

比较微波消解-原子荧光法和电感耦合等离子体质谱法测定饲料中总砷

杨青, 林津*, 姚晓帆, 彭青枝, 王会霞
(湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉 430070)

摘要: **目的** 对比微波消解-原子荧光法和电感耦合等离子体质谱法测定饲料中总砷含量。**方法** 采用微波消解作为样品前处理手段, 原子荧光法和电感耦合等离子体质谱法作为检测方法, 采用标准物质对两种方法进行验证。**结果** 微波消解-原子荧光法检出限为 0.006 mg/kg, 线性相关系数为 0.9998, 相对标准偏差为 6.3% 和 3.2%; 微波消解-电感耦合等离子体质谱法检出限为 0.003 mg/kg, 线性相关系数为 0.9999, 相对标准偏差为 2.4% 和 2.6%。2 种方法对标准物质的测定结果均在标准值允许范围内。**结论** 2 种方法均操作简便快速, 具有较低的检出限、较高的准确度和精密度, 其中原子荧光法适合批量样品分析, 电感耦合等离子体质谱法适用于总砷含量较高的样品。

关键词: 微波消解; 原子荧光光谱法; 电感耦合等离子体质谱法; 饲料; 砷

Comparison of microwave digestion-atomic fluorescence spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of total arsenic in feed sample

YANG Qing, LIN Jin*, YAO Xiao-Fan, PENG Qing-Zhi, WANG Hui-Xia

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430070, China)

ABSTRACT: Objective To compare the microwave digestion-atomic fluorescence spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of total arsenic in feed. **Methods** Microwave digestion was used as the sample preparation method, atomic fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry were used as detection methods, and a standard substance was used for validation test. **Results** Under the selected experimental conditions, the detection limit of microwave digestion-atomic fluorescence method was 0.006 mg/kg, the linear correlation coefficient was 0.9998, and the relative standard deviations were 6.3% and 3.2%, the detection limit of microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry was 0.003 mg/kg, the linear correlation coefficient was 0.9999, and the relative standard deviations were 2.4% and 2.6%. The validation test results of both methods were in accordance with standard value. **Conclusion** The two methods are simple and rapid to operate, with low detection limit, high accuracy and precision. Atomic fluorescence method is suitable for batch sample analysis, and inductively coupled plasma mass spectrometry is suitable for samples with high total arsenic content.

KEY WORDS: microwave digestion; atomic fluorescence spectrometry; inductively coupled plasma mass spectrometry; feed; arsenic

*通信作者: 林津, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: sophia.linjin@163.com

*Corresponding author: LIN Jin, Master, Engineer, Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430000, China. E-mail: sophia.linjin@163.com

0 引言

苯肿酸类有机砷制剂作为一种重要的饲料药物添加剂,由于具有促进畜禽生长、改善畜禽肉质、广谱高效抗菌和提高饲料利用率等功效,在规模化养殖中被批准使用^[1]。目前我国广泛使用的有机砷制剂主要有对氨基苯肿酸(阿散酸)和3-硝基-4-羟基苯肿酸(洛克沙肿)。由于饲料是动物摄入砷的主要途径,而过高的摄入含量不仅会对动物健康造成危害,还会对周围环境造成污染,同时通过生物链富集也会对人体健康造成影响^[2-3],成为社会关注的焦点。因此GB 13078—2017《饲料卫生标准》^[4]中规定总砷在添加剂预混合饲料中最大允许限量为10 mg/kg。GB/T 13079—2006《饲料中总砷的测定》^[5]中规定了3种测定方法:银盐法、硼氢化物还原光度法和氢化物原子荧光光度法,规定的样品前处理方法则为干灰化法、盐酸溶样法和混合酸消解法。其中干灰化法容易造成砷的损失;盐酸溶样法砷不能完全溶出;而混合酸消解法耗酸量大,消解液中酸含量过高,影响结果准确性^[6]。相较之下,微波消解法简便快速,耗酸量小,且待测元素不易受污染,易挥发元素不易损失^[7],是一种更为合适的饲料样品前处理手段。目前,总砷的检测技术主要有原子荧光光谱法和电感耦合等离子体质谱法。原子荧光光谱法(atomic fluorescence spectrometry, AFS)结构简单、灵敏度高、基质干扰小、分析成本低,是一种优良的痕量分析技术^[8]。电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)作为目前最先进的元素检测技术,具有检出限低、精密度高、线性范围宽、简便快捷等优点^[9-10],被广泛用于食品^[11-13]和海产品^[14]等领域中砷的检测,仅有个别文献将其用于饲料中总砷的测定^[15],且均采用内标法,基质干扰效应影响结果的准确性。ICP-MS标准加入法相较于内标法能有效避免基质干扰,提高检测结果的准确度^[16],也为饲料中总砷的测定提供了一种新的思路。由于不同形态的砷物质生物毒性差异很大,对饲料中总砷的测定,很难客观反映出饲料质量安全的情况。因此,利用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)与ICP-MS联用技术对饲料中的砷形态进行分析检测^[17-18],是未来对饲料质量安全进行风险评估的趋势。本文对微波消解-ICP-MS标准加入法测定饲料中总砷进行了系统的研究,并将其与AFS进行比较,以期对饲料中总砷的测定提供更合理的检测手段。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

ME204 电子天平(瑞士Mettler-Toledo 仪器有限公司); PURELAB 超纯水器(英国ELGA 有限公司); SB25-12DTS 超声波双频清洗机(宁波新芝生物科技有限公司); Multiwavepro 微波消解仪(奥地利安东帕有限公司); AFS-9X 原子荧光光度计(北京吉天有限公司); NexION

350X 电感耦合等离子发射光谱质谱联用仪(美国PerkinElmer 公司)。

砷标准溶液(GSB 04-1714-2004, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 饲料中总砷试样(CFAPA-755-170、CFAPA-755-128, 大连中食国实检测技术有限公司); 硫脲、氢氧化钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硼氢化钾(97%, 国药集团化学试剂有限公司); 盐酸(电子级, 北京迈瑞达科技有限公司); 硝酸(默克级, 德国Merck 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

5%硫脲溶液: 硫脲5 g 溶于水中, 定容至100 mL。

硼氢化钾-氢氧化钾还原剂: 5 g 氢氧化钾溶于水, 待完全溶解后向其中加入15 g 硼氢化钾, 定容至1000 mL。

1.2.2 样品前处理

称取0.2~0.7 g(精确至0.0001 g)样品于微波消解管中, 加入硝酸8 mL, 预消解后上微波消解仪消解, 消解完毕后于赶酸板上135 °C赶酸, 加入4 mL 盐酸加热反应30 min, 用二级水转移至50 mL 容量瓶中, 加入5 mL 5%硫脲, 定容摇匀, AFS 待测。

称取0.2~0.7 g(精确至0.0001 g)样品于微波消解管中, 加入硝酸8 mL, 预消解后上微波消解仪消解, 消解完毕后于赶酸板上135 °C赶酸至1 mL, 用二级水转移至50 mL 容量瓶中, 定容摇匀, 用ICP-MS 标准加入法加标后测定结果。

1.2.3 仪器条件

微波消解仪消解程序见表1。

表1 微波消解程序
Table 1 Microwave digestion program

步骤	升温时间/min	控制温度/°C	保持时间/min	风扇等级
1	10	120	5	1
2	10	180	20	1
3	-	55	21	3

原子荧光光度计以5%(V/V)HCl 为载流、硼氢化钾-氢氧化钾溶液为还原剂, 对两个饲料样品中的砷进行检测, 仪器优化条件参数见表2。

表2 AFS 仪器条件参数
Table 2 Instrument conditions of AFS

仪器条件	参数	仪器条件	参数
负高压	270 V	载气流量	300 mL/min
灯电流	60 mA	屏蔽气流量	800 mL/min
原子化器高度	8 mm	读数时间	10.0 s
原子化器温度	200 °C	延迟时间	1.0 s

电感耦合等离子发射光谱质谱联用仪以 ICP-MS 调谐液和内标液对仪器参数进行优化,以 Ge 为内标元素,仪器优化条件参数见表 3。设定分析元素为砷,选择特定同位素(质量数 74.9216),碰撞反应(kinetic energy discrimination, KED)模式;选用标准曲线法。

表 3 ICP-MS 仪器条件参数
Table 3 Instrument conditions of ICP-MS

仪器条件	参数	仪器条件	参数
射频功率/W	1500	氧化物(CeO/Ce)/%	≤0.025
泵转速/(r/min)	24	双电荷(Ce ²⁺ /Ce)/%	≤0.03
雾化气流量/(L/min)	0.92	冷却气流量/(L/min)	17.0

2 结果与分析

2.1 样品前处理优化

饲料样品不仅基质复杂,且蛋白质含量较高,因此消解起来比较困难。砷又是易挥发性元素,尤其是有有机砷,如阿散酸的沸点为 300 °C,洛克沙肿的沸点为 270~280 °C,在高温下极易挥发分解。干灰化法需要将饲料样品碳化后,置于高温炉 550 °C 恒温灰化 3.5~4 h,砷损失较大,有时甚至高达 50%以上^[6]。盐酸溶样法是用 3 mol/L 的稀盐酸加热溶解,由于稀盐酸酸度低,消解时间短,样品中有机物消解不完全,常出现颗粒或絮状物,导致砷不能完全溶出^[6]。混合酸消解法需要加入 30 mL 混合酸,消解时间长,酸空白值较高,影响结果准确性^[19]。本实验采用高压消解罐加入硝酸,预消解后上微波消解仪消解,消解过程简单可控,保证了样品消解完全,效果较好。

2.2 干扰的降低和消除

AFS 测定砷的过程中,实验误差主要来自样品基质干扰和仪器信号的漂移及波动。通过加入硫脲,不仅可以将五价砷还原为三价砷,还可以掩蔽 Cu²⁺、Co²⁺、Ni²⁺等金属离子对砷的干扰。通过选择合适的负高压和灯电流,提高仪器的灵敏度,降低本底信号的干扰,延长空心阴极灯寿命,同时在测定过程中加入校准点,监控信号波动情况。

ICP-MS 虽然检出限低、灵敏度高、线性范围宽,但其分析中也存在着氧化物、双电荷、多原子离子、以及样品基体等干扰^[20]。因此采用混合质谱调谐液对仪器调谐,确保仪器的灵敏度和稳定性。其中基体酸干扰必须指出,⁷⁵As 元素易受 ³⁸Ar 和 ³⁷Cl 的干扰,当选用 HCl 消解时对 As 测定干扰较大,因此本实验选用 HNO₃ 消解。首先采用内标法对样品进行测定,选择 Ge 元素作为内标,检测结果见表 4。由于饲料样品基质过于复杂,内标回收率仅为 80% 左右,样品加标回收率在 156% 左右,总砷测量结果为

1.97 mg/kg 和 5.08 mg/kg,检测结果超出标准值范围,说明内标法不适用于饲料样品中总砷的测定。ICP-MS 标准加入法能有效消除基质干扰,具体步骤为:将一定量已知浓度的标准溶液加入待测样品溶液中,横坐标为不同梯度已知浓度值,纵坐标为信号值,绘制标准曲线,标准曲线与横坐标的交点即为样品溶液浓度。

表 4 ICP-MS 内标法测定饲料中的砷结果
Table 4 The determination of arsenic in feed by ICP-MS with internal standard method

样品	标准值/(mg/kg)	As/(mg/kg)	Ge 回收率/%	加标回收率/%
170	1.10±0.4	1.97	81.2	156.8
128	2.94±0.30	5.08	80.5	156.3

2.3 标准曲线及检出限、定量限

AFS 法测定砷:将砷标准溶液用二级水逐级稀释成 4 μg/mL 的工作溶液,吸取不同体积砷工作溶液于 50 mL 容量瓶中,加入 2.5 mL 浓盐酸,10 mL 5% 硫脲,用二级水定容,配制成浓度为 0、10、20、30、40 和 50 μg/L 的标准溶液进行测定,绘制标准曲线。回归方程为 $Y=52.4269X+19.7293$,相关系数为 0.9998。

ICP-MS 标准加入法测定砷:将砷标准溶液用 2% HNO₃ 稀释成 10 μg/mL 的工作溶液,将需要检测的样品溶液均分成 4 份,第 1 份样品溶液不加标待测,另外 3 份样品溶液分别加入 50、100、200、300、400 μg/L 砷标准溶液,将未加标样品作为标准零点处理到标准曲线中,其反向延长线对应的浓度即为样品溶液中 As 的浓度。170 的回归方程为 $Y=0.001X+0.035$,相关系数为 0.9999;128 的回归方程为 $Y=0.001X+0.058$,相关系数为 0.9999。

检出限和定量限:根据国际理论(化学)与应用化学联合会规定,测定 11 次平行试剂空白,AFS 测定 As 的检出限为 0.006 mg/kg,ICP-MS 测定 As 的检出限为 0.003 mg/kg;AFS 测定 As 的定量限为 0.020 mg/kg,ICP-MS 测定 As 的定量限为 0.010 mg/kg。

2.4 AFS 和 ICP-MS 结果比较

使用 AFS 法和 ICP-MS 标准加入法测定饲料中的砷,为了验证两种方法所测定结果的准确性,以大连中食国实检测技术有限公司的饲料中总砷试样(CFAPA-755)为实验材料进行测定。AFS 总砷测量结果为 1.28 mg/kg 和 3.14 mg/kg,相对标准偏差为 6.3%和 3.2%,回收率为 98.7%和 99.6%;ICP-MS 标准加入法总砷测量结果为 1.23 mg/kg 和 3.13 mg/kg,相对标准偏差为 2.4%和 2.6%。结果表明两种方法对饲料中总砷的测定结果均在标准值允许范围内,且没有显著性差异,相对偏差符合实验方法对于精密度的要

求,准确度高和重现性好。

2.5 准确度和精密度

为了测试两种方法的准确度和精密度,以国家标准物质黄芪(GBW10028)和柑橘叶(GBW10020)为实验材料进行测定,检测结果见表5。由表5可知,两种方法对标准物质中总砷的测定结果均在标准值允许范围之内,AFS和ICP-MS测定的相对标准偏差分别为3.6%、7.1%和2.6%、3.1%,结果表明两种方法均具有高准确性和重现性。

3 结论

本研究比较了微波消解-AFS和ICP-MS标准加入法

测定饲料中总砷的方法,两种方法均操作简便快速,灵敏度高。通过对标准物质进行检测,验证两个方法均具有准确性高和精密度好的优点。在本工作的实验条件下,AFS加标回收率在98.7%~99.6%之间,加标回收结果良好;ICP-MS标准加入法能有效避免样品基质的干扰,且实验误差较小,相对标准偏差在2.4%~2.6%之间。当饲料中总砷含量较低时,两个方法均适用。由于ICP-MS比AFS具有更宽的线性范围,高达9个数量级^[21],适用总砷含量较高的样品,能有效避免样品稀释带来的误差,可根据饲料样品中总砷的含量选择合适的方法进行测定。当两个方法均满足检测要求时,可优先选择AFS法,因其实验成本相对较低,且适合批量样品的分析。

表5 AFS法和ICP-MS标准加入法的准确度与精密度对比
Table 5 Comparison of accuracy and precision by AFS and ICP-MS with standard additions

标准物质	标准值/(mg/kg)	AFS法			ICP-MS标准加入法		
		测定值/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	相对标准偏差/%	测定值/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	相对标准偏差/%
黄芪	0.57±0.05	0.553	0.576	3.6	0.554	0.568	2.6
		0.580			0.583		
		0.594			0.567		
柑橘叶	1.1±0.2	1.03	1.12	7.1	1.16	1.13	3.1
		1.15			1.09		
		1.18			1.13		

参考文献

- [1] HU Y, CHENG HF, TAO S, *et al.* China's ban on phenylarsonic feed additives, a major step toward reducing the human and ecosystem health risk from arsenic [J]. *Environ Sci Technol*, 2019, 53(21): 12177–12187.
- [2] BJØRKLUND G, TIPPAIROTE T, RAHAMAN MS, *et al.* Developmental toxicity of arsenic: A drift from the classical dose–response relationship [J]. *Arch Toxicol*, 2019, 91(1): 67–75.
- [3] 侯双迪, 王鑫, 邵娟娟, 等. 食品中重金属砷的危害及其检测方法[J]. *农产品加工*, 2017, (7): 39–40, 43.
- [4] HOU SD, WANG X, SHAO JJ, *et al.* Heavy metal arsenic harmfulness in food and detection methods [J]. *Farm Prod Process*, 2017, (7): 39–40, 43.
- [4] GB 13078—2017 饲料卫生标准[S].
- [5] GB 13078—2017 Hygienical standard for feeds [S].
- [5] GB/T 13079—2006 饲料中总砷的测定[S].
- [5] GB/T 13079—2006 Determination of total arsenic in feeds [S].
- [6] 李胜, 李宏, 杨汉卿. 饲料中总砷测定方法的研究[J]. *中国农业科技导报*, 2008, 10(S2): 5–9.
- [6] LI S, LI H, YANG HQ. Determination of total arsenic in feed [J]. *J Agric Sci Technol*, 2008, 10(S2): 5–9.
- [7] 赖亮阳, 华永标, 黄冬兰, 等. 微波消解-ICP-AES法测定饲料中的铅、铬和砷[J]. *广东化工*, 2016, 43(1): 124–125, 144.
- [7] LAI LY, HUA YB, HUANG DL, *et al.* Determination of Pb, Cr and As in feeds by microwave digestion and inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2016, 43(1): 124–125, 144.
- [8] 刘成新, 肖志明, 贾铮, 等. 液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱法测定饲料中砷的形态[J]. *分析化学*, 2018, 46(4): 537–542.
- [8] LIU CX, XIAO ZM, JIA Z, *et al.* Quantitative determination of arsenic species in feed using liquid chromatography–hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(4): 537–542.
- [9] 张金玲, 钟耀广, 孙晓红, 等. 砷及砷的形态检测方法的研究现状[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(23): 408–413.
- [9] ZHANG JL, ZHONG YG, SUN XH, *et al.* Research progress in detection methods of arsenic and arsenic speciation [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(23): 408–413.
- [10] TANG SX. Comparison of the levels of five heavy metals in human urine and sweat after strenuous exercise by ICP–MS [C]. *Sci Res Pub*, 2016.
- [11] ASHMORE E, MOLYNEUX S, WATSON S, *et al.* Inorganic arsenic in rice and rice products in New Zealand and Australia [J]. *Food Addit Contam B*, 2019, 12(4): 1–5.
- [12] KOMOROWICZ I, HANČ A, LORENC W, *et al.* Arsenic speciation in mushrooms using dimensional chromatography coupled to ICP–MS detector [J]. *Chemosphere*, 2019, 233: 223–233.
- [13] 习淦, 李洋, 陈岚, 等. HPLC–ICP–MS分析食品中砷形态的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(20): 340–347.
- [13] XI G, LI Y, CHEN L, *et al.* Research progress on speciation analysis of arsenic in food by HPLC–ICP–MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019,

- 40(20): 340–347.
- [14] WOLLE MM, CONKLIN SD. Speciation analysis of arsenic in seafood and seaweed: Part II—single laboratory validation of method [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018.
- [15] 殷光松. ICP-MS 法测定添加剂预混合饲料中砷含量的不确定度评定 [J]. *福建分析测试*, 2019, 28(6): 50–55.
- YIN GS. Evaluation of uncertainty for the determination of As in additive premixed feed by ICP-MS [J]. *Fujian Anal Test*, 2019, 28(6): 50–55.
- [16] 马冲先, 刘洁, 刘巍. 电感耦合等离子体质谱分析应用的新进展 [J]. *分析实验室*, 2019, 38(6): 732–760.
- MA CX, LIU J, LIU W. Recent advances and applications of inductively coupled plasma mass spectrometry analysis [J]. *Chin J Anal Lab*, 2019, 38(6): 732–760.
- [17] 王博, 张浩然, 陆淳, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体-串联质谱法同时测定饲料中 As(III)、As(V)、氨基甲酸和洛克沙肿 [J]. *分析科学学报*, 2018, 34(1): 100–104.
- WANG B, ZHANG HR, LU C, *et al.* Simultaneous determination of As(III), As(V), p-ASA and ROX in feeds by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Sci*, 2018, 34(1): 100–104.
- [18] 林滢. 基于反相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术快速测定饲料中砷形态的研究 [J]. *饲料研究*, 2019, 42(4): 80–83.
- LIN H. Determination of arsenic species compounds in feed base on reversed-phase chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Feed Res*, 2019, 42(4): 80–83.
- [19] 刘欣, 廖敏, 陈红, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定饲料中的砷、汞、硒的研究 [J]. *粮食与饲料工业*, 2012, (2): 56–59.
- LIU X, LIAO M, CHEN H, *et al.* Determination of As, Se and Hg in feed by microwave digestion-atomic fluorescence spectroscopy [J]. *Cereal Feed Ind*, 2012, (2): 56–59.
- [20] 朱影, 黄茜, 黄宗骞, 等. ICP-MS 测定食品生物成分标准物质中的铅、镉、铬、砷 [J]. *粮食与食品工业*, 2019, 26(2): 61–64.
- ZHU Y, HUANG Q, HUANG ZQ, *et al.* Simultaneous determination of lead, cadmium, chromium and arsenic in standard substances for analysis of food biocomponents by ICP-MS [J]. *Cereal Food Ind*, 2019, 26(2): 61–64.
- [21] 杜英秋. AFS 法和 ICP-MS 法测定饲料中砷和汞的比较 [J]. *粮食与饲料工业*, 2015, (5): 62–64.
- DU YQ. Comparison of AFS and ICP-MS method for the determination of arsenic and mercury in feed [J]. *Cereal Feed Ind*, 2015, (5): 62–64.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



杨 青, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: yangqing_whu@163.com



林 津, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: sophia.linjin@163.com