

高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用 测定婴幼儿辅食中的无机砷

侯艳霞^{1,2}, 刘丽萍^{1,*}, 潘浩³, 杜振霞², 李筱薇³

(1.北京市疾病预防控制中心, 北京 100013; 2.北京化工大学理学院, 北京 100029;

3.中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021)

摘要:目的: 拟建立婴幼儿辅食食品中无机砷含量的测定方法。方法: 以 0.15 mmol/L 硝酸溶液为提取剂, 90 °C 热浸提取婴幼儿辅食食品(米粉类及罐头类)中无机砷, 采用 Hamilton PRP-X100(250 mm × 4.1 mm, 10 μm)色谱柱分离, 建立高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, HPLC-ICP/MS)联用技术测定其含量的方法。结果表明: As(III)与 As(V)的线性范围为 0.5~400 μg/L, 线性相关系数(r)优于 0.9990, 检出限分别为 0.06 μg/L 和 0.08 μg/L, 无机砷的加标回收率在 80.5%~128.5% 之间, 相对标准偏差(RSD) < 5%。结论: 方法简便、准确、灵敏, 适用于婴幼儿辅食食品中无机砷含量的测定。

关键词: 高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用技术; 婴幼儿辅食食品; 无机砷; 测定

Determination of Inorganic Arsenic in Complementary Foods for Infants and Young Children by HPLC-ICP/MS

HOU Yan-xia^{1,2}, LIU Li-ping^{1,*}, PAN Hao³, DU Zhen-xia², LI Xiao-wei³

(1. Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China;

2. School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China;

3. Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China)

Abstract: Objectives: To establish a high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry method for the determination of inorganic arsenic in complementary food for infants and young children. Methods: Sample preparation was achieved by extraction with 0.15 mmol/L nitric acid at 90 °C. Chromatographic separation was performed on a Hamilton PRP-X100 column (250 mm × 4.1 mm, 10 μm). Results: The linear ranges for As(III) and As(V) were both between 0.5 μg/L and 400 μg/L with a correlation coefficient of more than 0.9990. The detection limits for As(III) and As(V) were between 0.06 μg/L and 0.08 μg/L, and the spike recoveries were in the range of 80.5%—128.5% with a relative standard deviation (RSD) of less than 5%. Conclusions: This method was simple, sensitive and accurate, and could be used to determine the inorganic arsenic levels in complementary foods for infants young children.

Key words: high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP/MS); complementary foods for infants and young children; inorganic arsenic species; determination

中图分类号: O655.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0281-04

婴幼儿辅食食品是一类添加适量营养成分以补充婴幼儿营养达均衡的食品, 主要用于补充婴幼儿身体成长所必需营养成分^[1-2], 其食品安全备受关注, 食品中重金属含量是食品安全领域关注的焦点, 而其中的砷含量又是重点中的重点^[3-5]。食品中存在的砷化合物主要为无机砷[包括: As(III)、As(V)]和有机砷[包括: 一甲基砷(MMA)、二甲基砷(DMA)、砷甜菜碱(AsB)、砷胆

碱(AsC)和砷糖等], 其中又以无机砷的毒性最高, MMA、DMA 次之, AsB、AsC 和砷糖一般被认为是无毒的^[6-7]。长时间摄入微量无机砷可致癌, 尤其对于婴幼儿。因此关注婴幼儿辅食食品中的无机砷是保证婴幼儿健康成长的基本要求^[8]。由于婴幼儿辅食食品的基质与添加物不同, 加之砷化合物各形态的毒性差异较大, 分析其中砷的不同形态, 尤其是毒性较大的无机砷可以为评价

收稿日期: 2011-07-01

作者简介: 侯艳霞(1985—), 女, 硕士研究生, 主要从事无机元素分析及形态研究。E-mail: houyanxia1986@126.com

* 通信作者: 刘丽萍(1965—), 女, 主任技师, 主要从事元素及形态分析。E-mail: llp9312@yahoo.com.cn

此类食品的安全性提供有效依据。目前针对这类食品中无机砷的检测,国内文献报道较少,究其原因是因为有效分离不同添加基质中的无机砷与有机砷是此类方法的技术关键。无机砷作为Ⅰ类致癌物是食品安全中必须关注的,而检测方法如果不能做到有效地分离无机砷和有机砷化合物,则会造成食品安全监管领域的被动。

目前,进行砷形态分析较常采用的方法有高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)与电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP/MS)^[9-11]、原子荧光光谱(atomic fluorescence spectrometry, AFS)^[12]、原子吸收光谱(atomic absorption spectroscopy, AAS)^[13]等联用技术。而 HPLC-ICP/MS 由于其灵敏度高、检出限低、分离效果好等特点已成为目前元素形态分析中最常用的方法。本研究使用 0.15mmol/L HNO₃ 溶液热浸提取^[14],有效分离不同添加基质中的无机砷和有机砷后,采用 HPLC-ICP/MS 技术进行测定,拟建立婴幼儿辅助食品中无机砷的测定方法,以期有效执行国家食品安全标准提供检测技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

婴幼儿辅食:罐头类和米粉类。

砷标准物质:亚砷酸根(As(III))标准物质(GBW08666)、砷酸根(As(V))标准物质(GBW08667)、一甲基砷酸(MMA)标准物质(GBW08668)、二甲基砷酸(DMA)标准物质(GBW08669)、砷甜菜碱(AsB)标准物质(GBW08670)中国计量科学研究院;质谱调谐液:Li、Y、Ce、Tl、Co(质量浓度均为 10μg/L) 美国 Agilent 公司;超纯水(电阻率 18.2MΩ·cm);磷酸氢二铵((NH₄)₂HPO₄)、氨水(NH₃·H₂O)、硝酸(HNO₃)均为优级纯,硝酸铵(NH₄NO₃)为分析纯。

1200 高效液相色谱仪(HPLC)、7500a 电感耦合等离子体质谱仪 美国 Agilent 公司;Hamilton PRP-X100 分离柱(250mm×4.1mm, 10μm)、Hamilton PRP-X100 保护柱(20mm×4.1mm, 10μm)、Millplus 超纯水处理系统(电阻率 18.2MΩ·cm)、恒温干燥箱、高速冷冻离心机、涡旋仪等。

1.2 方法

1.2.1 高效液相色谱条件及 ICP-MS 条件

HPLC 条件:Hamilton PRP-X100 分离柱(250mm×4.1mm, 10μm)、Hamilton PRP-X100 保护柱(20mm×4.1mm, 10μm);流动相为 5mmol/L (NH₄)₂HPO₄-10mmol/L NH₄NO₃(pH9.2, 氨水调节);流速 1mL/min;进样体积 40μL。

ICP-MS 条件:RF 入射功率 1380W,射频电压 1.68V,载气为高纯液氦,载气流速 0.65mL/min,辅助气流速 0.4mL/min,泵速 0.3r/min,检测 As(m/z 75)、Cl(m/z 35)。

1.2.2 样品预处理

称取婴幼儿辅助食品约 0.50g 于 15mL 聚丙烯离心管中,加入 5mL 0.15mmol/L 硝酸溶液,于涡旋仪涡旋混匀,置于 90℃恒温烘箱中加热提取 2.5h,每隔 0.5h 取出涡旋一次。提取后取出于 4℃冰箱中静置 5min,取上清液置 15mL 离心管中,加入等体积正己烷,振荡 1min 后,9000r/min 离心 15min,取下层清液过 0.22μm 水系滤膜,上 HPLC-ICP/MS 分析。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

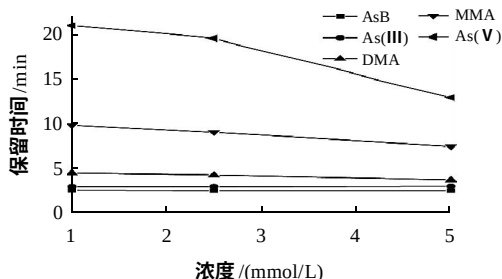


图 1 (NH₄)₂HPO₄ 浓度对保留时间的影响
Fig.1 Effect of (NH₄)₂HPO₄ concentration on the retention time of inorganic arsenic

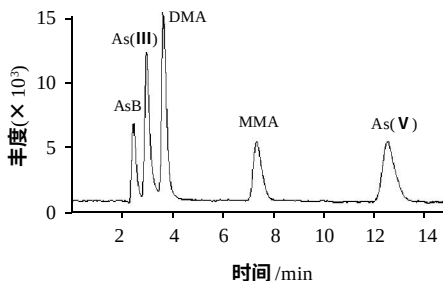


图 2 5 种砷化合物混合标准溶液(20μg/L)分离图
Fig.2 HPLC chromatogram of five mixed arsenic standards (20μg/L)

根据文献^[15]报道,结合 HPLC-ICP/MS 的特点,选择(NH₄)₂HPO₄和 NH₄NO₃为流动相,为准确定性定量分析无机砷,建立常见的 5 种形态砷,即 As(III)、As(V)、MMA、DMA、AsB 的分离方法。AsB 在溶液中为阳离子状态,As(III)在酸性及近中性时为中性离子状态,碱性情况下为阴离子状态,AsB 与 As(III)在酸性及近中性情况下难以分离,调整流动相 pH 值至碱性(9.2 左右),以保证两者分离。考虑到离子强度对

砷形态分离的影响,对 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 的浓度进行优化实验,加入10mmol/L NH_4NO_3 主要为缩短As(V)的保留时间,结果见图1,经优化选择,以5mmol/L的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 和10mmol/L NH_4NO_3 为流动相(pH9.2),流速为1mL/min,基本实现5种砷化合物形态的分离,结果见图2。

2.2 样品提取条件选择

选0.15mmol/L HNO_3 溶液为提取剂,在烘箱中热浸提取婴幼儿辅助食品中的无机砷,以大米样品为基质分别对热提温度及时间进行优化。结果表明,随温度升高,由75~100℃,无机砷浓度逐渐增加至一平台区,温度低时提取不完全,温度大于95℃时,水溶液被蒸发导致测定结果偏高,因此选择90℃浸提2.5h为样品提取条件。

2.3 方法线性范围及检出限

取一定量各砷化合物标准物质配制成20mg/L混合标准储备液,逐级稀释,分别配制0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、400.0μg/L的标准系列,按所建方法进行线性范围实验。结果表明,各砷化合物线性范围较宽,在0.5~400.0μg/L质量浓度范围内,线性相关系数(r)优于0.9990;以3倍信噪比($R_{\text{SN}}=3$)计算检出限,实验结果见表1。

表1 方法的线性范围

Table 1 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients and detection limits of As(III) and As(V)

砷形态	线性范围/(μg/L)	线性方程	相关系数	检出限/(μg/L)
As(III)	0.5~400.0	$y=30802x-17672$	0.9995	0.06
As(V)	0.5~400.0	$y=38621x-74170$	0.9990	0.08

2.4 方法精密度

以精密度考察方法的重现性,由于婴幼儿食品中无机砷含量较低,模拟制备两个浓度水平无机砷含量的样品,按所建方法进行精密度实验。计算无机砷含量的相对标准偏差(RSD),RSD均小于5%,结果见表2。

表2 婴幼儿辅助食品精密度实验($n=6$)

Table 2 Precision RSDs for determination of different inorganic arsenic species in complementary foods for infants and young children by the method ($n=6$)

编号	砷形态	测定值/(μg/kg)							测定均值/ (μg/kg)	RSD/ %
1	As(Ⅲ)	19.4	19.3	20.3	19.1	19.3	19.4	19.5	2.2	
	As(Ⅴ)	17.8	6.7	18.03	16.7	16.9	17.3	17.3	3.4	
	As(Ⅲ)+ As(Ⅴ)	37.1	36.1	36.4	38.3	35.9	36.3	36.7	2.5	
2	As(Ⅲ)	111.0	112.7	116.8	117.0	120.3	119.5	116.2	3.2	
	As(Ⅴ)	113.5	115.9	111.8	109.4	114.1	105.3	111.7	3.4	
	As(Ⅲ)+ As(Ⅴ)	224.5	224.8	224.5	226.2	217.0	224.8	223.7	1.5	

2.5 方法准确性

以加标回收率和标准参考物质考查方法的准确性,取0.5g婴幼儿辅助食品样品,加入3个不同浓度水平的无机砷混合标准溶液,按所建方法进行加标回收实验。无机砷加标回收率均在80.5%~128.5%之间,结果见表3。

表3 婴幼儿谷类辅助食品加标回收实验

Table 3 Spike recoveries for As(III) and As(V) in cereal-based complementary foods for infants and young children

砷形态	本底值/(μg/L)	加入值/(μg/L)	测定值/(μg/L)	回收率/%
As(III)	6.1	20.0	21.1~26.0	75.1~99.2
	6.1	50.0	59.9~70.3	107.5~128.3
	6.1	100.0	134.1~145.6	128~139.4
As(V)	1.9	20.0	18.0~20.9	80.4~95.2
	1.9	50.0	44.9~57.2	85.9~110.5
	1.9	100.0	109~119.5	107.1~117.6
As(III)+As(V)	8.0	40.0	40.2~44.3	80.5~90.7
	8.0	100.0	110.4~117.0	102.4~109.0
	8.0	200.0	243.1~265.1	117.6~128.5

选与婴幼儿辅助食品基质相近的标准物质NIST SRM 1568a(national Institute of standards and technology standard reference materials)用所建方法测定无机砷含量,用ICP-MS方法测定总砷含量。标准物质证书仅给出总砷含量,无机砷含量为文献[16]参考值,结果见表4。

表4 SRM1568a大米标准物质测定结果($n=4$)

Table 4 Results of determination of inorganic arsenic and total arsenic in NIST standard material SRM 1568a ($n=4$)

NIST SRM1568a	测定值/(μg/kg)	平均值/(μg/kg)	参考值/(μg/kg)
无机砷	105.5、104.7、109.1、92.6	103.3	80~109 ^[16]
总砷	261.0、262.2、303.1、300	281.6	290±30

2.6 实际样品测定

表5 实际样品测定结果

Table 5 Results of determination of As(III) and As(V) content in cereal-based or canned complementary foods for infants and young children

待测食品	As(III)/(μg/kg)	As(V)/(μg/kg)	As(III)+As(V)/(μg/kg)
婴幼儿谷类食品	1 76.3	ND	76.3
	2 42.5	10	52.5
婴幼儿罐头食品	1 ND	ND	ND
	2 ND	ND	ND
	3 7	ND	7

注:ND.未检出。

采用所建方法对5种婴幼儿辅助食品无机砷含量进行测定,结果见表5。表5显示,婴幼儿辅助食品中无机砷含量与其基质、产地相关,一般的样品中含量较低,符合GB 10769—2010《婴幼儿谷类辅助食品》的要求。图3为测定的婴幼儿辅食中砷形态色谱图。

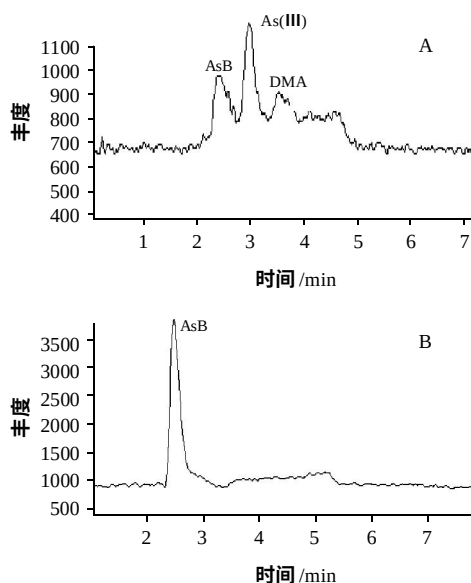


图3 婴幼儿谷类食品(A)和罐头食品(B)色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of arsenic in cereal foods (A) and canned food (B) for infants and young children

3 结 论

以0.15mmol/L HNO_3 硝酸为提取剂,90℃浸提2.5h,采用HPLC-ICP/MS测定婴幼儿辅助食品中砷化合物含量,选择5mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液-10mmol/L NH_4NO_3 溶液(pH9.2)为流动相,在14min内5种砷化合物可以完全分离。从食品安全角度出发,重点监测婴幼儿辅助食品中无机砷含量,经方法学考察及实际样品测定,实验结果表明所建方法快速、灵敏、准确,适合婴幼儿辅助食品中无机砷含量的测定,为有效执行国家食品安全标准,保证监管力度以及保障婴幼儿食品的食用安全性提供了可靠的技术支持。

参 考 文 献 :

- [1] 温靖,肖更生,唐道邦.我国婴幼儿辅助食品发展现状及对策[J].中国食物与营养,2006(9):55-57.
- [2] 孙倩倩,盛晓阳.辅助食品添加对6~24月龄婴幼儿生长发育和健康的影响[J].中国妇幼保健,2009(26):3573-3574.
- [3] LJUNG K, PALM B, GRANDER M, et al. High concentrations of essential and toxic elements in infant formula and infant foods: a matter of concern[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 943-951.
- [4] MEHARG A, SUN GUOXIM, WILLIAMS P, et al. Inorganic arsenic levels in baby rice are of concern[J]. Environmental Pollution, 2008, 152(3): 746-749.
- [5] MELO R, GELLEIN K, EVJE L, et al. Minerals and trace elements in commercial infant food[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(10): 3339-3342.
- [6] DEVESA D, VELEZ D, MONTORO R. Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(1): 1-8.
- [7] 韦昌金,刘丽萍.无机砷分析方法的探讨[J].现代分析仪器,2006(6):63-65.
- [8] TSUJI J, YOST L, BARRAJ L, et al. Use of background inorganic arsenic exposures to provide perspective on risk assessment[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2007, 48(1): 59-68.
- [9] 王玲梅,韦朝阳.利用高效液相色谱-动态反应池模式-等离子体质谱法测定水稻中的砷形态[J].环境化学,2010,29(4):729-733.
- [10] 吕超,刘丽萍,董慧茹,等.高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定水产类膳食中5种砷形态的方法研究[J].分析测试学报,2010,29(5):465-468.
- [11] CIARDULLO S, AURELI F, RAGGI A, et al. Arsenic speciation in freshwater fish: Focus on extraction and mass balance[J]. Talanta, 2010, 81(1/2): 213-221.
- [12] 张磊.液相色谱-原子荧光光谱法测定食品中砷形态的研究[D].北京:中国农业大学,2007.
- [13] 秦向东.原子吸收光谱法在砷形态分析中的应用[J].焦作大学学报,2009(2):88-90.
- [14] HAMANO-NAGAOKA M, NISHIMURA T, MATSUDA R, et al. Evaluation of a nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in rice[J]. Journal of the Food Hygienic of Japan Society, 2008, 49(2): 95-99.
- [15] 曹惠君,李敏,徐浩.食品中砷形态分析方法的研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(3):500-505.
- [16] HUANG J, ILGEN G, FECHER P. Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains[J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2010, 25: 800-802.