

采用 Agilent 8800 ICP-MS/MS 通过 HPLC-ICP-MS 联机进行苹果汁中砷的形态分析

应用简报

食品和饮料

作者

Mina Tanoshima*、Tetsushi Sakai*
和 Ed McCurdy†

安捷伦科技公司

* 日本东京

† 英国斯托克波特



前言

食品中潜在有毒元素和化合物的存在日益受到公众的密切关注，因此，食品生产者及管理部门就要求有快速、可靠的筛选方法来准确定量食品和饮料中这些污染物的含量。对于砷 (As) 而言，它在食品中的富集浓度可能会通过以往含砷农药如砷酸氢铅（砷酸铅）或砷酸钙的使用而上升。这些化合物作为收获前农药在 20 世纪广泛用于控制水果类作物（主要是苹果）上的害虫，如苹果蠹蛾、苹果蛆和果蝇。虽然在 1970 年禁止了这些农药的广泛使用，但是砷酸铅和砷酸钙非常稳定并可长期存留于土壤之中，因此在其应用被禁止很长时间以后仍可以影响在污染土壤中生长的作物。



Agilent Technologies

食品安全中的砷形态分析非常重要，因为元素的毒性程度强烈依赖于其存在的化学形态或种类。众所周知，无机砷如亚砷酸盐 (As(III)) 和砷酸盐 (As(V)) 具有高毒性和致癌性，而有机砷如单甲基砷酸 (MMA) 和二甲基砷酸 (DMA) 却毒性较低，砷甜菜碱 (AB) 更被认为是无毒的。因此对许多类样品包括饮用水、食品和饮料、药品和石油化学制品中的无机砷含量水平已经开展日常监测。

针对多种类型的样品，如饮用水和尿液 [1]，已建立了通过 HPLC 分离各种含砷化合物然后使用 ICP-MS 进行检测的完善分析方法。

本研究开发了一种新的样品制备方法，包括样品过滤和采用去离子水稀释，用于苹果汁中低浓度水平砷形态的快速、日常检测。使用文献 1 建立并经确证的方法来分离和定量分析六种商品苹果汁中的上述五种砷形态，以确定这种日常消费的果汁中是否含有潜在有害浓度水平的砷形态。

美国环境保护署 (USEPA) 已建立了饮用水中总砷的最高污染物水平 (MCL) 限量为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。但我们必须考虑到食品中的砷是总膳食摄入量的一部分，USEPA 和欧洲食品安全局推荐的限量是每天 0.8 - 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重。正常饮食中砷的其他膳食来源包括海产品、稻米等。

实验部分

样品制备

六种不同的苹果汁样品 (苹果汁 #1 - #6) 购自日本某超市。苹果汁样品采用两种一次性过滤器过滤 (美国密理博公司的 Millex-LH，然后是日本 TOSHO 公司的 TOYOPAK ODS M)。采用 Millex-LH 过滤器去除苹果汁中的固形物，

然后采用 TOYOPAK ODS M 过滤器去除非极性化合物，防止 HPLC 色谱柱过载。按照制造商的说明对两种过滤器进行清洗和活化。过滤后，苹果汁样品用超纯水稀释一倍。应避免剧烈的样品消解和高稀释倍数，以最大程度地减少砷形态的相互转化，并且保证获得原样品最低的检测限。

为了评价方法对低浓度砷形态的准确检测能力，我们评估了样品制备过程中砷形态污染的可能性。按如下方式进行空白样品制备，用于识别源于不同样品制备步骤的任何可能污染：

1. 去离子水空白
2. Millex 膜过滤器空白
3. TOYOPAK ODS 过滤器空白
4. 方法空白 (像样品一样过滤两次的去离子水)

所有四个制备空白样品采用文献 1 建立的 HPLC 方法及其使用的色谱柱和流动相进行检测，色谱图见图 1。四个制备空白与一个混合砷形态标准品 (每种形态 50 ng/L (ppt)) 的叠加色谱图确认，制备空白中未检出砷。

应注意，第一个洗脱出的峰是砷甜菜碱 (AB)，它未保留在柱子上，因此在柱空体积中被洗脱出来，它还可能与其他不被柱子保留的中性或阳离子组分共洗脱出来。虽然可利用所述的 LC-ICP-MS 方法来测量 AB，但如果样品中存在其他共洗脱物质，结果可能会出现偏差；但对于食品安全应用来讲，这并不是个问题，因为 AB 即使浓度非常高，也是没有毒性的。

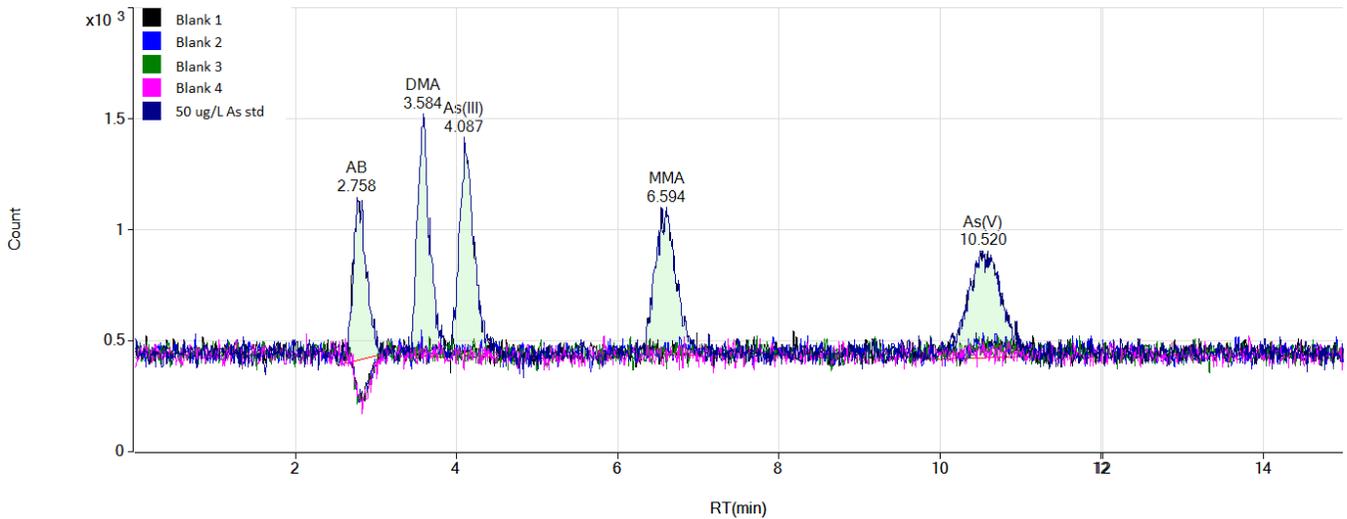


图 1. 制备空白样的评估，确定试剂和制备用过滤器不产生可检出的砷形态污染。展示了所有四个空白，与 50 ng/L (ppt) 的混合砷形态标准的叠加色谱图。

为了保证食品安全，必须分离并准确定量低浓度的关键形态 — As(III) 和 As(V)，它们的总量可称为“总无机砷”。

仪器

联用一台包括二元泵、自动进样器和真空脱气机的 Agilent 1290 Infinity LC 系统及一台 Agilent 8800 电感耦合等离子体串联质谱仪 (ICP-MS/MS)。分离采用一根阴离子交换保护柱（安捷伦部件号 G3154-65002，4.6 mm 内径 x 10 mm 聚甲基丙烯酸酯）及一根砷形态分析柱（安捷伦部件号 G3288-80000，4.6 mm 内径 x 250 mm 聚甲基丙烯酸酯）。整个实验过程中色谱柱在室温下运行。HPLC 和 ICP-MS 操作参数见表 1。

砷形态的日常分离分析不需要使用 ICP-MS/MS 分离干扰物，因为对砷 (m/z 75) 有潜在多原子重叠的干扰在色谱中即已实现分离。如文献 1 所述，无机氯化物在 As(III) 和 MMA 峰之间流出，因此，由氯化物形成的 $ArCl^+$ 多原子离子不会影响任何目标砷化合物的测定。

然而，食品和饮料中的砷形态分析已经延伸到对极低浓度（低 ng/L 或 ppt 水平）有毒无机化合物的更高灵敏度检测。

表 1. Agilent 1290 LC 和 8800 电感耦合等离子体串联质谱系统的操作参数

1290 Infinity LC	
条件	数值
色谱柱	G3154-65002（保护柱），G3288-80000，4.6 x 250 mm（分析柱）
流动相	2.0 mM PBS/0.2 mM EDTA/10 mM CH_3COONa /3.0 mM $NaNO_3$ /2% EtOH, pH 11.00（NaOH 调节）
流速	1.0 mL/min
柱温	室温
进样体积	100 μ L
8800 ICP-MS/MS	
参数	数值
射频功率	1550 W
载气流速	1.05 L/min
雾化室温度	2 °C
采样深度	10 mm
提取透镜 1	0 V
四极杆模式	单四极杆模式
池气体模式	无气体

并且与常规四极杆 ICP-MS 相比, Agilent 8800 ICP-MS/MS 的背景干扰非常低, 因此它可能更具分析优势。假如方法要求可以接受稍高的检测限, 上述样品制备和 HPLC 方法无需任何修改即可全部转移到安捷伦 7700 系列 ICP-MS (灵敏度比 8800 约低 2 倍) 上, 但其检测限仍在十几 ng/L (ppt) 的范围。

结果与讨论

每种砷形态的检测限通过三倍色谱峰 - 峰信噪比 (S/N) 来计算, 或者有时用 S/N=3 时的分析物浓度来表示。所有五种砷形态的检测限介于 10 ng/L - 22 ng/L 之间, 见表 2。图 2 显示了用于计算 S/N 和 LOD 的 500 ng/L 各砷形态标准的色谱图, 结果表明这五种砷形态具有高检测灵敏度和良好的峰分离度。

表 2. 砷甜菜碱 (AB)、二甲基砷酸 (DMA)、As(III) (亚砷酸盐)、单甲基砷酸 (MMA) 和 As(V) (砷酸盐) 3 倍信噪比时的检测限。

* 砷甜菜碱 (AB) 在空柱体积中流出, 由于存在一些其他共流出成分, 无法对它进行可靠的定量分析。

化合物	保留时间 (min)	峰高	峰面积	噪音	S/N	LOD (ng/L)	噪音类型
AB*	2.823	19584	249584	153	127.99	11.72	峰-峰
DMA	3.602	22117	277103	153	144.54	10.38	峰-峰
As(III)	4.128	18022	265346	153	117.78	12.74	峰-峰
MMA	6.566	14421	299863	153	94.24	15.92	峰-峰
As(V)	10.431	10265	329325	153	67.08	22.36	峰-峰

Full Time Range EIC(75) : 008CAL.S.d

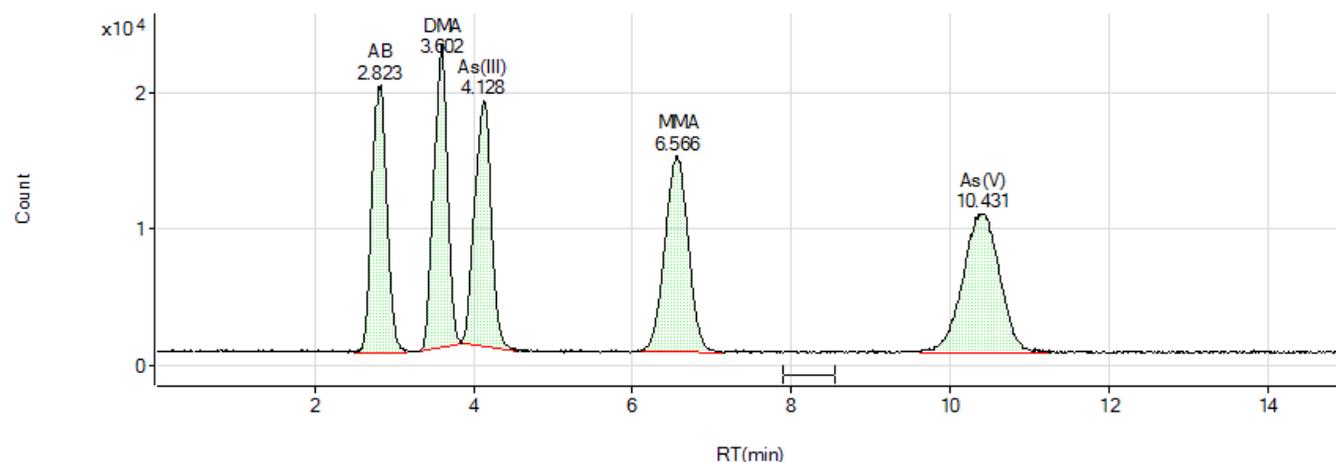


图 2. 500 ng/L (ppt) 混合砷形态标准的色谱图显示了高检测灵敏度和良好的峰分离度, 以及用于 S/N 和 LOD 计算的噪音区

校准浓度范围为 10 ng/L - 500 ng/L, 表明各砷形态线性关系良好, 如图 3 所示。

苹果汁分析结果

六种不同苹果汁中的砷浓度测定结果见表 3 (结果已考虑到 2 倍稀释因素), 色谱图见图 4。我们从浓度结果可以清楚地看到, 虽然大多数砷以有毒的无机形式存在, 但所有苹果汁样品中总砷含量极低, 大大低于 USEPA 针对饮用水规定的 10 $\mu\text{g/L}$ 的限度。图 4 中的色谱图以相同的强度刻度展示, 突出每种砷形态的不同相对浓度。

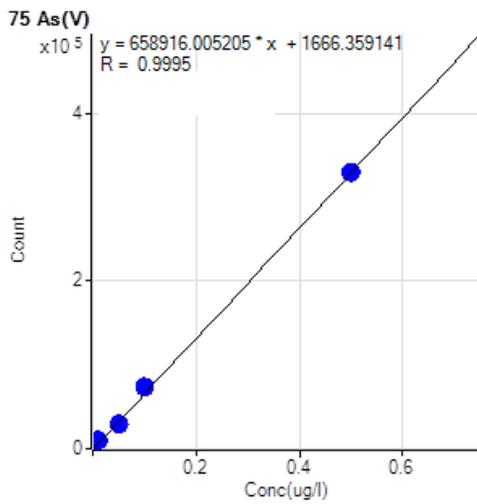
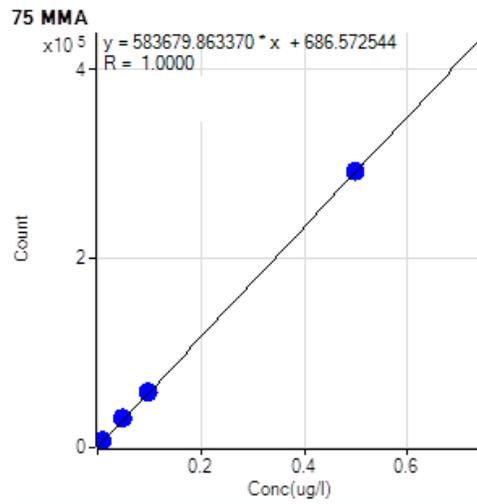
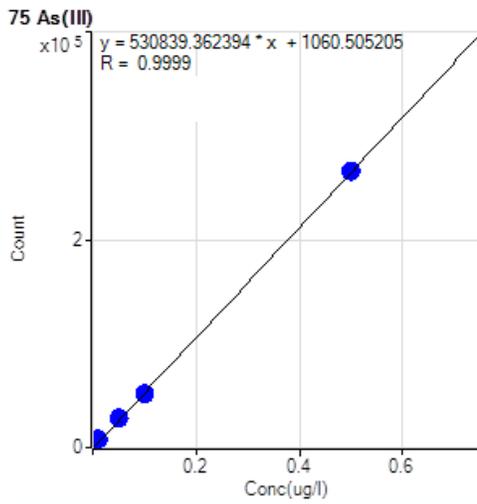
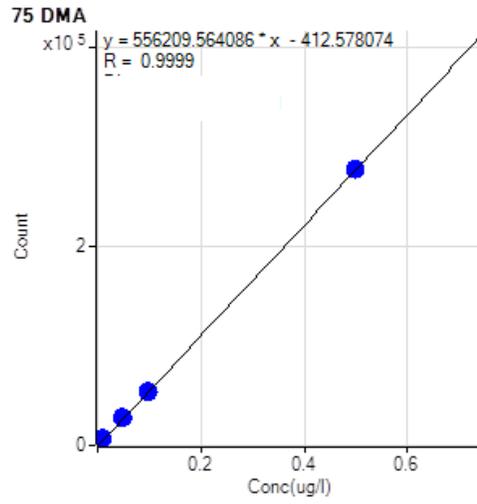
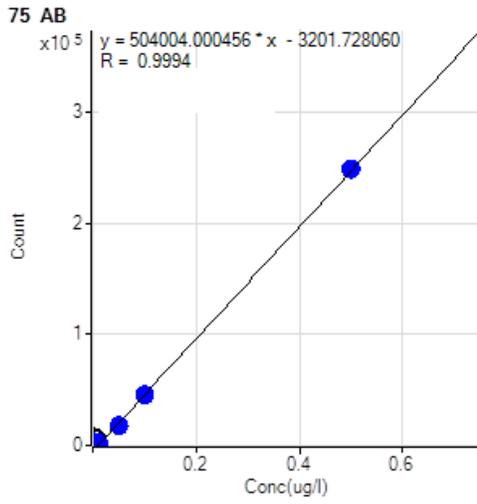


图 3. AB、DMA、As(III)、MMA 和 As(V) 的校准曲线

表 3. 采用 LC-ICP-MS/MS 分析六种商业苹果汁品牌中所有五种砷形态时的定量分析结果 (µg/L)

样品名	稀释倍数	浓度 µg/L						
		AB	DMA	As(III)	MMA	As(V)	无机砷	总砷
苹果汁 1	2	0.069	0.196	0.704	0.033	0.631	1.335	1.600
苹果汁 2	2	0.066	0.037	0.062	0.006	0.008	0.070	0.173
苹果汁 3	2	0.063	0.292	0.847	1.633	0.827	1.674	3.662
苹果汁 4	2	0.052	0.276	1.014	1.475	1.977	2.991	4.794
苹果汁 5	2	0.067	0.225	1.196	0.795	0.724	1.920	3.007
苹果汁 6	2	0.043	0.254	1.218	0.005	0.095	1.313	1.610

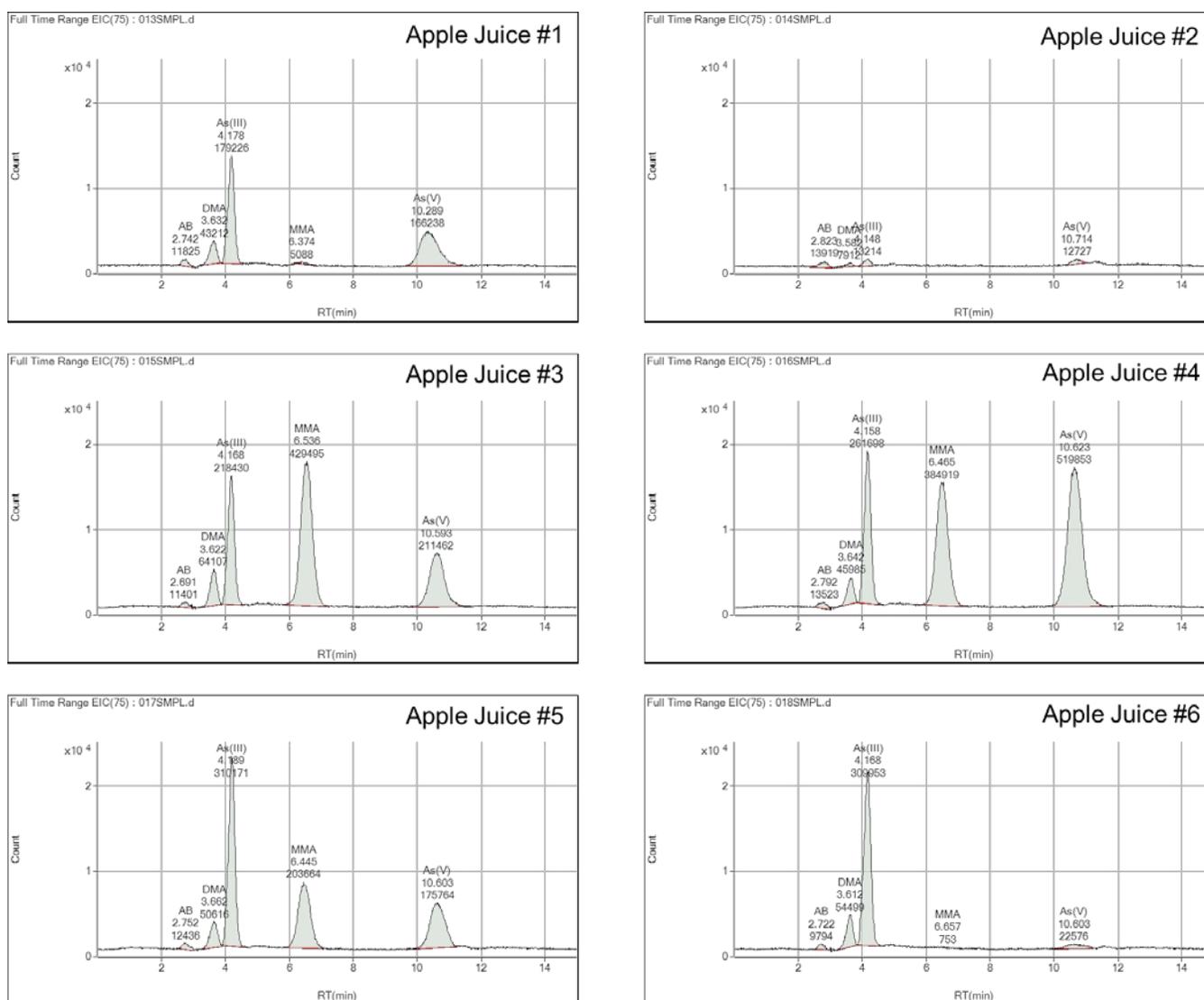


图 4. 六种苹果汁样品中砷形态的色谱图

虽然砷形态在所有六种苹果汁中均有发现，但总砷浓度和不同砷形态的相对浓度各异。然而，在测试的所有果汁样品中，各砷形态的总浓度均低于 5 µg/L，低于 USEPA 对饮用水最大污染限度 (10 µg/L) 规定的一半。所有样品中总无机砷 (As(III) 与 As(V) 之和) 的量低于 3 µg/L，并且所检测的六种苹果汁样品中有五个低于 2 µg/L。

加标回收率实验和重现性

为了验证分析实际样品时的方法性能，采用混合砷形态标准溶液进行加标回收率实验。#1 苹果汁样品加标砷形态标准品至 2 倍稀释样中的浓度为 500 ng/L。加标样品按未知样品重复测定，总共分别测定 7 次。表 4 列出了所有砷形态的保留时间 (RT) 和浓度结果，表明 7 次重复分析的 RT 和浓度具有优异的重现性。所有砷形态的保留时间 %RSD 小于 0.5%，浓度 %RSD 小于 1.6%。所有 7 次进样的叠加色谱图见图 5。

表 4. 1 µg/L 标准溶液加标到 #1 苹果汁中的加标回收率测定结果 (n = 7)

样品名	AB		DMA		As(III)		MMA		As(V)	
	保留时间 (min)	浓度 (µg/L)								
苹果汁 1 加标 1	2.77	0.848	3.62	1.112	4.19	1.606	6.43	0.980	10.62	1.524
苹果汁 1 加标 2	2.76	0.862	3.61	1.116	4.19	1.632	6.43	0.996	10.63	1.560
苹果汁 1 加标 3	2.77	0.872	3.61	1.125	4.19	1.621	6.41	1.007	10.62	1.551
苹果汁 1 加标 4	2.77	0.886	3.61	1.122	4.18	1.632	6.41	1.003	10.63	1.554
苹果汁 1 加标 5	2.78	0.882	3.61	1.134	4.19	1.643	6.41	1.008	10.65	1.561
苹果汁 1 加标 6	2.78	0.873	3.61	1.146	4.17	1.637	6.37	1.016	10.68	1.597
苹果汁 1 加标 7	2.78	0.881	3.60	1.145	4.17	1.651	6.35	1.018	10.69	1.588
平均值	2.78	0.872	3.61	1.128	4.18	1.632	6.41	1.004	10.65	1.562
标准偏差	0.0076	0.0133	0.0058	0.0135	0.0096	0.0148	0.0306	0.0130	0.0291	0.0242
%RSD	0.28	1.53	0.16	1.20	0.23	0.91	0.48	1.29	0.27	1.55

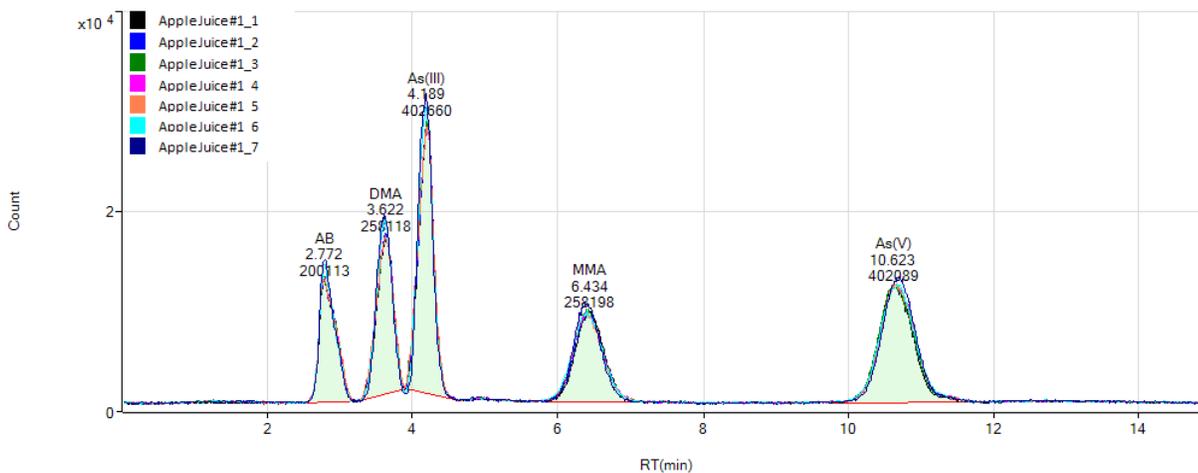


图 5. #1 苹果汁加标 500 ng/L 砷标准溶液的 7 次平行测量叠加色谱图

结论

采用 Agilent 1290 Infinity LC 联用 Agilent 8800 ICP-MS/MS，测定了商品苹果汁中 $\mu\text{g/L}$ 和亚 $\mu\text{g/L}$ 浓度的包括毒性相关无机形式 As(III) 和 As(V) 在内的五种砷形态。通过对苹果汁样品进行简单的过滤和 2 倍稀释，得到了所有砷形态在 10 - 20 ng/L (ppt) 范围内的检测限。所有检测的苹果汁样品中均发现了砷 (As) 形态，虽然各品牌中不同砷形态的浓度各异。在本研究所分析的样品中，所含的总砷均不超过 $5 \mu\text{g/L}$ ，所有样品中无机砷 (As(III) 和 As(V) 形态之和) 的浓度均低于 $3 \mu\text{g/L}$ ，而且分析的六个品牌中有五个低于 $2 \mu\text{g/L}$ 。

基于对日本苹果汁市场上这个小样本的分析，我们的数据支持了目前美国食品和药品监督管理局 (FDA) 关于在无机砷残留提高的情况下，商品苹果汁对人体健康无明显风险的意见。我们对日本市场上苹果汁的测试结果肯定了美国 FDA 监测计划的调查结果，即所有测试的苹果汁样品中，无机砷的含量水平低于饮用水中 $10 \mu\text{g/L}$ 的限量。

参考文献

1. Tetsushi Sakai 和 Steve Wilbur, Routine Analysis of Toxic Arsenic Species in Urine Using HPLC with ICP-MS (采用 HPLC 和 ICP-MS 常规分析尿液中的有毒砷形态)，安捷伦出版物 5989-5505EN。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2012

2012 年 7 月 10 日出版

出版号: 5991-0622CHCN



Agilent Technologies