

无机砷分析方法的探讨

韦昌金¹ 刘丽萍² 刘霁欣^{1*} 刘明钟¹⁽¹⁾北京吉天仪器有限公司 北京 100016 ⁽²⁾北京疾病预防控制中心检测中心 北京 100013)

摘 要 当前,无机砷(iAs)检测工作中存在一些问题,已经引起了一些误报。本工作采用高压液相色谱-氢化物发生原子荧光(HPLC-HGAFS)联用技术检测了无机砷常用检测方法中前处理过程的中间产物,结果显示常用方法在测量砷糖(AsS)含量较高的海生植物类样品时会出现误报,原因在于将砷糖(AsS)分解产生的小分子有机砷二甲砷(DMA)误报为无机砷(iAs),使得测量结果显著偏高。

关键词 高压液相色谱;氢化物发生原子荧光;无机砷检测;海生植物

中图分类号 0657.39

The Discussion for Determination Method of Inorganic Arsenic

Wei Changjin¹, Liu Liping², Liu Jixin^{1*}, Liu Mingzhong¹⁽¹⁾Beijing Titan Instruments Co.,Ltd., Beijing 100086, China ⁽²⁾Beijing centers for diseases control, Beijing 100013, China)

Abstract At present, there exists some mistakes in the determination of inorganic arsenic of some seaweeds, which contain high-level arsenosugar. By employing the HPLC-HGAFS technology, it was found that the arsenosugar was decomposed to the organic dimethylarsenate during the conventional pretreatment process. The intermediated dimethylarsenate was mistaken as inorganic arsenic species, so that the level of the inorganic arsenic in the seaweeds was much overestimated.

Key words HPLC; HGAFS; determination of inorganic arsenic; seaweeds

1 引言

当前,元素分析化学的一项前沿内容是对元素的不同形态进行定性和定量,而不仅仅是测定元素的总量,这主要是因为同一元素的不同形态可能具有完全不同的化学和毒理性质,砷是其中的一个典型元素。在自然界中,砷的主要形态有:砷酸盐(As^{V})、亚砷酸盐(As^{III})、一甲基砷化合物(MMA)、二甲基砷化合物(DMA)、三甲基砷的氧化物(TMAO)、砷甜菜碱(AsB)、砷胆碱(AsC)和砷糖(AsS)等,其中的无机砷(iAs,包括 As^{V} 、 As^{III})的毒性很高;而有机砷中仅有MMA和DMA有较小的毒性,其它有机形态大多无毒,所以也可简单的认为无机砷的含量基本能够反映有毒砷的含量,这也是测量无机砷的卫生学基础。国内常用的无机砷检测方法^[1, 2]的核心是基于“6mol/L HCl可将待测样品中的无机砷溶出,而有机砷不能溶出”的原理,将样品用6mol/L HCl提取18h后,过滤,再稀释到含HCl 2.4mol/L,之后加入KI+硫脲还原10min左右测量。

近来,继广西省检出大量紫菜中无机砷超标^[3]以来,国家工商局又报道了44.9%的紫菜、海带中无机砷超标^[4],甚至引发了紫菜、海带能否安全食用的讨论^[5]。对于这一问题有一种解释是海洋污染,但同一海域出产的动

物型海产品用该方法测量则完全正常,显然污染说是靠不住的。同时,根据文献报道^[6, 7],砷在海产品中的主要存在形式有5种:iAs(剧毒)、AsB(无毒)、AsC(无毒)、DMA(低毒)、AsS(无毒)。海生动物型食品中的主要砷形态是AsB、AsC和少量DMA;海生植物型食品中主要砷形态是AsS和少量DMA。紫菜属海生植物型食品,其中砷主要是以AsS的形式存在,几乎不含无机砷。

那么,为什么会出现上述的检测结果呢?通过基于高效液相色谱-氢化物发生原子荧光(HPLC-HGAFS)和HGAFS对常用方法检测过程的中间产物进行监测,可以发现常用方法实际是将DMA误报成了iAs。

2 实验条件

2.1 仪器

HPLC-HGAFS联用系统的HPLC部分使用LC-10AT_{VP}高压液相泵(苏州岛津);配有100 μL 定量环的7725i六通进样阀(Rheodyne, Cotati, CA, USA);配有相同材质填料保护柱(25mm $\times$ 2.3mm i.d., 12-20 μm)的PRP-X100 (250mm $\times$ 4.1mm i.d., 10 μm)阴离子交换柱(Hamilton, Reno, NV)。联用的HGAFS为AFS-9130原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司);单独使用的

收稿日期:2006-12-10

作者简介:韦昌金(1978-),硕士,主要从事液相色谱-原子荧光联用研究。

*通讯联系人:刘霁欣,高级工程师,理学博士。

现代科学仪器 2006 6

63

HGAFS 为 AFS-930 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司);激发光源是高性能砷空心阴极灯(北京有色金属研究总院),形态分析测量采用北京吉天公司的形态分析软件,峰高定量。详细的色谱和仪器参数列于表1。

表1 HPLC-HG-AFS 系统的实验参数

HPLC 系统			
色谱参数(HPLC)	阴离子交换柱	Hamilton PRP-X100 (250 mm×4.1 mm i.d., 10 μm)	
	流动相	15mmol/L (NH ₄) ₂ HPO ₄ (pH 6.0)	
	流速	1mL/min	
	进样体积	100 μL	
氢化物发生(HG)	还原剂	成分:1.5% KBH ₄ + 0.5% KOH, 流速:6.0mL/min	
	载流	成分:7% HCl, 流速:6.0 mL/min	
AFS	灯	高性能砷空心阴极灯, 193.7nm	
	负高压	270V	
	灯电流	100mA	
	载气	氩气, 300mL/min	
	屏蔽气	氩气, 600mL/min	

2.2 标准溶液和试剂

CH₃AsO(ONa)₂·6H₂O 和 Na₂HAsO₄·7H₂O 从 Sigma-Aldrich 购得, (CH₃)₂AsO₂H 从 Acros 购得。各标准储备液通过溶解相应量的 MMA、DMA、As(V) 得到, 100mg/LAs(III) 标准储备溶液从国家标准物质中心购得。混合砷标准溶液当日稀释配制。

HPLC 流动相为 15mmol/L (NH₄)₂HPO₄ 溶液, pH 用 4% 甲酸调节至 6。流动相使用之前需经过 0.45 μm 滤膜过滤并超声脱气。KBH₄ 溶液用 0.5%KOH 当日配制。所有的试剂均是分析纯或是优级纯, 整个实验都使用超纯水。

紫菜样品从市面购得, 粉碎后使用。

3 实验

3.1 紫菜样品的水甲醇萃取

15mL 离心管中称取 0.5g 粉碎后紫菜样品, 加入 10mL 甲醇: 水(1:1)溶液, 振荡均匀后, 超声萃取 20min, 3000rpm 离心 10min, 取出上清液; 重复上述萃取过程 3 次, 合并各次上清液到 100mL 烧杯中。合并液在 60℃ 下蒸至约 5mL, 冷却后用水稀释、定容至 10mL 待测。测前待测液 10000rpm 离心 10min, 上清液过 0.45 μm 滤膜稀释后用 HPLC-HGAFS 测量, 每个样品平行测量 3 次, 取平均值。

3.2 紫菜样品的 6mol/L HCl 提取

25mL 离心管中称取 0.5g 粉碎后紫菜样品, 加入 20mL HCl (6mol/L), 在 60℃ 下震荡 18h(HGAFS 的前处理方法), 加水定容到 25mL, 取 0.1mL 加水稀释、定容到 5mL 待测。测前待测液 10000rpm 离心 10min, 上清液

过 0.45 μm 滤膜稀释后用 HPLC-HGAFS 测量, 每个样品平行测量 3 次, 取平均值。

3.3 HCl (2.4mol/L) 中 KI+ 硫脲处理 DMA

0.2mL 的 DMA 标准溶液(含砷 1.0mg/L)加入 0.4mL HCl 和 1.2mL 水的混合液中, 再加入 0.2mL KI (5%, m/V)和硫脲(10%, m/V)的混合液 0.2mL, 混匀并开始计时。

4 结果与讨论

水甲醇萃取紫菜样品的 HPLC-HGAFS 谱图示于图 1a, 由图可见, 紫菜中大量存在的是有毒砷形态以外的几种有机砷形态, 标记为 unAsI (保留时间 3.0 分)、unAsII (保留时间 4.7 分), 通过采用与文献^[8]类似条件检测, 基本可认为属于砷糖(AsS), 因为未经直接测定, 所以下文仍使用 unAsI、unAsII 表示。除这些形态外, 还存在少量 DMA(保留时间 3.5 分)和极低含量的 As^{III}(保留时间 2.7 分)。由于文献^[6, 7]中普遍认为甲醇水提取时能够保持 As 形态, 所以可认为甲醇水提取所得结果基本能够反映样品中原有形态, 这说明: 紫菜之中 99% 左右的砷都是以无毒的有机形态存在的, 而高毒性的无机砷含量很低, 所以, 常用方法测量结果是不准确的。为了找出该方法的问题所在, 我们进一步检测了该方法处理海带时中间产物的形态, 下面将分别讨论。

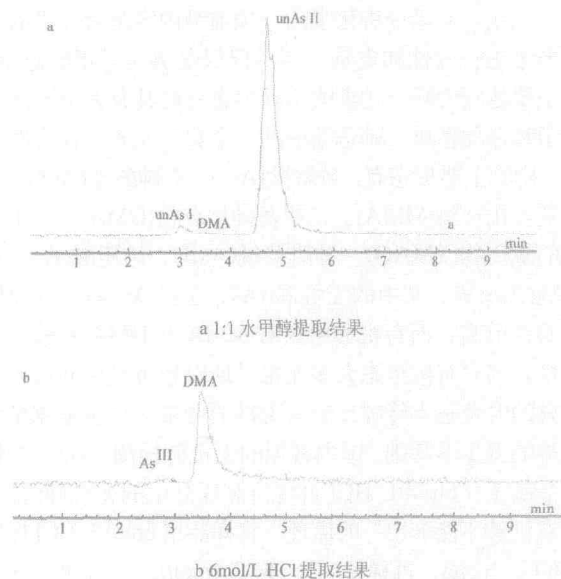


图1 水甲醇和 6mol/L HCl 提取液中的砷形态

6mol/L HCl 处理后样品经常用方法测定后, 其测量值远远高出 1.5mg/kg, 且测定值不稳定, 随还原时间增长而逐渐降低。其提取液的 HPLC-HGAFS 谱图示于图 1b。由图 2b 可知, HCl 提取后的样品中, 仍然含有大量有机砷, 这说明 6mol/L HCl 提取测定无机砷方法出现了原理性错误, 除了可以提取无机砷外, 还同时提取了大

量的有机砷。与图 2a 对比可知, 6mol/L HCl 提取后 As 形态发生了明显的改变, 原有的多种有机砷形态均转化成了单一的 DMA, 但未出现有机砷到无机砷的降解, 图中少量的 As^{III} 是由提取液 6mol/L HCl 带入的。

经过以上分析可知, 常用法给出的两种前处理过程虽然都会造成有机形态分布的显著变化, 但都基本不会造成有机砷到无机砷的降解, 对无机砷测量并不会产生问题, 所以问题主要出在后续的测量步骤上。

为此, 我们考察了提取液中主要成分 DMA 在 2.4mol/L HCl 中不同还原时间下的结果, 图 2 标示出了 DMA 的灵敏度 S 随还原时间的变化, 纵坐标 S 表示在 2.4mol/L HCl 中, 分别加入同 As 含量的 DMA 和 iAs 后采用 HGAFS 测得信号强度的比值, 图中横坐标代表还原时间, T1、T2 代表 2 次不同测量的结果, Ave 为两次的平均值。由图可知, T1 和 T2 的灵敏度随还原时间的增长均有明显下降, 这说明还原产物二甲亚砷酸(DMA^{III})的灵敏度显著低于反应物 DMA; 另外, 还原起始阶段 T1 和 T2 的灵敏度相差较大, 而 60 分钟后则两者基本相同, 这说明起始阶段还原速度很快, 还原时间的不同可能造成很大的灵敏度差异, 而当 60 分钟后, 还原过程基本进行完毕, 所以此时 T1 和 T2 的灵敏度相当。由图可知, DMA^{III} 的灵敏度大约相当于同浓度 iAs 的 2.3% 左右; DMA 的灵敏度也仅相当于同浓度 iAs 的 7% 左右。这一结果说明, 当 DMA 浓度不高于 iAs 浓度的 4 倍时, 经还原后对 iAs 测量的影响 <10%, 所以对大多数食品样品采用常用方法测量, 这种影响是可以接受的; 但对于上述的海生植物样品, 从前图 3 可知, HCl 提取液中 DMA 的浓度远远高于 iAs 的浓度, 甚至达到了几十、上百倍的程度, 这时就会对 iAs 的测量造成极大的干扰, 甚至彻底的误报。

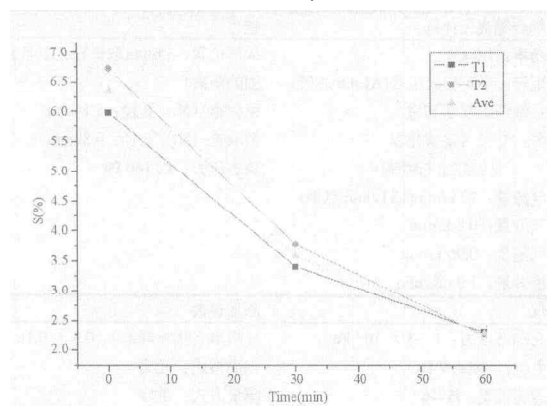


图 2 2.4mol/L HCl 中 DMA 的 HGAFS 灵敏度随 KI+ 硫脲还原时间的变化

5 结论

通过对常用方法中前处理过程中间产物的分析, 可知常用方法中前处理过程会对海生植物中的有机形态分布造成的显著的变化, 主要是 AsS 降解为 DMA; 另一方面, 前处理过程都基本不会造成有机砷到无机砷的降解, 对无机砷测量并不会产生问题; 问题主要出在后续的测量步骤中经还原的 DMA 会产生相当于其浓度 2% 左右 iAs 的信号, 当 DMA 浓度不高于 iAs 浓度 4 倍时, 经还原后对 iAs 测量的影响 <10%, 所以大多数食品样品采用常用方法测量, 误差是可以接受的^[1, 2]; 但对于海生植物样品, 其 HCl 提取液中 DMA 的浓度远远高于 iAs 的浓度, 甚至达到了几十、上百倍的程度, 这就会对 iAs 的测量造成极大的干扰, 甚至彻底的误报。

综上所述, 要想准确的测定海生植物中的无机砷, 必须使用 HPLC-HGAFS 法。这种方法除了能准确测定海生植物中高毒性的无机砷, 还能准确测定其中有毒的 MMA 和 DMA, 从而给出更为完整的生物学特性。特别是当前紫菜的 iAs 测量可能引起国际纠纷^[9, 10]的情况下, 采用更为清晰、准确的 HPLC-HGAFS 作紫菜的形态分析可能是今后的发展方向。

参考文献

- [1] 杨惠芬, 梁春穗, 董仕林. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(1): 27
- [2] 蒋瑾华, 温巧玲, 胡思. 光谱实验室, 2006, 23(4): 751
- [3] http://news.xinhuanet.com/food/2006-08/22/content_4990172.htm
- [4] <http://www.99sj.com/News/96733.htm>
- [5] <http://www.zaobao.com/special/newspapers/2006/09/fzrb060914.html>
- [6] Gong, Z.L.; Lu, X.F.; Ma, M.S.; Watt, C.; Le X.C. Talanta 2002, 58: 77
- [7] Andrewes, P.; Demarini, D.M.; Funasaka, K.; Wallace, K.; Lai, V.W.M.; Sun, H.S.; Cullen, W.R.; Kitchin, K.T. Environ. Sci. Technol. 2004, 38: 4140
- [8] Schmeisser, E.; Goessler, W.; Kienzl, N.; Francesconi, K.A. Anal. Chem. 2004, 76: 418-423
- [9] http://www.ycwb.com/gb/content/2005-03/13/content_864399.htm
- [10] http://www.china-fishery.net/01-hydt/news_disp.asp?ID=5411