

团 体 标 准

T/ DLAS 0004—2021

富硒农产品中 5 种硒的测定
离子色谱-电感耦合等离子体质谱法

2021 - XX - XX 发布

2021 - XX - XX 实施

大连市标准化协会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由大连市食品检验检测院提出。

本文件由大连市标准化协会归口。

本文件起草单位：大连市食品检验检测院、大连民族大学、大连盖世健康食品股份有限公司、大连海关技术中心。

本文件主要起草人：赵彤、江洁、周慧敏、王聪、李海燕、郝苗、庞艳华、盖泉泓。

本文件系首次发布。

富硒农产品中 5 种硒的测定 离子色谱-电感耦合等离子体质谱法

1 范围

本文件规定了用离子色谱-电感耦合等离子体质谱法测定富硒农产品中5种硒含量的方法。
本文件适用于植物性富硒农产品中5种硒含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品经柠檬酸溶液提取，或经蛋白酶E酶解，柠檬酸溶液提取后，提取液用离子色谱-电感耦合等离子体质谱法进行测定，采用外标法定量，以待测元素质谱信号与内标元素质谱信号的强度比与待测元素的浓度成正比进行定量分析。

5 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

- 5.1.1 氨水。
- 5.1.2 甲醇。
- 5.1.3 柠檬酸。
- 5.1.4 蛋白酶 E: ≥ 7000 u/g。
- 5.1.5 亚硒酸根标准溶液[Se(IV)]:1000 mg/L。
- 5.1.6 硒酸根标准溶液[Se(VI)]: 1000 mg/L。
- 5.1.7 硒代胱氨酸[SeCys₂]: 纯度 $>98\%$ 。
- 5.1.8 甲基硒代半胱氨酸[MeSeCys]: 纯度 $>98\%$ 。
- 5.1.9 硒代蛋氨酸[SeMet] : 纯度 $>98\%$ 。

5.2 试剂配制

- 5.2.1 柠檬酸（50 mmol/L）：称取 1.05 g 柠檬酸（5.1.3）用水定容至 100 mL，混匀备用。
- 5.2.2 流动相：称取 1.05 g 柠檬酸（5.1.3）溶于 1000 mL 水中，用氨水（5.1.1）调 pH 至 5.0，再加入 10 mL 甲醇（5.1.2），超声脱气 10 min，备用。

5.3 标准溶液配制

- 5.3.1 无机硒标准混合储备液（5.0 mg/L，以硒计）：取亚硒酸根标准溶液（5.1.5）、硒酸根标准溶液（5.1.6）0.5 mL，置于 100 mL 容量瓶（6.8）中，用水稀释至刻度。
- 5.3.2 硒代胱氨酸[SeCys₂]标准储备液（5.0 mg/L，以硒计）：称取适量硒代胱氨酸[SeCys₂]（5.1.7）标准品置于 50 mL 容量瓶（6.8）中，用水溶解定容至刻度，混匀备用。
- 5.3.3 甲基硒代半胱氨酸[MeSeCys]标准储备液（5.0 mg/L，以硒计）：称取适量甲基硒代半胱氨酸[MeSeCys]标准品置于 50 mL 容量瓶（6.8）中，用水溶解定容至刻度，混匀备用。
- 5.3.4 硒代蛋氨酸[SeMet]标准储备液（5.0 mg/L，以硒计）：称取适量硒代蛋氨酸[SeMet]（5.1.9）标准品置于 50 mL 容量瓶（6.8）中，需先用适量水和 2~3 滴盐酸溶解，再用水定容至刻度，混匀备用。

注：标准物质名称、CAS号、分子式和相对分子量，参见附录C。

6 仪器和设备

- 6.1 离子色谱-电感耦合等离子体质谱仪。
- 6.2 恒温水浴振荡器：室温~100℃。
- 6.3 恒温超声仪。
- 6.4 离心机：转速 10000 r/min
- 6.5 分析天平：感量 0.1 mg。
- 6.6 pH 计：精度 0.01。
- 6.7 微孔滤膜：0.22 μm。
- 6.8 容量瓶：50 mL，100 mL，1000 mL。
- 6.9 刻度离心管：50 mL。

7 分析步骤

7.1 试样处理

7.1.1 鲜果和蔬菜类样品（不含蛋白类）

称取粉碎均匀后的样品（0.5 g~2 g，精确至0.0001 g）于50 mL刻度离心管中，加入20 mL水，2.5 mL 柠檬酸（5.2.1）常温超声20 min，取出后定容至25 mL，于离心机（6.4）中离心10 min，取上清液过微孔滤膜（6.7）后待测。

7.1.2 粮食、薯类和菌菇等样品（含蛋白类）

大米、豆类等粮食样品预先粉碎后过60目筛，混合均匀后备用。

准确称取粉碎均匀后的样品（0.5 g~1 g，精确至0.0001 g）于50 mL刻度离心管中，加入20 mL水，按照样品与酶质量比10:1加入蛋白酶E（5.1.4），混匀，置于37℃恒温水浴中振荡提取6 h后，加入2.5 mL 柠檬酸（5.2.1）常温超声20 min，取出后定容至25 mL，于离心机（6.4）中离心10 min，取上清液过微孔滤膜（6.7）后待测。

7.2 标准工作溶液制备

分别移取 5 种硒标准储备液 0 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、1.0 mL、2.0 mL 到 100 mL 容量瓶中用流动相（5.2.2）定容至刻度，配制成浓度为 0 μg/L、5.0 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 的标准系列待测。

注：标准工作溶液需用现配。

7.3 测定

参考仪器条件进行调谐设定，依次采集标准曲线、样品空白、样品，外标法定量。5种硒形态标准溶液的色谱图参见附录A，仪器参考条件见附录B。

8 结果计算

试样中不同形态硒的含量按式（1）计算：

$$X_i = \frac{(c - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X_i ——试样中各形态硒含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C ——试样中各形态硒的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

C_0 ——试样空白液中各形态硒的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；1000——换算系数。

计算结果保留两位有效数字。

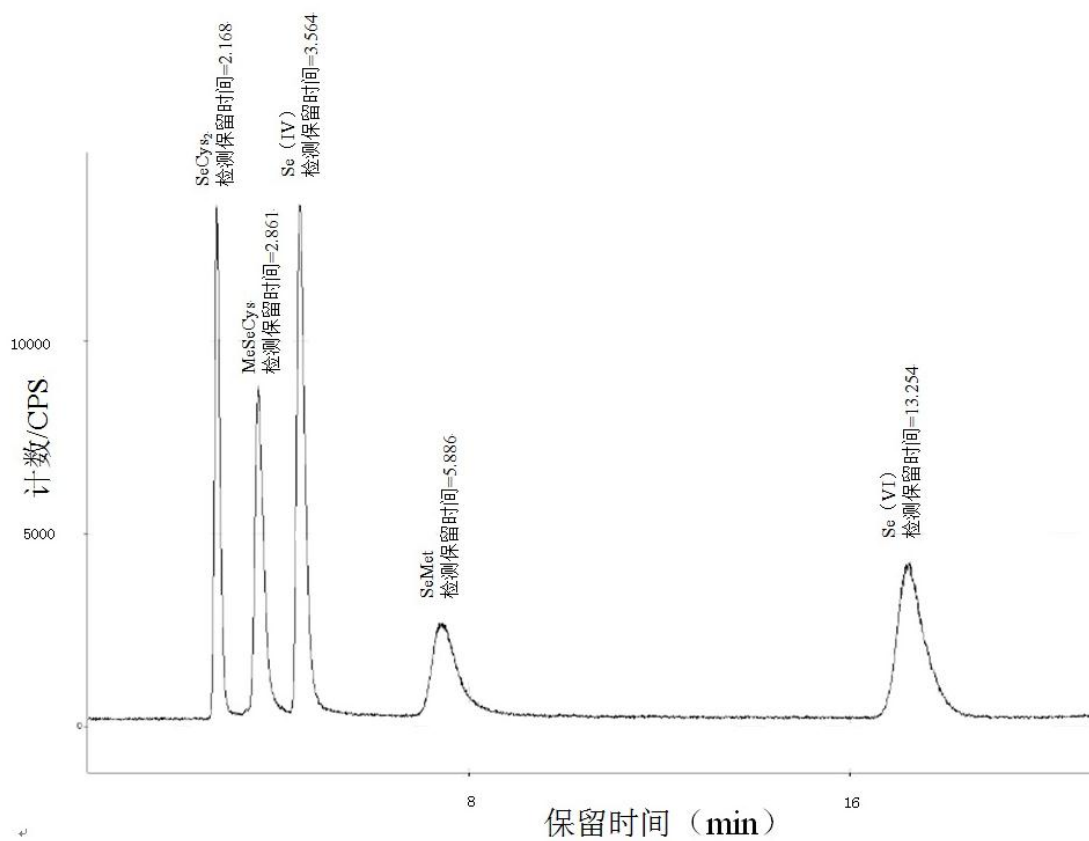
9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于其算术平均值的10%。

10 其他

当称样量为2 g时，Se(IV)、Se(VI)、SeCys₂、MeSeCys和SeMet每种形态硒的检出限为0.005 mg/kg，定量限为0.015 mg/kg。

附录 A
(资料性)
5 种硒形态标准溶液色谱图



图A.1 5种硒形态标准溶液色谱图

- 1——硒代胱氨酸 (SeCys₂)
- 2——甲基硒代半胱氨酸 (MeSeCys)
- 3——亚硒酸根[Se(IV)]
- 4——硒代蛋氨酸 (SeMet)
- 5——硒酸根[Se(VI)]

附录 B
(资料性)
仪器参考条件

B.1 离子色谱

B.1.1 色谱柱：阴离子交换色谱分析柱 (250 mm×4 mm)或等效柱。阴离子交换色谱保护柱(50 mm×4 mm)，或等效柱。

B.1.2 流速：1.0 mL/min。

B.1.3 进样体积：50 μL。

B.2 电感耦合等离子体质谱

B.2.1 功率：1500 W。

B.2.2 采样深度：9 mm。

B.2.3 采集质量数：78。

B.2.4 雾化器：同心雾化器，自动提升。

B.2.5 载气流速：0.7 L/min。

B.2.6 辅助气流速：0.48 L/min。

B.2.7 积分时间：0.5 s。

附录 C

(资料性)

标准物质名称、CAS 号、分子式、相对分子量

表C.1 标准物质名称、CAS 号、分子式、相对分子量

序号	名称	CAS号	化学式	相对分子量
1	硒代胱氨酸 (SeCys ₂)	29621-88-3	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ Se ₂	334.09
2	甲基硒代半胱氨酸 (MeSeCys)	26046-90-2	C ₄ H ₉ NO ₂ Se	182.08
3	亚硒酸[Se(IV)]	7783-00-8	H ₂ O ₃ Se	128.97
4	硒代蛋氨酸 (SeMet)	3211-76-5	C ₅ H ₁₁ NO ₂ Se	196.11
5	硒酸[Se(VI)]	7783-08-6	H ₂ O ₄ Se	144.97