

Prin-Cen 富硒食品/农产品中硒形态分析(LC-ICPMS 法)



背景：硒元素因为具有抗氧化及预防癌症功效，对人类健康起着关键作用，富硒食品及农产品的产业化以及硒形态分析成为近年来研究的热点。

硒 (Selenium, Se) 是人类和动物生命中所必需的微量元素。人体和动物对硒的反应较敏感，硒摄入过量或者不足均易引发疾病，如硒过剩可引起生殖力下降或者高畸胎率，甚至导致癌症；而硒缺乏可加速机体衰老，导致心血管疾病等 40 多种流行性的地方病。人体所需要的硒主要来自于食物，在吸收利用率及安全性方面，植物性硒源高于动物性硒源，有机硒高于无机硒。植物体内的硒有无机、有机和挥发 3 种形态，主要以有机硒为主，挥发态硒仅占植物硒量的 5%，无机硒约占全硒量的 15%，并以 Se (IV) 形式存在。有机硒由包括大分子的硒蛋白、硒核酸及硒多糖和以硒代氨基酸及其衍生物形式存在的小分子硒化物组成。目前已经证明的食品中含有的硒化合物有 20 多种，常见的有硒酸根 (SeO_4^{2-})、亚硒酸根 (SeO_3^{2-})、硒代蛋氨酸 (SeMet)、硒代胱氨酸 ($\text{Se}(\text{Cys})_2$)、甲基硒代胱氨酸、硒脲 (SeUr)、硒代乙硫氨酸 (SeFt) 等。

检测现状：目前我们国家对于食品/农产品暂无形成权威的国家标准 (GB)，现在多以地

方标准 (DB)、团体标准、行业标准(NY、SN) 为主。硒形态分析主流的分析方法有三：1、原子荧光间接法；2、LC-AFS 总硒、无机硒差减法；3、LC-ICPMS 液相色谱-电感耦合等离子体质谱直接法；从目前的现有的数据看来, LC-ICPMS 成为硒形态分析最为可靠的分析方法。分析测试富硒食品/农产品中硒形态也同样存在一些难点、痛点，主要体现在样品的提取、各种硒形态在色谱柱的分离以及有些样品中存在一些未知形态的有机硒组分，对于定性来说存在困难。但在谱临晟应用实验室测试多种类的农产品样品的经验来看，富硒植物体内，通常以相对比较单一某一类的有机硒形态为主，尤以硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸为常见。

解决方案：

广州谱临晟科技一直以来从事各种元素形态分析 (As、Hg、Se、Cr、Sb、Sn、I、N、P、S 等元素形态)，擅长实际应用，在元素形态分析领域累积了多年的经验。本文以富硒农产品中的硒形态分析 LC-ICPMS 法为例，为读者简单描述关于硒形态分析的过程，不当之处，欢迎批评指正。

实验过程

一、试剂准备



1, 标准溶液: 国家标物中心

甲基-硒代半胱氨酸: CDHK-GBW10088

硒代胱氨酸: CDHK-GBW10087

硒代蛋氨酸: CDHK-GBW10034

亚硒酸根溶液: CDHK-GBW10032

硒酸根溶液: CDHK-GBW10033

2, 试剂: 甲醇 (色谱纯), 盐酸, 氨水, 三羟甲基氨基甲烷, 甲酸, 未标注纯度的试剂, 尽量优级纯及以上。

Tris-HC 溶液: 称取 1.82 g 的三羟甲基氨基甲烷用水溶解后, 加入盐酸调节 pH 至 7.5, 溶解, 定容至 500 mL 容量瓶中, 摇匀备用。

3, 样品提取用到的酶:

崩溃酶: (推荐: 货号: D9515 -5G 品牌: Sigma CAS No.: 85186-71-6)

脂肪酶: (推荐: 货号: 62301-1G-F 品牌: Sigma CAS No.: 9001-62-1)

蛋白酶: (推荐: 货号: P5147-1G 品牌: Sigma CAS No.: 9036-06-0)



4, 耗材: 50ml 离心管, 15ml 离心管、0.45um 滤膜, 5ml 注射器等

二、仪器条件

色谱柱：采用阴离子交换分离原理；

流速：0.8ml/min；

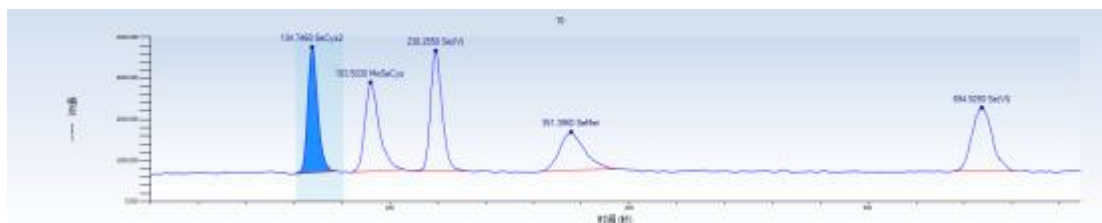
流动相：磷酸盐缓冲液，采用梯度洗脱方式；

ICPMS 参数:与平常做 Se 元素条件一致即可，监测 78 质量数；

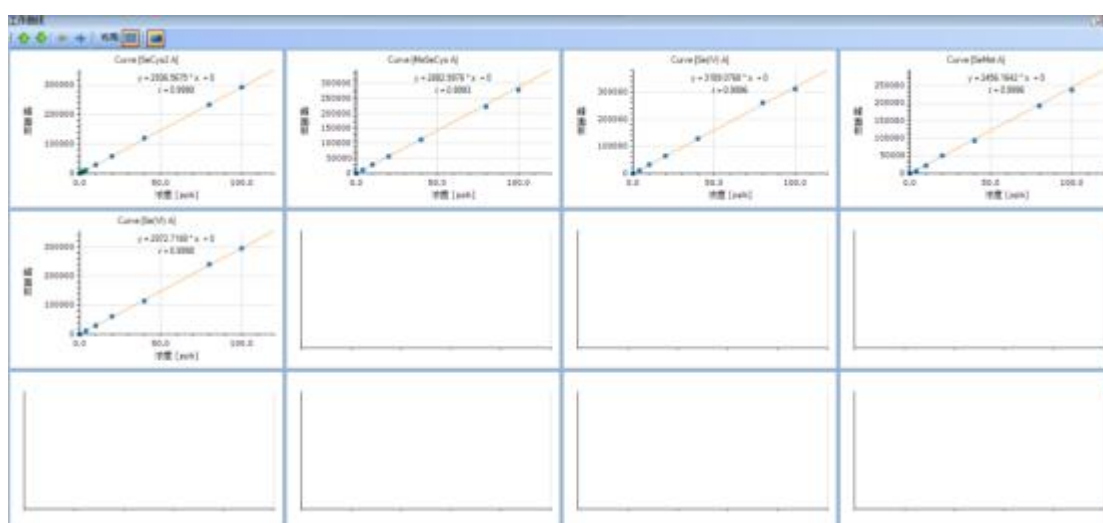
运行时间：14min

三、标准溶液的配制

配置 1ppm 五种硒形态的混标作为储备液，配制各曲成浓度为 0 $\mu\text{g/L}$ 、4 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 、80 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的硒混合标准系列溶液（现配现用），保留时间定性，峰面积定量。

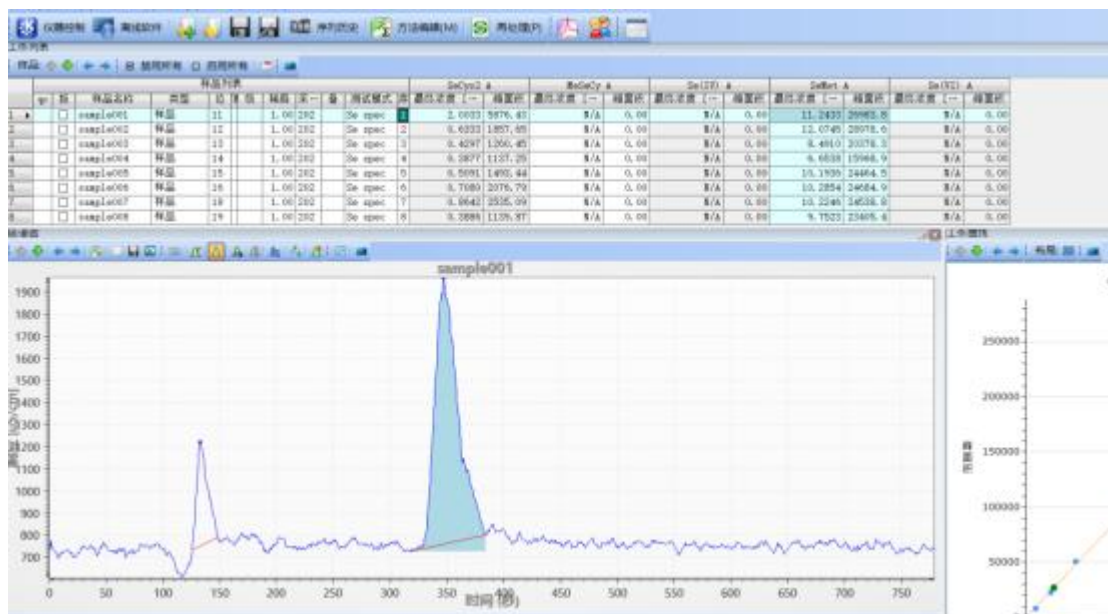
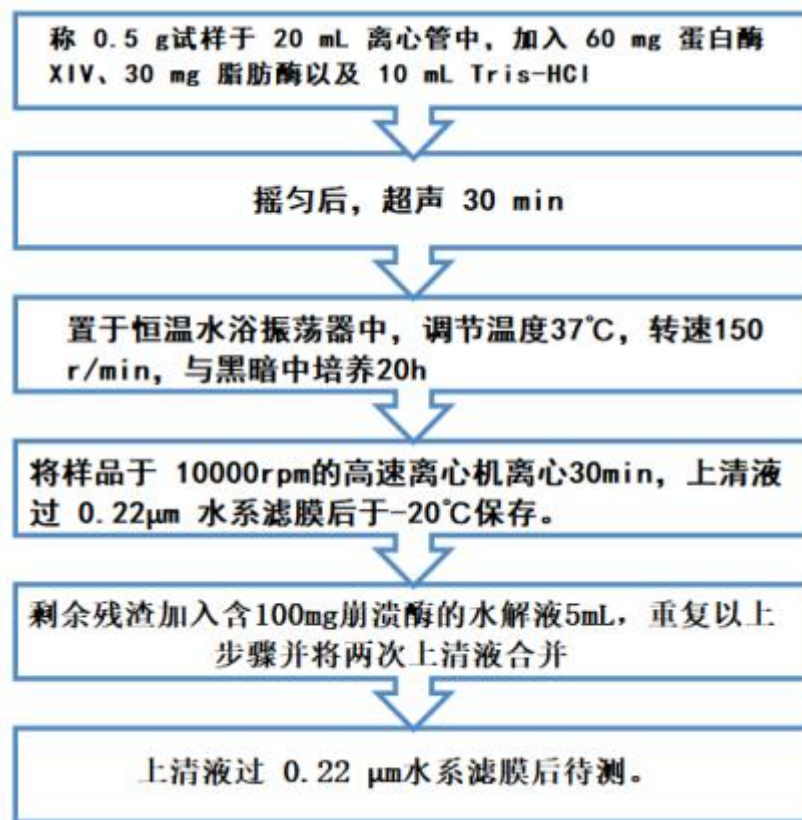


10ppb 5 种硒形态标准溶液色谱图



五种硒形态曲线线性

四、样品前处理流程示意图



富硒农产品中硒形态分布（以硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸为主）

联用案例：ELSPE-2 元素形态分析仪与实验室原有的 ICPMS 组成 LC-ICPMS 实现各种硒形态分析

