

高效液相色谱 - (紫外) 氢化物发生原子荧光光谱法 测定南极磷虾及其制品中 6 种砷形态

刘淑晗^{1,2}, 张海燕², 娄晓祎², 孔聪², 汪宇^{1,2},
史永富², 黄宣运², 沈晓盛^{2*}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 建立了南极磷虾及其制品中 6 种砷形态的高效液相色谱 - (紫外) 氢化物发生原子荧光光谱(HPLC - (UV) HG - AFS)分析方法, 对流动相浓度及 pH 值、泵速和负高压等条件进行了优化。在最佳实验条件下, 亚砷酸(As(III))、砷酸(As(V))、一甲基砷酸(MMA)、二甲基砷酸(DMA)、砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)在 5 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好($r^2 > 0.9990$), 检出限(LOD, $S/N \geq 3$)均为 0.01 mg/kg, 定量下限(LOQ, $S/N \geq 10$)均为 0.03 mg/kg; 在 0.01、0.05、0.10 mg/kg 加标水平下, 回收率为 89.2% ~ 108%, 相对标准偏差(RSD, $n=6$)为 3.4% ~ 14%。采用该方法测定了南极磷虾及其制品中 6 种砷形态, 无机砷(As III 和 As V)含量均低于水产品及其制品中无机砷的国家限量标准。该方法操作简单, 适用范围广, 结果准确可靠, 可用于南极磷虾及其制品中砷的形态分析。

关键词: 砷形态; 南极磷虾; 高效液相色谱 - (紫外) 氢化物发生原子荧光光谱法

中图分类号: O657.7; TS201.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)09-1085-06

Determination of Six Arsenic Speciations in Antarctic Krill and Its Products Using High Performance Liquid Chromatography - (Ultraviolet) Hydride Generation - Atomic Fluorescence Spectrometry

LIU Shu-han^{1,2}, ZHANG Hai-yan², LOU Xiao-yi², KONG Cong², WANG Yu^{1,2},
SHI Yong-fu², HUANG Xuan-yun², SHEN Xiao-sheng^{2*}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography - (ultraviolet) hydride generation - atomic fluorescence spectrometric(HPLC - (UV) HG - AFS) method was developed for the determination of six arsenic speciations in Antarctic krill(*Euphausia superba*) and its products. Various instrumental conditions such as concentration and pH value of mobile phase, negative high pressure, pump speed and pretreatment conditions were optimized. Under the optimal conditions, there were good linear relationships for arsenious acid(As(III)), arsenic acid(As(V)), monomethylarsenic acid(MMA), dimethylarsenic acid(DMA), arsenic betaine(AsB) and arsenic choline(AsC) in the range of 5 - 100 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients(r^2) larger than 0.9990. The limits of detection(LOD, $S/N \geq 3$) and quantitation(LOQ, $S/N \geq 10$) were 0.01 mg/kg and 0.03 mg/kg, respectively. Average recoveries at three spiked levels of 0.01, 0.05 and 0.10 mg/kg were in the range of 89.2% - 108% with relative standard deviations(RSD, $n=6$) of 3.4% - 14%. The proposed method was successfully applied in the determination of six arsenic speciations in Antarctic krill and its products. The contents of inorganic arsenic speciations(As(III) and As(V)) were lower than those of the national limit standard for aquatic products and their products. The developed method is simple, wide-ranging, accurate and reliable, and could be applied in the speciation analysis of arsenic in Antarctic

收稿日期: 2019-04-19; 修回日期: 2019-05-13

基金项目: 国家自然科学基金(31471672); 上海市自然科学基金(17ZR1439400); 中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目(1893-Z); 上海市青年科技英才扬帆计划(18YF1429900)

* 通讯作者: 沈晓盛, 副研究员, 研究方向: 南极磷虾质量安全, E-mail: foodsmc98@126.com

krill and its products.

Key words: arsenic speciation; Antarctic krill; high performance liquid chromatography – (ultraviolet) hydride generation – atomic fluorescence spectrometry

南极磷虾(*Euphausia superba*)因其资源量大,富含蛋白质、不饱和脂肪酸、虾青素和甲壳素等物质^[1-2],在食品和医疗保健品行业具有巨大的发展前景和潜在价值^[3-5]。与此同时,南极磷虾及其制品的食用安全性越来越受到人们重视。然而,研究发现南极磷虾及其制品存在高含量砷的问题^[6],其中南极磷虾油中总砷含量高达 (8.334 ± 0.019) mg/kg^[7]。砷的毒性不仅与砷总量有关,而且与其化学形态密切相关。常见的砷形态有亚砷酸(As(III))、砷酸(As(V))、一甲基砷酸(MMA)、二甲基砷酸(DMA)、砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)^[8],其中无机砷的毒性远大于有机砷,且不同形态砷化合物的毒性大小依次为 As(III) > As(V) > MMA > DMA > AsC > AsB^[9-10]。因此,建立一种准确、高效测定南极磷虾中砷形态的方法对南极磷虾的安全性分析及综合利用具有重要意义。

目前,南极磷虾中砷形态的测定方法主要有高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(HPLC-ICP-MS)和高效液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱法(HPLC-HG-AFS)。其中,HPLC-ICP-MS法因灵敏度高近年来在元素分析方面发展迅速,但仪器价格昂贵成为制约其发展的因素。例如,Schmidt等^[11]和Chen等^[12]分别采用HPLC-ICP-MS分离检测海产品和香菇中的6种砷形态。王松等^[7]采用HPLC-ICP-MS检测南极磷虾油中5种砷形态,发现AsB、DMA和MMA的含量占南极磷虾油总砷含量的95.58%。该方法准确性好,精密度高,但前处理采用甲醇-水溶液提取,不适用于高蛋白生物样品及其它南极磷虾制品^[13]。HPLC-HG-AFS法因运行成本低,操作简单,灵敏度与HPLC-ICP-MS相当,近年来逐渐被应用于砷形态分析。郭莹莹等^[14]采用HPLC-HG-AFS检测南极磷虾中总砷和总无机砷的含量,但未对砷形态进行研究。董喆等^[15]采用HPLC-HG-AFS测定砷形态时发现,AsB和AsC需在紫外及外加氧化剂条件下才能实现分离检测。然而,上述方法均不能同时测定不同南极磷虾制品中6种砷形态,且前处理方法针对性较强,很难满足不同基质样品的分析需求。

本文采用高效液相色谱-(紫外)氢化物发生原子荧光光谱(HPLC-(UV)HG-AFS)技术,通过优化仪器条件和提取方法,建立了一种适用于南极磷虾及其制品(南极磷虾粉、南极磷虾罐头、南极磷虾油)中As(III)、As(V)、MMA、DMA、AsB和AsC 6种砷形态的分离检测方法,可为南极磷虾的食用安全性评价提供技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

AFS-922 氢化物发生原子荧光形态分析仪、SAP-20 形态分析预处理装置(北京吉天仪器有限公司); PRP-X100 阴离子交换色谱柱(250 mm × 4.1 mm, 10 μm, 瑞士 Hamilton 公司); SHZ-88A 水浴恒温振荡器(太仓市实验设备厂); ST320 pH 计(奥豪斯仪器(常州)有限公司); 16RX II 高速冷冻离心机(日本 Hitachi CF 公司); HETO Power Dry LL 1500 冷冻干燥机(美国 Thermo 公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

标准品:亚砷酸、砷酸、一甲基砷酸、二甲基砷酸、砷甜菜碱、砷胆碱标准溶液的浓度分别为 (1.011 ± 0.016) μmol/g、 (0.233 ± 0.005) μmol/g、 (0.335 ± 0.011) μmol/g、 (0.706 ± 0.024) μmol/g、 (0.518 ± 0.015) μmol/g 和 (0.375 ± 0.015) μmol/g,购于中国计量科学研究院;硝酸、盐酸、磷酸氢二铵、过硫酸钾、硼氢化钠、氢氧化钠,均购于国药集团化学试剂有限公司,其中硝酸和盐酸为优级纯,其余均为分析纯。

南极磷虾于2018年4月采自南极地区,采捕上岸后立即放入-20℃冰箱冷冻,运回实验室后置于-80℃下保存。

南极磷虾制品包括南极磷虾粉、南极磷虾油、南极磷虾罐头和南极磷虾酱罐头。南极磷虾粉由南极磷虾冷冻干燥,粉碎机研磨3 min,过40目筛后于-80℃下保存;南极磷虾油包括南极磷虾油原液(青岛康境海洋生物科技有限公司)和市售南极磷虾油胶囊,其中南极磷虾油胶囊A(美国 Schiff MegaRed, 300 mg)、B(美国 Extra Strength, 500 mg)、C(美国 Extra Strength, 350 mg)、D(美国 Sports

Research, 1 000 mg)、E(台湾 BHK's, 500 mg)分别取其内容物后常温保存; 南极磷虾罐头和南极磷虾酱罐头(辽宁仁达食品股份有限公司), 常温保存。

日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)、南美白对虾(*Penaei*)、刀额新对虾(*Metapenaeus ensis*)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)均购于上海农贸市场, 样品均取肌肉部分, 切碎匀浆后, 于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存。

1.2 标准溶液的配制

用1%硝酸配制As(III)、As(V)、MMA、DMA、AsB、AsC的质量浓度分别为5.750、1.365、3.969、7.013、7.007、6.962 mg/L的6种砷形态单标标准储备液, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存。使用前以超纯水配制成 $100\text{ }\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作溶液。

1.3 样品前处理

1.3.1 酸提取法 称取适量样品(冻磷虾及磷虾罐头样品5.00 g, 磷虾粉及磷虾油样品0.50 g, 精确至0.01 g)于50 mL离心管中, 加入20 mL 1%硝酸, 混匀, 浸泡过夜后于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴提取2 h, 冷却至室温, 加入0.5 mL 3%乙酸, 混匀, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置5 min后, 加入20 mL正己烷去脂, 以 $8\text{ }000\text{ r/min}$ 离心15 min, 弃去上层溶液, 重复1次, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后, 待测定。

1.3.2 甲酯化法 称取适量样品(冻磷虾及磷虾罐头样品5.00 g, 磷虾粉及磷虾油样品0.50 g, 精确至0.01 g)于50 mL离心管中, 加入20 mL 3%硫酸甲醇溶液, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下反应2.5 h, 冷却至室温后, 用氨水调至pH 8.0左右, 加入20 mL正己烷萃取出油脂, 重复1次, 甲醇层旋转蒸发去甲醇, 然后以超纯水定容至20 mL, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后, 待测定。

1.4 液相色谱条件

流动相: As(III)、As(V)、MMA和DMA采用25 mmol/L磷酸氢二铵溶液(甲酸调至pH 6.0), AsB和AsC采用5 mmol/L磷酸氢二铵溶液(氨水调至pH 9.0); 流速: 1 mL/min ; 柱温: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量: $100\text{ }\mu\text{L}$ 。泵速: 50 r/min ; 载流: 7%盐酸溶液; 还原剂: 1.5%硼氢化钠(0.5%氢氧化钠)溶液; 氧化剂(UV系统): 1.5%过硫酸钾(0.5%氢氧化钠)溶液。

1.5 原子荧光条件

砷灯总电流: 60 mA; 负高压: 310 V; 载气(氩气)流速: 300 mL/min ; 屏蔽气(氩气)流速: 500 mL/min ; 原子化器高度: 8 mm。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

由于AsB和AsC不能直接与硼氢化钠反应生成气态氢化物, 导致采用HPLC-HG-AFS对AsB和AsC进行分析时在常态流路下不出峰, 需在紫外灯照射及加入氧化剂条件下将有机砷AsB和AsC氧化成无机砷才能出峰^[16-17]。因此As(III)、As(V)、MMA和DMA在常态流路下测定, AsB和AsC在紫外辅助条件下测定。

2.1.1 流动相及浓度的选择 实验对比了15 mmol/L的磷酸氢二铵、磷酸二氢铵、磷酸二氢铵-硝酸铵、碳酸铵作为流动相时6种砷形态的出峰情况。结果表明, 以磷酸二氢铵、磷酸二氢铵-硝酸铵和碳酸铵溶液为流动相时AsB和AsC均不出峰, 而以磷酸氢二铵溶液为流动相时, 6种砷形态均出峰且无重叠。进一步考察了磷酸氢二铵浓度(5~30 mmol/L)的影响, 将其pH调至9.0, 分别测定 $100\text{ }\mu\text{g/L}$ 6种砷形态的峰面积。结果显示, As(III)、As(V)、MMA和DMA的荧光值在磷酸氢二铵浓度为25 mmol/L时达到最大, 之后荧光值随着磷酸氢二铵浓度的增加而降低; AsB和AsC的荧光值随着磷酸氢二铵浓度的增加而降低, 当浓度为5 mmol/L时荧光值最大, 当浓度大于15 mmol/L时不出峰。这是由于高浓度的流动相可缩短分析时间, 但会造成色谱峰重叠, 分离度减小^[18]。因此, 选择As(III)、As(V)、MMA和DMA的流动相为25 mmol/L磷酸氢二铵溶液, AsB和AsC的流动相为5 mmol/L磷酸氢二铵溶液(紫外条件)。

2.1.2 流动相pH值的选择 采用上述最佳流动相, 在pH 6.0~11.0范围内考察了流动相pH值的影响(图1)。由图1可知, pH 6.0时, As(III)、As(V)、MMA和DMA的荧光值最佳; 而AsB和AsC

的荧光值分别在流动相 pH 值为 9.0 和 8.0 时达到最大, 此后随着 pH 值的增加而降低。因此, As(III)、As(V)、MMA 和 DMA 的最佳流动相 pH 值为 6.0, AsB 和 AsC 的最佳流动相 pH 值为 9.0 (紫外条件)。

2.1.3 泵速的选择 蠕动泵的流速会影响待测液与还原剂、载流的反应时间, 进而影响氢化反应的效率^[19]。考察了蠕动泵流速(25~70 r/min)的影响, 结果显示, 当泵速由 25 r/min 增至 50 r/min 时, As(III)、As(V)、MMA 和 DMA 的荧光值均持续增加达到最高值, 泵速继续增加时荧光值逐渐降低; AsB 和 AsC 的荧光值在 25~70 r/min 范围内呈波动性增加, 当泵速为 50 r/min 时荧光值增幅最大。因此, 选择最佳泵速为 50 r/min。

2.1.4 负高压的选择 检测器的光电倍增管可将光信号转变为电信号, 因此负高压的变化会直接影响荧光值。考察了负高压(270~320 V)的影响, 结果表明 6 种砷形态的荧光值均随负高压的增加而增加, 但 AsB 和 AsC 的荧光值在 320 V 时略微减小, 同时考虑到光电倍增管的使用寿命, 实验选择最佳负高压为 310 V。

2.2 前处理方法的优化

参照文献^[15, 20], 比较了酸提取法和甲酯化法两种前处理方法的提取效果, 其提取剂分别为 1% 硝酸和 3% 硫酸甲醇溶液。结果显示, 采用甲酯化法时 As(III) 和 As(V) 的回收率均低于酸提取法, 其中 As(V) 的回收率仅为 30.8%, 而酸提取法对 6 种砷形态的回收率为 71.3%~110%, 因此选择酸提取法。进一步采用酸提取法对比了水浴和超声波辅助 2 种方式的效果, 结果表明 70 °C 水浴时 6 种砷形态的回收率为 65.3%~120%, 70 °C 超声波辅助时 DMA 的回收率为 53.9%, 其余 5 种砷形态的回收率为 76.0%~109%。综合考虑, 实验选择 70 °C 水浴酸提取法作为前处理方法。

2.3 方法学验证

2.3.1 标准曲线、检出限与定量下限 配制 5、10、20、30、50、100 $\mu\text{g/L}$ 的砷形态系列标准混合溶液, 在最佳实验条件下采用本方法进行测定, 6 种砷形态的标准色谱图见图 2。以标准溶液的质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/L}$), 各砷形态的色谱峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。结果表明, 6 种砷形态在 5~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好, 相关系数(r^2)均大于 0.999 0。以空白日本对虾作为样品基质进行加标实验, 加标水平分别为 0.01、0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/kg, 以 3 倍信噪比($S/N \geq 3$)和 10 倍信噪比($S/N \geq 10$)分别计算得方法的检出限(LOD)为 0.01 mg/kg, 定量下限(LOQ)为 0.03 mg/kg, 结果见表 1。本方法的 LOD 和 LOQ 均小于 GB 5009.11-2014 中水产动物的方法 LOD(0.03 mg/kg)和 LOQ(0.08 mg/kg)^[21]。

2.3.2 回收率与相对标准偏差 选取日本对虾(As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsC 含量低于检出限, AsB 含量为 0.652 0 mg/kg)作为样品

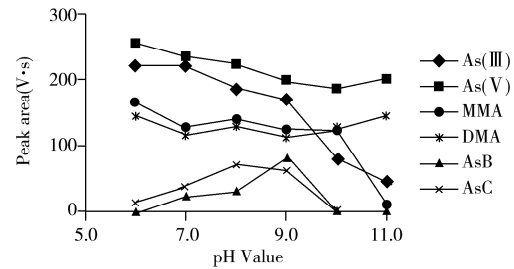


图 1 流动相 pH 值对目标物荧光值的影响
Fig. 1 Effect of mobile phase pH value on fluorescence value of analyte

呈波动性增加, 当泵速为 50 r/min 时荧光值增幅最大。因此, 选择最佳泵速为 50 r/min。

检测器的光电倍增管可将光信号转变为电信号, 因此负高压的变化会直接影响荧光值。考察了负高压(270~320 V)的影响, 结果表明 6 种砷形态的荧光值均随负高压的增加而增加, 但 AsB 和 AsC 的荧光值在 320 V 时略微减小, 同时考虑到光电倍增管的使用寿命, 实验选择最佳负高压为 310 V。

2.2 前处理方法的优化

参照文献^[15, 20], 比较了酸提取法和甲酯化法两种前处理方法的提取效果, 其提取剂分别为 1% 硝酸和 3% 硫酸甲醇溶液。结果显示, 采用甲酯化法时 As(III) 和 As(V) 的回收率均低于酸提取法, 其中 As(V) 的回收率仅为 30.8%, 而酸提取法对 6 种砷形态的回收率为 71.3%~110%, 因此选择酸提取法。进一步采用酸提取法对比了水浴和超声波辅助 2 种方式的效果, 结果表明 70 °C 水浴时 6 种砷形态的回收率为 65.3%~120%, 70 °C 超声波辅助时 DMA 的回收率为 53.9%, 其余 5 种砷形态的回收率为 76.0%~109%。综合考虑, 实验选择 70 °C 水浴酸提取法作为前处理方法。

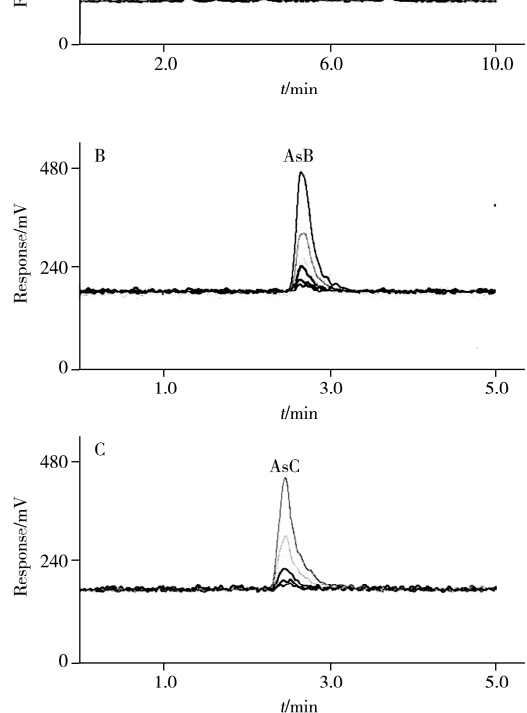


图 2 6 种砷形态的标准色谱图
Fig. 2 Standard chromatograms of six arsenic speciations

进行加标回收实验, 加标水平分别为0.01、0.05、0.10 mg/kg, 每个加标浓度平行测定6次, 计算回收率及相对标准偏差(RSD)。由表1可知, 6种砷形态的平均回收率为89.2%~108%, RSD为3.4%~14%, 方法具有良好的精密度和准确度。

表1 6种砷形态的相关系数(r^2)、检出限、定量下限、加标回收率和相对标准偏差($n=6$)
Table 1 Correlation coefficients(r^2), detection limits, quantitation limits, recoveries and relative standard deviations(RSD) of six arsenic speciations($n=6$)

| Analyte | r^2 | LOD (mg/kg) | LOQ (mg/kg) | Added (mg/kg) | Recovery (%) | RSD (%) |
|---------|---------|----------------|----------------|------------------|------------------|---------------|
| As(Ⅲ) | 0.999 4 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 104, 91.7, 91.1 | 10, 5.1, 6.8 |
| As(Ⅴ) | 0.999 7 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 97.1, 94.0, 92.4 | 8.3, 5.9, 6.9 |
| MMA | 0.999 8 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 108, 101, 92.7 | 11, 3.4, 5.5 |
| DMA | 0.999 7 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 108, 91.9, 89.2 | 14, 12, 8.1 |
| AsB | 0.999 6 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 106, 95.1, 89.9 | 11, 11, 11 |
| AsC | 0.999 5 | 0.01 | 0.03 | 0.01, 0.05, 0.10 | 108, 101, 105 | 10, 8.5, 8.2 |

2.4 实际样品分析

采用本方法对南极磷虾及其制品和5种市售虾类样品进行砷形态分析, 结果见表2。其中, 南极磷虾及其制品中MMA和AsC均未检出; DMA的含量较低, 在南极磷虾酱罐头、南极磷虾油胶囊B和C中也均未检出; 无机砷(As(Ⅲ)和As(Ⅴ))的含量均小于0.5 mg/kg, 符合GB 2762-2017对水产品及其制品中砷的限量标准^[22]。AsB的检出含量最高, 南极磷虾、南极磷虾粉和南极磷虾罐头中AsB含量占总砷含量的87.91%~99.84%, 南极磷虾油原液和南极磷虾油胶囊中AsB含量占总砷含量的51.94%~94.50%, 该结果与文献基本一致^[7,20]。市售5种虾类样品仅检出较低含量的AsB, 均符合GB 2762-2017的规定。

表2 实际样品中砷形态的测定结果($n=3$)
Table 2 Determination of arsenic speciations in real samples($n=3$)

| Sample | As(Ⅲ) | As(Ⅴ) | MMA | DMA | AsB | AsC | Total arsenic |
|--|---------------------|-------------------|------|-------------------|-------------------|-----|-------------------|
| <i>Euphausia superba</i> (南极磷虾) | 0.012 9 ± 0.001 9 * | 0.071 4 ± 0.005 3 | - ** | 0.049 3 ± 0.000 2 | 1.016 8 ± 0.061 9 | - | 1.150 4 ± 0.121 8 |
| Antarctic krill powder (南极磷虾粉) | 0.215 4 ± 0.043 0 | 0.283 1 ± 0.019 9 | - | 0.129 0 ± 0.056 3 | 3.460 2 ± 0.208 2 | - | 4.087 8 ± 0.119 4 |
| Canned krill (南极磷虾罐头) | - | - | - | 0.008 9 ± 0.000 8 | 0.291 0 ± 0.025 4 | - | 0.299 9 ± 0.024 3 |
| Canned krill paste (南极磷虾酱罐头) | - | 0.004 4 ± 0.000 4 | - | - | 0.242 0 ± 0.033 7 | - | 0.246 4 ± 0.045 1 |
| Stock solution (南极磷虾油原液) | 0.054 9 ± 0.002 4 | 0.001 1 ± 0.000 1 | - | 0.155 2 ± 0.012 3 | 3.630 4 ± 0.268 5 | - | 3.841 6 ± 0.191 5 |
| Capsule A (南极磷虾油胶囊 A) | 0.031 7 ± 0.004 7 | 0.200 9 ± 0.028 3 | - | 0.063 3 ± 0.006 3 | 0.864 5 ± 0.015 5 | - | 1.160 4 ± 0.029 8 |
| Capsule B (南极磷虾油胶囊 B) | - | 0.116 6 ± 0.023 7 | - | - | 0.367 9 ± 0.013 4 | - | 0.484 5 ± 0.001 8 |
| Capsule C (南极磷虾油胶囊 C) | - | 0.215 6 ± 0.031 6 | - | - | 0.233 0 ± 0.001 5 | - | 0.448 6 ± 0.034 2 |
| Capsule D (南极磷虾油胶囊 D) | - | 0.188 4 ± 0.058 1 | - | 0.019 8 ± 0.001 0 | 1.336 1 ± 0.032 6 | - | 1.544 3 ± 0.135 6 |
| Capsule E (南极磷虾油胶囊 E) | - | - | - | 0.142 8 ± 0.043 6 | 1.306 1 ± 0.085 6 | - | 1.448 9 ± 0.136 5 |
| <i>Penaei</i> (南美白对虾) | - | - | - | - | 0.362 6 ± 0.026 7 | - | 0.362 6 ± 0.026 7 |
| <i>Metapenaeus ensis</i> (刀额新对虾) | - | - | - | - | 0.242 6 ± 0.027 3 | - | 0.242 6 ± 0.027 3 |
| <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (罗氏沼虾) | - | - | - | - | 0.704 6 ± 0.000 3 | - | 0.704 6 ± 0.000 3 |
| <i>Penaeus japonicus</i> (日本对虾) | - | - | - | - | 0.652 0 ± 0.002 0 | - | 0.652 0 ± 0.002 0 |
| <i>Macrobrachium nipponense</i> (日本沼虾) | - | - | - | - | 0.123 8 ± 0.011 2 | - | 0.123 8 ± 0.011 2 |

* the results are expressed as mean ± standard deviation; ** not detected

3 结 论

本研究建立了南极磷虾及其制品中6种砷形态的HPLC-(UV)HG-AFS检测方法,并对样品前处理和仪器条件进行优化。方法学验证结果显示,6种砷形态在5~100 μg/L范围内线性关系良好($r^2 > 0.999 0$),LOD均为0.01 mg/kg,LOQ均为0.03 mg/kg,加标回收率为89.2%~108%,RSD($n=6$)为3.4%~14%。该方法具有前处理操作简单、适用范围广、结果准确度高等优点,适用于大批量南极磷虾及其制品中砷的形态分析。

参考文献:

- [1] Liu L, Liu C C, Zhao Y, Wang X C, Li J L. *Food Sci.* (刘丽, 刘承初, 赵勇, 王锡昌, 李加乐. 食品科学), **2010**, 31(17): 443-447.
- [2] Sun L D, Leng K L, Sun W H, Zhao X Y, Gao H, Xing L H, Liu K. *Food Sci.* (孙来娣, 冷凯良, 孙伟红, 赵宪勇, 高华, 邢丽红, 刘坤. 食品科学), **2013**, 34(8): 157-160.
- [3] Liu Q, Huang H L, Li L N, Wang Q, Zhou Y S, Ruan W. *Chin. J. Polar Res.* (刘勤, 黄洪亮, 李励年, 王茜, 周雨思, 阮雯. 极地研究), **2015**, 27(1): 31-37.
- [4] Yue D D, Wang L M, Huang H L, Zheng H F, Feng C L, Zhang X, Tang F H. *J. Agric. Sci. Technol.* (岳冬冬, 王鲁民, 黄洪亮, 郑汉丰, 冯春雷, 张勋, 唐峰华. 中国农业科技导报), **2015**, 17(3): 159-166.
- [5] Castro G A, Fiorentini E F, Martinez L D, Wuilloud R G. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1462: 44-54.
- [6] Lu K J, Wu J K, Wang Z H, Shi W Z, Di X Q. *Sci. Technol. Food Ind.* (卢坤俊, 吴继魁, 汪之和, 施文正, 邱向乾. 食品工业科技), **2013**, 34(2): 64-67.
- [7] Wang S, Li K, Cui H, Wang J T, Zhao X P, Miao J K, Liu X F, Zhao X Y, Leng K L. *Chin. J. Anal. Chem.* (王松, Li Ke, 崔鹤, 王境堂, 赵鑫鹏, 苗钧魁, 刘小芳, 赵宪勇, 冷凯良. 分析化学), **2016**, 44(5): 767-772.
- [8] Grotti M, Soggia F, Goessler W, Findenig S, Francesconi K A. *Talanta*, **2010**, 80: 1441-1444.
- [9] Francesconi K A. *Pure Appl. Chem.*, **2010**, 82(2): 373-381.
- [10] Nam S H, Cui S, Park M Y. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2016**, 37: 1920-1926.
- [11] Schmidt L, Landero J A, Santos R F, Mesko M F, Mello P A, Flores E M M, Caruso J A. *J. Anal. At. Spectrom.*, **2017**, 32: 1490-1499.
- [12] Chen S Y, Yuan B, Xu J J, Chen G T, Hu Q H, Zhao L Y. *Food Chem.*, **2018**, 262: 134-141.
- [13] Yang F, Xie S W, Wei C Y, Liu J X. *Spectrosc. Spectral Anal.* (杨芬, 谢邵文, 韦朝阳, 刘金鑫. 光谱学与光谱分析), **2018**, 38(6): 1884-1888.
- [14] Guo Y Y, Wang L Z, Zhu W J, Jiang Y H, Yao L. *Food Sci.* (郭莹莹, 王联珠, 朱文嘉, 江艳华, 姚琳. 食品科学), **2018**, 39(19): 182-187.
- [15] Dong Z, Gao M Y, Li M Y, Zhang H L, Zhang Q S, Cao J. *J. Food Saf. Qual.* (董喆, 高明义, 李梦怡, 张会亮, 张庆生, 曹进. 食品安全质量检测学报), **2016**, 7(3): 927-932.
- [16] Gao L, Dong W F, Peng X T, Shi L J, Li Y, Pang Y H, Xu J, Cao J J. *J. Food Saf. Qual.* (高鹭, 董伟峰, 彭心婷, 史立娟, 李妍, 庞艳华, 徐静, 曹际娟. 食品安全质量检测学报), **2015**, 6(1): 145-151.
- [17] Vilano M, Rubio R. *Appl. Organomet. Chem.*, **2001**, 15: 658-666.
- [18] Yu Z R. *Application of HPLC-(UV)-HG-AFS Method Analysis of Arsenic in Marine Algae*. Shanghai: Shanghai Normal University(于卓然. 液相色谱与氢化物发生原子荧光光谱联用分析海洋藻类中砷的形态. 上海: 上海师范大学), **2018**.
- [19] Zhan Q Y, Shi Y F, Huang X Y, Huang D M, Yang G X, Cai Y Q. *Mar. Fish.* (詹倩云, 史永富, 黄宣运, 黄冬梅, 杨光昕, 蔡友琼. 海洋渔业), **2017**, 39(2): 225-232.
- [20] Zhang X C. *Speciation Analysis of Arsenic in Antarctic Krill and Study on Arsenic Migration During Processing*. Qingdao: Qingdao University(张学超. 南极磷虾中砷的形态分析及加工过程中砷的迁移规律研究. 青岛: 青岛大学), **2018**.
- [21] GB 5009.11-2014. Determination of Total Arsenic and Inorganic Arsenic in Food. National Standards of the People's Republic of China(食品中总砷及无机砷的测定. 中华人民共和国国家标准).
- [22] GB 2762-2017. Maximum Levels of Contaminants in Foods. National Standards of the People's Republic of China(食品中污染物限量. 中华人民共和国国家标准).

(责任编辑: 丁 岩)