



doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2018.09.018

高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时测定果汁饮品中砷、硒与铬元素的无机形态

吕亚宁^{1,2*}, 宋伟¹, 沈贵兰², 金玉娟¹

(1. 合肥海关技术中心, 安徽 合肥 230022; 2. 食品安全分析与检测安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230022)

摘要: 建立了高效液相色谱(HPLC)与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用技术同时测定果汁饮品中Cr(VI)、Cr(III)、As(III)、As(V)、Se(IV)和Se(VI)6种元素无机形态的方法。样品经超声提取后,加入EDTA溶液,采用C₈色谱柱分离,以0.1 mmol/L四丁基氢氧化铵+0.1 mmol/L乙酸铵+10%甲醇为流动相等度洗脱,ICP-MS测定。选用DRC模式消除干扰,保证了测定的准确性。上述6种元素无机形态的方法检出限分别为0.34、0.20、0.50、0.40、0.82、0.90 μg/L,回收率为79.5%~112%,相对标准偏差(RSD)小于5.0%。应用该方法检测实际样品,其中苹果汁未检出该6种形态;蓝莓汁检出Cr(III)、Se(IV),含量分别为0.007、0.015 mg/kg;杂粮汁检出3种形态,含量为0.008~0.034 mg/kg。

关键词: 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法;元素无机形态;果汁饮料;砷;硒;铬

中图分类号: O657.72; O611 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2018)09-1087-05

Simultaneous Determination of Inorganic Speciations of As, Se and Cr in Juice Drinks by High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

LÜ Ya-ning^{1,2*}, SONG Wei¹, SHEN Gui-lan², JIN Yu-juan¹

(1. Hefei Customs Technical Center, Hefei 230022, China; 2. Anhui Province Key Lab of Analysis and Detection for Food Safety, Hefei 230022, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography(HPLC) coupled with inductively coupled plasma mass spectrometric(ICP-MS) method was developed for the determination of six kinds of inorganic elements, including Cr(VI), Cr(III), As(III), As(V), Se(IV) and Se(VI) in juice drinks. After ultrasonic extraction, the samples were added with EDTA solution, separated with a C₈ column using 0.1 mmol/L tetrabutyl ammonium hydroxide, 0.1 mmol/L ammonium acetate and 10% methanol as mobile phases, and then determined by ICP-MS. The DRC mode was used to eliminate the interference and ensure the accuracy of determination. The detection limits for the 6 element speciations were 0.34, 0.20, 0.50, 0.40, 0.82 and 0.90 μg/L, respectively. The recoveries for the analytes were between 79.5% and 112% with the relative standard deviations(RSDs) ($n=6$) less than 5.0%. Using this method, six inorganic speciations were undetected in apple juice, while Cr(III) and Se(IV) were detected in blueberry juice with contents of 0.007 mg/kg and 0.015 mg/kg, respectively, and 3 element speciations were detected in cereals juice with contents of 0.008-0.034 mg/kg.

Key words: high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry; inorganic morphology of elements; juice drinks; As; Se; Cr

同种元素的不同形态在植物体内的迁移蓄积规律不同,对人体的危害和在体内的代谢方式也有较大差异,因此重金属元素总量往往很难表征其生物活性和危害。元素的不同化学形态所表现的生物活

收稿日期: 2018-03-30; 修回日期: 2018-06-15

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(1408085MKL96); 质检总局科技计划项目(2017IK175)

* 通讯作者: 吕亚宁, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品污染物分析, E-mail: yaninglv@163.com

性、迁移性和毒理影响等有很大差异,例如六价铬比三价铬毒性强,砷、硒等元素的无机形态对人体有害,而其有机形态一般具有一定的功能作用^[1-4]。果汁生产在原料种植、加工和储运过程中易受到多种途径的重金属污染,如灌溉用水被污染后造成重金属在果实中富集,加工设备及包装材料中的重金属溶出等,其中砷、铬等是较常见的易污染重金属元素,有必要对其危害性进行分析。另外市场上出现的大量富硒果汁中硒的形态也直接影响产品的安全性和营养价值。因此在果汁的食用安全评价中,对元素形态的分析比总量测定更有意义,但样品基体复杂、形态化合物不稳定且含量较低,使得元素形态的分析比总量测定困难得多。

目前对食品中的元素形态研究多集中于单一元素不同形态的分析^[5-11],对多元素形态同时分析的报道较少。多元素形态同时分析测定能够显著提高分析效率,节约检验成本。但不同元素的形态同时分析难度大,主要是由于:同种元素的不同形态化合物的化学结构相似,其色谱表现相近,色谱分离有难度;不同元素的形态化合物的极性、pK 值、离子化程度等有很大差异,增加了色谱分离模式选择的难度。本文利用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时分析测定了 As、Se、Cr 3 种元素的无机形态,利用离子对试剂流动相在 C₈ 色谱柱上分离,采用动态反应池技术实现了 Cr(VI)、Cr(III)、As(III)、As(V)、Se(IV)、Se(VI)的同时分析,方法的分离度好,检出限低,前处理简单,适用于果汁饮料中 As、Se、Cr 的无机形态分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱仪(Dlexar, ELAN DRC-e, 美国 PerkinElmer 公司); Milli-Q Element 纯水机(美国 Millipore 公司); 水浴控温摇床(德国 Julabo 公司);。

硒酸根(75.1 μg/g)、亚硒酸根(68.9 μg/g)、砷酸根(0.233 μmol/g)和亚砷酸根(1.011 μmol/g)购自中国计量科学研究院;三价铬、六价铬的单元素储备溶液(均为1 000 mg/L, 国家有色金属及电子材料分析测试中心);四丁基氢氧化铵、乙酸铵、乙二胺四乙酸二钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司), 甲醇(色谱纯, 美国 Tedia 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 将果汁样品混合均匀,精确称取5 g 于离心管中,加入20 mL 10% (体积分数)甲醇溶液,超声10 min,加0.01 mol/L 的乙二胺四乙酸二钠(EDTA)溶液1 mL,将样液在60 °C 恒温水浴摇床上振荡1 h,10 000 r/min 离心10 min,取上清液用10% 甲醇定容至25 mL,取适量过滤后待测,同时做空白实验。

1.2.2 仪器条件 HPLC 条件: Agilent XDB-C₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 进样体积50 μL; 流动相为0.1 mmol/L 四丁基氢氧化铵+0.1 mmol/L 乙酸铵+10% 甲醇,等度洗脱。

ICP-MS 条件: 同心雾化器, RF 功率1 500 W, 载气流速0.75 L/min, 泵速20 r/min, 反应气流量0.6 mL/min。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离模式的选择

关于砷、硒等元素的形态分析,文献报道多使用 PRP-X100、AS-19 等阴离子交换柱进行分离^[5-11],但考虑到多元素形态同时分析时,目标分析物以多种离子状态存在,很难实现同时分离,因此本文尝试采用反相高效液相色谱法。EDTA 可以络合 Cr(III), 络合物在水溶液中呈阴离子状态^[12],而流动相四丁基氢氧化铵在水中形成的正离子 TBA⁺ 可与各种阴离子形成中性“离子对”,且这些离子对化合物表现出不

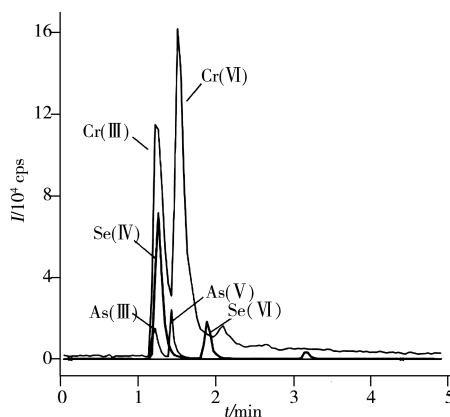


图1 As、Se、Cr 元素无机形态标准溶液的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of As, Se, Cr inorganic species standard
concentration: Cr(III), Cr(VI), As(V) and Se(IV) are 100 μg/L, As(III) and Se(VI) are 50 μg/L

同的亲脂性, 基于 C_8 反相色谱柱对这些化合物保留能力的不同即可实现分离测定。As、Se、Cr 元素无机形态标准溶液的色谱图如图 1 所示。

为保证较好的分离度, 本实验选择在样液处理时加入 EDTA 溶液, 而不添加至流动相中, 原因是当 EDTA 添加到流动相时会增加离子强度, 从而降低分析物的保留^[12], 导致 Cr(VI) 和 Cr(III) 的峰形变差。在相同色谱条件下, 参考文献 [12], 对比了添加 EDTA 前后, As(III)、As(V)、Se(IV) 和 Se(VI) 响应值的变化, 结果表明 EDTA 的添加对其他被分析物基本无影响。

2.2 流动相对色谱分离的影响

离子对色谱分离中, 不同的 pH 值条件下, 各元素形态化合物与离子对试剂结合后以不同的阴阳离子形式存在, 因此流动相酸度的变化对目标物出峰影响很大。对比了流动相中四丁基氢氧化铵浓度为 0.1 mmol/L, 流动相 pH 值分别为 6.5、7.0、7.2、7.5 和 8.0 时的出峰情况。结果表明: pH 6.5 时, 砷、硒无机形态的响应变低, 主要是因为降低流动相的 pH 值将减少 SeO_4^{2-} 、 SeO_3^{2-} 、 AsO_4^{3-} 的离解及其与离子对试剂的交互反应。当 pH 值大于 7.5 时, As(V) 的出峰时间提前, As(III) 和 As(V) 的分离度下降; 且随着 pH 值增大, Se(IV) 的峰形变差, pH 8.0 时不能完全分离; Cr(III) 和 Cr(VI) 的保留时间也随 pH 值增大而缩短, pH 8.0 时不能实现分离; 在 pH 7.2 条件下, 各形态化合物的出峰良好 (见图 2)。

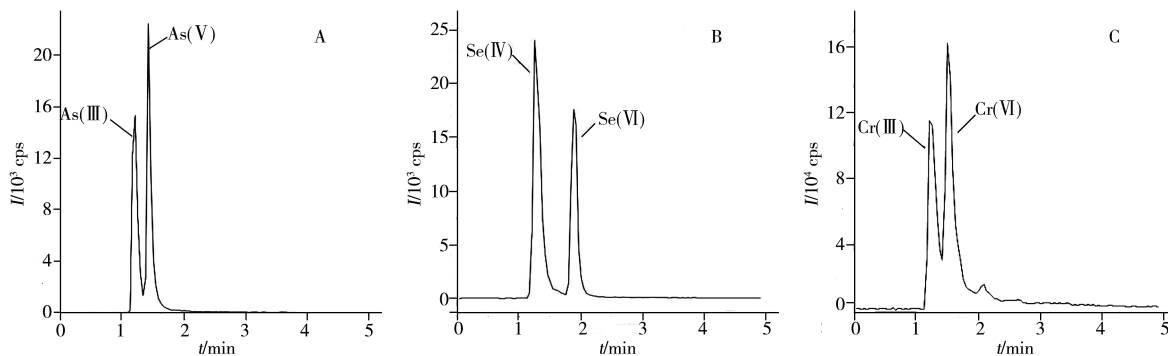


图 2 pH 7.2 条件下 3 种元素形态化合物标液的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of three element species standard solution under pH 7.2

离子对色谱中, 柱有效容量取决于离子对试剂, 离子对试剂浓度越大, 被分析物的保留越强, 因此实验考察了流动相 pH 7.2, 离子对试剂四丁基氢氧化铵 (TBAOH) 浓度分别为 0.05、0.1、0.2 mmol/L 时的出峰情况。结果发现, 当 TBAOH 浓度为 0.2 mmol/L 时, 被分析物的分离度良好, 但分析时间过长; 当浓度为 0.05 mmol/L 时, 被分析物的保留时间太短, 且分离度差; 而当浓度为 0.1 mmol/L 时, 被分析物的保留时间为 1.22 ~ 1.65 min, 且分离度能满足要求, 最终确定 TBAOH 的最佳浓度为 0.1 mmol/L。

有机试剂可降低流动相的极性, 影响分析物与离子对试剂所形成的复合物在疏水环境的分配, 并能减少柱有效容量; 但在高效液相色谱仪与电感耦合等离子体质谱仪联用时, 较高浓度的有机溶剂会造成积碳严重和等离子体熄火, 因此本实验将甲醇体积分数控制在 10% 以内, 设定流动相 pH 7.2, TBAOH 浓度为 0.1 mmol/L 时, 考察了甲醇体积分数分别为 5%、10% 时分析物的保留情况。结果表明: 随着甲醇体积分数的增加, 各分析物的保留时间明显缩短, 主要是因为甲醇能够阻碍分析物与离子对试剂结合, 从而影响其在 C_8 柱上的保留。考虑到分离度与分析时间, 选择最佳流动相为 0.1 mmol/L 四丁基氢氧化铵 + 0.1 mmol/L 乙酸铵 + 10% 甲醇, 该条件下各分析物均可在 1 ~ 3 min 内出峰, 且分离度满足要求。

2.3 电感耦合等离子体质谱测量条件

普通模式下, 选择丰度最高的硒同位素 ^{80}Se 及 ^{52}Cr 对目标元素进行测定, 基线响应值达 10^5 cps 数量级, 无法进行正常分析, 这主要是因为 ^{80}Se 、 ^{52}Cr 、 ^{75}As 分别会受到 $^{40}Ar^{2+}$ 、 $^{40}Ar^{12}C^+$ 和 $^{40}Ar^{35}Cl$ 等多聚离子的干扰。为消除它们的影响, 本研究采用甲烷作为反应气的动态反应池 DRC 模式, 优化了气体流速和 RPq 值。优化实验中分别对空白溶液和标准溶液进行分析, 选择背景等效浓度为 10 $\mu g/L$ 时为最优

条件, 优化后得到监测离子分别为 $^{52}\text{Cr}^+$ 、 $^{78}\text{Se}^+$ 、 $^{75}\text{As}^+$, 反应气流量 0.6 mL/min, RPq 为 0.45。

2.4 线性范围与检出限

将 6 种形态化合物配成含 Cr(VI)、Cr(III)、As(III)、As(V)、Se(IV)、Se(VI) 的混合标准溶液, 其质量浓度范围分别为 5~100、5~100、2~100、2~100、20~100、20~100 $\mu\text{g/L}$ 。在最佳的仪器条件下进行测定, 以各元素形态的质量浓度(x , $\mu\text{g/L}$)为横坐标, 对应峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线。结果表明, 目标分析物在上述相应的质量浓度范围内具有较好的线性关系, 相关系数均大于 0.995。以 3 倍信噪比($S/N=3$)计算检出限, Cr(VI)、Cr(III)、As(III)、As(V)、Se(IV)、Se(VI) 的检出限分别为 0.34、0.20、0.50、0.40、0.82、0.90 $\mu\text{g/L}$ 。以 $S/N=10$ 计算得到定量下限分别为 0.006、0.003、0.009、0.007、0.014、0.015 mg/kg。

2.5 实际样品分析

为验证本方法的实际应用能力, 对不同的果汁样品进行测定。结果表明, 苹果汁未检出该 6 种形态; 蓝莓汁检出 Cr(III) 和 Se(IV), 含量分别为 0.007、0.015 mg/kg; 杂粮汁检出 Cr(III)、As(III) 和 Se(IV) 3 种形态, 含量为 0.008~0.034 mg/kg。为考察该方法的准确性, 对 3 种果汁样品进行加标回收实验, 几种元素无机形态的加标回收率为 79.5%~112%, 相对标准偏差(RSD)小于 5.0%, 结果见表 1。GB 2762-2017 对果蔬、谷物等食品中总砷、无机砷、总铬的限量在 0.2~1.0 mg/kg 之间, 根据料液比折算, 各检测值均低于限量要求。

表 1 3 种果汁样品的分析结果
Table 1 Analytical result of three kinds of fruit juice samples

Sample	Element	Origin (mg/kg)	Added (mg/kg)	Mean recovery(%)	RSD (%, $n=6$)
Selenium rich blueberry juice(富硒蓝莓汁)	Cr(VI)	-*	0.020	79.5~88.7	4.0
	Cr(III)	0.007	0.020	97.8~104	2.0
	As(III)	-	0.020	88.3~94.2	2.8
	As(V)	-	0.020	95.6~104	3.5
	Se(IV)	0.015	0.050	90.4~104	4.6
	Se(VI)	-	0.050	82.9~103	4.9
Apple juice(苹果汁)	Cr(VI)	-	0.020	81.5~90.6	3.7
	Cr(III)	-	0.020	92.9~112	4.7
	As(III)	-	0.020	87.2~107	4.9
	As(V)	-	0.020	90.5~95.7	2.1
	Se(IV)	-	0.050	89.3~98.3	4.3
	Se(VI)	-	0.050	97.4~102	1.5
Coarse juice(杂粮汁)	Cr(VI)	-	0.020	89.4~98.5	3.7
	Cr(III)	0.008	0.020	82.2~98.7	3.2
	As(III)	0.025	0.050	90.7~104	4.1
	As(V)	-	0.020	83.3~96.4	4.5
	Se(IV)	0.034	0.100	86.2~103	4.2
	Se(VI)	-	0.050	88.4~106	4.8

* no detected

3 结 论

本文建立了同时分析果汁饮料中 Cr(VI)、Cr(III)、As(III)、As(V)、Se(IV)、Se(VI) 的离子对色谱-电感耦合等离子体质谱法, 以 0.1 mmol/L 四丁基氢氧化铵、0.1 mmol/L 乙酸铵和 10% 甲醇为流动相, 并调整 pH 值至 7.2, 利用 C_8 色谱柱对该 6 种无机形态化合物进行分离, 解决了离子色谱中不同元素形态因离子状态不同而无法同时分析的问题。方法检出限为 0.20~0.90 $\mu\text{g/L}$, RSD 均小于 5.0%, 实际样品分析显示富硒蓝莓汁中有微量的 Cr(III) 和 Se(IV) 检出, 杂粮汁有 Cr(III)、As(III) 和 Se(IV) 检出, 各无机形态含量水平低无风险。该方法回收率高、操作简单、灵敏度高, 可为元素形态分析提供借鉴。

参考文献:

- [1] Wantanabe T, Hirano S. *Arch. Toxicol.*, **2013**, 87(6): 969-979.
- [2] GB 2762-2012. National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Foods. National Standards of the People's Republic of China(食品安全国家标准 食品中污染物限量. 中华人民共和国国家标准).
- [3] Gomez V, Callao M P. *Trends Anal. Chem.*, **2006**, 25(10): 1006-1015.
- [4] Easures C I, Burton J D. *Nature*, **1978**, 273: 293-295.
- [5] Cao C, Liu C Y, Wang Z J, Wu Z G, Cui C, Wu D D. *J. Instrum. Anal.* (曹璨, 刘成雁, 王志嘉, 吴志刚, 崔畅, 吴冬冬. 分析测试学报), **2017**, 36(6): 756-761.
- [6] Lu C Q. *J. Instrum. Anal.* (禄春强. 分析测试学报), **2016**, 35(12): 1639-1642.
- [7] Chen D, Wang X W, Zhao R, Shao B, Wang Z, Wu G H, Xue Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (陈东, 王晓伟, 赵榕, 邵兵, 王正, 吴国华, 薛莹. 分析化学), **2015**, 43(12): 1901-1905.
- [8] Ni Z L, Liu Y H, Qu M H. *Food Sci. Biotechnol.*, **2014**, 23(4): 1049-1053.
- [9] Peng H Y, Hu B, Liu Q Q, Yang Z L, Huang R F, Li X F, Zuidhof M J, Chris L X. *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1370: 40-49.
- [10] Lü C, Liu L P, Dong H R, Li Y W. *J. Instrum. Anal.* (吕超, 刘丽萍, 董慧茹, 李筱薇. 分析测试学报), **2010**, 29(5): 465-468.
- [11] Pang Y H, Liu M Y, Liu S Y, Dong Z L. *Chin. J. Chromatogr.* (庞艳华, 刘名扬, 刘淑艳, 董振霖. 色谱), **2011**, 39(10): 1577-1581.
- [12] Wang H J, Li Y H, Feng W Y, Wang M, Jia G, Wang B, Zhu M T, Wang Y, Chai Z F. *Chin. J. Anal. Chem.* (王华建, 黎艳红, 丰伟悦, 王萌, 贾光, 汪冰, 朱墨桃, 王云, 柴之芳. 分析化学), **2009**, 37(3): 433-436.