

实验技术与方法

不同方法对大米中无机砷含量测定结果的影响

岳兵¹, 刘丽萍², 谢科¹, 潘浩¹, 尚晓虹¹, 李筱薇¹, 赵云峰¹, 吴永宁¹

(1. 国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021;

2. 北京市疾病预防控制中心 中心实验室, 北京 100013)

摘要:目的 建立不同方法测定大米和以大米为原料的食品中无机砷的含量, 并对结果进行比较。方法 用 0.15 mol/L 硝酸或 0.3 mol/L 三氟乙酸作为提取液, 95 °C 下热辅助提取 2 h、75 °C 下超声提取 2 h 或 90 °C 下微波辅助提取 1 h, 提取物经阴离子交换柱 X-100 (250 mm × 4.1 mm, 10 μm) 分离, 电感耦合等离子体-质谱 (ICP-MS) 和氢化物发生-原子荧光光谱 (HG-AFS) 分别测定。结果 两种方法测定无机砷含量, 加标回收率分别在 94.8% ~ 111.7%、91.9% ~ 96.0% 之间, 相对标准偏差均小于 5.8%, 应用这两种方法对质控样品米粉 SRM 1568a 和 大米样品进行测定, 结果协同性良好。结论 两种方法均可简单、准确、快速的测定大米中的无机砷, 结果比较差异无统计学意义。

关键词: 无机砷; 大米; 电感耦合等离子体-质谱; 氢化物发生-原子荧光光谱

中图分类号: R155.52 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2013)03-0238-03

Influence of determination methods on the content of inorganic arsenic in rice

Yue Bing, Liu Liping, Xie Ke, Pan Hao, Shang Xiaohong, Li Xiaowei, Zhao yunfeng, Wu Yongning
(Kay Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective To establish methods for the detection of inorganic arsenic in rice and rice-based foodstuff and compare the results deviation of various extracting and/or instrumental process. **Methods** The extraction conditions for inorganic arsenic extraction in rice were 0.15 mol/L nitric acid or 0.3 mol/L TFA; heat-assistant extraction 2 h, 95 °C; ultrasonic 2 h, 75 °C; microwave-assist 1 h, 90 °C. Then the extracts were separated by an anion exchange column Hamilton PRP X-100 (250 mm × 4.1 mm, 10 μm) and detected by ICP-MS and HG-AFS respectively. **Results** The determination of inorganic arsenic of these two methods was good. The recoveries of spiked samples were 94.8% ~ 111.7% and 91.9% ~ 96.0%, and the relative standard deviations (RSD, n = 6) were below 5.8%. The results were satisfying for control sample (SRM1568a) and rice samples. **Conclusion** The methods were simple, accurate and fast for the determination of inorganic arsenic in rice and rice-based foodstuff. There was no significant statistic difference among the results.

Key words: Inorganic arsenic; rice; ICP-MS; HG-AFS

砷(As)是一种常见的有毒有害元素^[1], 而无机砷更被视为最严重的污染物之一^[2-3]。砷溶于水, 可随雨水迁移到生态系统中, 通过食物链的富集作用进行积累^[4]。研究表明, 水稻比其他作物更容易累积砷, 对人类健康构成威胁^[5]。在大米中, 总砷的含量范围约为 0.005 ~ 0.710 mg/kg, 主要是无机砷(As^{III}, As^V)和二甲基砷(DMA), 其中无机砷含量

约占总量的 10% ~ 90%^[6]。

现有的无机砷提取方法中, 针对大米基质的较少, 砷的毒性与其存在形式密切相关, 而现行的标准(如 GB/T 5009.11—2003^[7])只能测定总砷含量, 无法客观地评估对人类健康的潜在风险。国际上通用的测定无机砷的方法是 HPLC-ICP-MS 法, 结合我国原子荧光仪的普及率较高的实际情况, HPLC-HG-AFS 法可作为基层单位开展食品安全风险监测的有效手段, 是 HPLC-ICP-MS 法的很好补充。本文研究了 HPLC-ICP-MS 和 HPLC-HG-AFS 两种测定方法, 并对测定结果进行比较。

收稿日期: 2013-04-03

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAK01B01)

作者简介: 岳兵 男 实习研究员 研究方向为食品安全风险评估

Email: yuebing@cfssa.net.cn

通信作者: 李筱薇 女 副研究员 研究方向为食品安全风险评估

Email: lixw@cfssa.net.cn

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

HPLC-ICP-MS (Agilent 1200 HPLC, Agilent 7500A ICP-MS, 美国)、HG-AFS、高速粉碎机、恒温器、超声水浴仪、MarsX 系统 (CEM, 美国)、高速离心机、超纯水器、Hamilton PRPX-100 C₁₈ 柱 (250 mm × 4.1 mm, 10 μm)。

As₂O₃ (As^{III}, 纯度 ≥ 99.5%)、砷甜菜碱 (AsB, 纯度 ≥ 95.0%)、二甲基砷 (DMA, 纯度 ≥ 98.0%)、一甲基砷 (MMA, 纯度 ≥ 99.0%)、As^V (纯度 ≥ 98.0%)。

硝酸 (光谱纯)、甲醇 (色谱纯)、磷酸二氢铵、硝酸铵、氨水、盐酸、乙酸、三氟乙酸、氢氧化钾、硼氢化钾 (均为分析纯)、米粉 SRM 1568a (NIST, 美国), 实验用大米及其制品采自北京市的超市和自由市场。

标准储备液的配制: As^{III}、AsB、DMA、MMA 和 As^V 分别用超纯水配制成 100 mg/L 的储备液, 再用超纯水配制成浓度 10 mg/L 的混合标准中间液和 1 mg/L 的混合标准使用液。

1.2 方法

1.2.1 样品处理及测定

大米及其制品, 经高速粉碎机研磨, 过 20 目筛, 保存在干燥管中。

样品提取方法: 将约 500 mg 样品放在聚丙烯管中, 固液比为 1:10, 混合完全后, 95 °C 下热辅助提取 2 h, 每 30 min 涡旋振荡 30 s; 或者将样品放于 15 ml 离心管中, 置于超声水浴仪中, 75 °C 下超声提取 2 h; 或者将米粉和稀酸混合于聚四氟乙烯管中, 90 °C 下微波辅助提取 1 h (微波消解程序: 设定温度从室温升到 90 °C, 用时 10 min, 并在 90 °C 保持 50 min, 然后冷却至室温)。所得提取物在 4 °C 下冷却 10 min, 9 000 r/min 离心 15 min。收集上清液过 0.22 μm 滤膜和 C₁₈ 柱, 待上机测定 (如果提取物酸度过高, 离心后需要赶酸后再上机测定)。

将待测物分别在 HPLC-HG-AFS 和 HPLC-ICP-MS 上进行测定。

1.2.2 仪器条件

HPLC-HG-AFS 法 AFS 的参数设置: 负高压 320 V, 灯丝总电流 90 mA, 主电流/辅助 55/35, 载气流量 800 ml/min, 原子化器温度: 中, 载液流速 4 ml/min。

HPLC-ICP-MS 法 ICP-MS 的工作参数设置: 功率 1 380 W, 载气流量 0.65 L/min, 补偿气流速 0.4 L/min, 泵速 0.3 rps。

2 结果与讨论

2.1 洗脱程序优化

2.1.1 HPLC-HG-AFS 法洗脱程序优化

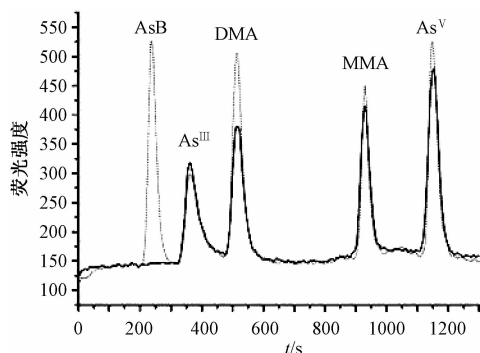
AFS 能检测气态形式的 As, 除了 As^{III} 和 As^V、DMA 和 MMA, 一些砷阳离子 (AsB, AsC 等) 也可以转换成气体状态。试验表明, 采用流动相为 20 mmol/L 的磷酸二氢铵 (pH = 6.0) 进行等度洗脱, As^{III} 和 AsB 不能基线分离, 结果也将受到影响。故本试验采用梯度洗脱程序, 流动相 A: 1 mmol/L 磷酸二氢铵溶液 (pH = 9.0), 流动相 B: 20 mmol/L 磷酸二氢铵溶液 (pH = 8.0)。梯度洗脱程序见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 HPLC-HG-AFS 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program in HPLC-AFS

时间 (min)	流动相 (%)	
	A	B
0	100	0
8	100	0
10	0	100
20	0	100
22	100	0
45	100	0

注: 流速 1 ml/min; 进样量 100 μl。



注: 实线为未进行在线 UV 消化荧光色谱图, 虚线为进行了在线 UV 消化的荧光色谱图。

图 1 HPLC-HG-AFS 荧光色谱图

Figure 1 Arsenic species fluorescence chromatogram of HPLC-HG-AFS

2.1.2 HPLC-ICP-MS 法洗脱程序优化

此方法中阳离子的潜在干扰 (AsB、AsC 等) 依然存在, 不能忽视。本试验优化了流动相洗脱条件和离子浓度, 并通过调节 pH 值使 AsB 与 As^{III}、As^V、DMA、MMA 实现基线分离。优化后的洗脱程序是: pH 9.2 ~ 9.3 的 5 mmol/L 磷酸二氢铵 + 10 mmol/L 硝酸铵溶液, 流速 1 ml/min, 进样量 50 μl。色谱图见图 2。

2.2 提取液的选择

本文研究了盐酸、三氟乙酸、硝酸和醋酸在相同条件下对砷的提取效率, 标准参考物选用的是米粉 SRM 1568a。在不同浓度酸提取下, 盐酸、三氟乙酸、

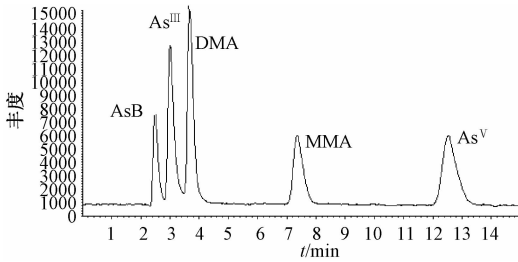


图2 HPLC-ICP-MS 色谱图

Figure 2 Arsenic species spectrum of HPLC-ICP-MS

硝酸和醋酸提取结果分别为 51.26 ~ 73.54、88.30 ~ 109.47、76.90 ~ 95.05 和 83.07 ~ 84.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。米粉 SRM 1568a 的参考含量为 80 ~ 109 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，因此 0.15 mol/L 硝酸和 0.3 mol/L 三氟乙酸提取效果较好，回收率高。

2.3 提取方法的选择

分别用 0.15 mol/L 硝酸和 0.3 mol/L 三氟乙酸进行热辅助提取、超声提取和微波辅助提取，均得到较好的回收率（见表 2），方法比较差异无统计学意义。

表2 不同无机砷提取方法比较 ($\mu\text{g}/\text{kg}$, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of different extractions of inorganic As

米粉 SRM 1568a	热辅助提取 90 $^{\circ}\text{C}$, 1 h	超声提取 75 $^{\circ}\text{C}$, 2 h	微波辅助提取 5 $^{\circ}\text{C}$, 2 h
0.15 mol/L 硝酸	93.71 \pm 2.71	92.77 \pm 1.18	95.12 \pm 1.87
0.3 mol/L 三氟乙酸	94.44 \pm 3.01	92.78 \pm 1.78	95.25 \pm 2.83

注：SRM 1568a 参考物质无机砷量为 80 ~ 109 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ； $P=0.27$ 。

2.4 精密度和回收率

在精密度及回收率的试验中，采用在大米样品加标回收的方法考察，结果见表 3、4，HPLC-ICP-MS 法和 HPLC-HG-AFS 法的精密度良好，回收率分别在 94.8% ~ 111.7%、91.9% ~ 96.0% 之间。

表3 硝酸提取大米样品中无机砷回收率 ($\mu\text{g}/\text{kg}$, $n=6$)

Table 3 Recoveries of inorganic As in rice sample

extracted by HNO_3

样品	本底值	加标值	测定值 ($\bar{x} \pm s$)	回收率 (%)
大米		100	162.88 \pm 7.05	107.95 ~ 111.71
	53.05	200	265.45 \pm 8.79	98.82 ~ 104.58
	600	647.84 \pm 18.79	98.71 ~ 99.55	
SRM 1568a		100	193.65 \pm 6.48	94.84 ~ 100.70
	95.88	200	321.25 \pm 8.84	111.25 ~ 114.11
	600	705.99 \pm 16.25	98.05 ~ 105.32	

注：HPLC-ICP-MS 法，条件为 0.15 mol/L HNO_3 ，95 $^{\circ}\text{C}$ ，2 h。

表4 三氟乙酸提取大米样品中无机砷回收率 ($n=6$)

Table 4 Recoveries of inorganic As in rice sample

extracted by TFA

加标值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	RSD (%)
50	96.0	5.6
500	91.9	5.8

注：HPLC-HG-AFS 法，条件为 0.3 mol/L TFA，95 $^{\circ}\text{C}$ ，2 h。

2.5 ICP-MS 和 HG-AFS 两种测定方法的差异比较

为了比较 ICP-MS 和 HG-AFS 两种检测方法的

测定效率，同样采用了对米粉 SRM 1568a 标准物质进行加标回收的方法，重复测定 6 次，RSD 均小于 5%。这两种方法测定结果的线性关系见图 3。由图 3 可知，两种方法的符合程度很好。

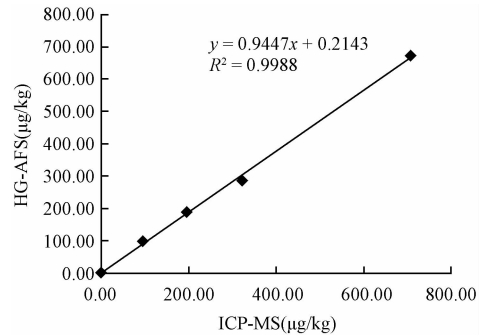


图3 两种测定方法差异性比较

Figure 3 Correlation between ICP-MS and HG-AFS methodologies

3 结论

在本研究中，考察了不同的样品提取方法和测定方法。试验结果表明采用 0.15 mol/L 硝酸和 0.3 mol/L 三氟乙酸作为提取溶剂，进行热辅助提取、超声提取和微波辅助提取，样品提取效果理想、回收率高；在检测仪器选用上，ICP-MS 和 HG-AFS 都很适合定量。通过进行方差分析、线性关系比较可知，不同的提取方法间和不同的测定方法间比较差异无统计学意义。

参考文献

- [1] Smedley P L, Kinniburgh D G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters[J]. Appl Geochem, 2002, 17(5): 517-568.
- [2] Hirano S, Kobayashi Y, Cui X, et al. The accumulation and toxicity of methylated arsenicals in endothelial cells: Important roles of thiol compounds[J]. Toxicol Appl Pharm, 2004, 198(3): 458-467.
- [3] Petrick J S, Ayala-Fierro F, Cullen W R, et al. Monomethylarsonous acid(MMA(III)) is more toxic than arsenic in Chang human hepatocytes[J]. Toxicol Appl Pharm, 2000, 163(2): 203-207.
- [4] Jones F T. A Broad View of Arsenic[J]. Poultry Science, 2007, 86: 2-14.
- [5] Heikens A. Arsenic contamination of irrigation water, soil and crops in Bangladesh; Risk implication for sustainable agriculture and food safety[J]. Asia Food and Agricultural Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, 2006.
- [6] Zavala Y J, Gerads R, et al. Arsenic in rice: II. Arsenic speciation in USA grain and implications for human health[J]. Environ Sci Technol, 2008, 42(10): 3861-3866.
- [7] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.11—2003 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.