高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定 大米中无机砷

马 莉*

(上海市崇明食品药品检验所,上海 202150)

摘 要:目的 建立高效液相串联电感耦合等离子体质谱法测定大米中无机砷的分析方法。方法 样品经 0.15 mol/L 硝酸溶液提取,以 100 mmol/L (NH₄)₂CO₃ 为流动相,使用 AS7 阴离子交换柱(250 mm×4.0 mm, 10 µm)分离,进入质谱进行检测。结果 As(III)和 As(V)在浓度 0~100 ng/mL 范围内线性相关性良好,精密度 RSD 均小于 5%,检出限分别为 0.234、0.271 ng/mL,加标回收率为 89.7%~108.0%,能力验证和质控样结果较 好。结论 此方法适用于大米中无机砷的快速检测。

关键词: 大米; 无机砷; 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法

Determination of inorganic arsenic in rice by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry

MA Li*

(Shanghai Chongming Institutes for Food and Drug Control, Shanghai 202150, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of inorganic arsenic in rice by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Methods** The sample was extracted with 0.15 mol/L nitric acid solution, and the mobile phase was 100 mmol/L (NH_4)₂CO₃. The separation of samples was performed on an AS7 (250 mm×4.0 mm, 10 µm) anion exchange column and detected by mass. **Results** As (III) and As (V) had good linearity in the concentration range of 0–100 ng/mL, the relative standard deviation (RSD) was less than 5%, and the detection limits of inorganic arsenic were 0.234 ng/mL and 0.271 ng/mL. The recoveries were 89.7%–108.0%, and the results of proficiency testing and quality control samples were good. **Conclusion** This method is suitable for the rapid detection of inorganic arsenic in rice.

KEY WORDS: rice; inorganic arsenic; high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry

1 引 言

砷是一种非金属元素,在自然界中以化合物的形式 广泛存在,按化合物性质分为无机砷和有机砷,其中无机 砷主要包括亚砷酸盐[As(III)]和砷酸盐[As(V)]等,有机砷 主要包括一甲基砷(monomethyl arsenic acid, MMA)、二甲 基砷(dimethyl arsenic acid, DMA)、砷甜菜碱(arsenobetaine, AsB)和砷胆碱(arsenocholine, AsC)等^[1-6]。无机砷和有机砷 均有毒性^[7-11],无机砷的毒性较有机砷高,有研究发现, As(III)的毒性是 As(V)毒性的 60 倍^[1,12]。随着工业化生产

^{*}通讯作者:马莉,助理工程师,主要研究方向为食品农产品质量安全检测。E-mail: malisjy@163.com

^{*}Corresponding author: MA Li, Assistant Engineer, Shanghai Chongming Institutes for Food and Drug Control, No. 109, Binhong Road, Chongming District, Shanghai 202150, China. E-mail: malisjy@163.com

的增加, 土壤和水质一定程度上受到了砷元素的污染。大 米作为我国主要的农作物之一,在生长过程中吸收了土壤 中和水中的砷元素,产生了砷污染。也有研究表明[12-14], 水稻对砷的吸收比较敏感,水稻中砷的含量明显比土壤中 的砷元素的含量高。大米作为我国主要的主食之一, 蓄积 在大米里的砷元素会通过食物链进入人体中,对人体造成 极大的健康问题, GB 2762-2017《食品安全国家标准 食 品中污染物限量规定大米中的无机砷》限量为 0.2 mg/kg^[15]。目前,对大米中的无机砷的检测基于国标方 法主要有液相联用原子荧光法,该方法具有操作简单、维 护成本低等优点,但灵敏度较低;相比液相联用原子荧光 法, 液相-电感耦合等离体子质谱法(liquid phase-inductively coupled iso-mass spectrometry, LC-ICP/MS)具有准确度、灵敏度高的有优点,但是国标方 法中的样品处理和流动相的选择以及配制较繁琐,本文研 究建立高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, HPLC-ICP/MS)法, 样品处理采 用全自动石墨消解仪进行自动处理,且配制流动相无需调 节 pH, 操作便捷, 以期为检测机构提供更加快捷的大米中 无机砷检测方法。

2 材料与方法

2.1 样品来源

上海崇明区市售大米,研磨密封待测。

2.2 试剂与仪器

硝酸(优级纯, 德国 Merck 公司); 碳酸铵(优级纯, 中 国西亚试剂公司)、甲醇(色谱纯, 中国西亚试剂公司); As(III) 标 准 溶 液 (1000 mg/L)、 As(V) 标 准 溶 液 (1000 mg/L)(国家标准溶液中心)。

Ultimate-3000 型高效液相色谱、iCAPQ 型电感耦合 等离子体质谱仪、ST8R 型高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司); ST-60 型全自动石墨消解仪(北京普立泰科仪器有 限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 仪器条件

色谱条件: 阴离子交换柱: DionexlonPacTM AS7 阴 离子交换柱(250 mm×4.0 mm, 10 μm); 流动相 A: 1%甲醇, 流动相 B: 100 mmol/L (NH₄)₂CO₃; 流速: 1.0 mL/min; 进样 体积: 20 μL。

质谱条件: RF 功率: 1548.6 W; 检测模式: He 碰撞池 模式; 检测元素(质量数): As(75); 雾化气体流速: 1.06 L/min; 采样深度: 5.0 mm; 雾化室温度: 2 ℃。

2.3.2 标准溶液配制

准确吸取 As(III)和 As(V)的标准溶液各 0.1 mL 置于

10 mL 容量瓶中,用纯水定容至 10 mL,得 10 mg/L 的 As(III)和 As(V)混合标准使用液。临用前用纯水稀释至所需 浓度的标准溶液。

2.3.3 线性分析

准确吸取 As(III)和 As(V)的混合标准使用液,用水配 制成 0、2.5、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL 的标准系列溶 液,吸取标准系列溶液 20 μL 注入 HPLC-ICP/MS,得到色 谱图,以保留时间定性。以标准系列溶液中目标物的浓度 为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

2.3.4 样品处理

称取样品约1.0g于50mL塑料离心管中,加入20mL 0.15mol/L硝酸溶液,放置过夜。本次前处理使全自动石墨 消解仪自动浸提,设置浸提程序:90℃热浸提 2.5h,每 0.5h振荡1min。待自动浸提完毕,取出冷却至室温,用纯 水定容至 25mL,4000r/min离心15min,取上层清液,经 0.45μm滤膜过滤后进样测定。同时做空白实验。

2.3.5 检出限测定

称取 20 份大米样品,作为空白样品,进行样品前处 理,同一仪器条件下,将处理好的 20 份空白样品依次进行 检测,得到空白样品浓度,计算 20 份空白样品的标准偏差, 用 3 倍标准偏差来计算方法最低检出限。

2.3.6 回收率和精密度实验

通过大米样品加标回收、质控样品以及参加能力验证 来考察方法的准确度,通过同水平加标的 6 个平行样品间 的相对标准偏差来考察方法的精密度。

称取 18 份大米样品进行 3 水平 6 平行加标测定, As(III) 和 As(V)的加标水平分别为 0.03、0.09、0.3 mg/kg, 同时测 定 6 份本底大米样品。通过标准系列方程读取测定浓度结 果, 计算样品本底值和加标回收率以及相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD)。

2.3.7 稳定性实验

对处理好的 FAPAS 验证样品溶液, 放置 4 ℃冰箱 保存, 分别在 24、48、72 h 进样分析, 记录 As(III)和 As(V) 化合物的结果浓度, 计算连续 3 d 进样结果的相对标准 偏差。

2.3.8 质控样实验

选取大米粉成分分析标准物质[GBW(E)100349],预 先将样品进行烘干处理,其余按照文中样品处理方法处理 样品和测定。

3 结果与分析

3.1 流动相条件的选择

使用的流动相为磷酸二氢钠,需要调节 pH,配制过 程繁琐; 史潜玉等^[16]认为使用磷酸氢二胺为流动相,仍需 调节 pH。本次实验选择碳酸铵作为流动相,采用等度和梯 度 2 种模式进行砷化合物的洗脱分离,流动相配制过程无 需调节 pH 值。研究发现,使用 100 mmol/L 的碳酸铵等度 分离砷化合物时,As(III)和 DMA 分离度不是很理想;当使 用 1%的甲醇为流动相 A、100 mmol/L 的碳酸铵为流动相 B 梯度洗脱时,各组分的分离度较好,加标回收结果较好, 能力验证结果满意,质控样结果在标准范围内,符合检测 需求。洗脱梯度见表 1。色谱图见图 1。

3.2 线性相关性与检出限结果

在浓度 0~100 ng/mL 范围内均具有良好的相关性, 线



表 1 流动相梯度洗脱程序 Table 1 Steps for gradient elution of mobile phase

这动相组成	时间/min				
流列相组成 —	0	2	3	6	8
流动相 A%	90	40	0	0	90
流动相 B%	10	60	100	100	10



图 1 无机砷色谱图 Fig.1 Separation of inorganic arsenic

	表 2 线性回归方程及检出限
Table 2	Regression equations and detection limit of inorganic arsenic

目标物	线性回归方程	相关系数 r	最低检出浓度/(ng/mL)	定量浓度/(ng/mL)
As(III)	<i>Y</i> =3349.8 <i>X</i> -1827	0.9998	0.234	0.796
As(V)	<i>Y</i> =5112.2 <i>X</i> +461.12	1.0000	0.271	0.904

3.3 加标回收率和精密度实验结果

本次实验所选取的市售大米中的无机砷含量均小 于 GB 2762-2017《食品安全国家标准 食品中污染物限 量》^[15]所规定的标准值,此样品相对安全;无机砷加标 回收率为 89.7%~108.0%, As(III)和 As(V)的 RSD 均小于 5%,说明本方法具有良好的准确度和稳定性。结果见表 3、表 4。

3.4 稳定性实验结果

4 ℃保存的 FAPAS 样品分别在 24、48、72 h 进样, As(III)的 3 次结果精密度为 3.1%, As(V)的 3 次结果精密度 为 2.6%, 2 种砷化合物日间精密度均小于 4%, 满足方法精 密度小于 20%的要求。结果表明, 处理好的样液在 4 ℃条 件下保存, 72 h 内稳定, 仪器状态稳定可靠。

3.5 质控样实验结果

大米粉成分分析标准物质[GBW(E)100349]检测结果 在标准值范围之内,说明此方法具有良好准确度,结果见 表 5。

表 3 本底值和精密度结果(n=6) Table 3 Background value and results of precision determination (n=6)

目标物	本底值结果 /(mg/kg)	平均值 /(mg/kg)	相对标准偏差 (RSD)/%
As(III)	0.13	0.14	2.92
	0.14		
	0.14		
	0.14		
	0.14		
	0.14		
As(V)	0.041	0.040	2.07
	0.040		
	0.041		
	0.041		
	0.039		
	0.041		

表 4	加标回收率和精密度结果(n=6)

Table 4 Ke	coveries and res	suits of precision of	Leter mination $(n=0)$
目标物	添加水平 /(mg/kg)	回收率(平均 值)/%	相对标准偏差 (RSD)/%
As(III)	0.03	108.0	4.9
	0.09	106.0	3.7
	0.3	102.1	2.9
As(V)	0.03	89.7	2.4
	0.09	94.2	3.1
	0.3	91.3	3.6

analysis performance assessment scheme, FAPAS)(编号: FAPAS-07289)中糙米粉无机砷项目的国际比对,本实验室 编号为 17,其中无机砷项目按照本文所述的样品处理进行 处理,使用相同色谱柱以及流动相进行检测,检测结果如 图 2,其中无机砷比对 Z 值为 0,结果说明,此方法具有较 高的准确度。

表 5 标准物质大米粉测定结果 Table 5 Determination results of rice samples

目标化合物	测定结果/(mg/kg)	标准值/(mg/kg)
As(III)	0.16	-
As(V)	0.04	-
无机砷	0.20	0.19±0.03

3.6 FAPAS 验证结果

2017 年参加英国食品分析水平测试计划(food



图 2 FAPAS 无机砷比对 Z 值结果 Fig.2 Z score of FAPAS inorganic arsenic comparison

4 结 论

本次研究建立了高效液相色谱串联电感耦合等离子 体质谱法测定大米中无机砷的分析方法,研究结果表明, As(III)和 As(V)在浓度 0~100 ng/mL 范围内均具有良好的 相关性、有较好的准确度和精密度;此方法具有操作简单 快捷、检出限低的特点,可以在一定程度上节约检测机构 时间成本;此方法满足检测机构对大米中无机砷快速检测 的要求。

参考文献

[1] 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.

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.

- [2] 程静秋,廖敏立,梁华华. 高效液相色谱--电感耦合等离子质谱法测定 大米中无机砷方法的优化[J]. 广东化工, 2019, 46(9): 206-207.
 Chen JQ, Liao ML, Liang HH. Optimization of HPLC-ICPMS for the determination of inorganic arsenic in rice [J]. Guangdong Chem Ind, 2019, 46(9): 206-207.
- [3] 廖力,谢照聪. ICP-Ms 法检验无机砷的方法研究[J]. 中国现代药物应用, 2018, 12(20): 220-221.
 Liao L, Xie ZC. Research on the method of inorganic arsenic inspection by ICP-Ms [J]. Chin J Mod Drug Appl, 2018, 12(20): 220-221.
- [4] 李晓玉,刘丽萍,陈绍占.高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测 定保健食品类袋泡茶中5种砷形态[J].中国食品卫生杂志,2018,30(5): 491-496.

Li XY, Liu LP, Chen SZ. Determination of five arsenic species in the soaking solution of healthy food teabag by high performance liquid

T-11-4

chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin. J. Food Hyg, 2018, 30(5): 491–496.

- [5] 袁冬蔚. 稻谷中无机砷的测定[J]. 现代食品, 2018, (17): 116–118.
 Yuan DW. Measurement of inorganic arsenic in cereal [J]. Mod. Food, 2018, (17): 116–118.
- [6] 刘付英, 邵志凌, 李彩霞. 液相色谱-原子荧光联用法测定粮食中无机 砷含量的不确定度评定[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(4): 45-49. Liu FY, Shao ZL, Li CX. Evaluation of uncertainty in determination of inorganic arsenic ingrain by liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry [J]. J Sci Technol Cereals Oils Foods, 2018, 26(4): 45-49.
- [7] 朱云,陈丹丹,邵彪,等. 液相色谱-原子荧光光谱法测定紫菜无机砷 前处理方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(8): 1966–1970. Zhu Y, Chen DD, Shao B, *et al.* Pretreatment method for the determination of inorganic arsenic in laver by liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry [J]. J. Food Saf Food Qual, 2018, 9(8): 1966–1970.
- [8] 杨艳,陈宏靖,李鑫,等. 婴幼儿谷类辅助食品中砷形态分析[J]. 中国 公共卫生, 2018, 34(1): 136–139.
 Yang Y, Chen HJ, Li X, *et al.* Detection of arsenic species in cereal–based complementary food for infants and young children [J]. Chin J Public Health, 2018, 34(1): 136–139.
- [9] 刘冰. 液相色谱—原子荧光光谱法测定稻谷中无机砷有关问题的探讨
 [J]. 粮食加工, 2017, 42(3): 71–74.
 Liu B. Discussion on the determination of inorganic arsenic in rice by HPLC-AFS [J]. Grain Process, 2017, 42(3): 71–74.
- [10] 侯艳霞,刘丽萍,潘浩,等.高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱分析大米中砷形态化合物[J]. 分析试验室, 2013, 32(10): 103-107.
 Hou YX, Liu LP, Pan H, *et al.* Determination of arsenic species in rice by HPLC-ICP/MS [J]. Chin J Anal Lab, 2013, 32(10): 103-107.
- [11] David J, Thomas, Karen B. Role of complex organic arsenicals in food in aggregate exposure to arsenic [J]. J Environ Sci, 2016, 49(11): 86–96.

- [12] Chen Y, Xu J, Lv Z, et al. Impacts of biochar and oyster shells waste on the immobilization of arsenic in highly contaminated soils [J]. J Environ Manage, 2018, 217: 646–653.
- [13] Jeong S, Lee H, Kim YT, et al. Development of a simultaneous analytical method to determine arsenic speciation using HPLC–ICP–MS: Arsenate, arsenite, monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid, dimethyldithioarsinic acid, and dimethylmonothioarsinic acid [J]. Microchem J, 2017, 134: 295–300.
- [14] 李丽,黄玉舟,张艳艳,等. 婴幼儿米粉中无机砷的检测[J]. 食品安全 导刊, 2019, (15): 105.
 Li L, Huang YZ, Zhang YY, *et al.* Detection of inorganic arsenic in infant ricenoodles [J]. Chin Food Saf Mag, 2019, (15): 105.
- [15] GB 2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量[S].
 GB 2762-2017 National food safety standard-Maximum levels of contaminants in foods [S].
- [16] 史潜玉, 刘立, 倪志尧, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 测定大米中无机砷[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 569-573. Shi QY, Liu L, Ni ZY, *et al.* Determination of inorganic arsenic in rice by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 569-573.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



马 莉,助理工程师,主要研究方向
 为食品农产品质量安全检测。
 E-mail: malisjy@163.com