

电感耦合等离子体-质谱法与氢化物原子荧光法 测定小麦中总硒含量的方法比较

陈修红, 汪厚银, 欧克勤, 史波林, 张璐璐, 解楠, 赵镭*

(中国标准化研究院食品与农业标准化研究所, 北京 102200)

摘要: **目的** 比较分析电感耦合等离子体-质谱法与氢化物原子荧光法测定小麦中硒含量。**方法** 用氢化物原子荧光法(hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, HG-AFS)和电感耦合等离子体-质谱法(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)两种方法测定小麦样品中硒的含量, 从检出限(LOD)、精密度(RSD)及回收率等方面进行方法学考察, 其中前者采用微波消解后需继续用电热板加热消解, 并加入盐酸将六价硒还原为四价硒的前处理方法, 后者采用仅采用微波消解的前处理方法。**结果** HG-AFS法的LOD为0.016 µg/L, RSD为1.00%, 回收率为94.0%~110.5%; ICP-MS法的LOD为0.028 µg/L, RSD为4.06%, 回收率为89.0%~116.6%。**结论** 两种方法检测结果基本一致, 均可以准确、灵敏地检测小麦样品中硒的含量。

关键词: 氢化物原子荧光法; 电感耦合等离子体-质谱法; 小麦; 硒

Comparison of quantification methods of selenium in wheat with hydride generation-atomic fluorescence spectrometry and inductively coupled plasma-mass spectrometry

CHEN Xiu-Hong, WANG Hou-Yin, OU Ke-Qin, SHI Bo-Lin, ZHANG Lu-Lu, XIE Nan, ZHAO Lei*

(Sub-Institute of Food and Agriculture Standardization, China National Institute of Standardization, Beijing 102200, China)

ABSTRACT: Objective To compare hydride generation-atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of selenium in wheat. **Methods** The content of selenium in wheat was determined by HG-AFS and ICP-MS under the optimal conditions. The limit of detection (LOD), the precision (RSD), and the recovery were investigated and compared. Electric heating plate digestion was carried out after microwave digestion by adding HCl for the reduction of Se^{6+} to Se^{4+} in the pretreatment processing of HG-AFS, while only microwave digestion was performed in ICP-MS. **Results** The LODs of HG-AFS and ICP-MS were 0.016 µg/L and 0.028 µg/L, RSDs were 1.00% and 4.06%, the recovery ranges were 94.0%~110.5% and 89.0%~116.6%, respectively. **Conclusion** As the similar performances including good repeatability and high sensitivity, HG-AFS and ICP-MS can be used as the routine methods for the determination of selenium in wheat.

KEY WORDS: hydride generation-atomic fluorescence spectrometry; inductively coupled plasma-mass spectrometry;

基金项目: 农业行业公益专项(201303106)

Fund: Supported by the Agricultural Industry Public Welfare Project (201303106)

*通讯作者: 赵镭, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品感官与检测分析技术。E-mail: zhaolei@cnis.gov.cn

*Corresponding author: ZHAO Lei, Ph.D, Associate Professor, Sub-Institute of Food and Agriculture Standardization, China National Institute of Standardization, Beijing 102200, China. E-mail: zhaolei@cnis.gov.cn

wheat; selenium

1 引言

自1957年Schwarz等^[1]发现硒是动物所必需的营养元素,1973年Rotruch等^[2]发现硒是动物和人体中谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)的活性成分以来,越来越多的研究证实硒具有抗氧化、防癌抗癌、抗衰老、增强免疫力、预防心脑血管疾病、保护肝脏、拮抗重金属毒性的许多功能^[3-7]。1973年,联合国世界卫生组织宣布硒是生物体中必须的、不可缺少的营养微量元素之一。但人体摄入过量的硒对人体是有害的,会引起硒中毒^[8]。经研究证实,动物和人无论是缺硒或硒过剩都会产生疾病。例如,当食物中硒浓度小于0.05 mg/kg,食草动物就会出现硒缺乏症;而浓度为4~5 mg/kg时,就出现硒中毒病症。

目前文献报道的用于硒含量检测的方法有很多^[9],主要包括分子光谱法(紫外可见分光光度法、荧光光谱法、催化动力学光谱法)、原子光谱法(石墨炉原子吸收光谱法、氢化物原子吸收法、氢化物原子荧光光谱法、原子发射光谱法)、电化学法(溶出伏安法、极谱法)、色谱法(气相色谱法、液相色谱法)、质谱法(电感耦合等离子体质谱法)等。

氢化物原子荧光法(hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, HG-AFS)因具有操作简单、干扰少、灵敏度高的特点^[10-12],已广泛应用于食品中硒含量的检测,但应用于硒形态分析时,只能通过间接法检测有机硒含量。电感耦合等离子体-质谱法(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)因其超高的灵敏度成为元素选择性分析的有效手段,与液相色谱联用可以作为一种高灵敏度的元素分析方法^[13-17],应用于食品、生物、环境、矿产等行业。关于两种方法的比较研究少有报道,本研究以小麦粉为研究对象,从检出限、精密度、回收率等方面考察两种检测方法,为满足后续开展硒形态(有机硒、无机硒、总硒等)检测实验的需求,寻求一种简单、灵敏、特异性强的测定方法。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

市售普通小麦,科研富硒小麦(中国农业大学食品科学与营养工程学院)。

浓硝酸、浓盐酸(优级纯,北京化工厂);氢氧化钾(分析纯,北京化工厂);30%过氧化氢、硼氢化钾(分析纯,天津市福晨化学试剂厂);超纯水(电阻率18.2 MΩ·cm,实验室自制);硒标准储备液(1000 μg/mL,GBW08611国家标准物质中心)。

6 mol/L 盐酸溶液:量取50 mL 盐酸缓慢加入至40

mL 水中,冷却后定容至100 mL。

0.5%氢氧化钾溶液:称取5 g 氢氧化钾,用水溶解并定容到1000 mL。

1.5%硼氢化钾溶液:称取1.5 g 硼氢化钾(KBH₄),用氢氧化钾溶液(0.5%)溶解并定容至100 mL。

2.2 仪器与设备

Mars 微波消解仪(美国CEM公司);GS-I 赶酸电热板(滨海县正红塑料厂);DHG 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);SK250H 超声波清洗器(北京联合科仪科技有限公司);DE-200 高速粉碎机(金坛市白塔新宝仪器厂);SK-2003A 原子荧光光谱仪-带硒空心阴极灯(北京金索坤技术开发有限公司);X Series 2 电感耦合等离子体质谱(美国赛默飞世尔公司)。

2.3 前处理

将小麦样品混匀后缩分至约20 g,用超纯水清洗3次,于60℃干燥箱中烘干,用高速粉碎机粉碎后过40目筛,混匀后贮存于自封袋中备用。

实验用玻璃仪器、消解罐等均需以浓硝酸浸泡过夜,用超纯水冲洗干净,晾干备用。

2.3.1 微波消解

称取0.5 g(精确至0.001 g)试样于消化管中,加入10 mL 浓硝酸、2 mL 30%的过氧化氢,振摇混合均匀,于微波消化仪中消化。消化条件如下:功率选择1600 W,100%;升温时间设为23 min;温度控制为180℃,保持时间10 min。同时做空白试验。

2.3.2 氢化物原子荧光光谱法样品处理

用氢化物原子荧光光谱法测定时,需要把微波消解后的样品在酸性介质中将硒的价态还原。消解后样品冷却后转入三角瓶中,加入几粒玻璃珠,在电热板上继续以220℃加热至近干,切不可蒸干。再加5.0 mL 浓盐酸,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,将六价硒还原成四价硒。冷却,转移试样消化液于25 mL 容量瓶中定容,混匀备用。

吸取10.0 mL 上述消化液于15 mL 比色管中,加入6 mol/L 的盐酸溶液2.0 mL,混匀待测。

2.3.3 电感耦合等离子体-质谱法样品处理

用电感耦合等离子体-质谱法测定时,无需硒元素价态还原。将消解后样品冷却后直接转入50 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度线,即可上机测定。

2.4 标准溶液配制

用超纯水配制浓度为0.0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/L 的硒标准溶液,分别取10.0 mL 上述消化液于15 mL 比色管中,加入6 mol/L 的盐酸溶液2.0 mL,混匀后用于

HG-AFS 法标准曲线的测定。

用 8%硝酸溶液配制浓度为 0.0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/L 的硒标准溶液,直接用于 ICP-MS 法标准曲线的测定。

2.5 分析检测条件

2.5.1 氢化物原子荧光法

负高压 420 V; 灯电流 80 mA; 原子化温度 800 ℃; 泵转速 100 r/min; 载气为氩气; 载气流速 500 mL/min; 辅助气流速: 800 mL/min; 采样延时 7 s; 积分时间 5 s, 测量方式为标准曲线法。

2.5.2 电感耦合等离子体-质谱法

等离子体功率 1300 W; 雾化室温度 3 ℃; 蠕动泵转速 30 r/min; 冷却器流速 14.0 L/min; 辅助气流速 0.8 L/min; 雾化器流速 0.9 L/min; 扫描模式为 scan 标准模式。

3 结果与分析

3.1 标准曲线

用上述两种方法对浓度为 0.0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/L 的硒标准溶液进行测定, HG-AFS 法所得标准曲

线方程为 $Y=215.12X+305.87$, 线性相关系数 R^2 为 0.9996; ICP-MS 法所得标准曲线为 $Y=116.88X+0.94903$, 线性相关系数 R^2 为 0.9997。

3.2 方法检出限

用上述两种方法测定硒元素的检出限, 分别对空白溶液测定 11 次, 计算其标准偏差, 根据检出限公式 $DL=3S/k$ (其中 k 为标准曲线斜率, S 为 11 次空白标准偏差) 计算其检出限。HG-AFS 法的检出限为 0.016 μg/L, ICP-MS 法的检出限为 0.028 μg/L。

3.3 精密度

在相同实验环境下, 用上述两种方法对相同硒标准溶液连续测定 7 次, 测定结果见表 1。两种检测方法精密度良好, RSD 均小于 5%。

3.4 回收率

在普通小麦粉中加入低、中、高浓度的硒标准溶液, 按上述两种方法进行含量检测, 测定结果如表 2。两种检测方法回收率良好, 均在 85%~120%之间。

表 1 精密度实验结果
Table 1 Experimental results of precision

检测方法	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD/%
HG-AFS 荧光强度/au	671.6	684.5	680.2	688.8	688.8	688.8	690.9	684.8	1.00
ICP-MS 谱线强度/cps	244.8	237.7	241.0	224.7	256.6	242.3	248.5	242.2	4.06

表 2 加标回收率结果
Table 2 Results of recovery rate

检测方法	样品测定值(μg/L)	加标浓度(μg/L)	加标后测定值(μg/L)	回收率(%)
HG-AFS	1.95	1.0	0.94	94.0
		2.0	4.16	110.5
		5.0	6.77	96.4
ICP-MS	1.45	1.0	2.34	89.0
		2.0	3.46	100.5
		5.0	7.28	116.6

4 样品测定

对普通小麦、科研富硒小麦两类小麦样品用上述两种方法分别进行检测, 测定结果如表 3, 普通小麦样品的硒含量较低, 科研富硒小麦样品的硒含量高。

对两种检测方法所测结果进行单因素方差分析, 比较其显著性差异分析。由表 4 的结果显示 HG-AFS 和 ICP-MS 两种方法对小麦硒含量的检测结果无显著性差异($P>0.05$)。

表 3 样品测定结果($n=3$)
Table 3 Detection results of samples ($n=3$)

样品信息	HG-AFS 法(mg/kg)	ICP-MS 法(mg/kg)
普通小麦样品	0.115±0.003	0.146±0.018
科研样品	富硒 1 0.433±0.004	0.458±0.012
	富硒 2 0.293±0.001	0.339±0.002

表4 单因素方差分析表
Table 4 Result of single factor variance analysis

	平方和	df	均方	F	显著性
方法间	0.005	1	0.005	0.275	0.607
样品内	0.303	16	0.019		
总数	0.308	17			

5 结 论

HG-AFS 法和 ICP-MS 法对硒的检出限分别为 0.016 $\mu\text{g/L}$ 和 0.028 $\mu\text{g/L}$, 精密度(RSD)分别为 1.00%和 4.06%, 回收率分别为 94.0%~110.5%和 89.0%~116.6%。两种方法检测结果基本一致, 均可以准确检测小麦中硒的含量。

HG-AFS 法仪器设备结构简单, 价格经济, 干扰较少, 检出限良好, 但样品前处理及检测时要求较高, 消解后需要盐酸介质环境将硒元素还原为四价硒, 检测时需要利用硼氢化钾还原剂还原成硒化氢; ICP-MS 法仪器设备结构复杂, 价格昂贵, 维护成本高, 干扰较多, 灵敏度高, 可同时检测多种元素, 样品前处理简单。

参考文献

- [1] Schwartz K, Foltz CM. Selenium as all integral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration [J]. J Am Otan Soc, 1957, 79: 3292-3293.
- [2] Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, *et al.* Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. Science, 1973, 179: 588-590.
- [3] 谢佳星, 梁标. 抗氧化剂硒的研究进展[J]. 右江医学, 2003, 31(6): 598-601.
Xie JX, Liang B. Research progress of antioxidant selenium [J]. Youjiang Med J, 2003, 31(6): 598-601.
- [4] 燕瑞, 易艳萍, 熊知行, 等. 微量元素抗衰老的作用[J]. 化学教育, 2000, (9): 1-2.
Yan R, Yi YP, Xiong ZX, *et al.* Anti-aging effect of trace elements [J]. Chin J Chem Educ, 2000, (9): 1-2.
- [5] 张尧琴, 吴占福, 吴淑琴, 等. 必需微量元素硒的研究进展[J]. 畜牧医学杂志, 2007, 26(1): 45-46.
Zhang YQ, Wu ZF, Wu SQ, *et al.* The research progress of necessary trace element selenium [J]. J Anim Sci Vet Med, 2007, 26(1): 45-46.
- [6] 曹丹阳. 微量元素硒与心血管疾病[J]. 中国地方病防治杂志, 2006, 21(3): 158-159.
Cao DY. Trace element selenium and cardiovascular disease[J]. Chin J Ctrl Endem Dis, 2006, 21(3): 158-159.
- [7] 余善鸣, 邹连华, 宁会滨. 富硒茶抗癌作用实验研究[J]. 中国职业医学, 2005, 32(4): 22-24.
Yu SW, Zou LH, Ning HB. Selenium-rich tea anti-cancer effects [J]. China Occup Med, 2005, 32(4): 22-24.
- [8] 张志华, 马友平. 恩施州土壤中总硒含量和水溶性硒含量间关系研究[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2008, 26(3): 287-290.
Zhang ZH, Ma YP. Enshi total selenium content in soil and the relationships between water soluble selenium research [J]. J Hubei Univ Nation (Nat Sci Ed), 2008, 26(3): 287-290.
- [9] 柏林洋, 刘文. 食品中痕量硒分析方法研究进展[J]. 广州化工, 2012, 40(20): 40-42.
Bai LY, Liu W. Research progress of analytical methods for trace element selenium in food [J]. Guangzhou Chem Ind, 2012, 40(20): 40-42.
- [10] Capelo JL, Fernandez C, Pedras B, *et al.* Trends in selenium determination/speciation by hyphenated techniques based on AAS or AFS [J]. Talanta, 2006, 68(5): 1442-1447.
- [11] Smrkolj P, Stibilj V. Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2004, 512(1): 11-17.
- [12] Lavilla I, González-Costas JM, Bendicho C. Improved microwave-assisted wet digestion procedures for accurate Se determination in fish and shellfish by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2007, 591(2): 225-230.
- [13] 郭志英, 于水. HPLC/ICP-MS 在环境样品的痕量元素形态分析中的应用[J]. 质谱学报, 2006, 27(1): 56-64.
Guo ZY, Yu S. Analysis of element speciation in environment sample by HPLC/ICP-MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2006, 27(1): 56-64.
- [14] 雷绍荣, 杨定清, 周娅. 硒的总量及形态分析综述[J]. 中国测试, 2009, 35(5): 1-6.
Lei SR, Yang DQ, Zhou Y. Summary on total content determination and speciation analysis of selenium [J]. Chin Meas Test, 2009, 35(5): 1-6.
- [15] Zheng J, Shibata Y, Tanaka A. Study of the stability of selenium compounds in human urine and determination by mixed ion-pair reversed-phase chromatography with ICP-MS detection [J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 374(2): 348-353.
- [16] 喻宏伟, 陈春英, 高愈希, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法分析生物样品中硒的化学形态[J]. 分析化学, 2006, 34(6): 749-753.
Yu HW, Chen CY, Gao YX, *et al.* Analysis of selenium species in biological samples by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 34(6): 749-753.
- [17] 王丙涛, 谢丽琪, 林燕奎, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用检测食品中的五种硒形态[J]. 色谱, 2011, 29(3): 223-227.
Wang BT, Xie LQ, Lin YK, *et al.* Determination of selenium species in food by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(3): 223-227.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



陈修红, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品检测与仪器分析。
E-mail: xiuhong2006@163.com



赵 镭, 博士, 高级主任研究员, 主要研究方向为食品感官与检测分析技术。
E-mail: zhaolei@cnis.gov.cn