

# 团 体 标 准

T/SSX 002—2021

---

## 谷物中硒代蛋氨酸、硒酸盐和亚硒酸盐的 测定 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联法

Determination of selenomethionine, selenate and selenite  
in cereals by liquid chromatography-inductively coupled  
plasma mass spectrometry

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

陕西省食品科学技术学会 发布

目 次

前 言.....II

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 方法原理..... 1

4 试剂和材料..... 1

5 仪器与设备..... 2

6 分析步骤..... 2

7 分析结果表述..... 3

8 精密度..... 4

附 录 A.....5

## 前 言

本标准按照 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》和 GB/T 20001.4—2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》给出的规则起草。

本标准由陕西省食品科学技术学会团体标准技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：安康市富硒产品研发中心、北京市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：刘丽萍、唐德剑、陈绍占、孟莉、许亚丽、贺博、夏曾润、刘鑫、卜贤盼、张珂、黄波、杜小平、祁蒙。

本标准由安康市富硒产品研发中心负责解释。

本标准为首次发布。

联系信息如下：

单位：安康市富硒产品研发中心

电话：0915-8138685

地址：安康市高新区安康大道 58 号

邮编：725000

# 谷物中硒代蛋氨酸、硒酸盐和亚硒酸盐的测定

## 液相色谱-电感耦合等离子体质谱用法

### 1 范围

本标准规定了液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定谷物中硒代蛋氨酸、硒酸盐和亚硒酸盐含量的方法。

本标准适用于大米和小麦中硒代蛋氨酸、亚硒酸盐和硒酸盐的测定；玉米中硒代蛋氨酸和硒酸盐的测定。

当样品称样量为0.3 g，提取液体积为5 mL时，硒代蛋氨酸方法定量限为0.015 mg/kg、硒酸盐方法定量限为0.010 mg/kg、亚硒酸盐方法定量限为0.007 mg/kg。

### 2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

### 3 方法原理

试样中硒代蛋氨酸、硒酸盐和亚硒酸盐通过蛋白酶酶解后，经离子交换色谱柱分离，电感耦合等离子体质谱仪测定，以色谱保留时间定性，外标法定量。

### 4 试剂和材料

除另有说明外，本法所用试剂均为分析纯，试验用水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 4.1 试剂

4.1.1 磷酸氢二铵  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 。

4.1.2 蛋白酶 XIV：生化试剂（酶活力 $\geq 3.5$  U/mg 固体）。

4.1.3 甲酸  $(\text{HCOOH})$ ：色谱纯。

#### 4.2 试剂配制

4.2.1 甲酸溶液（10%，v/v）：准确量取 10 mL 甲酸，缓慢加水稀释至 100 mL，混匀。

4.2.2 流动相配制（40 mmol/L 磷酸氢二铵溶液，pH=6.0）：称取 2.6412 g 磷酸氢二铵，用水稀释至 500 mL，用甲酸溶液（4.2.1）调节 pH 值至 6.0，混匀，于超声水浴中超声脱气 10 min，备用，临用现配。

#### 4.3 标准品

4.3.1 硒代蛋氨酸  $(\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se})$ ，CAS 号：9001-05-2，纯度 $\geq 98\%$ 。

4.3.2 硒酸钠  $(\text{Na}_2\text{O}_4\text{Se})$ ，CAS 号：13410-01-0，纯度 $\geq 99\%$ 。

4.3.3 亚硒酸钠  $(\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se})$ ，CAS 号：10102-18-8，纯度 $\geq 99\%$ 。

#### 4.4 标准溶液

4.4.1 硒代蛋氨酸标准溶液（1.0 mg/mL，以 Se 计）：准确称取 0.2480 g 硒代蛋氨酸标准品，用水溶解并定容至 100 mL，配制成 1.0 mg/mL 硒代蛋氨酸标准溶液，2℃~8℃避光保存，保存期 6 个月。或购买国家有证硒代蛋氨酸溶液标准物质  $(\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se})$ ，GBW 10034）。

4.4.2 硒酸根标准溶液（1.0 mg/mL，以 Se 计）：准确称取 0.2393 g 硒酸钠标准品，用水溶解并定容至 100 mL，配制成 1.0 mg/mL 硒酸根标准溶液，2℃~8℃避光保存，保存期 6 个月。或购买国家有证硒酸根溶液标准物质  $(\text{SeO}_4^{2-})$ ，GBW 10033）。

4.4.3 亚硒酸根标准溶液（1.0 mg/mL，以 Se 计）：准确称取 0.2190 g 亚硒酸钠标准品，用水溶解并定容至 100 mL，配制成 1.0 mg/mL 亚硒酸根标准溶液，2℃~8℃避光保存，保存期 6 个月。或购买国家有证亚硒酸根溶液标准物质（ $\text{SeO}_3^{2-}$ ，GBW 10032）。

4.4.4 单标准储备溶液（10.0  $\mu\text{g/mL}$ ，以 Se 计）：分别吸取一定量的硒代蛋氨酸标准溶液（4.4.1）、硒酸根标准溶液（4.4.2）、亚硒酸根标准溶液（4.4.3），用水逐级稀释配制成 10.0  $\mu\text{g/mL}$  的单标准储备溶液，2℃~8℃避光保存，保存期 6 个月。

4.4.5 混合标准系列溶液：分别准确吸取 1.0 mL 浓度为 10.0  $\mu\text{g/mL}$  的硒代蛋氨酸、硒酸根、亚硒酸根（4.4.4）标准储备液于 10 mL 容量瓶中，用水稀释定容至刻度，配制成 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的硒形态混合标准溶液。再用水逐级稀释浓度为 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的硒形态混合标准溶液，配制成浓度为 0.0  $\mu\text{g/L}$ 、2.0  $\mu\text{g/L}$ 、5.0  $\mu\text{g/L}$ 、10.0  $\mu\text{g/L}$ 、50.0  $\mu\text{g/L}$ 、100.0  $\mu\text{g/L}$ 、200.0  $\mu\text{g/L}$  的混合标准系列溶液，临用现配。

注：可根据样品中硒代蛋氨酸、硒酸盐、亚硒酸盐的实际含量适当调整标准系列溶液中硒代蛋氨酸、硒酸根、亚硒酸根的质量浓度。

## 5 仪器与设备

5.1 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪（LC-ICP-MS）。

5.2 天平：感量分别为 0.01 mg、0.1 mg 和 1 mg。

5.3 低温离心机：转速 $\geq 9000$  r/min。

5.4 恒温超声波清洗器：可控温 0℃~80℃（温度精度 $\pm 2$ ℃）

5.5 pH 计：精度为 0.01。

5.6 高速粉碎机：转速 $\geq 3000$  r/min。

5.7 水系滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ 。

## 6 分析步骤

### 6.1 样品预处理

大米、小麦、玉米等样品去杂物后粉碎，并过 60 目筛混合均匀，装入洁净聚乙烯瓶中，于干燥处密封保存备用。

### 6.2 试样提取

称取 0.1 g~0.5 g（精确到 0.001 g）样品，置于 15 mL 离心管中，加入 5 mL 水和 20 mg 蛋白酶 XIV，涡旋 30 s，37℃水浴超声 3 h，期间振摇数次。静置 10 min，4℃下以 9000 r/min 离心 10 min，取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，待测。同时做空白试验。

注：样品提取后可于 4℃存储，建议 5 h 之内完成测定（可根据样品中硒形态含量不同适当调整称样量、提取液体积及蛋白酶 XIV 的量）。

### 6.3 测定

#### 6.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

——色谱柱：阴离子交换柱（250 mm $\times$ 4.1 mm，10  $\mu\text{m}$ ）或等效色谱柱；阴离子交换预柱（20 mm $\times$ 2.1 mm，10  $\mu\text{m}$ ）或等效色谱预柱。

——流动相：40 mmol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，pH=6.0。

——流速：1.0 mL/min；进样量：100  $\mu\text{L}$ 。

#### 6.3.2 电感耦合等离子体质谱仪参考条件

电感耦合等离子体质谱仪参考条件如下：

——射频功率：1200 W～1550 W； 采样深度：8 mm。

——雾化室温度：2 °C；载气流量：0.65 L/min。

——补偿气流量：0.45 L/min；碰撞气流量（He 气）：4.5 mL/min。

——检测质量数：78；积分时间：0.5 s；蠕动泵转速：0.3 r/s。

### 6.3.3 标准曲线的制作

设定仪器最佳条件，待基线稳定后，将硒代蛋氨酸、硒酸根和亚硒酸根混合标准系列溶液（4.4.5）按质量浓度由低到高分别注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪中进行测定，以标准系列溶液中目标化合物的浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

### 6.3.4 试样测定

依次将空白溶液和试样溶液注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪中，得到色谱图，以色谱保留时间进行定性。根据标准曲线得到试样溶液中硒代蛋氨酸、硒酸根、亚硒酸根的浓度，平行测定次数不少于两次。硒形态混合标准溶液与不同谷物样品中的硒形态色谱图参见附录 A。

## 7 分析结果表述

试样中硒代蛋氨酸含量按照公式（1）计算，硒酸盐含量按照公式（2）计算，亚硒酸盐含量按照公式（3）计算。

$$X_1 = \frac{f \times (c_1 - c_{01}) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

$$X_1 = \frac{f \times (c_2 - c_{02}) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

$$X_1 = \frac{f \times (c_3 - c_{03}) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$X_1$  ——试样中硒代蛋氨酸的含量（以Se 计），单位为毫克每千克（mg/kg）；

$X_2$  ——试样中硒酸盐的含量（以Se 计），单位为毫克每千克（mg/kg）；

$X_3$  ——试样中亚硒酸的含量（以Se 计），单位为毫克每千克（mg/kg）；

$F$  ——稀释倍数；

$c_{01}$  ——经标准曲线得到的空白溶液中硒代蛋氨酸的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_{02}$  ——经标准曲线得到的空白溶液中硒酸盐的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_{03}$  ——经标准曲线得到的空白溶液中亚硒酸盐的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_1$  ——经标准曲线得到的测定液中硒代蛋氨酸的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_2$  ——经标准曲线得到的测定液中硒酸盐的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_3$  ——经标准曲线得到的测定液中亚硒酸盐的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$V$  ——加入提取试剂的体积，单位为毫升（mL）；

1000 ——换算系数；

$m$  ——试样称样量，单位为克（g）。

当硒代蛋氨酸、硒酸盐、亚硒酸盐含量 $\geq 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留三位有效数字，当硒代蛋氨酸、硒酸盐、亚硒酸盐含量 $< 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留两位有效数字。

## 8 精密度

相同条件下，平行独立测定结果的相对相差值应符合表 1 规定。

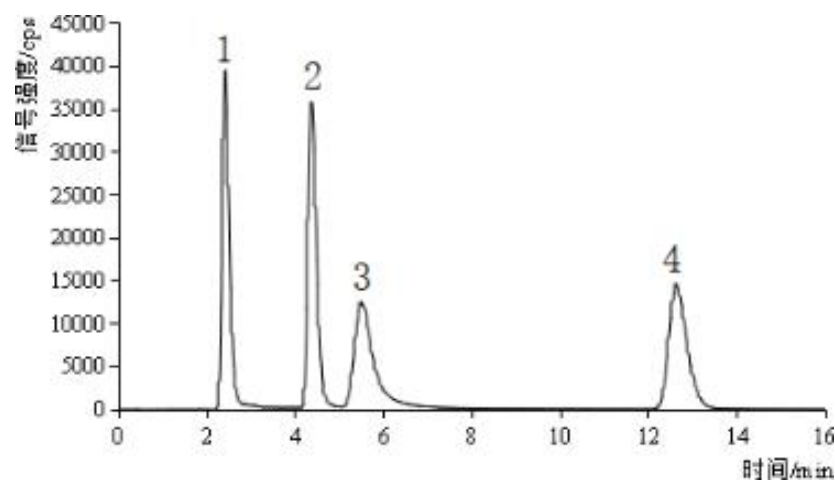
表 1 平行样测定的相对相差值

|               |      |         |      |
|---------------|------|---------|------|
| 硒形态的含量（mg/kg） | <0.1 | 0.1~1.0 | >1.0 |
| 平行样的相对相差（%）   | <25  | <15     | <10  |

附录 A  
(规范性附录)

硒形态混合标准溶液与不同谷物样品中的硒形态色谱图

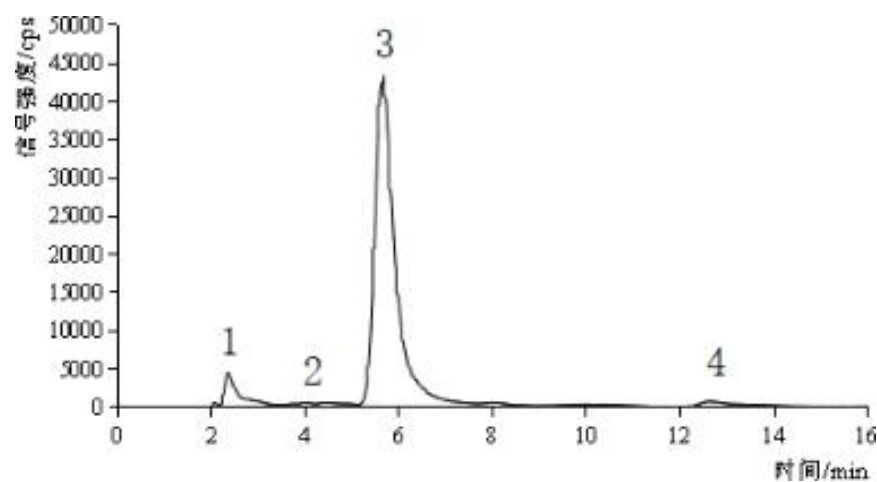
A.1 硒形态混合标准溶液色谱图见图A. 1。



注：1——硒代胱氨酸；2——亚硒酸根；3——硒代蛋氨酸；4——硒酸根。

图A. 1 硒形态混合标准溶液色谱图（50 μg/L）

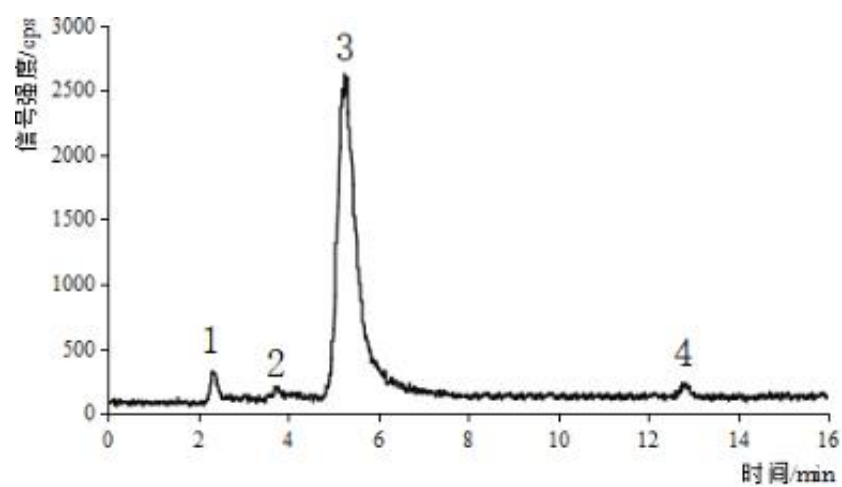
A.2 玉米中硒形态色谱图见图A. 2。



注：1——硒代胱氨酸；2——亚硒酸根；3——硒代蛋氨酸；4——硒酸根。

图A. 2 玉米中硒形态色谱图

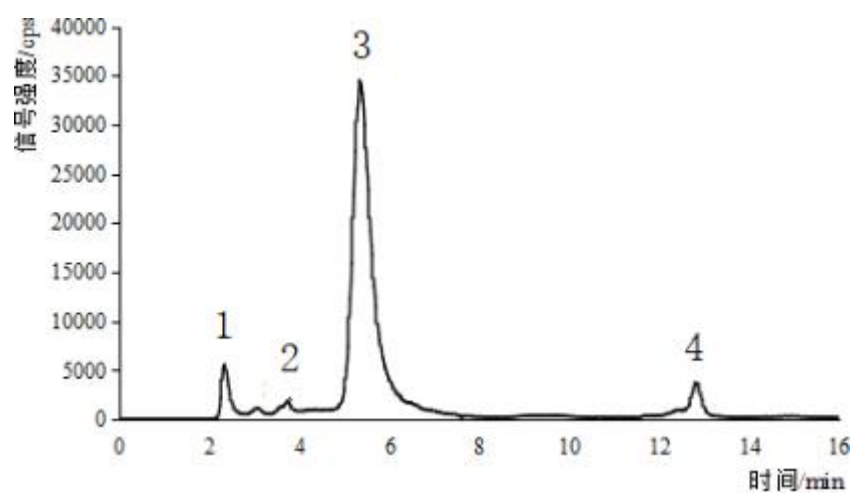
A.3 大米中硒形态色谱图见图A. 3。



注：1——硒代胱氨酸；2——亚硒酸根；3——硒代蛋氨酸；4——硒酸根。

图A. 3 大米中硒形态色谱图

A.4 小麦中硒形态色谱图见图A. 4。



注：1——硒代胱氨酸；2——亚硒酸根；3——硒代蛋氨酸；4——硒酸根。

图 A. 4 小麦中硒形态色谱图