

电感耦合等离子体质谱法测定乳制品中硒含量

宁月莲, 黄晓燕*, 胡文慧, 刘丽君, 李翠枝

(内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 呼和浩特 010110)

摘要: **目的** 建立电感耦合等离子体质谱法检测乳与乳制品中微量元素硒含量的方法。**方法** 采用微波消解前处理方法, 使用电感耦合等离子体质谱仪的碰撞反应模式, 内标中添加甲醇溶液为基体改进剂, 通过分析微量元素硒的6个同位素的灵敏度和线性相关性, 确定选择质量数⁷⁸Se测定乳制品中的硒。同时用Minitab中的DOE实验设计进行分析, 采用⁷²Ge元素作内标补偿基体效应。**结果** 本方法相关系数达到0.999以上, 固体样品检出限0.00737 mg/kg, 液体样品0.00264 mg/kg, 5种不同基质样品的精密度在2.0%~6.1% ($n=6$), 加标回收率为81.1%~117%。**结论** 该检测方法快速简便, 精密度高, 准确性好, 也具有较高的灵敏度, 可为乳及乳制品中微量元素硒的测定提供参考。

关键词: 硒; 电感耦合等离子体质谱法; 微波消解法; 乳制品

Determination of selenium in dairy products by inductively coupled plasma mass spectrometry

NING Yue-Lian, HUANG Xiao-Yan*, HU Wen-Hui, LIU Li-Jun, LI Cui-Zhi

(Inner Mongolia Yili Industrial Group, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of selenium in milk and dairy products by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Methods** The microwave digestion method was used. The collision reaction mode of ICP-MS was used. Methanol solution was added to the internal standard as matrix modifier. The sensitivity and linear correlation of 6 isotopes of selenium were analyzed to determine the selected mass number of ⁷⁸Se in dairy products. At the same time, the DOE experimental design in Minitab was used for analysis, and ⁷²Ge element was used as internal standard to compensate matrix effect. **Results** The correlation coefficient of the method was above 0.999. The limit of detection of solid samples was 0.00737 mg/kg, and that of liquid samples was 0.00264 mg/kg. The precision of five different matrix samples was 2.0%–6.1% ($n=6$), and the recoveries were 81.1%–117%. **Conclusion** The method is rapid, simple, accurate and sensitive, which can provide reference for the determination of trace element selenium in milk and dairy products.

KEY WORDS: selenium; inductively coupled plasma mass spectrometry; microwave digestion; dairy products

1 引言

硒(Se)是人体的必需微量元素, 是一些抗氧化酶和蛋白的重要组成部分^[1], 在体内起着平衡氧化还原状态的作

用。硒对多种肿瘤的预防作用, 补硒可预防克山病、骨节病的发生等^[2,3]。近年来, 对硒的研究日益全面, 如硒对婴儿早产以及心理、神经发育的促进作用^[4], 对某些动物的生殖能力有修复作用^[5,6]。硒是一个双功能元素, 适量的硒

*通讯作者: 黄晓燕, 中级工程师, 主要研究方向乳与乳制品检测。E-mail: hxyili@yili.com

*Corresponding author: HUANG Xiao-Yan, Intermediate Engineer, Inner Mongolia Yili Industrial Group, Hohhot 010110, China. E-mail: hxyili@yili.com

有利于人体健康, 但摄入硒过量会导致人体中毒。乳及乳制品是人类最常食用的食品, 因此对其中硒的快速准确的检测方法的研究势在必行。

目前检测硒的方法较多, 有氢化物原子荧光光谱法、荧光分光光度法、石墨炉吸收光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法、气相色谱法、电感耦合等离子质谱法等^[7-13]。近几年电感耦合等离子质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)检测元素被广泛应用于各个行业领域, ICP-MS 法能够实现多元素同时检测, 具有较宽泛的线性范围及较低的检出限, 利用内标校正的方式可以有效的降低基体效应。同样 ICP-MS 法也有它的不足之处, 那就是在元素检测方面存在的质谱干扰和非质谱干扰很多, 质谱干扰主要有同量异位素、氧化物、双电荷等, 非质谱干扰来源于试剂纯度和内标校正等, 这些干扰可以通过相应的手段进行消除。硒元素具有较高的电离能(9.75 eV), 在氩(⁴⁰Ar)等离子体中电离程度较低, 文献^[14,15]报道含碳有机物能对 Se 元素分析信号产生显著的增敏作用。

本研究在相同条件下通过对 Se 的不同同位素进行分析, 选用丰度比为 23.77%的 ⁷⁸Se, 以 7.5%(V:V)甲醇作为基体改进剂, 建立了乳及乳制品中微量元素硒的测定方法。本研究选用实验室质谱实验常用的、纯度级别较高的色谱级甲醇做为基体改进剂, 内标校正减少非质谱的干扰; 采用碰撞模式, 标准进样系统消除质谱干扰, 从而提高硒元素的检测水平, 以期为乳及乳制品中微量元素硒的研究提供参考。

2 材料与方法

2.1 试剂与原料

硝酸(高纯级, 加拿大 CNW 公司); 元素标准储备液(160459-01-01); 内标元素储备液(163175-01-01)(美国 O2Si 公司); ICP-MS 调谐溶液(5185-5959, 美国 Agilent 公司); 去离子水符合 GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》^[16]规定。

研究所用乳及乳制品均为市售。

2.2 仪器

ICP-MS 8800 电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 公司); MARS6 密闭微波消解仪, 配有聚四氟乙烯消解(美国 CEM 公司)罐; AL-204 电子天平(瑞士托利多-梅特勒公司); EHD40 赶酸仪(东方科创生物技术有限公司); GenPure Pro UV 超纯水机(美国 Thermo Fisher 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 样品前处理

微波消解法: 称取乳粉和奶酪 0.25~0.35 g, 纯牛奶、冷冻饮品和发酵乳 1.00~1.50 g 于微波消解罐中, 加

入 10 mL 硝酸, 旋紧罐盖, 放入微波消解仪中, 微波消解仪消解程序见表 1。消解完毕冷却后取出, 缓慢打开罐盖排气, 将消解罐放在赶酸仪内, 于 140~160 °C 加热赶酸至 0.5 mL, 将消化液冷却后转移至 10 mL 容量瓶中, 用少量去离子水分 3~4 次洗涤消解罐, 合并洗涤液至 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 混匀备用, 同时在不加试样的情况下按照与样品处理相同的方法做试剂空白实验。

表 1 微波消解仪消解程序
Table 1 Microwave digestion program

消解程序	升温时间/min	恒温时间/min	温度/°C	功率/W
1	5	5	120	1600
2	5	5	160	1600
3	5	20	200	1600

2.3.2 校准曲线的绘制

采用重量法进行标准溶液的配制, 用 5% 硝酸溶液将混标标准溶液(100 ng/mL)逐级稀释成质量浓度为 0、0.50、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL 的系列标准工作液。

2.3.3 仪器条件:

按照仪器标准操作步骤进行仪器起始化、质量校准、氩气流量及其他操作条件的调试。选择仪器合适的操作条件: RF 功率: 1550 W; 等离子体气流量 15.00 L/min; 载气流量 0.65 L/min; 辅助气流量 0.55 L/min; 氦气流量: 4.0 mL/min; 雾化室温度: 2 °C; 样品提升速率: 0.3 r/s; 雾化器: 高盐/同心雾化器; 采样锥/截取锥(Ni), 1/0.4 mm; 采集模式: 质谱图; 采样深度: 10 mm; Q2 峰型点数: 3; 重复次数: 3; 分析模式: 碰撞反应池; 内标溶液选择在线加入。

3 结果与分析

3.1 前处理方法的选择

硒具有挥发性, 干法灰化易造成硒的损失; 湿法消化耗时长, 酸用量大、对环境和人员危害较大, 同时容易导致样品污染; 高压消解耗时效率低。微波消解法是在密闭消解罐中用强酸消化处理样品, 利用微波辐射的作用发生高频率的高速碰撞而产生高热, 最大限度的发挥酸的作用, 减少污染, 降低干扰, 提高效率, 所以前处理用微波消解法能够有效控制样品空白, 实验过程简单、方便、安全, 适用于硒的快速准确测定。

3.2 硒同位素的选择

目前硒元素主要使用的质量数为 ⁷⁴Se、⁷⁶Se、⁷⁷Se、⁷⁸Se、⁸⁰Se、⁸²Se 6 个同位素, 通过线性回归、灵敏度和干扰分析进行筛选。结果见图 1, 质量数为 ⁷⁴Se、⁷⁶Se、⁸⁰Se 的硒标准

曲线不成线性, 分析原因, 内标中含有 Ge 元素, ^{74}Se 的丰度比只有 0.89%, 同时还会受到同量异位素 ^{74}Ge 的干扰, ^{76}Se 的丰度比为 9.37% 也会受到同量异位素 ^{76}Ge 的干扰, ^{80}Se 的丰度比虽然比较高 49.61%, 但是会受到 $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ 和 $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+$ 的干扰, 从而导致这 3 个同位素线性差; 质量数为 ^{77}Se 、 ^{78}Se 、 ^{82}Se 的硒标准曲线线性均比较好, 见图 2, 运用 Minitab 从灵敏度角度分析, ^{77}Se 、 ^{82}Se 的灵敏度偏低, 灵敏度低对低含量的结果影响较大, 因此本实验选择线性好、灵敏度高的 ^{78}Se 进行研究。

3.3 内标的选择

依据国标方法检测原理分析, 需选择内标进行校正, 选择的内标元素要和待测元素电离能相近、元素性

质相近及浓度适宜。本研究分析了 ^{45}Sc 、 ^{72}Ge 、 ^{89}Y 、 ^{103}Rh 、 ^{115}In 作为内标在同浓度下的响应和比率, 由图 3 和图 4 可知, ^{72}Ge 质量数与 ^{78}Se 相近, 电离能相似, 在相同条件下与 ^{78}Se 的响应比率最高, 因此可以得到较好的稳定性。

3.4 基体改进剂浓度的选择

添加基体改进剂可以有效提高样品回收率的符合率, 本研究采用 Minitab 中的 DOE 进行实验设计与数据分析(见图 5), 确定甲醇浓度的最佳比例为 7.5% 时, 加标回收率均符合国标要求, 通过比对不使用基体改进剂的回收率均高于标准要求, 添加 7.5% 甲醇基体改进剂回收率均在标准要求范围内, 见图 6。

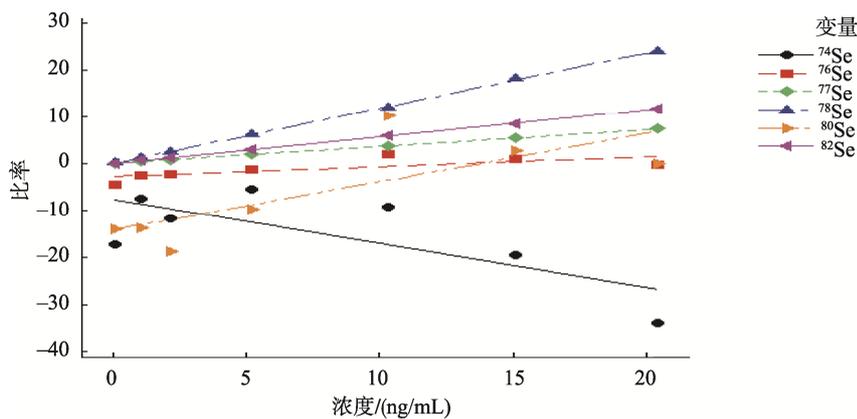


图 1 不同质量数的硒元素的标准曲线图

Fig.1 Standard curve of selenium with different mass numbers

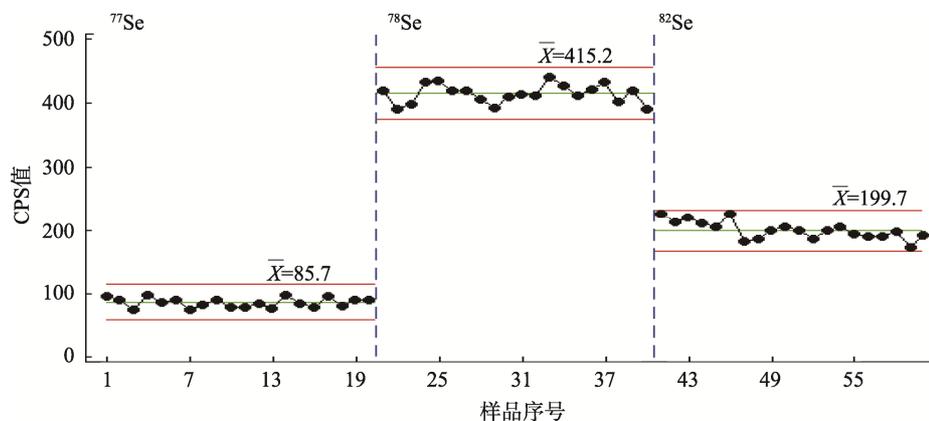


图 2 不同质量数的硒元素灵敏度分析图

Fig.2 Sensitivity of selenium with different mass numbers

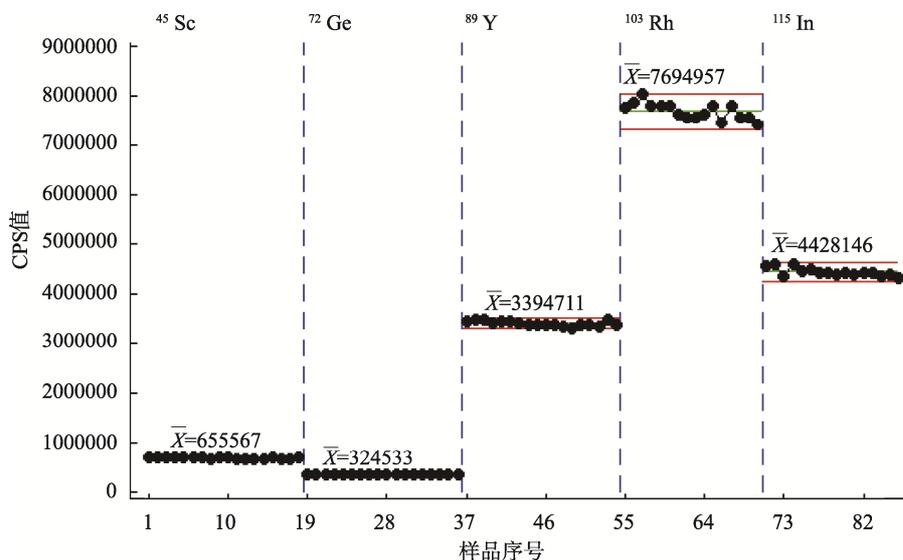


图 3 内标强度比图

Fig.3 Internal standard strength comparison diagram

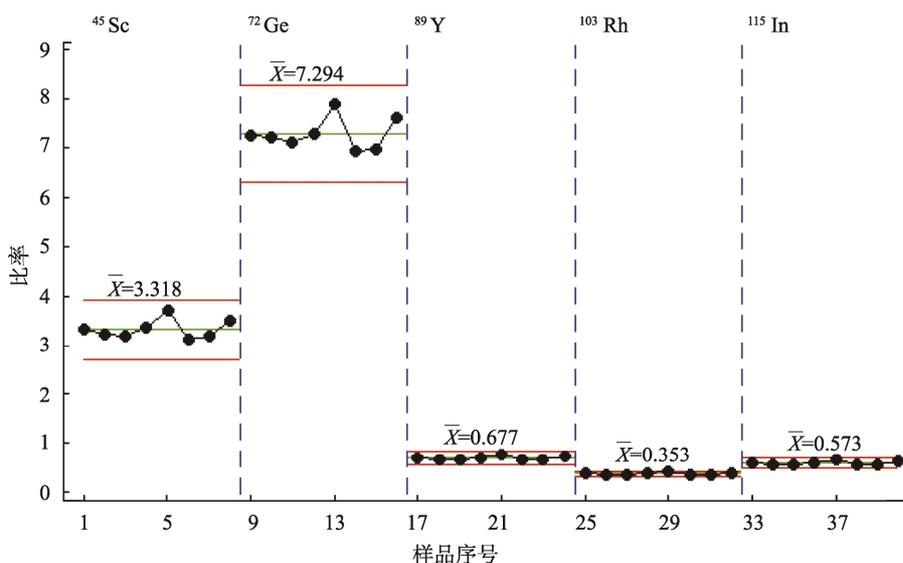


图 4 比率与内标元素分析图

Fig.4 Analysis diagram of ratio and internal standard elements

3.5 灵敏度差异分析

对相同浓度梯度的标准溶液用本方法和国标方法分别进行测定, 数据见表 2, 对表 2 的实验数据进行灵敏度和方差分析, 方差分析 $P < 0.05$, 说明 2 种分析结果有显著差异, 且本方法灵敏度高于国标方法。

3.6 方法检出限及标准曲线

依据 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》^[17], 用样品空白平均值+3S(标准偏差值非零时)

的方法验证检出限, 固体样品检出限为 0.00737 mg/kg, 液体样品为 0.00264 mg/kg; 标准曲线 $Y = 1.3086X + 0.5246$, 相关系数为 0.9995。硒元素的标准溶液线性范围在 0.5~20 mg/L, 相关系数达到 0.999 以上, 硒元素的信号值与浓度均呈现出良好的线性关系。

3.7 方法精密度及回收率实验

为了验证方法稳定性, 以常见乳制品中的 5 种基质为本底, 依据 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》^[18]中附录 F 中 F.1 回收率添加规则进行加

标实验和结果判定。重复进行 6 次平行样品测定, 计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。本研究硒元素的 RSD 在 2.0%~6.1% 之间, 加标回收率为 81.1%~117%, 方法精密度和准确性良好, 见表 3

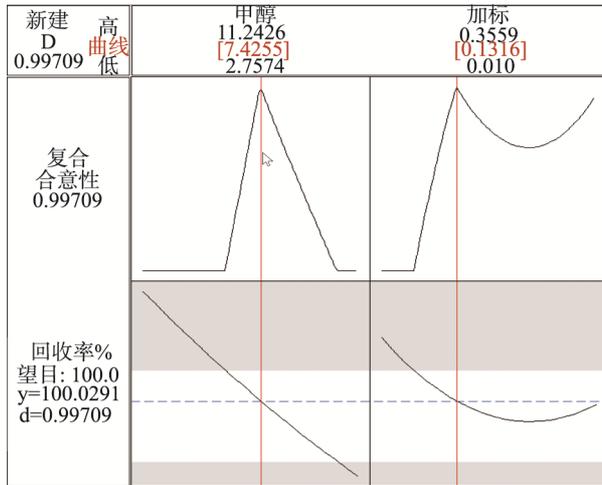


图 5 优化图

Fig.5 Optimization diagram

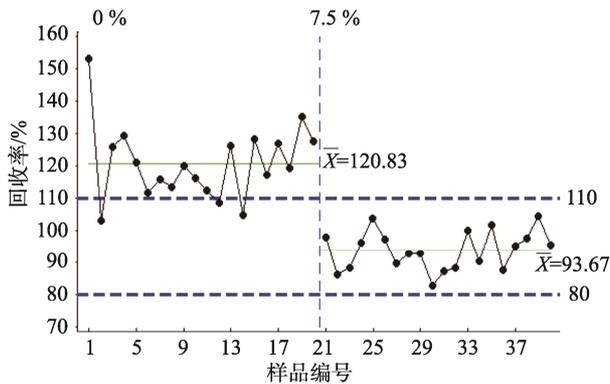


图 6 基改浓度对比分析图

Fig.6 Comparison analysis diagram of gm concentration

表 2 灵敏度差异分析数据

Table 2 Sensitivity difference analysis data

标准溶液浓度/(ng/mL)	国标方法 CPS	本方法 CPS
0.0	-53.390	-70.10
0.5	100.110	330.30
1.0	353.700	690.70
3.0	997.640	2319.00
5.0	1789.200	4091.20
10.0	4064.670	8360.40
20.0	8049.900	17412.90

表 3 精密度和回收率的实验结果(n=6)

Table 3 Test results for precision and recovery (n=6)

基质	本底值/(mg/kg)	加标量/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
奶粉	0.0872	0.03	83.2~107	2.0
		0.1	87.3~109	3.9
		0.3	99.8~107	2.2
纯牛奶	0.0259	0.01	82.7~111	3.6
		0.02	91.6~112	3.0
		0.1	91.0~97.8	2.7
奶酪	0.0369	0.03	85.4~106	4.2
		0.06	88.0~105	5.6
		0.3	81.1~93.8	6.1
发酵乳品	0.0152	0.01	98~117	2.0
		0.02	84.2~110	5.8
		0.1	86.8~94.7	2.5
冷冻饮品	0.0111	0.01	103~111	2.7
		0.02	85.8~101	2.8
		0.1	92.0~107	5.6

3.8 实际样品分析

应用以上建立的硒的测定方法, 对欧盟标准物质进行了检测分析, 检测结果均满意, 见表 4。

表 4 标准物质的测定结果

Table 4 The determination of standard substances

标准样品名称	标准值范围质量浓度/(mg/kg)	实际测得质量浓度/(mg/kg)
BD151	0.19±0.04	0.187
		0.178
Fapas07284	0.154(0.089~0.219)	0.150
		0.153

4 结论

本研究建立了基于同位素 ^{78}Se , 7.5%(V/V)甲醇作为基体改进剂的 ICP-MS 直接测定乳及乳制品中微量元素硒的方法。实验结果表明该方法干扰小, 测定结果准确可靠, 具有操作简单、快速准确、灵敏度高、较高的准确性和较好的重现性等优点, 可满足乳及乳制品中微量元素硒的测定, 本研究为乳及乳制品的质量控制和食品安全风险评估等方面提供有效参考。

参考文献

- [1] 荫士安. 现代营养学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
Yin SA. Modern nutrition [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008.
- [2] 杨瑞华, 赵瑞刚, 陈景元. 硒在预防医学中的应用—国内 19 年文献分析[J]. 微量元素与健康研究, 2001, 18(2): 25.
Yang RH, Zhao RG, Chen JY. Application of selenium in preventive medicine—Literature analysis of 19 years in China [J]. Stud Trace Elem Health, 2001, 18(2): 25.
- [3] 孙毅. 硒抗肿瘤机制的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(11): 1042.
Sun Y. Research progress of anti-tumor mechanism of selenium [J]. Int J Lab Med, 2006, 27(11): 1042.
- [4] Ambroziak U, Hybsier S, Shahnazaryan U, *et al.* Severe selenium deficits in pregnant women irrespective of autoimmune thyroid disease in an area with marginal selenium intake [J]. J Trace Elem Med Bio, 2017, (44): 186–191.
- [5] Taghizadeh L, Eidi A, Mortazavi P, *et al.* Effect of selenium on testicular damage induced by varicocele in adult male Wistar rats [J]. J Trace Elem Med Bio, 2017, (44): 177–185.
- [6] Khatti A, Mehrotra S, Patel PK, *et al.* Supplementation of vitamin E, selenium and increased energy allowance mitigates the transition stress and improves postpartum reproductive performance in the crossbred cow [J]. Theriogenology, 2017, (104): 142–148.
- [7] 汪波, 辛跃珍. 高压消解—原子荧光光谱法测定牛初乳中硒的研究[J]. 生命科学仪器, 2012, 10(6): 38–41.
Wang B, Xin YZ. High pressure digestion-atomic fluorescence spectrometric determination of selenium in bovine colostrum [J]. Life Sci Instrum, 2012, 10(6): 38–41.
- [8] GB 5009.93-2017 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S].
GB 5009.93-2017 National food safety standard—Determination of selenium in foods [S].
- [9] 杨潇, 芮光伟, 许海东. 微波消解—石墨炉原子吸收光谱法检测大米中硒元素的含量[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(1): 138–141.
Yang X, Rui GW, Xu HD. The study on microwave digestion-graphite furnace atomic absorption spectrometry determination of selenium content in rice [J]. Food Ferment Ind, 2010, 36(1): 138–141.
- [10] 张素娟. 电感耦合等离子体发射光谱法测定富硒酒中的硒含量[J]. 现代仪器, 2010, 16(1): 85–86.
Zhang SJ. Determination of selenium in selenium accumulating distilled spirit with ICP-AES [J]. Mod Instrum, 2010, 16(1): 85–86.
- [11] 张修景. 微波消解—气相色谱法测定罗汉参中硒的含量[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(1): 198–201.
Zhang XJ. Determination of the content of selenium in rohan ginseng by microwave digestion-gas chromatography [J]. Food Ferment Ind, 2014, 40(1): 198–201.
- [12] 高飞, 张剑峰, 历荣, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定保健食品中的硒[J]. 中国卫生工程学, 2009, 8(3): 172–173.
Gao F, Zhang JF, Li R, *et al.* Determination of selenium in health food by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Publ Health Eng, 2009, 8(3): 172–173.
- [13] 于振花, 荆森, 黄彦良, 等. 微波消解—电感耦合等离子体质谱测定食品中硒的含量[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(10): 100–103.
Yu ZH, Jing M, Huang YL, *et al.* Determination of selenium in food and Chinese traditional medicine by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Food Res Dev, 2009, 30(10): 100–103.
- [14] 李冰, 尹明. 乙醇在电感耦合等离子体质谱中的增强效应研究[J]. 光谱学与光谱分析, 1995, 15(5): 35–40.
LI B, Yin M. Enhancement effect of ethanol in ICP-MS [J]. Spectrosc Spect Anal, 1995, 15(5): 35–40.
- [15] 聂刚, 李忠宏, 杜双奎, 等. ICP-MS测定食品原料中微量硒[J]. 中国测试, 2015, 41(11): 41.
Nie G, Li ZH, Du SK, *et al.* ICP-MS determination of trace Se in raw food materials [J]. China MeasTest, 2015, 41(11): 41.
- [16] GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法[S].
GB/T 6682-2008 Water for analytical laboratory use—Specification and test methods [S].
- [17] GB/T 27417-2017 合格评定 化学分析方法确认和验证指南[S].
GB/T 27417-2017 Conformity assessment—Guidance on validation and verification of chemical analytical methods [S].
- [18] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].
GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories—Chemical testing of food [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



宁月莲, 助理工程师, 主要研究方向为乳与乳制品的检测。

E-mail: ningyuelian@yili.com



黄晓燕, 中级工程师, 主要研究方向为乳与乳制品检测。

E-mail: hxyyili@yili.com