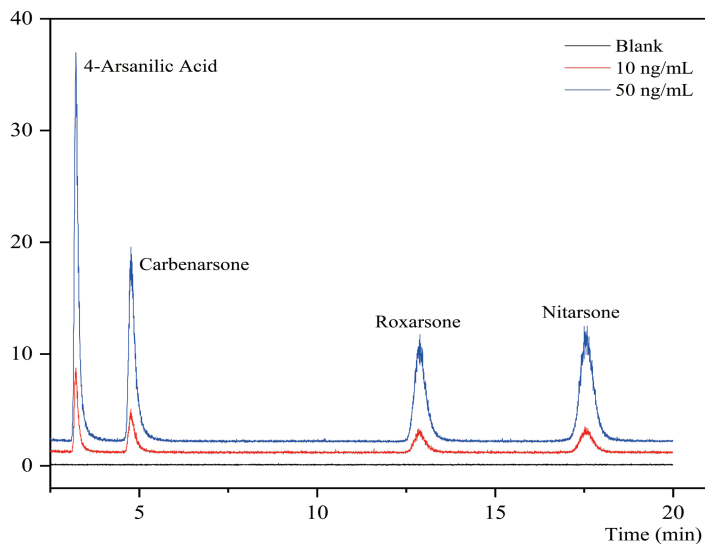


图1 四种有机砷色谱图

2.5.2 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，记录各成分的峰面积，以浓度与峰面积比值做线性回归绘制标准曲线，结果如下所示。

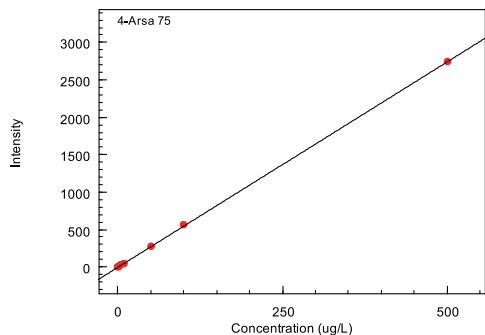


图2 阿散酸校准曲线 $r=0.9999$
 $Conc. = 0.1822 * I - 0.4630$

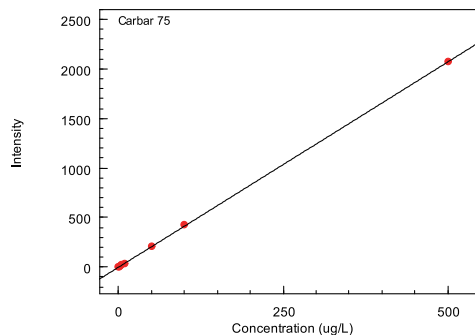


图3 卡巴砷校准曲线 $r=0.9999$
 $Conc. = 0.2412 * I - 0.5701$

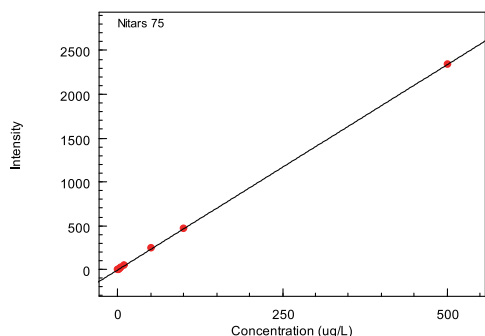


图4 硝苯砷酸校准曲线 $r=0.9998$
 $Conc. = 0.2135 * I - 0.5156$

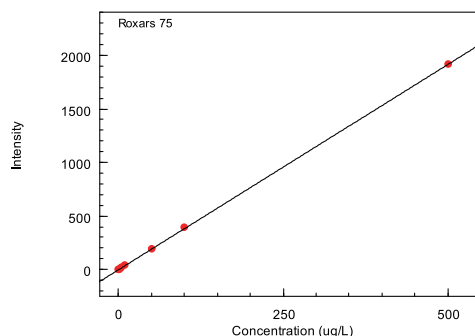


图5 洛克沙砷校准曲线 $r=0.9999$
 $Conc. = 0.2608 * I - 0.6653$

2.5.3 准确度考察

对高中低三组添加浓度质控样品，每组 6 样本，进行准确度考察。

表2 准确度结果

添加浓度 (ng/mL)	阿散酸		卡巴砷		硝苯砷酸		洛克沙砷	
	测定浓度 (ng/mL)	准确度	测定浓度 (ng/mL)	准确度	测定浓度 (ng/mL)	准确度	测定浓度 (ng/mL)	准确度
1	1.039	103.9%	1.058	105.8%	1.077	107.7%	1.021	102.1%
50	49.82	99.6%	49.90	99.8%	49.55	99.1%	49.85	99.7%
200	192.5	96.3%	192.8	96.4%	201.7	100.8%	190.5	95.3%

2.5.4 残留考察

对高浓度样品进行测试后，马上进行空白溶剂测试，考察系统污染。

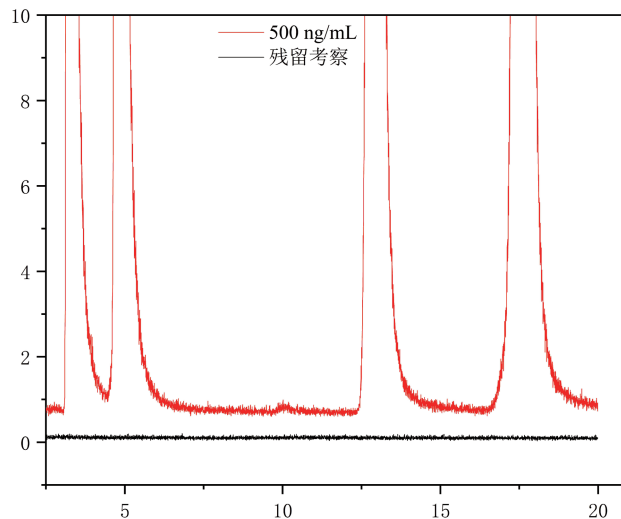


图6 残留考察

实验结果表明，该方法系统残留低，低浓度样品测试不受影响前一针高浓度样品影响。

2.5.5 检出限考察

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

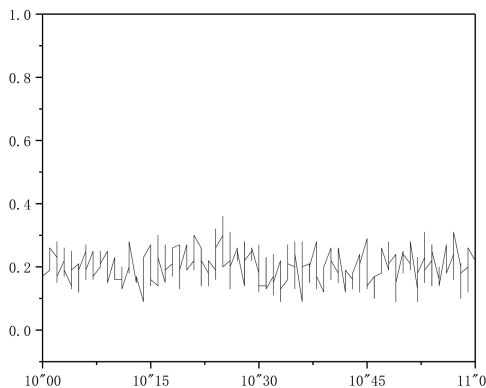


图7 基线考察

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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
阿散酸	0.40	2.67	1.34	8.93
卡巴砷	0.75	5.00	2.51	16.73
硝苯砷酸	1.20	8.00	4.02	26.8
洛克沙砷	1.13	7.53	3.77	25.1

2.5.6 精密度及回收率考察

对样品进行高中低三组浓度添加，每组 6 样本，进行保留时间以及测定浓度的精密度考察，结果以相对标准偏差表示 (RSD%)，并考察各浓度添加回收率。

表3 精密度考察及回收率(%)

添加 浓度 (ng/mL)	阿散酸			卡巴砷			硝苯砷酸			洛克沙砷		
	测定 浓度	保留 时间	回收率	测定 浓度	保留 时间	回收率	测定 浓度	保留 时间	回收率	测定 浓度	保留 时间	回收率
1	4.90%	0.29%	103.9%	6.31%	0.30%	105.8%	5.69%	0.32%	107.7%	9.67%	0.22%	102.1%
50	1.58%	0.18%	99.6%	1.71%	0.23%	99.8%	1.81%	0.21%	99.1%	1.78%	0.18%	99.7%
200	1.70%	0.20%	96.3%	1.69%	0.25%	96.4%	1.16%	0.17%	100.8%	1.48%	0.07%	95.3%

2.6 饲料测试结果

对市售饲料级进行测试, 平行三次, 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 市售饲料测试结果(ng/mL)

样品名称	阿散酸	卡巴砷	硝苯砷酸	洛克沙砷
Sample	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

注:N.D.未检出

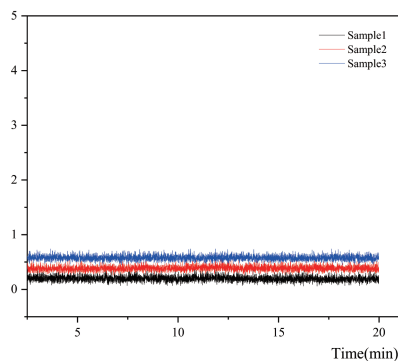


图8 实际样品色谱图

结论

参考 SN/T 2316-2009 标准《动物源性食品中阿散酸、硝苯砷酸、洛克沙砷残留量检测方法液相色谱 - 电感耦合等离子体 / 质谱法》, 建立一种测定饲料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, 样品回收率 95.3%~105.8%, 方法检出限 2.67-8.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 重现性好 RSD% 低于 9.67%, 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。