

论著

海产品中无机砷测定方法的研究

张磊¹ 李筱薇¹ 赵云峰¹ 吴永宁¹ 刘丽萍² 张妮娜²

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050;

2. 北京市疾病预防控制中心中心实验室,北京 100013)

摘要:目的 比较甲醇溶液和三氟乙酸(TFA)溶液对海产品中砷化合物的提取能力,提出海产品中无机砷测定方法,为修订 GB/T 5009.11 食品中无机砷的测定方法提供依据。方法 以不同比例的甲醇溶液和2 mol/L TFA 溶液为提取剂,超声提取或热浸提后,以正己烷萃取除去脂质成分,萃取液以 N₂ 浓缩或减压旋转蒸发至近干,以超纯水溶解残渣,过滤后进样。以20 mmol/L磷酸二氢铵(pH 6.0)为流动相,以 Hamilton PRPX-100 离子色谱柱分离,采用液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)测定。结果 不同比例的甲醇溶液和2 mol/L TFA 溶液对海产品中砷化合物的提取能力存在差异。2 mol/L TFA 溶液热浸提对无机砷的提取效果优于 50%和 90%甲醇溶液,且在提取过程中保持样品中主要砷化合物形态稳定。采用2 mol/L TFA 热浸提海藻样品,其无机砷测定结果的 FAPAS 国际比对考核 Z 评分为 0.3。结论 以2 mol/L TFA 溶液为提取剂,热浸提2 h后,采用液相色谱-原子荧光光谱法测定海产品中无机砷含量,方法特异性强,结果准确可靠。

关键词:砷;色谱法;液相;光谱法;荧光;海味

Study on Inorganic Arsenic in Seafood Determined by Liquid Chromatography-Atomic Fluorescence Spectrometry

ZHANG Lei, LI Xiao-wei, ZHAO Yun-feng, WU Yong-ning, LIU Li-ping, ZHANG Ni-na

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To develop a method for determination of inorganic arsenic in seafood by comparing the extracting ability of methanol-water solution and trifluoroacetic acid (TFA) on arsenic compounds in order to provide basis for revising the national standard method GB/T 5009.11 "Determination of Inorganic Arsenic in Food". **Method** Inorganic arsenic of seafood were respectively extracted by ultrasonic or heating at 80 °C with 2 mol/L TFA or methanol-water solution. The extracts were extracted by hexane to remove the lipids. The extracts were evaporated to nearly dryness with N₂ or decompression rotary evaporator, and dissolved in ultra-pure water. The mobile phase was 20 mmol/L NH₄H₂PO₄ (pH6.0). Arsenic species were separated with an anion exchange column Hamilton PRPX-100 and detected by liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry (LC-AFS).

Results The differences between methanol-water solution and trifluoroacetic acid at the aspects of extracting inorganic arsenic in seafood were found. The ability of extracting inorganic arsenic with trifluoroacetic acid by heating was much stronger than other extracting solution. The main arsenic species in seafoods were steady during procedures. The samples were extracted with trifluoroacetic acid by heating 2 h, and the Z-score for determination of inorganic arsenic in seaweed, obtained from FAPAS, was 0.3. **Conclusion** Inorganic arsenic and DMA, MMA were extracted with trifluoroacetic acid by heating 2 h and accurately determined by LC-AFS in seafood, meanwhile the dominating arsenic species were steady.

Key word: Arsenic; Chromatography; Liquid; Spectrometry; Fluorescence; Seafood

砷元素在环境中普遍存在,食品中砷化合物的污染已成为潜在的公共卫生问题。不同砷化合物的毒性和生理学性质相差甚远^[1,2]。无机砷化合物(包括三价砷 As³⁺ 和五价砷 As⁵⁺)毒性强,一次过量摄入可引起急性中毒;长期低剂量暴露可引起慢性砷中

毒,诱发各种皮肤病,导致肝肾功能受损,甚至导致癌症。甲基砷酸化合物[如:一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)]毒性较低,而广泛存在于水生生物体内的砷甜菜碱(AsB)、砷胆碱(AsC)、砷糖(AsS)、砷脂(AsL)等形态复杂的砷化合物通常被认为毒性很低或无毒^[1-4]。食品中最常见的无机砷化合物有五氧化二砷(As₂O₅)和三氧化二砷(砒霜, As₂O₃)及相应的砷酸(H₃AsO₄)和亚砷酸(H₃AsO₃)等^[1,2]。海产食品易于富集砷化合物,其总砷含量

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAK02A10)

作者简介:张磊 男 实习研究员

通讯作者:赵云峰 男 研究员

高,但就形态而言,主要为构成复杂的有机砷化合物,其毒性低,且不易被人体吸收^[1,2]。因此,在评价海产食品中砷污染时,砷的总量不能反映其污染状况,有必要进行形态分析,尤为重要是需要发展准确测定无机砷含量的方法。

GB/T 5009.11《食品中总砷和无机砷的测定》以6 mol/L盐酸为提取溶液,试样于水浴中热浸提后,采用原子荧光光谱法或银盐法测定无机砷。该方法在检测砷形态复杂的海洋藻类无机砷时,易造成假阳性的测定结果。这可能是试样提取的特异性不强造成的,如在提取过程中,试样所含有有机砷化合物(如砷糖)分解生成DMA等,进而干扰了无机砷的检测。为了准确测定海产食品中无机砷的含量,有必要对试样中所含砷形态化合物进行有效的分离,以减少其他砷形态化合物的干扰。张磊等以90%甲醇为提取溶液,采用Hamilton PRPX-100离子色谱柱分离,建立了动物性海产品中As、As₃、As₅、DMA和MMA的液相色谱-在线紫外消解-氢化物发生-原子荧光光谱联用的测定方法(LC-UV-HG-AFS)^[5]。本文以此方法为基础,参照美国环保局EPA 1632方法条件^[6],进一步优化试样的提取方法,以满足海产食品中无机砷含量准确测定的需要。

1 材料与方 法

1.1 材料及仪器

1.1.1 仪器 液相色谱-原子荧光光谱仪(LC-AFS)由Agilent1100高效液相色谱仪(美国Agilent公司)与AF610D型原子荧光光谱仪(北京瑞利分析仪器有限公司)组成。Excel型微波消解仪(上海屹尧微波化学技术有限公司)和Element-2型电感耦合等离子质谱(ICP-MS,美国Thermo公司)。

1.1.2 标准物质 三氧化二砷(纯度99.5%)、二甲基砷酸(纯度98%,美国Sigma公司)、甲基砷酸二钠(纯度99.0%,美国Supelco公司)、砷酸二氢钾(纯度99.0%,美国Sigma公司)。

1.1.3 样品

蟹肉罐头和海藻(Hijiki Seaweed)为英国中心科学实验室(central science laboratory, CSL)提供的食品分析水平测试(FAPAS)国际比对考核样品,经冷冻干燥后常温下避光保存。定值参考物特蛎组织(美国标准局NBS1566)。定值参考物金枪鱼(欧洲标准局BCR627)。

1.1.4 标准溶液制备

称取三氧化二砷0.0132 g,置100 ml容量瓶中,加10 ml 10 g/L氢氧化钾溶解后,加适量稀盐酸,使溶液呈弱酸性,以超纯水定容至刻度,配制砷含量为

100 mg/L的标准储备液^[5]。称取砷酸二氢钾、二甲基砷酸和甲基砷酸二钠0.0240 g、0.0184 g、0.0245 g分别溶于100 ml超纯水中,配制砷含量为100 mg/L的标准储备液。混合标准使用液临用现配。

1.1.5 试剂 甲醇(色谱纯)、三氟乙酸、盐酸(保证试剂)、氢氧化钾(保证试剂)、氨水(保证试剂)、磷酸二氢铵、硼氢化钾、超纯水(18.3 M Ω /cm)。除另有说明,所用试剂为分析纯试剂。

1.2 试样提取

1.2.1 50%甲醇溶液超声提取 称取样品0.5 g,置50 ml聚丙烯离心管中,加入10 ml 50%(体积比)甲醇溶液,涡旋混匀后,超声振荡10 min,8000 r/min离心15 min,取上清液。残渣按上述过程重复提取4次,合并上清液于50 ml玻璃离心管中,以N₂吹至近干,加入10 ml超纯水(含脂肪的试样需加入10 ml正己烷),振摇1 min后,4000 r/min离心15 min,取下层溶液,置10 ml刻度试管中,以超纯水稀释至刻度,经0.22 μ m水相滤膜过滤后以LC-AFS进行测定。

1.2.2 90%甲醇溶液超声提取 以90%甲醇为提取溶液,操作步骤同1.2.1。

1.2.3 2 mol/L三氟乙酸(TFA)溶液热浸提 称取样品0.5 g,置50 ml聚丙烯离心管中,加入10 ml 2 mol/L TFA溶液,密闭,在80℃恒温箱中保温2 h(每半小时后振摇1 min),取出冷却后,以8000 r/min离心15 min,取上清液。在残渣中加入10 ml超纯水,振摇1 min后,以8000 r/min离心15 min,取上清液。在残渣加入超纯水,再重复提取2次(尽可能清洗残渣)。合并上清液,置200 ml玻璃旋转蒸发瓶中。

含脂肪的试样(如螃蟹罐头)经上述操作后,合并的上清液置50 ml玻璃离心管中,加入25 ml正己烷,振摇1 min后,以4000 r/min离心15 min,弃去正己烷层。按此过程重复1次。用巴斯德长颈滴管小心吸取下层溶液,置玻璃旋转蒸发瓶中。

将提取液在60℃减压旋转蒸发至近干,分3次各加入5 ml超纯水,再旋蒸至近干(尽可能除去提取液中TFA残留)。残渣中加少量超纯水,多次洗涤,并转移至10 ml刻度试管中,以超纯水稀释至刻度,经0.22 μ m水相滤膜过滤后以LC-AFS进行测定。

1.2.4 2 mol/L TFA溶液超声提取 取样品0.5 g,置50 ml聚丙烯离心管中,加入10 ml 2 mol/L TFA溶液,密闭,超声30 min,以8000 r/min离心15 min,取上清液。其他步骤同1.2.3 TFA热浸提方法。

1.5 测定

1.5.1 总砷的测定 采用ICP-MS方法测定总砷含量,以考察试样的提取效率。

1.5.2 无机砷的测定 以本实验室建立的方法为

基础^[5]:采用 Hamilton PRPX - 100 阴离子交换色谱分析柱 (250 mm × 4.1 mm, 10 μm) 和预柱 (10 mm × 4.1 mm, 10 μm) (美国 Hamilton 公司) 进行分离,以 20 mmol/L 磷酸二氢铵溶液 (pH 6.0) 为流动相,等度洗脱,流速 1.0 ml/min,进样体积 100 μl。AFS 主要参数:2.4 mol/L HCl,流速 4 ml/min;3% (m/v) KBH₄ 溶液 (含 2 g/L KOH),流速 4 ml/min;负高压:320 V;灯丝总电流:90 mA,主电流/辅助电流:55/35;载气流速:800 ml/min。

2 结果与分析

2.1 提取方法的比较

分别称取海藻和蟹肉罐头样品,用 50% 和 90% 的甲醇溶液超声提取及 2 mol/L TFA 溶液热浸提和超声提取,采用 LC - AFS 分别测定砷化合物含量,并将试样提取液经微波消解后,以 ICP - MS 测定总砷含量,计算各砷化合物的提取效率,结果见表 1。图 1、图 2 分别为蟹肉罐头和海藻试样经 2 mol/L TFA 热浸提 2 h 后的液相色谱图。

在总砷测定中,以定值参考物牡蛎组织 (美国标准局 NBS1566) 进行总砷测定的质量控制,其测定值为 13.1 ± 0.2 mg/kg (n = 8),符合定值 13.4 ± 1.9 mg/kg 的要求。采用 ICP - MS 测定样品中总砷含量,蟹肉罐头总砷测定值为 12.1 ± 0.2 mg/kg (n =

表 1 不同提取方法测得的砷化合物含量^a

样品	提取方法	As (mg/kg)	As (mg/kg)	无机砷总量 ^b (mg/kg)	DMA (mg/kg)	MMA (mg/kg)	提取液中总砷含量 (mg/kg)	提取效率 (%)
蟹肉罐头	50% 甲醇溶液提取	0.026	ND ^c	0.026	ND	ND	11.0	90.8
	90% 甲醇溶液提取	ND	ND	ND	ND	ND	11.7	96.5
	2 mol/L TFA 热浸提 2 h	0.045	ND	0.045	0.040	ND	11.8	97.9
	2 mol/L TFA 超声提取	0.018	ND	0.018	0.030	ND	11.2	92.6
海藻	50% 甲醇溶液提取	1.3	41.3	42.6	2.5	ND	未检测	未检测
	90% 甲醇溶液提取	ND	2.4	2.4	ND	ND	未检测	未检测
	2 mol/L TFA 热浸提 2 h	44.2	24.1	68.3	— ^d	ND	105.9	91.1
	2 mol/L TFA 超声提取	46.8	17.3	64.1	— ^d	ND	未检测	未检测

注:a 测定结果按 As 计,以下同;b 无机砷总量 = 亚砷酸盐 (As^{III}) + 砷酸盐 (As^V); c ND 为未检出;d 海藻样品以 TFA 提取时,由于无机砷含量较高,需进行稀释,导致 DMA 未检出。

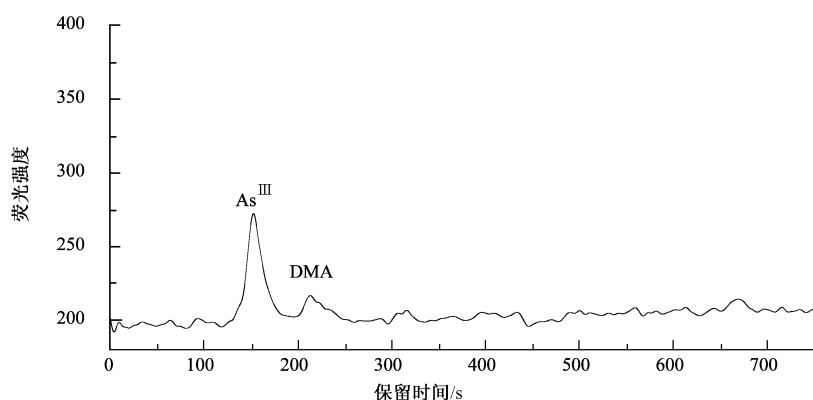


图 1 蟹肉样品液相色谱图

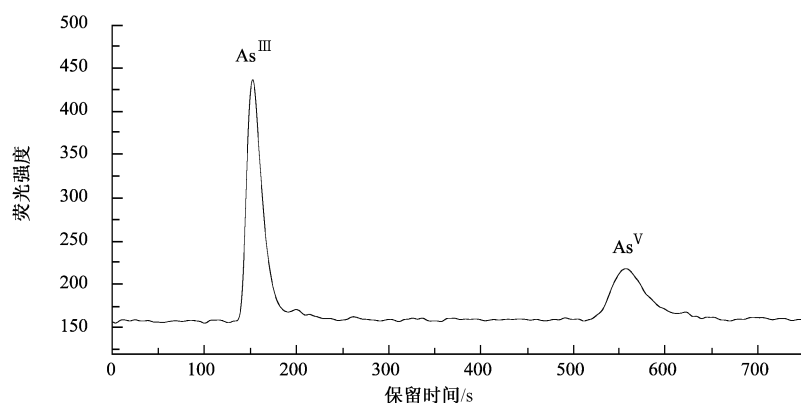


图 2 藻样品液相色谱图

12),海藻总砷测定值为 $116.2 \pm 3.3 \text{ mg/kg}$ ($n = 8$)。经 FAPAS 比对考核,2 个样品总砷测定结果的 Z 评分均小于 2。

由表 1 可见,对于蟹肉罐头样品,尽管不同提取方法获得的提取液中总砷含量基本一致,但是,甲醇和 TFA 对 As、As、MMA 和 DMA 的提取能力存在差异。50% 甲醇提取液中检出 As,未检出 MMA 和 DMA;90% 甲醇提取液中未检出无机砷(As + As)、DMA 和 MMA;2 mol/L TFA 溶液的热浸提和超声提取的提取液中检出 As 和 DMA。在 4 种提取方式中,2 mol/L TFA 热浸提对 As 和 DMA 检出的效果明显高于其他方法。

对于海藻样品,不同提取溶液对无机砷的提取效率存在显著差异,2 mol/L TFA 溶液能有效提取样品中的无机砷(As + As),热浸提和超声提取的效果差异无统计学意义,2 mol/L TFA 溶液热浸提的提取效率达 91.1%。而甲醇溶液对无机砷的提取效率较低,

尤其是 90% 的甲醇溶液,仅检出痕量的 As。

以海藻样品的 2 mol/L TFA 热浸提测定结果参加 FAPAS 国际比对考核,其 Z 评分为 0.3(见图 3)。有 31 个国家的 77 个实验室参加蟹肉罐头中无机砷测定,仅有 12 个实验室上报考核结果,组织单位未进行蟹肉罐头中无机砷考核结果的统计学比较。

2.2 热浸提对砷化合物形态的影响

在无机砷的测定中,需要保持各种砷化合物形态的稳定,以避免出现假阳性的测定结果。分别考察了浓度为 1 mg/L 的 AsB、DMA 和 MMA 标准溶液在 2 mol/L TFA 溶液中 80℃ 热浸提 8 h 的形态变化,结果见表 2。

由表 2 可见,AsB、DMA 和 MMA 标准溶液在 2 mol/L TFA 溶液中 80℃ 热浸提 8 h 后,各种有机砷的形态保持不变,与 Abedin 等^[7]所测得的主要砷形态化合物在 2 mol/L TFA 溶液中 100℃ 保持 6 h 后形态稳定的结论一致。

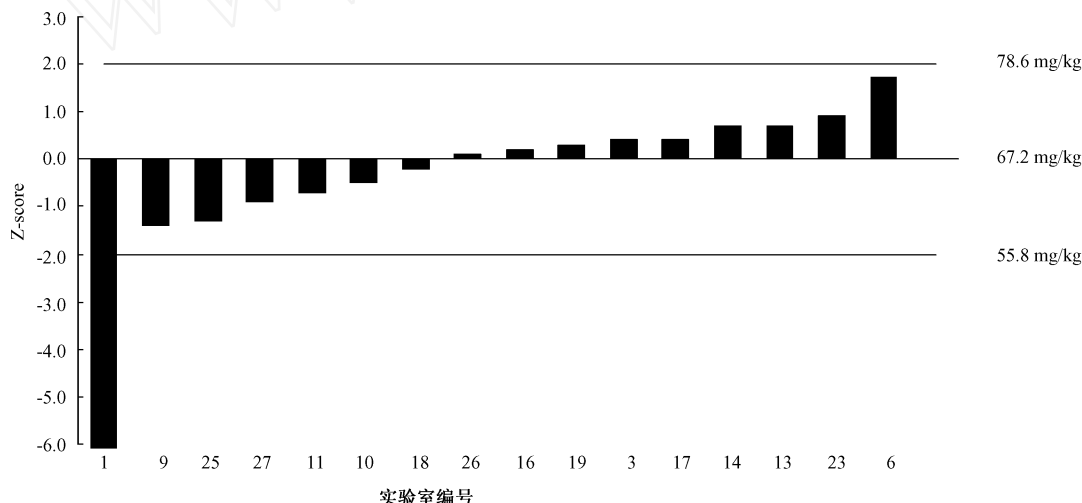


图 3 海藻样品中无机砷 Z 评分结果(本实验室编号 19)

表 2 TFA 对 AsB、DMA 和 MMA 形态的影响

化合物	检测组分							
	As		DMA		MMA		As	
	测得值 (mg/L)	回收率 (%)	测得值 (mg/L)	回收率 (%)	测得值 (mg/L)	回收率 (%)	测得值 (mg/L)	回收率 (%)
AsB	ND		ND		ND		ND	
DMA	ND		0.973	97.3	ND		ND	
MMA	0.007		ND	ND	0.977	97.7	ND	

注:ND 未检出。

2.3 TFA 溶液热浸提时间的影响

按上述 2 mol/L TFA 溶液中 80℃ 热浸提 2 h 操作,分别考察蟹肉罐头热浸提 2、4、6、8、10、12、14、16 和 18 h 及海藻样品热浸提 2、4、6、8、10 h 后无机砷、DMA 和 MMA 的变化,并与 2 mol/L TFA 溶液中 80℃ 热浸提 2 h 的结果比较,见表 3、4。

由表 3 可见,在给定提取时间范围内,蟹肉样品

中 As 未见明显改变 ($P = 0.16$, 大于 0.05, 所得数据为随机序列,与提取时间无关联)。按无机砷(As + As)计,测得的相对标准差为 11.1%,表明无机砷测定结果重现性良好;而蟹肉样品中 DMA 测得值随着提取时间的延长而明显增加 ($P = 0.04$, 小于 0.05, 所得序列不随机,测定结果与提取时间存在关联),测得的相对标准差 47.9%,测定结果不存

表3 不同热浸提时间对蟹肉罐头中砷形态化合物的影响

提取时间 (h)	As (mg/kg)	As (mg/kg)	无机砷总量 (mg/kg)	DMA (mg/kg)	MMA (mg/kg)
2	0.045	ND	0.045	0.040	ND
4	0.040	ND	0.040	0.050	ND
6	0.045	ND	0.045	0.057	ND
8	0.052	ND	0.052	0.090	ND
10	0.047	ND	0.047	0.071	ND
12	0.054	ND	0.054	0.129	ND
14	0.041	ND	0.041	0.130	ND
16	0.043	ND	0.043	0.152	ND
18	0.040	ND	0.040	0.168	ND
均值	0.045		0.045	0.099	
标准差	0.005		0.005	0.047	
相对标准差(%)	11.1		11.1	47.9	
P值	0.16		0.16	0.04	

注:ND未检出, P值的计算采用游程检验(Run Test)精确概率法^[8]。

表4 不同热浸提时间对海藻中砷形态化合物的影响

提取时间 (h)	As (mg/kg)	As (mg/kg)	无机砷总量 (mg/kg)	DMA (mg/kg)	MMA (mg/kg)
2	44.2	24.1	68.3	ND	ND
4	46.6	17.0	63.6	ND	ND
6	39.9	27.8	67.7	ND	ND
8	50.5	16.8	67.3	ND	ND
10	49.5	19.6	69.1	ND	ND
均值	46.1	21.1	67.2		
标准差	4.3	4.8	2.1		
相对标准差(%)	9.3	22.7	3.1		
P值	0.44	0.44	0.34		

注:ND未检出, P值的计算采用游程检验(Run Test)精确概率法^[8]。

在一致性。

由表4可见,海藻样品中未检出DMA和MMA,检出高含量As和As,其测定值与提取时间不存在关联($P=0.44$,大于0.05,序列随机),测得的As和As相对标准偏差分别为9.3%和22.7%,而无机砷(As+As)测定结果与热浸提时间不存在关联,相对标准偏差为3.1%,表明海藻中无机砷测定结果保持稳定,不受热浸提时间的影响。

2.4 定值参考物BCR627的测定

BCR627(金枪鱼)为欧洲标准局的定值参考物,DMA参考值 $150 \pm 22.5 \mu\text{g/kg}$ (以As计)。称取参考物0.5g,分别采用甲醇溶液和2 mol/L TFA为提取溶液进行提取,结果见表5。

表5 不同提取方法对质控参考物BCR627中砷化合物的影响($n=2$)

提取方法	As	As	DMA	MMA
50%甲醇溶液超声提取	ND	ND	0.163	ND
90%甲醇溶液超声提取	ND	ND	0.158	ND
2 mol/L TFA热浸提2 h	ND	ND	0.170	ND
2 mol/L TFA热浸提8 h	ND	ND	0.201	ND
2 mol/L TFA超声提取	ND	ND	0.168	ND

注:ND未检出。

由表5可见,50%甲醇和90%甲醇超声提取、2 mol/L TFA溶液超声提取以及2 mol/L TFA溶液热浸提2 h所测得DMA含量符合定值要求,而热浸提8 h后测得值偏高,不符合定值要求。

3 讨论

3.1 海产品中砷化合物的提取方法

早期无机砷测定中多以强酸强碱作为提取剂,但随着对砷形态化合物认识的深入,发现强酸强碱导致了某些砷化合物形态发生改变而无法满足测定的要求。在砷化合物分析中,要求所采用的提取方法能有效提取目标化合物,且不改变样品中各组分的最初形态,并要求提取溶液对测定不产生干扰^[1]。水以及不同比例甲醇+水混合溶液、氯仿等被用于海产品中砷化合物的提取,但普遍存在提取效率低和不稳定的问题^[10]。同时,研究显示,在砷形态分析中样品所含的内源性砷形态化合物比外源性添加的难以提取^[5],这提示由于样品中所含部分砷形态化合物与生物大分子结合或者被生物大分子包裹而难以被测定,如现在比较明确的无机砷在生物体内是以与巯基键结合的形式存在^[11]。因此,某些酸溶液被重新作为提取剂而被使用,EPA 1632方法提出了以盐酸作为提取液测定组织样品中的无机砷,但该方法在食品无机砷测定中应用较少^[9]。以2 mol/L TFA溶液为提取剂可有效克服大米中无机砷、DMA和MMA难以分析的问题,虽然分析中会导致部分As还原为As,但对无机砷总量(As+As)的准确测定没有任何影响^[12,13]。

本研究以2 mol/L TFA溶液作为提取剂应用于海产品中无机砷的测定,并考察DMA、MMA对测定的影响。多种提取方式对比的结果显示(表1),在蟹肉样品测定中,尽管50%甲醇溶液、90%甲醇溶液、2 mol/L TFA热浸提和2 mol/L TFA超声提取的提取效率基本一致,但不同提取方法对无机砷和甲基砷的提取能力存在显著差别。甲醇溶液的提取能力弱于TFA溶液,其中90%甲醇溶液未能有效提取样品中无机砷和甲基砷,说明在砷化合物的测定中,提取效率不能充分反映对目标化合物的提取能力。2 mol/L TFA溶液热浸提提取能力强于2 mol/L TFA溶液超声提取,说明热浸提更能有效释放样品中无机砷和甲基砷化合物(注:砷形态化合物稳定性讨论见下文)。海藻样品的无机砷测定结果显示,2 mol/L TFA溶液较不同比例的甲醇溶液具有更高的提取能力。大多数食品中无机砷含量较低,在砷形态化合物构成中所占比例较低,其无机砷的提取效果会被其他高含量的砷化合物所掩盖,为此,有必

要针对无机砷的测定要求提出适宜的提取方法。TFA是一种易挥发的还原性有机酸,挥发性强于硝酸、盐酸等,而氧化能力明显弱于浓硝酸等强酸,是食品中无机砷测定较为适宜的提取溶液。

3.2 砷形态化合物的稳定性

砷形态化合物的稳定性决定着测定结果的准确性,基于砷形态化合物稳定性考虑,砷形态分析中不推荐使用酸碱提取液^[1]。但研究发现,有机砷化合物难以被分解为无机砷,Goessler等对动物性海产品中主要含有的多种砷化合物在强氧化环境(热浓硝酸)中的稳定性进行了系统研究^[14]。在考察的砷形态化合物(DMA、MMA、AsB、AsC、TMAO(Trimethylarsine oxide)和TETRA(Tetramethylarsonium ion)中,在不同温度(100~300)的浓硝酸中加热30 min,在200时,除有59% MMA转化为As外,其他有机砷化合物保持稳定,难以转变为无机砷和DMA、MMA。本研究以2 mol/L TFA溶液热浸提蟹肉样品时,无机砷测得值与热浸提时间无关联,表明未发生其他砷化合物向无机砷的转化;DMA测得值随着热浸提时间增加而增高,DMA测得值与热浸提时间存在关联性,说明随着热浸提时间的延长,提取的DMA逐渐增加。定值参考物BCR627采用2 mol/L TFA溶液热浸提2 h后,测得的DMA结果都符合定值,而热浸提8 h后DMA测得值大于参考值,这可能是样品中含有其他砷化合物的影响。

藻类样品中主要含有砷糖,由于砷糖的标准品难以获得,未能考察其对无机砷测定的影响。虽然有研究显示,砷糖类化合物可以分解为某些简单砷化合物,进而参与硼氢化反应^[15,16],但就图3和表4结果来看,海藻样品中测得的无机砷呈随机序列,与热浸提时间不存在关联,因此,本研究认为在所述测定条件下藻类样品中的砷糖类化合物对无机砷的测定不存在干扰。

3.3 砷化合物的测定方法

砷化合物测定方法主要包括色谱分离与元素检测器联用的测定方法和非色谱分离的测定方法。EPA 1632和我国GB/T 5009.11均属于后者。在EPA 1632方法中,以盐酸为提取溶液,样品中无机砷、DMA和MMA与硼氢化合物形成3种不同气态砷氢化合物,被冷阱收集,根据不同砷氢化合物的沸点不同而被分离,采用氢化物发生石英炉原子吸收光谱法(Hydride Generation Quartz Furnace Atomic Absorption Spectrometry)测定^[6]。在GB/T 5009.11方法中,样品中无机砷以盐酸提取后,经氢化物发生,生成气态砷氢化合物,以原子荧光光谱法或银盐溶液吸收的分光光度法测定,但是,样品中DMA和MMA等反应生成

的砷氢化合物对无机砷测定造成干扰。

色谱分离与元素检测器联用方法,如液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(LC-ICP/MS)、液相色谱-在线紫外消解-氢化物发生-原子荧光光谱法(LC-UV-HG-AFS)等逐渐应用在食品中砷形态分析中^[1]。由于砷形态化合物种类繁多,样品前处理提取效率低、不稳定等,使得食品中(尤其是海产品)无机砷的测定方法有待进一步完善。

本文采用Hamilton PRPX-100离子色谱柱进行无机砷、DMA和MMA有效分离,以AFS测定。由于除无机砷、DMA和MMA外绝大多数砷形态化合物难以形成气态砷氢化合物,因而可以避免其他砷形态化合物对无机砷测定的干扰,以确保复杂砷形态食品中无机砷的准确测定。

致谢 感谢广东省疾病预防控制中心梁春穗主任技师对本文提出的宝贵修改意见

参考文献

- [1] GOESSLER W, KUEHNELT D. Sample preparation for arsenic speciation [J]. Comprehensive analytical chemistry, 2003, 41:1027-1044.
- [2] LE X C, LU X F, LI X F. Arsenic speciation [J]. Anal. Chem., 2004, 76(1):27A.
- [3] LI W H, WEI C, ZHANG C, et al. A survey of arsenic species in chinese seafood [J]. Food Chem Toxicol, 2003, 41(8):1103-1110.
- [4] 吴永宁,江桂斌. 重要有机污染物痕量与超痕量检测技术 [M]. 北京:化学工业出版社,2006.
- [5] 张磊,周蕊,李筱薇,等. 动物性海产品中砷形态分析方法的研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2008, 42(5):298.
- [6] EPA. Method 1632: Chemical speciation of arsenic in water and tissue by hydride generation quartz furnace atomic absorption spectrometry [S/OL]. [1998-09-04]. <http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/files/1632.pdf>.
- [7] ABEDIN J, CRESSER M S, MEHARG A A, et al. Arsenic accumulation and metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Environ Sci Technol, 2002, 36(5):962-968.
- [8] Duncan A J. Quality control and industrial statistics [M]. 4th ed. Homewood, Illinois: Richard D. Irwin, Inc. 1974.
- [9] PESHUT P J, MORRISON R J, BROOKS B A. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa [J]. Chemosphere, 2008, 71(3):484.
- [10] 张磊,赵云峰,吴永宁. 不同形态砷化合物稳定性研究和砷形态分析中样品前处理技术 [J]. 国外医学-卫生学分册, 2007, 34(4):238-244.
- [11] 吴永宁. 现代食品安全科学 [M]. 北京:化学工业出版社, 2003:4.
- [12] HEITKEMPER D T, VELA N P, STEWART K R, et al. Determination of total and speciated arsenic in rice by ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Anal At Spectrom, 2001, 16(4):299-306.
- [13] WILLIAMS P N, PRICE A H, RAAB A, et al. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure [J]. Environ Sci Technol, 2005, 39(15):5531-5540.

论著

老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平变化及海洋胶原肽对其影响的研究

刘志刚 裴新荣 张召锋 梁江 王楠 王军波 李勇
(北京大学公共卫生学院营养与食品卫生学系,北京 100191)

摘要:目的 探讨老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平变化及海洋胶原肽对其血清睾酮水平的影响。方法 48 只 SPF 级健康初断乳雄性 SD 大鼠,随机分为对照组和海洋胶原肽剂量组(饲料中海洋胶原肽含量分别为 2.25%、4.50%和 9.00%),每组 12 只,长期单笼喂养,测定 12、18、24 月龄时血清中睾酮水平及 12、18 月龄时血清丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。结果 对照组在 12、18、24 月龄时血清睾酮含量分别为 0.89 ± 0.16 、 0.58 ± 0.23 和 0.30 ± 0.11 ng/ml;海洋胶原肽干预后,12 月龄时,4.50%剂量组血清睾酮含量显著高于对照组,而 9.00%剂量组却显著减少;18 月龄时各组血清睾酮含量较 12 月龄时均显著降低。12 月龄时,与对照组相比,各剂量组血清 MDA 含量显著降低,SOD 及 GSH-Px 活性显著升高。18 月龄时,4.50%、9.00%剂量组血清 MDA 含量显著低于对照组,3 个剂量组血清 SOD 活性仍显著高于对照组。随年龄增长,各组血清 MDA 含量均呈现上升趋势,SOD 和 GSH-Px 活性均呈现下降趋势。结论 老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平呈增龄性递减趋势,海洋胶原肽可通过其抗氧化作用影响雄性 SD 大鼠老年时血清睾酮含量。

关键词:肽;胶原;睾酮;抗氧化;衰老;生物医学研究

Serum Testosterone Levels of Aging SD Male Rats and Effects of Marine Collagen Peptides

LIU Zhi-gang, PEI Xin-rong, ZHANG Zhao-feng, LIANG Jiang, WANG Nan, WANG Jun-bo, LI Yong
(Department of Food and Nutritional Hygiene, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To investigate the serum testosterone level of aging SD male rats and the effect of marine collagen peptides (MCPs) on them. **Method** 48 SD male rats were randomly divided into 4 groups according to their different doses of MCPs (0 control, 2.25%, 4.50% and 9.00%) with 12 rats in each. Serum testosterone was measured at the ages of 12, 18 and 24-month. MDA contents and SOD, GSH-Px activities in blood serum were measured at the ages of 12, 18 and 24-month. **Results** Serum testosterone levels of 12, 18 and 24-month-old rats in control group were 0.89 ± 0.16 , 0.58 ± 0.23 , 0.30 ± 0.11 ng/ml. Serum testosterone level of 4.50% dose group was significantly higher than those of control group and serum testosterone level of 9.00% dose group was significantly lower at the ages of 12-month. Compared with the 12-month-old rats, serum testosterone levels of all groups in 18-month-old rats were significantly lower. Compared with control group, MDA levels of serum were significantly lower and the activities of serum SOD and GSH-Px were obviously higher in three dose groups at 12-month-old. At 18-month-old, serum MDA levels of 4.50% and 9.00% dose group were lower than control group and the activities of serum SOD in three dose groups were still higher. The serum MDA levels of all the groups increased, and the activities of serum SOD and GSH-Px decreased as the rats got older. **Conclusion** Serum testosterone level of aging SD male rats decreased, and MCPs could affect them as the antioxidants if the rats were treated at an early age.

Key word: Peptide; Collagen; Testosterone; Antioxidant; Aging; Biomedical Research

- [14] GOESSLER W, PAVKOV M. Accurate quantification and transformation of arsenic compounds during wet ashing with nitric acid and microwave assisted heating [J]. *Analyst*. 2003, 128 (6): 796-802.
- [15] GAMBLE B M, GALLAGHER P A, SHOEMAKER J A, et al. An investigation of the chemical stability of arsenosugar in simulated gastric juice and acidic environments using IC-ICP-MS and IC-ESI-MS/MS[J]. *Analyst*, 2002, 127: 781-785.
- [16] REGMI R, MILNE B F, FELDMAN J. Hydride generation activity of arsenosugars and thioarsenicals[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 388: 775-782.

[收稿日期:2008-11-20]

中图分类号:R15;O613.63;O657.31;O657.72 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2009)02-0097-07

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD27B08)

作者简介:刘志刚 男 硕士生

通讯作者:李勇 男 教授/博士生导师