

文章编号: 1004 - 7271(2008)05 - 0553 - 06

紫菜中无机砷含量测定及分析

谢程亮¹, 马家海¹, 张华伟¹, 陆勤勤², 许璞³, 黄健⁴, 宋武林⁴

1. 上海海洋大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090;
2. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007;
3. 江苏省常熟理工学院, 江苏 常熟 215500;
4. 福建省水产技术推广总站, 福建 福州 350003)

摘要:按照国标 GB19643 - 2005《藻类制品卫生标准》中测定无机砷的第一法氢化物原子荧光光度法(HG-AFS)对来自我国福建、江苏以及从日本和韩国进口的紫菜样品中的无机砷含量进行测定, 结果表明使用 HG-AFS 法测定的紫菜样品无机砷含量均明显超过该标准中规定的无机砷限量值; 在不同的酸度 3%、8%、20%, 添加还原剂或不添加还原剂的条件下对二甲基砷(DMA)产生氢化物的效率进行测定, 结果表明在 HG-AFS 法的测定条件下, DMA 产生氢化物的效率可达到 34.4%。根据实验结果认为使用 HG-AFS 法测定的紫菜样品无机砷含量超标的原因是按照 HG-AFS 法的前处理方法处理紫菜样品后, 提取液中含有的砷糖降解物二甲基砷(DMA)经原子荧光光度计检测时会产生与无机砷相同的信号, 此信号会严重干扰测定结果。

关键词:氢化物原子荧光光度法; 紫菜; 无机砷

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Determination and analysis of inorganic arsenic in laver

XIE Cheng-liang¹, MA Jia-hai¹, ZHANG Hua-wei¹, LU Qin-qin²,
XU Pu³, HUANG Jian⁴, SONG Wu-lin⁴

1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China;
2. Institute of Marine Fisheries of Jiangsu, Nantong 226007, China;
3. Changshu Institute of Technology of Jiangsu, Changshu 215500, China;
4. Fujian Fishery Technical Extension Center, Fuzhou 350003, China)

Abstract: The content of inorganic arsenic in the laver from Fujian and Jiangsu Provinces of China and in the laver imported from Japan and Korea was determined by the first method of hydride generation atomic fluorescence spectrum (HG-AFS) in GB19643-2005. The results showed that the content of inorganic arsenic in laver determined by HG-AFS method was much higher than that prescribed in GB19643 - 2005 in China. In the condition of different acid degree 3%, 8%, 20% and adding the reducing agents or not, the hydride generation efficiency of DMA was determined, the results showed the hydride generation efficiency of DMA was 34.4% in the condition of HG-AFS method. The present study showed the cause that the content of inorganic arsenic in laver determined by HG-AFS method was much higher than that prescribed in GB19643 - 2005 in

收稿日期: 2007-12-10

基金项目: 南通市农业创新科技计划(AL2006005); 上海市学科建设项目(Y1101)

作者简介: 谢程亮(1983-), 男, 湖北天门人, 硕士研究生, 专业方向为水产集约化养殖。E-mail: xie_8324@sina.com

通讯作者: 马家海, E-mail: jhma@shfu.edu.cn

China, was that the extracted liquid contains DMA, which was the decomposing product of arsenic sugar after pretreatment by HG-AFS method. DMA would produce the same signal as that produced by inorganic arsenic when detecting by AFS. The signal would disturb the final result heavily.

Key words: hydride generation atomic fluorescence spectrum; laver; inorganic arsenic

在自然界中砷以多种形态存在, 毒性强弱依赖于砷的化学形态, 毒性大小依次为三价无机砷 > 五价无机砷 > 有机砷, 国际上对砷的卫生学评价均以无机砷为依据^[1-2], 因此对紫菜中无机砷含量进行测定对于紫菜产品的安全评价具有重要的意义。

目前对于紫菜中无机砷含量进行测定的文章很少, 而且不同研究者利用不同的测定方法研究结果具有较大的差异。李卫华等^[3-4]用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICPMS)测定了我国不同海域海藻(海带、紫菜)样品中的砷, 所有海藻样品萃取物中, 砷糖为砷的主要形态, 无机砷在所有样品萃取物中未检出; 朱亚尔等^[5]利用 HG-AFS 法测定来自我国大连、浙江、海南的紫菜样品无机砷的含量分别为 8.331、8.064、12.27 $\mu\text{g/g}$, 无机砷含量远远超过 GB19643 - 2005《藻类制品卫生标准》中规定的限量值($\leq 1.5 \text{ mg/kg}$)^[6]; 韦昌金等^[7]采用高效液相色谱-氢化物发生原子荧光(HPLC-HGAFS)和 HGAFS 对常用方法检测过程的中间产物进行检测, 通过对中间产物的分析可知, 常用方法中前处理过程会对海生植物中的有机形态分布造成的显著变化主要是砷糖(AsS)降解为二甲基砷(DMA), 当 DMA 的浓度远高于无机砷的浓度时, 会对无机砷的测量造成极大的干扰, 甚至彻底误报。本文在前人的研究基础上, 以 GB19643 - 2005《藻类制品卫生标准》中测定无机砷的第一法氢化物原子荧光光度法(HG-AFS), 对来自我国福建、江苏以及从日本和韩国进口的紫菜样品中的无机砷含量进行测定、分析, 并对 HG-AFS 法的前处理过程的中间产物 DMA 产生氢化物的效率进行分析、探讨, 以期正确评价紫菜中无机砷的含量。

1 材料与方方法

1.1 材料

本试验分析所用的坛紫菜样品采自福建省福鼎、霞浦、连江、平潭、南安等地; 条斑紫菜样品来自我国江苏省南通各县市海区以及从日本、韩国进口的条斑紫菜。福建坛紫菜为粗加工的干品或经加工而成的圆饼状制品; 我国江苏条斑紫菜为粗加工以及经过全自动紫菜加工装置一次加工、热风干燥机二次干燥后的制品; 日本及韩国的条斑紫菜都为经过全自动紫菜加工装置一次加工、热风干燥机二次干燥后的制品。

1.2 样品测定的方法及步骤

1.2.1 原理

食品中的砷可能以不同的化学形式存在, 包括无机砷和有机砷。在 6 mol/L 盐酸水浴加热条件下无机砷以氯化物形式被提取, 实现无机砷和有机砷的分离。在 2 mol/L 盐酸条件测定总无机砷。

1.2.2 试剂

盐酸溶液(1+1), 氢氧化钾溶液(2 g/L), 硼氢化钾溶液(7 g/L) 碘化钾(100 g/L) — 硫脲混合溶液(50 g/L), 三价砷(As^{3+})标准液(10 ng/mL)。

1.2.3 仪器

玻璃仪器使用前经 15% 硝酸浸泡 24 h, 恒温水浴锅, 原子荧光光度计(吉天公司 AFS-9130) 仪器参考条件: 电源 60 mA 负高压 270 V 原子化器 8mm 载气流速 300 mL/min 延迟读数 1.5 s 读数 5 s。

1.2.4 分析步骤

紫菜样品粉碎过 80 目, 称取 0.5 g 样品, 置于 25 mL 具塞刻度试管中, 加盐酸(1+1)溶液 20 mL, 混匀。于 60 °C 水浴加热 18 h, 其间多次振摇, 使试液充分浸提。取出冷却, 用盐酸(1+1)溶液定容至

25 mL,脱脂棉过滤,取适量试液于 10 mL 容量瓶中,加碘化钾-硫脲混合溶液 1 mL,正辛醇(消泡剂) 8 滴,加水定容。放置 10 min 后测定试样中的无机砷。如浑浊,再次过滤后测定。同时做空白试验。

1.2.5 标准曲线的制作

分别准确吸取 10 ng/mL 三价砷(As^{3+})标准使用液 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,分别加入盐酸(1+1)溶液 4 mL,碘化钾-硫脲混合溶液 1 mL,正辛醇 8 滴,定容[各相当于含三价砷(As^{3+})浓度 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 ng/mL]。

1.3 二甲基砷(DMA)产生砷的氢化物效率的测定

1.3.1 实验设计

用 DMA 的储备液(1 000 mg/L)配成 20 ng/mL 的使用液。(1) DMA 使用液在酸度分别为 3%、8%、20% 的条件下经原子荧光光度计检测获得信号值;(2) DMA 使用液在酸度分别为 3%、8%、20% 的条件下经碘化钾-硫脲混合溶液还原 10 min 后,经原子荧光光度计检测获得信号值。

1.3.2 计算方法

DMA 产生氢化物的效率(%) = DMA 产生的信号值/同浓度 As^{3+} 产生的信号值 $\times 100\%$

2 结果

2.1 工作曲线

用砷标准使用液配制 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 ng/mL 的标准系列溶液,标准系列无机砷浓度及对应的荧光强度见表 1;由标准系列无机砷浓度与荧光强度所作的标准溶液工作曲线见图 1。由图 1 可知,在标准系列无机砷浓度范围内,荧光强度与无机砷浓度的线性相关性良好。

表 1 无机砷浓度与荧光强度的试验数据

Tab. 1 The experiment data of inorganic As concentration and fluorescence intensity

浓度 (ng/mL)	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	10.0
荧光强度	0	43.38	93.23	199.5	439.92	954.53	1 154.67

2.2 紫菜样品无机砷的测定结果

用 HG-AFS 法测定我国坛紫菜及我国、日本、韩国的条斑紫菜无机砷含量见表 2、表 3、表 4 和表 5。由表 2、表 3、表 4 和表 5 中数据可知,我国坛紫菜无机砷含量的平均值为 7.87 mg/kg,其范围为 3.80 ~ 12.58 mg/kg;条斑紫菜无机砷含量的平均值为 7.47 mg/kg,其范围为 6.02 ~ 11.84 mg/kg;进口的日本条斑紫菜无机砷含量的平均值 7.35 mg/kg,范围为 4.77 ~ 9.58 mg/kg;韩国条斑紫菜无机砷含量的平均值为 7.27 mg/kg,范围为 6.09 ~ 8.96 mg/kg。从测定结果来看,坛紫菜无机砷含量的均值稍高于条斑紫菜,就条斑紫菜而言国内外的条斑紫菜样品无机砷含量的均值大体类似。坛紫菜及条斑紫菜无机砷含量次数分布表见表 6。由表 6 可知,两种紫菜无机砷含量在 5.00 ~ 6.99 mg/kg 之间的紫菜样品最多,占总样品量的 42.9%,只有极少数紫菜样品的无机砷含量分布在 3.00 ~ 4.99 mg/kg 和 11.00 ~ 12.99 mg/kg。对来自我国福建、江苏、日本和韩国的紫菜样品用 HG-AFS 法进行测定,分析结果表明所测值都超过 GB19643-2005《藻类制品卫生标准》^[5]所规定的无机砷限量值(≤ 1.5 mg/kg),所测紫菜样品无机砷含量范围为 3.80 ~ 12.58 mg/kg。

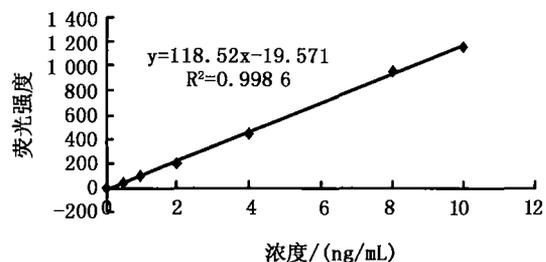


图 1 氢化物原子荧光光度法标准溶液工作曲线

Fig. 1 HG-AFS work curve of standard solution

表 2 中国坛紫菜样品无机砷含量

Tab. 2 The content of inorganic arsenic of *Porphyra haitanensis* from China

样品编号	采样时间	含量 (mg/kg)
福建样品 1	2005-10	8.70 ± 0.82
福建样品 2	2005-11	8.91 ± 0.76
福建样品 3	2005-11	9.28 ± 0.51
福建样品 4	2005-11	9.02 ± 0.82
福建样品 5	2005-11	9.58 ± 0.08
福建样品 6	2006-10	3.85 ± 0.92
福建样品 7	2006-10	3.80 ± 0.28
福建样品 8	2006-11	12.58 ± 0.63
平均值		7.87 ± 2.98

表 4 日本条斑紫菜样品无机砷含量

Tab. 4 The content of inorganic arsenic of *Porphyra yezoensis* from Japan

样品名称	采样时间	原子荧光法 (mg/kg)
日本样品 1	2005-1	6.54 ± 0.12
日本样品 2	2005-1	9.56 ± 1.92
日本样品 3	2005-3	6.29 ± 0.16
日本样品 4	2005-3	9.58 ± 1.85
日本样品 5	2006-4	4.77 ± 0.57
平均值		7.35 ± 2.14

表 3 中国条斑紫菜样品无机砷含量

Tab. 3 The content of inorganic arsenic of *Porphyra yezoensis* from China

样品编号	采样时间	含量 (mg/kg)
南通样品 1	2007-1	6.66 ± 1.15
南通样品 2	2007-1	6.92 ± 0.18
南通样品 3	2007-1	6.02 ± 1.00
南通样品 4	2007-1	6.54 ± 0.17
南通样品 5	2007-1	7.02 ± 0.83
南通样品 6	2007-1	6.31 ± 0.64
南通样品 7	2007-1	6.17 ± 0.04
南通样品 8	2007-1	6.34 ± 0.35
南通样品 9	2007-2	10.89 ± 0.95
南通样品 10	2007-2	11.84 ± 2.30
平均值		7.47 ± 2.09

表 5 韩国条斑紫菜样品无机砷含量

Tab. 5 The content of inorganic arsenic of *Porphyra yezoensis* from Korea

样品名称	采样时间	原子荧光法 (mg/kg)
韩国样品 1	2005-3	8.04 ± 1.03
韩国样品 2	2005-3	6.51 ± 1.28
韩国样品 3	2005-3	6.74 ± 0.57
韩国样品 4	2005-3	8.96 ± 0.44
韩国样品 5	2006-4	6.09 ± 0.63
平均值		7.27 ± 1.19

表 6 条斑紫菜及坛紫菜无机砷含量的次数分布表

Tab. 6 Frequency distribution table of inorganic arsenic content of *P. yezoensis* and *P. haitanensis*

序号	无机砷含量 (mg/kg)	次数	比例 (%)
1	3.00 ~ 4.99	3	10.7
2	5.00 ~ 6.99	12	42.9
3	7.00 ~ 8.99	5	17.9
4	9.00 ~ 10.99	6	21.4
5	11.00 ~ 12.99	2	7.1
总计		28	100%

2.3 二甲基砷 (DMA) 产生砷的氢化物效率的测定结果

DMA 在不同条件下产生砷的氢化物的效率见表 7。由表 7 的数据可知在酸度为 3%, 不经碘化钾-硫脲还原, DMA 产生砷的氢化物的效率可达到 91.4%; 在 HG-AFS 法的测定条件下即酸度为 20%, 经碘化钾-硫脲还原后, DMA 产生砷的氢化物的效率下降到 34.4%。图 2 表示了 DMA 产生砷

的氢化物的效率与酸度以及是否加还原剂的变化情况。从图 2 可知, 随着酸度的增加, DMA 产生砷的氢化物的效率明显下降; 加还原剂后产生砷的氢化物的效率要低于不加还原剂产生砷的氢化的效率。

表 7 DMA 产生砷的氢化物的效率

Tab. 7 The hydride generation efficiency of DMA

酸度 (%)	不加还原剂 (%)	加还原剂 (%)
3	91.4 ± 2.3	70.7 ± 2.9
8	77.1 ± 0.4	57.7 ± 2.0
20	46.7 ± 2.0	34.4 ± 1.0

3 讨论

3.1 紫菜中无机砷的含量

施宏景等^[8]用杨惠芬研制的食品中无机砷测定方法即 HG-AFS 法所测紫菜样品无机砷含量为 2.99 mg/kg;杨惠芬等^[9]用 HG-AFS 法测定三个紫菜样品的含量分别为 3.677 mg/kg、2.935 mg/kg 和 1.399 mg/kg;朱亚尔等^[5]利用 HG-AFS 法测定来自我国大连、浙江、海南的紫菜样品无机砷的含量分别为 8.331、8.064、12.27 mg/kg。使用国标 HG-AFS 法所测紫菜无机砷的含量绝大部分超过 GB19643 - 2005《藻类制品卫生标准》^[5]所规定的无机砷限量值,此结果与本文所测实验结果基本一致。

日本盐见一雄^[10]用 HPLC-ICPAES 分析了紫菜、海带和羊栖菜中总砷及无机砷的含量,其中紫菜中无机砷含量均值为 0.57 mg/kg,占总砷含量的 2.4%。而本文用 HG-AFS 法测定的日本、韩国紫菜无机砷含量的均值分别为 7.35 mg/kg、7.27 mg/kg,此结果与盐见一雄的实验结果有很大的差异。韦昌金等(2006)^[7]用水甲醇对紫菜样品进行萃取,并对砷的形态进行分析,发现紫菜中大量存在的是 AsS,高毒性的无机砷含量很低;而使用 HG-AFS 法的前处理方法即用 6 mol/L 盐酸于水浴锅水浴 18 h 对紫菜样品提取,发现 As 形态发生了明显改变,主要是 AsS 降解为 DMA。李卫华等^[3,4]用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICPMS)测定了我国不同海域海藻(海带、紫菜)样品中的砷,所有海藻样品萃取物中,砷糖为砷的主要形态,无机砷在所有样品萃取物中未检出。

从以上分析可知,紫菜中的砷绝大部分以砷糖的形式存在,无机砷很少。砷糖在酸性条件下长时间水浴加热时,砷糖的形态会发生转化,降解为 DMA。

3.2 DMA 产生砷的氢化物效率

顾微等^[11]应用氢化物发生-原子荧光分析技术建立了食品中总无机砷、三价砷和五价砷的测定方法,选用四氯苯砷作有机砷代表,对用盐酸(1+1)于 60 °C 水浴锅水浴 18 h 的条件下,提取无机砷和总无机砷、三价砷的测定,进行干扰试验,结果表明有机砷对水浴提取无机砷和总无机砷、三价砷的测定无干扰。顾微等在探讨有机砷是否会对三价砷的测定产生干扰试验中,仅以四氯苯砷作为有机砷的代表,而没有用其它有机砷如 DMA 对三价砷的测定进行干扰试验。

韦昌金等^[7]在 2.4 mol/L HCl 条件下测得 DMA 的灵敏度相当于同浓度 As³⁺ 灵敏度的 7% 左右,经碘化钾-硫脲还原后 DMA III 的灵敏度大约相当于同浓度 As³⁺ 的 2.3%。Ernst Schmeisser 等^[12]用 HG-ICPMS 测定 DMA 产生砷的氢化物效率为同浓度 As³⁺ 的 75%,四种砷糖产生氢化物效率为 21%~28% (或 4%~6% 依赖于不同的氢化物发生器)。本文在酸度为 3%,不经碘化钾-硫脲还原, DMA 产生砷的氢化物的效率可达到 91.4%,此结果与 Ernst Schmeisser 所测结果相似;在 HG-AFS 法的测定条件下即酸度为 20%,经碘化钾-硫脲还原后, DMA 产生砷的氢化物的效率下降到 34.4%。

由分析结果可知, DMA 对三价砷的测定具有干扰作用,尤其当 DMA 的浓度远高于三价砷的浓度时,会导致结果的误报。因 DMA 产生砷的氢化物的效率与测定体系中的氢化物发生器以及 HCl 和 NaBH₄ 的浓度有关^[12], DMA 相对于 As³⁺ 的灵敏度在不同的测定条件下会存在差异,本文所测结果与韦昌金等和 Ernst Schmeisser 等所测结果有所差异,可能是因为检测系统及检测环境的差异所致,此问题还需进一步研究。

4 结论

根据以上分析结果可知,紫菜中砷主要以有机砷砷糖的形式存在,无机砷含量很少,有些样品甚至

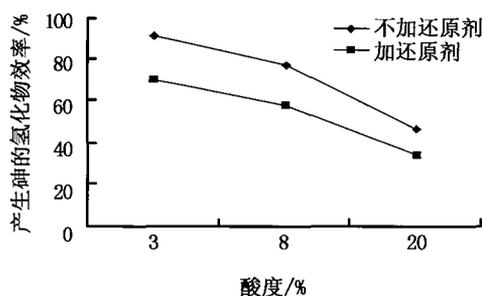


图2 DMA 产生砷的氢化物的效率

Fig. 2 The hydride generation efficiency of DMA

低于 HPLC-ICPMS 的检测限。而使用 HG-AFS 法对采自不同主要生产地区不同种类的紫菜样品进行测定,结果全部超标,其原因是按照 HG-AFS 法的前处理方法处理紫菜样品后,提取液中含有的砷糖降解物二甲基砷(DMA)经原子荧光光度计检测时会产生与无机砷相同的信号,此信号会严重干扰测定结果。因此,紫菜中无机砷含量应是低于国家标准规定的限量值,食用紫菜是安全的,现用的 HG-AFS 法不适合对紫菜中无机砷含量进行检测。

紫菜中砷的形态非常复杂,本文仅对砷糖的降解物 DMA 对无机砷的测定产生的干扰做了初步的研究,而对于一甲基砷(MMA)、砷脂等砷的其它形态对无机砷测定结果产生的影响还需进一步的分析。因此,如何建立一套高效地适合紫菜中无机砷的含量的分析方法,还需进一步进行深入的研究。

参考文献:

- [1] International Agency for Research on Cancer(IARC), Monographs, Evaluation of the Carcinogenic[J]. Scientific Publication, 1980,39.
- [2] FAO/WHO 1997, JointFAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee Additives and Contaminants[S].
- [3] 李卫华,王雅珍,刘玉海. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱检测海藻中的砷[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版),2006, 34(4):65-68.
- [4] Li W. H, Wang C, Zhang C, *et al.* A survey of arsenic species in Chinese seafood[J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, (41): 1103-1110.
- [5] 朱亚尔,李俊,李士敏. 不同产地的几种海藻中砷的形态和含量分析[J]. 环境化学, 2005, 24(4):478-480.
- [6] GB19643-2005,《藻类制品卫生标准》[S].
- [7] 韦昌金,刘丽萍,刘霁欣,等. 无机砷分析方法的探讨[J]. 分析测试技术和方法,2006(6):63-65.
- [8] 施宏景,胡家英,丁刚. 食品中无机砷限量标准研究[J]. 检验技术与方法,2000,6(6):433.
- [9] 杨惠芬,梁春穗,董仕林,等. 食品中无机砷限量卫生标准的研究[J]. 中国食品卫生杂志,2003.15(1):27-31.
- [10] 塩見一雄. 海藻食品の安全性-ヒ素からみて-[J]. 海藻資源,1999,(1):2-5.
- [11] 顾微,杨惠芬. 氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)测定食品中不同价态的无机砷[J]. 卫生研究,1999,28(6):372-374.
- [12] Ernst S, Walter G, Norbert K, *et al.* Volatile Analytes Formed From Arsenosugars; Determination by HPLC-HG-ICPMS and Implications for Arsenic Speciation Analyses[J]. Anal chem, 2004, 76:418-423.