

实验技术与方法

应用阴离子交换树脂法进行食品中砷形态的研究

唐增煦¹ 薛颖¹ 马洁² 肖香兰¹ 吴国华¹ 张勳¹

(1. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013; 2. 首都师范大学, 北京 100037)

摘要:目的 建立溶剂提取-阴离子交换树脂分离-氢化物发生原子荧光光谱法测定食品中无机砷、一甲基砷(MMA)和二甲基砷(DMA)的方法。方法 以水-甲醇为提取剂,阴离子交换树脂分离, HG-AFS检测。结果 方法检出限以砷计分别为:无机砷($As(III) + As(V)$) 0.34 $\mu\text{g/L}$ 、MMA 0.57 $\mu\text{g/L}$ 、DMA 0.46 $\mu\text{g/L}$; 20 $\mu\text{g/L}$ 砷标准偏差为:无机砷 2.45%、MMA 3.34%、DMA 4.96%。在 0~50 $\mu\text{g/L}$ 砷量范围校正曲线线性关系良好。试样加标回收率为:无机砷 95.40%~97.00%、MMA 97.80%~104.80%、DMA 104.23%~107.50%。结论 对海带、紫菜等海产品及大米等食品的检测,证明该方法简便易行。

关键词:砷;食品;阴离子交换树脂类;光谱法;荧光

Sample Technique for Determination of Arsenic Species in Foods

TANG Zeng-xu, XUE Ying, MA Jie, XIAO Xiang-lan, WU Guo-hua, ZHANG Meng
(Beijing Municipal Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: **Objective** To improve the method for determination of arsenic (As) in foods. **Method** Inorganic arsenic, Monomethylarsenic acid (MMA) and Dimethylarsenic acid (DMA) in food samples were extracted with water-methanol, separated by anion exchange resin and determined by hydride generation/atomic fluorescence spectrometry. **Results** The detection limits in terms of As were: inorganic arsenic 0.34 $\mu\text{g/L}$, MMA 0.57 $\mu\text{g/L}$, DMA 0.46 $\mu\text{g/L}$, and the relative standard deviations for 20 $\mu\text{g As/L}$ were inorganic arsenic 2.45%, MMA 3.34% and DMA 4.96%. The linearity of calibration curves in the range of 0~50 $\mu\text{g As/L}$ was very good. The recoveries of each species were: inorganic arsenic 95.40%~97.00%, MMA 97.80%~104.80% and DMA 104.23%~107.50%. **Conclusion** Samples of kelp, laver and some other seafoods, rice and other foods have been determined by this method. It is easy and feasible.

Key word: Arsenic; Food; Anion Exchange Resins; Spectrometry, Fluorescence

食品中砷的形态主要有亚砷酸盐($As(III)$)、砷酸盐($As(V)$)、一甲基砷酸盐(MMA)、二甲基砷酸盐(DMA)、砷胆碱(AsC)和砷甜菜碱(AsB)等。不同形态的砷呈现出不同的毒性^[1]: $As(III) > As(V) > MMA > DMA > AsC > AsB$,而 AsC 和 AsB 常被认为是无毒的。目前,国际上均以无机砷的形式进行卫生学评价^[2],我国在2005年也制定了各类食品中无机砷的限量卫生标准,但目前可实际应用的检测方法较少。

目前砷形态研究主要采用的分离方法有:气相色谱-质谱法(GC-MS)^[3]、离子色谱-原子发射光谱法(IC-AES)^[4]、高效液相色谱-原子荧光光谱法(HPLC-HG-AFS)^[5]、高效液相色谱-等离子体质谱法(HPLC-ICP-MS)^[6]等。上述仪器设备价格昂贵,一般实验室不具备。而离子交换树脂法^[7]价格

便宜且操作简单,因此我们选用离子交换树脂对砷形态进行分离。氢化物原子荧光(HG-AFS)技术是符合中国国情的分析方法,具有运行成本低、更短的预热时间和易于掌握等优点并且在国内应用广泛^[8]。因此我们选用HG-AFS对砷含量进行测定。

本文研究了用甲醇与水提取食品中砷的最佳条件,用阴离子交换树脂分离无机砷、MMA和DMA,改善了用阴离子交换树脂分离 $As(III)$ 回收率不高的问题。将离子交换树脂法与HG-AFS相结合,建立了溶剂提取-离子交换树脂分离-氢化物发生原子荧光光谱法测定食品中无机砷、MMA和DMA的方法。该方法的建立对食品中砷的形态进行准确定量具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 AFS-230a型双道原子荧光光度计(北京海光仪器公司),仪器工作条件见表1所示。控温电热板,旋转蒸发仪(Heidolph公司)。玻

作者简介:唐增煦 女 硕士生

通讯作者:薛颖 女 研究员

离子交换柱:柱高 10 cm,内径 1 cm,下有玻璃棉,上带贮液槽。

三氧化二砷 (As_2O_3)、七水合磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、二甲基胂酸 ($\text{C}_2\text{H}_7\text{AsO}_2$) 和一甲基胂酸二钠 ($\text{Na}_2\text{CH}_3\text{AsO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 购自 sigma 公司。砷标准液:精密称取一定量的上述 4 种物质,以超纯水 (18.2 M \cdot cm, Millipore 公司) 制成储备液 (1 000 mg/L),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存。使用时用超纯水逐级稀释。硝酸、高氯酸、盐酸、甲醇、醋酸等为试剂。载流盐酸浓度 5%,硼氢化钠浓度 2% (质量体积分数),硫脲和抗坏血酸混合液 (1+1) 12.5% (质量体积分数)。阴离子树脂为 Dowex 1-8 (50~100 目, Cl^{-1} 形式),购自 sigma 公司。

表 1 AFS-230a 原子荧光光谱仪测砷仪器条件

项 目	仪器参数
波长 (nm)	193.7
负高压 (V)	320
原子化器温度 ($^{\circ}\text{C}$)	200
原子化器高度 (mm)	8
屏蔽气流量 (ml/min)	1100
载气流量 (ml/min)	400
灯电流 (mA)	65
读数时间 (s)	15
延迟时间 (s)	0.5
进样体积 (ml)	0.5
测量方式	校正曲线法
读数方式	峰面积

1.2 总砷的测定 依 GB/T 5009.11—2003 方法进行。

1.3 试样处理 称取试样 2.000 g,加入少量超纯水将试样润湿,之后加入 10 ml (1+1) 甲醇与水混合液,浸泡 24 h,超声提取 20 min,10 000 r/min 离心分离 8 min。重复上述操作 2 遍。将提取液混合,用旋转蒸发仪将溶液蒸至 1 ml,尽量除尽甲醇,用超纯水定容到 10.0 ml。

1.4 阴离子交换树脂制备 采用自然沉降法装柱,树脂高度为 10 cm,内径为 1 cm,底部和顶部均填有用体积比为 1:1 HNO_3 浸泡过的玻璃棉充填。实验前将阴离子树脂转成醋酸形式,具体操作方法:200 ml 0.5 mol/L 氨水通过树脂柱,之后以 100 ml 1.0 mol/L 醋酸铵通过树脂柱,流速 3 ml/min。用蒸馏水润洗树脂柱,之后用 0.1 mol/L 醋酸/醋酸铵缓冲液 (pH=4.7) 洗脱,直到洗脱液 pH=4.7。

1.5 分离方法 将试样提取液 5 ml 与 4 ml 双氧水、醋酸/醋酸铵缓冲液混合,共 20 ml (pH=4.7),总

醋酸浓度为 0.01 mol/L),通过树脂柱,流速为 2.0 ml/min。待缓冲液快流完时加入 50 ml 0.01 mol/L 醋酸/醋酸铵缓冲液,收集前 50 ml 0.01 mol/L 洗脱液为 DMA。然后加入 45 ml 0.5 mol/L 醋酸/醋酸铵缓冲液,流速为 1.0 ml/min,收集前 40 ml 0.5 mol/L 洗脱液为 MMA。最后加入 60 ml 1.0 mol/L 硫酸,收集前 55 ml 1.0 mol/L 洗脱液为 As()。

1.6 校正曲线 分别移取质量浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 As(V)、MMA 和 DMA 标准溶液 0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5 ml 于 10 ml 容量瓶中,加入 125 g/L 的硫脲-抗坏血酸混合液 2.0 ml,12 mol/L 的 HCl 1.0 ml,用各自形态的洗脱液稀释到刻度,摇匀,在表 1 所列的分析条件下绘制校正曲线,利用校正曲线法分别测定无机砷、MMA 和 DMA 的含量。

2 结果

2.1 精密度和检出限 对 20.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 砷标准溶液测定 7 次,相对标准偏差分别为:无机砷 2.45%、MMA 3.34%、DMA 4.96%。按测试方法,交替测定空白液 22 次,以 3 倍标准偏差除以校正曲线的斜率求得溶液中砷的检出限 ($\mu\text{g}/\text{L}$):无机砷 (As()) 0.34、MMA 0.57、DMA 0.46 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

2.2 线性范围 校准曲线的线性范围为 0~50 $\mu\text{g}/\text{L}$,线性方程为:无机砷 $y = 16.8099x - 1.6027$, $r = 0.9999$; MMA $y = 12.5051x + 4.1133$, $r = 0.9997$; DMA $y = 12.5509x + 3.6131$, $r = 0.9999$ 。曲线线性良好,可满足食品中砷含量的测定要求。

2.3 回收率实验 以海带样品作为本底,分别进行高低 2 个浓度的加标回收实验 ($n=6$),所得结果见表 2。

表 2 以海带为基体的回收率实验

	海带 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	加入量 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	回收率 (%)
无机砷	1.89	2	3.83	97.00
		5	6.66	95.40
MMA	5.13	5	10.02	97.80
		10	15.61	104.80
DMA	32.05	20	53.55	107.50
		30	63.32	104.23

2.4 各种样品的测定结果 取 2.000 g 样品按照实验部分所述步骤进行测定。由表 3 可看出总砷含量高并不代表其毒性大,关键要看无机砷、MMA 和 DMA 的含量,且不同样品中砷形态所占比例各不相同,像海产品中主要以 AsB 和 AsC 形态为主,而植物源性食品中无机砷所占比例较大,因此有必要对砷的形态进行分离测定。

表3 测定样品中不同形态砷含量 $\mu\text{g/g}$

样品	无机砷	MMA	DMA	其他形态 ^a	总砷
海带	0.18	0.25	1.60	33.69	35.72
海苔	0.070	0.013	2.60	8.28	10.96
紫菜	0.011	0.047	0.72	12.30	13.08
灵芝冲剂	0.43	-	0.69	0.18	1.30
大米	0.076	0.040	0.14	-	0.25

注:a: ND 为未检出; - 为不存在;其他形态 = 总砷 - (无机砷 + MMA + DMA)。

3 讨论

3.1 最佳提取条件的确定 - 正交实验设计 为了考察甲醇提取的最佳条件,经过预实验拟定4个因素,每个因素选择3个水平,影响提取效果的主要因素有:A 浸泡时间、B 超声时间、C 甲醇/水体积比和D 溶液/样品体积比,其因素水平见表4。

表4 正交实验因素水平表

水平	A/h	B/min	C	D
1	0.5	10	1 1	10 1
2	3	20	2 1	15 1
3	24	30	1 2	5 1

选用L₉(3⁴)正交实验表。从正交实验结果得到,浸泡时间的极差最大(39.93),其次分别是甲醇/水体积比(14.29)和溶液/样品体积比(11.95),最后是超声提取时间(2.81)。其最优的水平组合为A3B2C1D3,因此正交实验确定的最佳提取条件为10 ml(1+1)甲醇与水混合液浸泡2.000 g样品24 h,超声提取20 min。

3.2 提取次数的选择 对试样分别提取次,提取率分别为65.73%、89.28%、95.83%和96.31%。提取效果主要取决于前2次,第3次和第4次相差不大,因在考虑提取效果同时也要注意节省操作时间,将提取次数定为3次,提取率为95.83%(n=6)。

3.3 树脂分离步骤 不同形态砷化合物的离解常数^[9]:As() 9.29,As() 2.24、6.96、11.5,MMA 3.6、8.2,DMA 1.78、6.14。DMA不被阴离子交换树脂保留首先流出。MMA与阴离子交换树脂有较强的亲和力,可用0.5 mol/L 醋酸/醋酸铵缓冲溶液洗脱。As()被H₂O₂氧化为As(),与As()一起滞留在阴离子交换树脂内,由于As()与阴离子交换树脂有非常强的亲和力,用醋酸/醋酸铵缓冲溶液

无法将As()定量回收,因此选用1.0 mol/L H₂SO₄作为洗脱液,总无机砷回收率可以达到100%,H₂SO₄一级解离后,以HSO₄⁻形式存在,在Dowex 1-8上具有很高的选择系数,因此用H₂SO₄作为洗脱液从根本上改善了As()回收率偏低的问题。

3.4 氧化剂的影响 实验中选用过氧化氢(H₂O₂)4 ml,用来将As()氧化为As()。H₂O₂中总砷含量为1.17 × 10⁻⁴ μg/g(n=8),由结果可看出少量H₂O₂的加入并不会影响整个实验结果。

参考文献

- [1] LAMBLE K J, HILL S J. Arsenic speciation in biological samples by on-line high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorption spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 1996, 334: 261-270.
- [2] 杨惠芬,梁春穗,董仕林,等.食品中无机砷限量卫生标准[J].中国食品卫生杂志,2003,15(1):27-31.
- [3] PANTSAR-KALLIO M, KORPELA A. Analysis of gaseous arsenic species and stability studies of arsine and trimethylarsine by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2000, 410: 65-70.
- [4] GETTAR R T, GARAVACIA R N, GAUTIER E A, et al. Determination of inorganic and organic anionic arsenic species in water by ion chromatography coupled to hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 884: 211-221.
- [5] HE B, FANG Y, JIANG GB, et al. Optimization of the extraction for the determination of arsenic species in plant materials by high-performance liquid chromatography coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. Spectrochimica Acta Part B, 2002, 57: 1705-1711.
- [6] COELHO N M M, COELHO L M, DE LIMA E S, et al. Determination of arsenic compounds in beverages by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Talanta, 2005, 66: 818-822.
- [7] PACEY G E, FORD J A. Arsenic speciation by ion-exchange separation and graphite-furnace atomic-absorption spectrophotometry [J]. Talanta, 1981, 28: 935-938.
- [8] COMEZ-ARIZA J L, SANCHEZ-RODAS D, Giraldez I, et al. Evaluation of atomic fluorescence spectrometry as a sensitive detection technique for arsenic speciation [J]. Talanta, 2000, 51: 257-268.
- [9] SIMON S, TRAN H, PANNIER F, et al. Simultaneous determination of twelve inorganic and organic arsenic compounds by liquid chromatography-ultraviolet irradiation-hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1024: 105-113.

[收稿日期:2006-10-20]

中图分类号:R15;O658 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2007)01-0049-03