

附件 2:

《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用法》编制说明

一、工作简况（包括任务来源与项目编号、标准主要起草单位、协作单位、主要起草人、简要起草过程）

1.1 任务来源

安康市富硒产品研发中心联合北京市疾病预防控制中心组建了标准制定工作课题组,但随着项目研究不断深入,发现农产品有机硒检测方法十分复杂,一个标准无法涵盖所有农产品有机硒检测技术,根据工作实际将标准名称修改为《谷类样品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根和硒酸根含量的测定—液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法》。

1.2 起草单位及验证单位

本标准起草单位有:安康市富硒产品研发中心、北京市疾病预防控制中心。

本标准验证单位有:成都市疾病预防控制中心、国家富硒产品质量监督检验中心(湖北)、北京海关技术中心。

1.3 起草人及主要工作

主要起草人有刘丽萍、唐德剑、陈绍占、许亚丽、孟莉、夏曾润、刘鑫、卜贤盼、张珂、黄波、贺博、杜小平、祁蒙。起草人员负责标准制定工作的组织、协调,相关资料的查阅、收集,标准文本及编制说明的起草、撰写,组织召开多次研讨会,通过电子邮件、传真等方式,征集、整理和归纳相关的意见和建议。

1.4 简要起草过程

1.4.1 项目背景

硒是人体必需微量元素之一,具有预防癌症、清除体内自由基,抗衰老、抗氧化等作用,能保护细胞膜的结构和功能,增强机体免疫力,对于心血管功能、生育、视力等有重要影响。缺硒会导致克山病、冠心病、大骨节病、糖尿病等多种疾病。虽然硒对人体而言是营养元素,但研究发现硒的安全阈值较窄,硒摄入量超过安全阈值时则会对人体健康造成危害,发生急性或慢性硒中毒,在我国湖北恩施曾发生大范围人、畜脱毛、脱甲等中毒症状,安康紫阳也有类似的现象发生,其原因为高硒土壤环境所致的硒中毒。因此,科学、合理的摄入硒对健康才是安全有效的。国际学术组织联合会建议成年男女膳食硒适宜需要量分别为 40 微克/日和 30 微克/日。英国规定人体每日摄入量为 70 微克。1988 年,中国营养学会推荐成人膳食的日摄入量为 50~250 微克。目前全球有 40 多个国家和地区不同程度缺硒,我国 72%地域人群缺硒,缺硒是一个世界性问题。

随着对硒元素研究的深入,人们更多关注硒的营养价值,由于中国大部分地区缺硒,近年来各种富硒保健品、富硒食品纷纷面世,随着功能农业的发展,富硒农产品更是百花齐放,如富硒大米、富硒小麦等富硒谷类食品的研究日益受到人们的青睐。天然富硒农产品越来越受到人们的关注,其需求量和种类要求也越来越多。但同时市场上的富硒产品良莠不齐,消费者对富硒产品的认识不足,天然富硒农产品与功能富硒农产品的差异等,都急需对硒有进一步的研究和认识。在自然界,硒以不同的化合物形式存在,硒的毒理学和生理学研究进一

步表明，硒的不同形态在生理毒性和生物利用率等方面各不相同，有机形态存在的硒，如硒蛋白、硒代氨基酸、硒多肽等在机体内能转变为生理活性物质，为人体所吸收利用，硒的生物功能取决于有益形态的硒含量。因此，仅测定谷类食品中总硒含量不能满足目前食品安全与食品营养的需要，需要进一步测定硒在谷类食品中的存在形式。

进行硒形态研究分析，首先应将各种硒形态化合物从样品基体中有效的提取出来，并避免硒形态的降解和各硒形态之间的转换。目前农产品中硒形态的提取方法主要有浸提法和酶解提取法，在进行样品分析时，首先要根据农产品中硒形态的种类和含量，权衡前处理操作简便与否、提取效率及操作成本等进行优化选择。

研究报道硒在农产品中主要以有机硒形式存在，包括硒代氨基酸、硒蛋白、硒多糖和硒核酸等。农产品样品经过提取处理后，需要对提取液中的硒形态进行有效分离和准确测定。目前，在硒形态分析中常用的分离方法主要为色谱分离方法，包括气相色谱（GC）和高效液相色谱（HPLC）。电泳技术在硒形态分析中也有相关报道，主要包括毛细管电泳（CE）和凝胶电泳（GE）。常用的检测方法有电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）、原子荧光光谱（AFS）、原子发射光谱（AES）、原子吸收光谱（AAS）等。本研究采用灵敏、准确的高效液相色谱（HPLC）与电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）联用技术进行农产品中硒形态化合物的分析测定。

1.4.2 标准制定的主要过程

（一）成立标准编制工作组

团体标准《谷类食品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根、硒酸根含量的测定》项目任务下达后，安康市富硒产品研发中心和北京市疾病预防控制中心组织成立了标准编制工作组，制定了标准编写方案，明确任务职责，确定标准制定技术路线。

（二）查阅文献资料

查阅涉及谷类食品中硒形态测定的相关国家标准、行业标准和论文，整理出相应的样品前处理方法和分离检测方法。

（三）确定方法技术内容

根据优化选择的实验结果，本方法拟采用液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定谷类食品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根和硒酸根的含量。实验内容包括电感耦合等离子体质谱条件优化、色谱条件优化、提取方法的选择、提取酶的选择、提取温度和提取时间的优化，并对方法的线性范围、最低检出限、精密度、重复性、回收率以及方法的适用性等进行了研究。

（四）形成方法报批稿

根据 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》所规定的内容和格式编写完成本标准初稿，经过反复试验，同时选取3家在硒形态分析方面的资深单位作为方法验证单位，对标准进行验证，形成征求意见稿，并在业内进行广泛的征求意见，最终形成方法报批稿。

二、与我国有关法律法规和其他标准的关系

在标准研制过程中，我们查阅了国内外有关无机硒和有机硒测定的相关标准、分析方法、论文等资料，国内无机硒和有机硒现行有效的标准如下：

序号	标准号	标准名称	适用基质	发布日期	实施日期
----	-----	------	------	------	------

1	DB3301/T 117-2007	稻米中有机硒和无机硒含量的测定 原子荧光光谱法	稻米	2007-12-21	2007-12-28
2	DBS42/ 002-2014	食品安全地方标准 富有机硒食品 硒含量要求	种植（养殖）、生长在富硒土壤或通过生物转化等措施生产的富含有机硒的农副产品及其加工产品	2014-05-09	2014-11-01
3	SN/T 4060-2014	出口保健品中硒酸和亚硒酸含量的测定	液体、胶囊、鱼油、片状保健品	2014-11-19	2015-05-01
4	SN/T 4526-2016	出口水产品中有机硒和无机硒的测定 氢化物发生原子荧光光谱法	水产品	2016-06-28	2017-02-01
5	DBS42/010-2018	食品安全地方标准 富硒食品中无机硒的测定方法	保健食品、粮食、肉类；水、酒、饮料、酱油、醋；植物油	2018-12-07	2018-12-07
6	GB 5009.93-2017	食品安全国家标准 食品中硒的测定	各类食品	2017-04-06	2017-10-06

以上标准中未见采用液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定谷类食品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根和硒酸根的方法。

三、国外有关法律、法规和标准情况的说明

现行有效与食品中硒测定有关的国际标准：

序号	标准号	标准名称	测定目标	发布日期	实施日期
1	DIN EN 14627-2005	食品 痕量元素测定。压力溶解后用氢化原子吸收光谱法（HGAAS）测定砷和硒的总量	总硒	2005-07-01	
2	BS EN 14627-2005	食品 痕量元素的测定。压力分解后用氢化原子吸收光谱测定法测定硒和砷的总量	总硒	2005-05-13	2005-05-13
3	NF V03-095-2005	食品 痕量元素的测定。压力分解后用氢化原子吸收光谱测定法测定硒和砷的总量	总硒	2005-08-01	2005-08-05
4	ISO 20649-2015	婴幼儿配方奶粉和成人营养品铬、硒、钼的测定 电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）	总硒	2016-06-28	2015-11-01

以上标准中无食品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根和硒酸根测定的方法。

四、标准的制（修）订与起草原则

本标准遵循GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》和GBT 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的编写规则。

- (1) 本标准编制遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”原则。
- (2) 本方法能够满足大米、小麦中亚硒酸根、硒酸根及硒代蛋氨酸检测指标的要求。
- (3) 本方法的精密度、准确度和灵敏度达到国内外同等水平。

五、确定各项技术内容

5.1 分离检测条件的优化

5.1.1 电感耦合等离子体质谱条件的优化

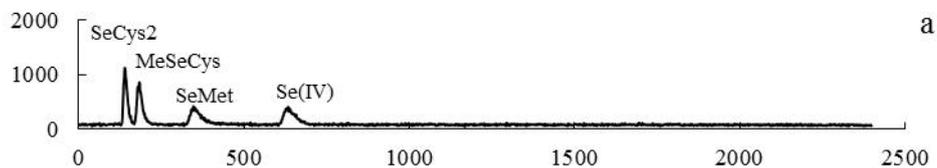
采用分别含 Li、Mg、Y、Ce、Tl、Co 为 1 $\mu\text{g/L}$ 的调谐液进行仪器调谐，通过调谐仪器参数使 Li、Y、Tl 的灵敏度达到最佳，同时保证 CeO^+/Ce^+ 小于 2%， Ce^{++}/Ce 小于 3%。优化后的主要仪器参数为：射频功率为 1550 W；采样深度为 8 mm；雾化室温度为 2 $^{\circ}\text{C}$ ；载气流量为 0.65 L/min；补偿气流量为 0.45 L/min；碰撞气（氦气）流速为 4.8 mL/min；积分时间为 0.5 s；蠕动泵转速为 0.3 rps。

硒元素在自然界有 6 种同位素，丰度最大为 ^{80}Se （丰度：49.6%），但 ^{80}Se 易受到等离子气 $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ 的质谱干扰，在测定过程发现：采用标准模式， ^{80}Se 信号完全被基线噪音信号湮没，无法进行测定。 ^{78}Se （丰度：23.78%）和 ^{82}Se （丰度：8.73%），在此条件下质谱干扰较小，同时灵敏度也相对较小。为了消除干扰，选择具有碰撞/反应池的四级杆 ICP-MS 测定 ^{78}Se 和 ^{82}Se ，通过调谐氦气模式(He)仪器参数使信噪比达到最佳。通过硒形态化合物的色谱分析发现 ^{78}Se 的灵敏度较 ^{82}Se 好。

5.1.2 高效液相色谱条件的优化

本实验选择 Hamilton PRP-X100 阴离子交换柱（250 mm \times 4 mm, 10 μm ）及其保护柱作为分析柱进行硒形态化合物的分离测定。

以磷酸氢二铵为流动相，pH 调至 6.0，分别考察了流动相浓度为 10~70 mmol/L 时，对硒形态化合物分离效果的影响，结果如图 1 所示。流动相浓度为 10 mmol/L 时，硒代胱氨酸、甲基硒代半胱氨酸、硒代蛋氨酸和四价硒可以很好地分离，但六价硒在 40 min 内未出峰，说明流动相浓度低不能将其短时间内洗脱下来。随着流动相浓度的增大完成五种硒形态化合物分离的分析时间越来越短，但硒代胱氨酸、甲基硒代半胱氨酸、和四价硒的分离度越来越差。综合分析时间和分离度，本实验选择 40 mmol/L 磷酸氢二铵做进一步的条件优化实验。



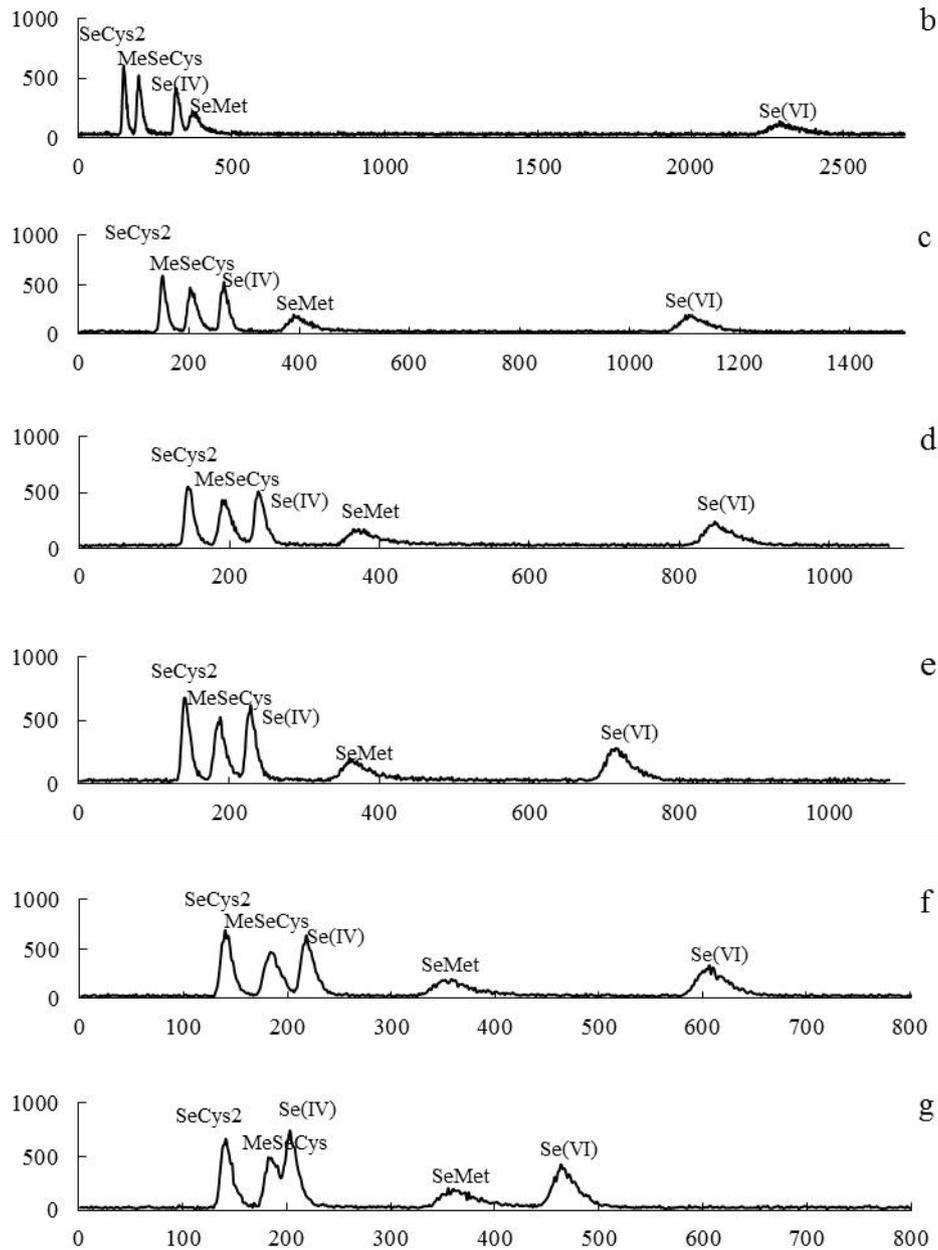


图 1 不同浓度的磷酸氢二铵(pH=6.0)作流动相对五种硒形态化合物分离效果图(a=10; b=20; c=30; d=40; e=50; f=60; g=70, 浓度单位 mmol/L)

以 40 mM 磷酸氢二铵为流动相，，分别考察了流动相 pH 在 4~8 时，对五种硒形态化合物分离效果的影响，结果如图 2 所示。流动相 pH 越大，分析时间越短，同时 SeCys₂、MeSeCys 和 Se(IV) 的分离度变差。当 pH=4 时，分析时间超过 25 min；当 pH=5 时，五种硒形态化合物的分离度较好，但分析时间长；当 pH=6 时，五种硒形态化合物分离度相对较好，分析时间相对较短；当 pH=7 时，SeCys₂ 未出峰；当 pH=8 时，SeCys₂、MeSeCys 和 SeMet 均未出峰。综合分析时间、分离度和可实现分离的硒形态种类，本实验选择流动相的 pH 为 6 做进一步的条件优化实验。

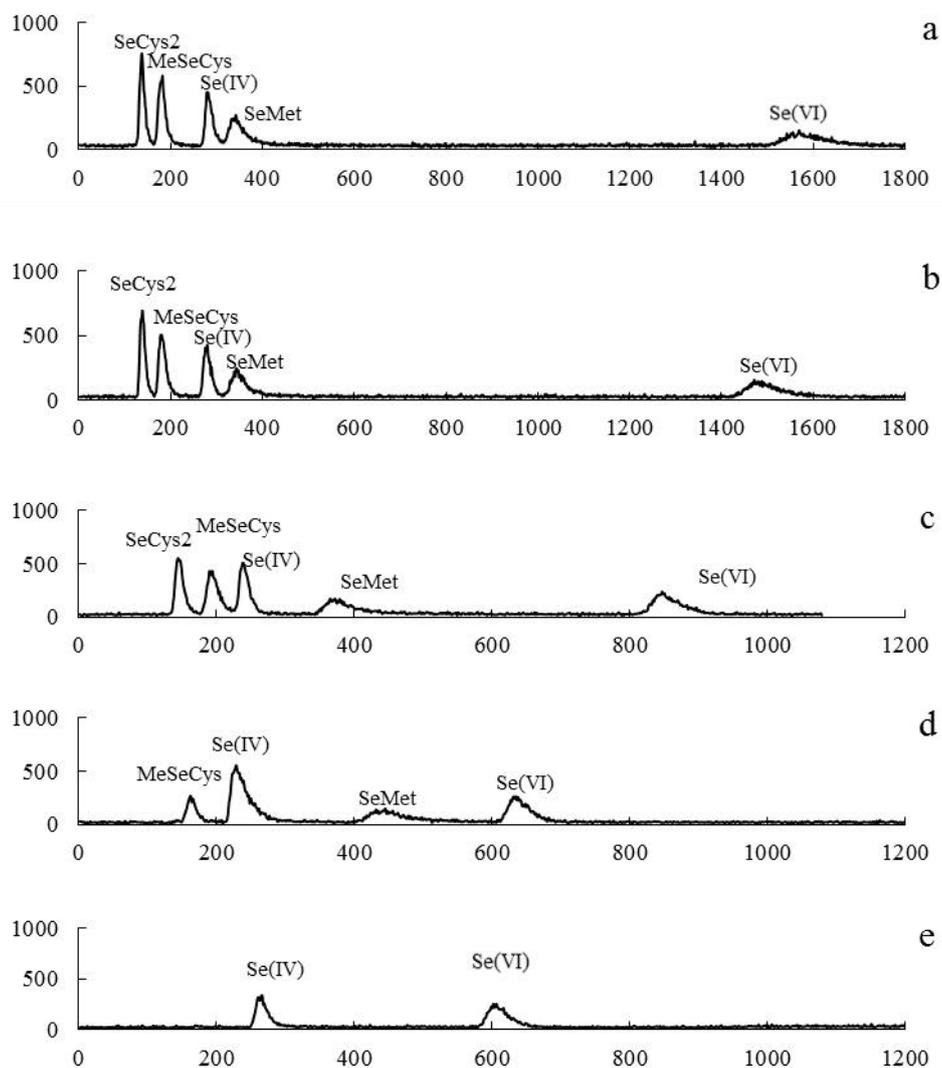


图2 流动相浓度为 40 mmol/L, 不同流动相 pH 对五种硒形态化合物分离效果图(a, pH=4; b, pH=5; c, pH=6; d, pH=7; e, pH=8)

本实验进一步考察了流速为 1.0 mL/min、1.2 mL/min、1.5 mL/min 时, 五种硒形态化合物的分离效果。结果发现流速为 1.2 mL/min 时分离效果较好, 分析时间较短。五种硒形态化合物的色谱图如图 3 所示。

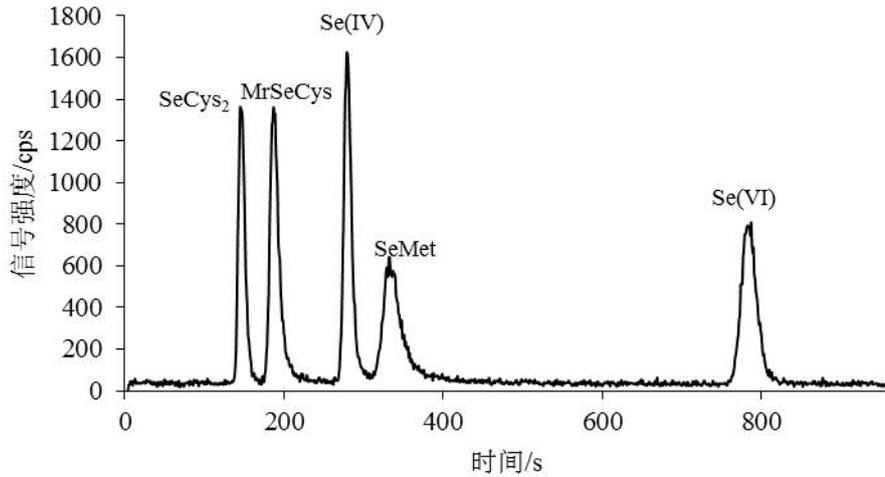


图3 五种硒形态化合物的色谱图 (10 μg/L)

综上所述,本实验选择的实验条件为 Hamilton PRP-X100 阴离子交换柱(250 mm × 4 mm, 10 μm), 以 40 mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0) 为流动相, 流速为 1.2 mL/min。

5.2 前处理条件的优化

5.2.1 提取剂的选择

选取一高硒样品(M)进行提取优化实验, 采用 37 °C 水浴超声 2 h 后, 保持 37 °C 水浴过夜的提取方法分别考察了水、1%硝酸、α-淀粉酶、蛋白酶 K、蛋白酶 E 和蛋白酶 XIV 对 M 样品中硒形态提取效果的影响, 结果如图 4 所示。

实验结果表明, M 样品中主要的硒形态为硒代蛋氨酸, 蛋白酶 E 和蛋白酶 XIV 的提取效果最佳, 提取效率(以 SeCys₂、MeSeCys、Se(IV)、SeMet 和 Se(VI)测定结果的总和与总硒含量的比值表示)分别为 58.2%和 57.8%; 水、1%硝酸和α-淀粉酶的提取效率均低于 2%; 蛋白酶 K 的提取效率为 22.2%。可选择蛋白酶 E 或蛋白酶 XIV 作进一步的实验优化。本实验选择蛋白酶 XIV 作为提取剂考察其对硒形态提取效果的影响。

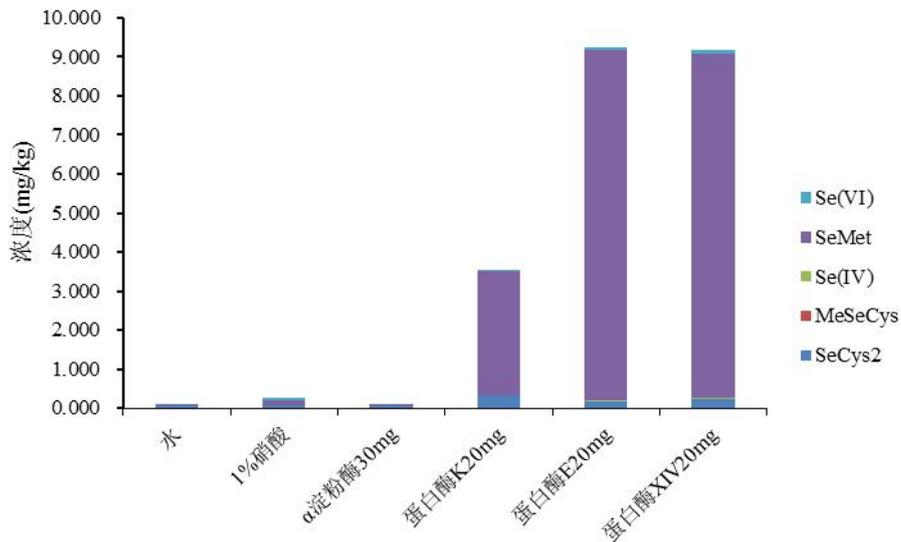


图4 不同提取剂对 M 样品中硒形态提取结果

5.2.2 蛋白酶 XIV 用量的优化

水浴超声处理的温度为 37 °C，提取时间设为 3 h，提取液体积为 5 mL，分别考察了 10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg 及 60 mg 蛋白酶 XIV 对 M 样品中硒形态提取效果的影响，结果如表 3 所示。当蛋白酶 XIV 量为 20 mg 时，提取效率最佳；当蛋白酶 XIV 量大于 20 mg 时，提取效率不再增加。

随着蛋白酶 XIV 用量的增加，提取出的 SeMet 含量先升高后降低，当蛋白酶 XIV 用量为 20 mg 时，提取出的 SeMet 含量最高。SeCys₂ 含量随蛋白酶 XIV 用量的增加而逐渐增加。Se(IV)含量随蛋白酶 XIV 量增加逐渐升高。MeSeCys 含量随蛋白酶 XIV 量增加先升高后下降。

综上所述，本研究选择蛋白酶 XIV 用量为 20 mg。

表 3 不同蛋白酶用量对 M 样品中硒形态的提取效果(n=3)

蛋白酶 XIV(mg)	10	20	30	40	50	60
SeCys ₂ (mg/kg)	0.380	0.409	0.815	1.36	1.55	1.69
MeSeCys(mg/kg)	ND ¹	0.005	0.035	0.049	0.052	0.047
Se(IV)(mg/kg)	0.013	0.034	0.064	0.084	0.117	0.124
SeMet(mg/kg)	8.81	10.25	9.14	8.52	8.62	8.72
Se(VI)(mg/kg)	0.256	0.086	0.086	0.088	0.086	0.102
总硒形态(mg/kg)	9.46	10.78	10.14	10.10	10.43	10.68
总硒(mg/kg)	15.88	15.88	15.88	15.88	15.88	15.88
提取效率(%)	59.6	67.9	63.9	63.6	65.6	67.3

注：ND—表示未检出

5.2.3 提取时间的优化

水浴超声处理的温度为 37 °C，提取液体积为 5 mL，蛋白酶 XIV 用量为 20 mg，分别考察了提取时间为 1 h、2 h、3 h、4 h 及 7 h 对 M 样品中硒形态提取效果的影响，结果如表 4 所示。

实验结果表明提取效率随提取时间增长而增加，当提取时间 $t \geq 3$ h 时，提取效率基本保持一致；提取出的 SeMet 含量变化趋势与总硒形态变化趋势一致。提取出的 SeCys₂ 含量随提取时间的增加而逐渐减少，这是由于 SeCys₂ 随着时间的增长逐渐酶解导致含量降低。提取出的 Se(IV)与 Se(VI)含量在考察的提取时间范围内基本保持一致。提取出的 MeSeCys 含量随时间增长变化不大。

综上所述，本实验选择的提取时间为 3 h。

表 4 不同提取时间对 M 样品中硒形态的提取效果(n=3)

提取时间(h)	1	2	3	4	7
SeCys ₂ (mg/kg)	0.824	0.590	0.452	0.440	0.436
MeSeCys(mg/kg)	0.032	0.036	0.039	0.040	0.035
Se(IV)(mg/kg)	0.019	0.016	0.017	0.015	0.018
SeMet(mg/kg)	6.95	9.43	10.25	10.32	10.39
Se(VI)(mg/kg)	0.103	0.104	0.105	0.106	0.105
总硒形态(mg/kg)	7.93	10.18	10.86	10.92	10.98
总硒(mg/kg)	15.88	15.88	15.88	15.88	15.88
提取效率(%)	49.9	64.1	68.4	68.8	69.2

5.2.4 α 淀粉酶辅助提取的考察

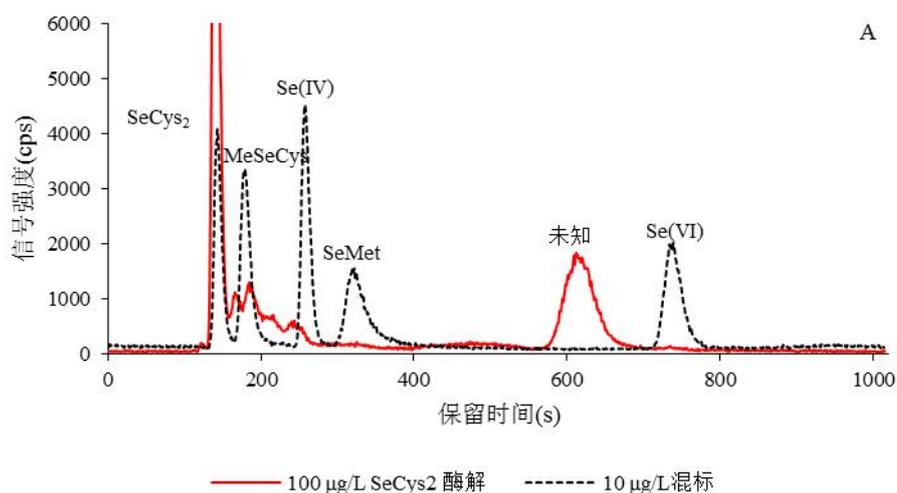
谷类主要成分为糖类、蛋白质、脂肪等。因此，选择 α 淀粉酶作为辅助酶考察其对硒形态提取效率的影响。本研究考察了 30 mg、60 mg 和 90 mg α 淀粉酶辅助蛋白酶 XIV 提取白玉米粉中硒形态，结果如表 5 所示。实验结果表明，加入 α 淀粉酶后提取效果未得到明显改善。选用 α 淀粉酶的活性最佳温度为 50-75 °C，先加入 α 淀粉酶，60 °C 预处理样品 2 h 后，再加入蛋白酶 XIV 进行处理，结果同样表明提取效果未得到明显改善。因此，前处理过程中不需要加入 α 淀粉酶辅助提取。

表 5 不同 α 淀粉酶用量辅助提取结果(n=3)

α 淀粉酶(mg)	0	30	60	90
SeCys ₂ (mg/kg)	0.409	0.355	0.390	0.452
MeSeCys(mg/kg)	0.005	0.035	0.026	0.030
Se(IV)(mg/kg)	0.034	0.074	0.072	0.081
SeMet(mg/kg)	10.25	10.38	10.33	10.20
Se(VI)(mg/kg)	0.086	0.087	0.085	0.087
总硒形态(mg/kg)	10.78	10.93	10.90	10.85
总硒(mg/kg)	15.88	15.88	15.88	15.88
提取效率(%)	67.9	68.8	68.7	68.3

5.3 有机硒酶解及提取后检测时间的考察

为了考察硒形态标准的稳定性，分别向 SeCys₂、MeSeCys、SeMet 的单化合物标准溶液 (100 μ g/L) 加入 20 mg 蛋白酶 XIV，采用优化好的前处理方法进行处理，处理完成后立刻上机测定，结果如图 7 所示。结果表明，SeCys₂ 酶解后主要成分为 SeCys₂ 和一些碎片峰，对 MeSeCys 的峰产生干扰；MeSeCys 酶解后主要成分仍然是 MeSeCys，只有微量的 MeSeCys 发生了分解，在其他四种硒形态出峰位置均出现了小峰；SeMet 酶解后主要成分是 SeMet，微量的 SeMet 发生了分解，分别在 SeCys₂、Se(IV) 和 Se(VI) 出峰位置处产生小峰。



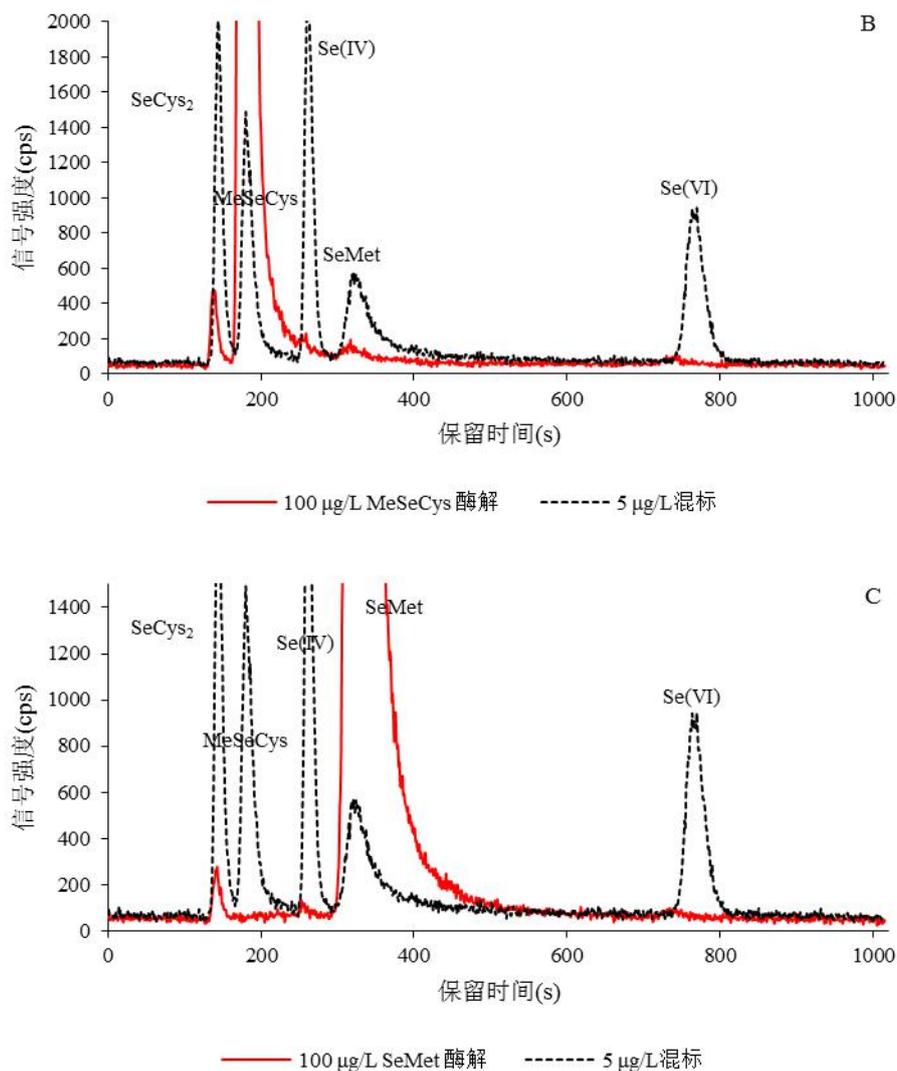


图 5 SeCys₂、MeSeCys、SeMet 酶解后与五种硒化合物混合标准溶液对比图

向样品基体中分别加入 SeCys₂、MeSeCys、SeMet 的单化合物标准溶液进行加标回收及提取完成后测定时间考察实验，结果如表 6 所示。结果表明，SeCys₂ 的加标回收率偏低，提取完成后立刻测定回收率为 64.3%，5 h 内完成测定加标回收率大于 50%，测定时间为 16 h 时回收率仅为 36.0%；MeSeCys 在 5 h 内完成测定的加标回收率在 98%~109%之间，测定时间为 16 h 时回收率为 90.4%；SeMet 在 5 h 内完成测定的加标回收率在 103%~111%之间，测定时间为 16 h 时回收率为 84.5%，测定时间为 22 h 时回收率降低至 65.3%。根据不同测定时间加标回收率结果，提取完成后应在 5 h 内完成测定可以保证硒形态测定结果的准确性。

表 6 SeCys₂、MeSeCys、SeMet 加标回收及提取完成后不同测定时间的测定结果

SeCys ₂				
测定时间(h)	本底值(mg/kg)	加标量(mg/kg)	测得量(mg/kg)	回收率(%)
0			2.17	64.3
2			1.85	54.6
4	0.030	3.33	1.80	53.1
5			1.80	53.1
16			1.23	36.0

MeSeCys				
测定时间(h)	本底值(mg/kg)	加标量(mg/kg)	测得量(mg/kg)	回收率(%)
0			3.28	98.5
2			3.39	101.8
4	/	3.33	3.32	99.7
5			3.61	108.4
16			3.01	90.4
SeMet				
测定时间(h)	本底值(mg/kg)	加标量(mg/kg)	测得量(mg/kg)	回收率(%)
0			3.73	103.4
2			3.74	103.7
4	0.286	3.33	3.88	107.9
5			3.97	110.6
16			3.10	84.5
22			2.46	65.3

5.4 方法实验条件优化

5.4.1 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(250mm×4.1mm, 10 μ m)或色谱预柱；阴离子交换预柱(20mm×2.1mm, 10 μ m)或等效色谱预柱。

——流动相：40 mmol/L (NH₄)₂HPO₄, pH=6.0。——流速：1.0 mL/min。

——进样量：100 μ L。

5.4.2 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：1550 W。

——采样深度：8 mm。

——雾化室温度：2 $^{\circ}$ C。

——载气流量：0.65 L/min。

——辅助气流量：0.45 L/min。

——碰撞气流量 (He 气)：4.5 mL/min。

——积分时间：0.5 s。

——检测质量数：78 或 82。

——蠕动泵转速：0.3 rps。

5.4.3 前处理方法

称取 0.1~0.5 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 $^{\circ}$ C 水浴超声 3 h，振摇数次。静置 10 min，4 $^{\circ}$ C 下以 9000 r/min 离心 10 min，取上清液过 0.22 μ m 滤膜，待测。同时做空白试验，上机前存储于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中，在 5 h 之内完成测定。(可根据样品中硒形态含量的高低，适当调整称样量、提取液体积及蛋白酶 XIV 的量)。

5.5 线性范围及检出限

由于 SeCys₂ 酶解情况严重，且检出的 MeSeCys 含量较低，本方法仅对 Se(IV)、SeMet 和 Se(VI)进行了分析研究。

分别配制 1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、300.0 $\mu\text{g/L}$ 的 Se(IV)、SeMet 和 Se(VI)混合标准溶液系列, 以各浓度色谱峰面积(y)对应质量浓度(x)绘制标准曲线。在最佳实验条件下, 1~300.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内, 相关系数(r)均大于 0.999, 线性关系良好, 结果列于表 7。采用逐级稀释法, 当待测物的信噪比(S/N)大于或等于 3 时确定此时的浓度为该化合物的检出限。若取样量为 0.2 g, 提取液体积为 5 mL, Se(IV)、SeMet 和 Se(VI)方法检出限分别为 2.5、10.0 和 5.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

表 7 方法的线性范围及检出限

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数(r)	仪器检出限($\mu\text{g/L}$)	方法检出限($\mu\text{g/kg}$)
Se(IV)	1~300	$y=6109.8x-2492.1$	0.9998	0.1	2.5
SeMet	1~300	$y=6109.8x-2339.7$	0.9999	0.4	10.0
Se(VI)	1~300	$y=4497.1x-2339.7$	0.9999	0.2	5.0

5.6 方法准确性及重复性

选取大米、小麦样品, 添加 3 个浓度水平的 3 种硒形态混合标准溶液, 每个浓度水平做 6 个平行, 进行回收率实验, 结果见表 8。结果显示, Se(IV)的回收率在 86.7%~106%之间, Se(VI)的回收率在 94.6%~110%之间。SeMet 的加标回收率在 95.0%~113 之间。三种硒形态的 RSD 均小于 5.5%, 说明方法的重复性良好。

选取欧盟小麦粉标准物质(ERM[®]-BC210a, SeMet 标准值为 $11.18 \pm 1.06 \text{ mg/kg}$, 以 Se 计), 采用本方法对小麦粉标准物质中 SeMet 进行测定, 测定结果为 $10.52 \pm 0.28 \text{ mg/kg}$, 在其标准值范围之内。

综上所述, 本方法测定谷类食品中 SeMet、Se(IV)和 Se(VI)的准确度良好。

表 8 大米加标回收率及精密度(n=6)

基质	硒形态	本底值($\mu\text{g/L}$)	添加量($\mu\text{g/L}$)	测得量($\mu\text{g/L}$)	平均回收率(%)	RSD(%)
大米	Se(IV)	0.2	10	8.4~9.3	87.2	3.3
			30	25.0~27.5	86.7	4.0
			80	70.3~72.4	89.1	1.2
	SeMet	13.8	10	22.9~23.7	95.0	1.6
			30	44.4~45.8	105	1.1
			80	95.3~96.7	103	0.5
	Se(VI)	0.20	10	9.6~10.2	97.0	2.6
			30	28.3~29.1	95.2	0.9
			80	74.9~77.2	94.6	1.0
小麦	Se(IV)	ND	30	27.1~30.6	95.5	4.7
			50	46.4~52.8	99.4	5.4
			70	67.4~73.4	99.7	3.5
	SeMet	13.9	30	42.5~47.4	102	3.7
			50	62.1~70.6	103	4.4
			70	85.8~91.3	106	2.4
Se(VI)	0.31	30	28.7~31.8	98.2	3.6	
		50	49.6~55.2	105	4.5	

5.7 谷类食品中硒形态

采用优化好的前处理方法和分析测定方法对谷类食品中硒形态进行分析, 结果列于表 9。测定结果显示, Se(IV)的含量范围为 0.003 mg/kg~0.151 mg/kg, SeMet 的含量范围为 0.021 mg/kg~10.25 mg/kg, Se(VI)的含量范围 ND~0.598 mg/kg; SeMet 占总硒含量为 54.2%~86.4%; 这说明谷类食品中的硒形态主要以硒代蛋氨酸为主。

表 9 谷类食品中硒形态(n=3)

样品名称	含量(mg/kg)				SeMet(%)
	Se(IV)	SeMet	Se(VI)	总硒	
大米-2	0.005	0.198	0.009	0.365	54.2
大米-3	0.007	0.358	0.008	0.471	76.0
大米-4	0.003	0.021	ND	0.031	70.0
小麦	0.151	10.19	0.598	17.23	59.1
玉米-2	0.014	3.528	0.032	4.085	86.4
玉米-3	0.017	10.25	0.105	15.88	64.5

注: ND—低于检出限

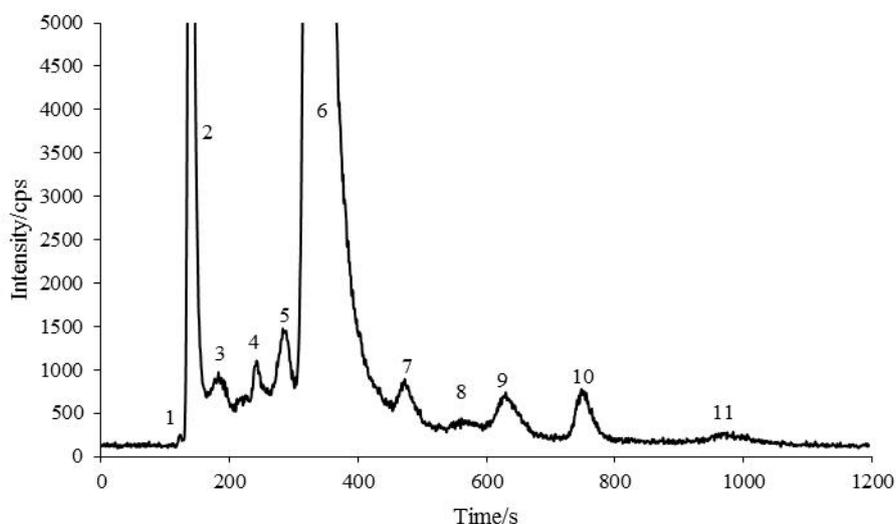


图 6 玉米粉-2 中硒形态色谱图(1=未知物-1; 2=SeCys₂; 3=MeSeCys; 4=未知物-2; 5=Se(IV); 6=SeMet; 7=未知物-3; 8=未知物-4; 9=未知物-5; 10=Se(VI); 11=未知物-6)

5.8 实验室间验证结果

本方法由安康市富硒产品研发中心和北京市疾病预防控制中心负责研制, 经过液相色谱条件的优化、电感耦合等离子体质谱工作参数的优化等, 建立了液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定谷类食品中硒形态的方法。通过筛选确定 3 家验证单位, 对方法线性范围、方法检出限、方法定量限、方法重现性、方法准确性、实际样品的适用性等进行了验证, 验证实验取得一致性结果, 建立的液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法适用于谷类食品中亚硒酸根、硒酸根和硒代蛋氨酸的测定。

5.8.1 起草单位或验证单位使用的仪器设备

验证单位（成都市疾病预防控制中心、国家富硒产品质量监督检验中心（湖北）、北京海关技术中心）和起草单位之一（安康市富硒产品研发中心）使用的仪器设备及实验室编号见表10-1。

表 10-1 使用仪器一览表

实验室编号	仪器名称	仪器型号
1	液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪	Agilent 1260 II HPLC+8900 ICP-MS
2	液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪	Agilent 1260 HPLC+7800 ICP-MS
3	液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪	Agilent 1260 HPLC +8800 ICP-MS
4	液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪	Agilent 1260 II HPLC+7900 ICP-MS

注：* 1—成都市疾病预防控制中心，2—国家富硒产品质量监督检验中心（湖北），3—北京海关技术中心，4—安康市富硒产品研发中心。

5.8.2 方法的线性范围、方程及相关系数

根据标准的编制要求，各单位方法线性范围、方程及相关系数结果如下：

表10-2 线性范围、方程及相关系数汇总表

组分名称	实验室编号	线性范围 (µg/L)	线性方程	相关系数 (r)
亚硒酸根	1	1~300	$y=3678.14x$	0.9999
	2	5~150	$y=21.2499x+16$	0.9998
	3	5~150	$y=323.3771x+44.4527$	0.9999
	4	1~200	$y=4193.62x+219.58$	0.9995
硒酸根	1	1~300	$y=1220.36x$	1.0000
	2	5~150	$y=32.5908x+7$	0.9999
	3	5~150	$y=289.4175x+11.8252$	0.9998
	4	1~200	$y=4159.69x+83.47$	0.9999
硒代蛋氨酸	1	1~300	$y=2474.47x$	1.0000
	2	5~150	$y=65.8832x+7$	0.9995
	3	5~150	$y=252.7311x+45.5182$	0.9999
	4	1~200	$y=3415.48x+0$	1.0000

5.8.3 方法的检出限、定量限

方法检出限和定量限的汇总情况，见表 10-3。

表10-3 方法检出限和定量限汇总表

组分名称	实验室编号	仪器检出限 (µg/L)	方法检出限 (µg/kg)	方法定量限 (µg/kg)
亚硒酸根	1	0.0995	2.49	8.29
	2	0.1	4	10
	3	0.2	5	20
	4	0.18	4.5	11.8
硒酸根	1	0.247	7.33	24.4
	2	0.2	6	20
	3	0.24	6	20
	4	0.21	5.2	12
硒代蛋氨酸	1	0.293	6.18	20.6
	2	0.4	10	30
	3	0.4	10	40
	4	0.28	7	21.5

5.8.4 方法精密度

5.8.4.1 实际样品精密度

表 10-4-1 实际样品精密度 (1 号实验室)

样品基质	组分名称	测定值(mg/kg)							RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	7	
大米	亚硒酸根	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	/
	硒代蛋氨酸	0.808	0.797	0.788	0.800	0.792	0.794	0.798	0.81
	硒酸根	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	/
小麦	亚硒酸根	0.018	0.019	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	2.8
	硒代蛋氨酸	4.65	4.52	4.59	4.54	4.61	4.58	4.57	0.93
	硒酸根	0.022	0.021	0.020	0.020	0.021	0.021	0.022	3.5

注: LQ ——定量限

表 10-4-2 实际样品精密度 (2 号实验室)

样品基质	组分名称	测定值(mg/kg)							RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	7	
大米	亚硒酸根	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	/
	硒酸根	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	/
	硒代蛋氨酸	0.700	0.728	0.747	0.675	0.706	0.721	0.683	3.6
玉米	亚硒酸根	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	/
	硒酸根	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	/

	硒代蛋氨酸	1.36	1.43	1.47	1.42	1.50	1.42	1.40	3.2
小麦	亚硒酸根	ND	/						
	硒酸根	ND	/						
	硒代蛋氨酸	2.23	2.17	2.21	2.14	2.23	2.17	2.07	2.6

注：ND ——未检出

表 10-4-3 实际样品精密度（3号实验室）

样品基质	组分名称	测定值(mg/kg)							RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	7	
大米	亚硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒代蛋氨酸	0.144	0.145	0.148	0.152	0.148	0.144	0.151	2.2
玉米	亚硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒代蛋氨酸	4.55	4.56	4.58	4.57	4.52	4.57	4.61	0.61
小麦	亚硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒酸根	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	/
	硒代蛋氨酸	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	/

表 10-4-4 实际样品精密度（4号实验室）

样品基质	组分名称	测定值(mg/kg)							RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	7	
小麦	亚硒酸根	39.3	37.4	37.9	37.9	37.4	37.5	36.3	2.4
	硒酸根	39.7	38.5	38.7	38.8	38.8	37.7	37.6	1.8
	硒代蛋氨酸	115	110	109	109	104	99.3	97.5	6.1

5.8.4.2 模拟样品精密度

表 10-5-1 加标精密度试验结果（1号实验室）

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定值($\mu\text{g/L}$)						RSD (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	0.13	30	22.3	21.8	22.6	21.9	22.1	21.5	1.6
			50	36.2	36.8	36.1	36.6	36.0	36.7	0.87
			100	70.0	70.3	69.8	70.6	69.6	71.0	0.66
	硒代蛋氨酸	3.09	30	37.4	38.0	37.2	37.6	37.1	37.1	0.86
			70	83.5	83.2	83.6	83.0	83.8	83.5	0.32

			120	136	133	135	135	136	136	0.95
	硒酸根	0.37	30	31.6	30.9	30.7	30.6	30.8	30.6	1.1
50			49.9	51.0	50.5	50.1	50.9	50.6	0.77	
100			94.7	99.1	93.9	95.8	96.6	97.4	1.8	
小麦	亚硒酸根	0.10	30	26.3	26.5	26.6	27.2	27.4	27.3	1.8
			50	45.2	45.5	44.5	45.1	44.9	45.2	0.72
			100	91.4	90.7	91.2	91.0	91.9	90.6	0.53
	硒代蛋氨酸	1.74	30	31.5	32.1	30.1	30.7	30.9	31.0	2.3
			70	70.5	70.2	69.3	69.8	70.0	70.0	0.59
			120	119	119	119	119	118	120	0.61
	硒酸根	0.35	30	28.7	28.8	26.6	27.4	27.3	27.7	3.2
			50	45.3	44.7	45.1	45.4	45.1	44.9	0.54
			100	92.0	92.9	92.4	93.0	93.1	93.3	0.53

表 10-5-2 加标精密度试验结果 (2 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定值($\mu\text{g/L}$)						RSD (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	0.23	5	5.78	5.77	5.90	5.92	5.60	6.06	2.7
			30	29.2	29.0	27.5	28.7	28.6	29.5	2.4
			60	58.4	59.5	60.3	61.2	60.8	63.9	3.1
	硒酸根	0.10	5	6.18	5.87	6.30	6.51	5.99	6.42	4.0
			30	28.6	29.4	29.1	29.7	30.6	30.3	2.6
			60	61.2	61.8	61.4	62.7	63.4	66.2	2.9
	硒代蛋氨酸	13.9	5	19.1	18.2	17.9	19.0	18.8	19.4	3.1
			30	45.7	46.1	43.1	45.1	44.9	45.3	2.3
			60	81.0	82.4	81.8	82.7	84.3	83.9	1.5
玉米	亚硒酸根	2.12	5	6.85	6.71	6.83	7.09	6.36	6.62	3.6
			30	35.1	35.3	32.1	32.8	33.0	34.0	3.9
			60	65.2	67.9	62.8	62.4	62.3	59.7	4.5
	硒酸根	2.06	5	6.73	6.70	6.82	6.61	6.13	6.23	4.4
			30	30.8	28.7	27.8	28.9	29.9	29.7	3.7
			60	59.9	57.5	54.1	56.4	54.3	55.4	3.9
	硒代蛋氨酸	30.0	5	34.3	35.2	34.6	35.7	35.5	35.3	1.5
			40	73.9	74.4	68.4	66.8	70.4	69.6	4.3
			80	106	110	102	103	103	103	2.7
小麦	亚硒酸根	0.10	5	5.37	5.12	5.50	5.20	5.00	5.17	3.4
			30	32.1	33.2	31.0	30.3	31.7	30.4	3.6

			60	64.3	63.1	63.9	64.0	61.3	62.6	1.8
	硒酸根	1.06	5	5.97	6.27	6.21	6.12	6.33	6.42	2.6
			30	28.5	29.8	29.2	29.4	27.1	26.4	4.8
			60	121	121	128	128	132	129	2.6
	硒代蛋氨酸	28.5	10	45.8	44.6	44.2	46.2	46.3	46.6	2.2
			50	76.0	80.1	78.5	78.1	74.5	73.0	3.5
			100	60.0	60.9	63.1	64.5	61.7	62.7	3.6

表 10-5-3 加标精密度试验结果 (3 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定值($\mu\text{g/L}$)						RSD (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	<0.8	30	28.5	28.7	28.1	27.6	29.0	28.4	1.8
			50	46.0	47.1	46.6	45.3	46.0	43.5	2.8
			100	96.9	93.6	94.6	92.9	90.5	91.8	2.4
	硒酸根	<0.8	30	31.1	29.3	28.1	30.4	29.6	30.2	1.7
			50	49.1	52.3	52.3	50.3	49.3	47.3	4.1
			100	89.3	90.3	94.4	93.6	92.5	91.3	2.2
	硒代蛋氨酸	6.01	30	31.8	36.4	33.1	36.7	35.2	34.9	2.4
			70	75.2	79.4	77.3	78.4	77.4	74.2	3.1
			120	113	109	114	116	115	114	2.5
玉米	亚硒酸根	<0.8	30	26.8	27.5	28.3	28.0	27.7	28.8	2.5
			50	53.0	50.9	51.2	52.4	52.6	52.5	1.7
			100	104	103	102	104	106	103	1.4
	硒酸根	<0.8	30	29.1	28.2	29.9	30.4	29.4	29.5	2.5
			50	47.2	48.6	45.9	48.7	48.0	49.4	2.7
			100	88.3	91.3	91.2	93.3	91.9	90.5	1.9
	硒代蛋氨酸	<1.6	30	26.4	25.3	27.1	25.6	24.9	25.4	3.2
			70	58.2	59.0	59.3	58.2	62.0	61.1	2.7
			120	108	114	113	112	115	111	2.3
小麦	亚硒酸根	<0.8	30	28.0	26.9	26.5	26.8	26.4	26.0	2.6
			50	49.9	48.3	47.3	47.5	44.8	44.2	4.6
			100	96.2	97.9	94.8	99.0	99.7	97.8	1.9
	硒酸根	<0.8	30	27.3	26.3	27.0	25.7	24.9	25.4	3.6
			50	45.4	44.0	44.2	43.7	45.9	46.3	2.5
			100	87.7	91.1	89.0	88.5	86.3	87.9	1.9
	硒代蛋氨酸	<1.6	30	26.5	24.6	24.2	25.3	24.9	25.4	3.2
			70	64.8	61.7	59.8	60.8	65.1	64.0	3.6

			120	103	106	107	109	104	103	2.3
--	--	--	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

表 10-5-4 加标精密度试验结果 (4 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定值($\mu\text{g/L}$)						RSD (%)
				1	2	3	4	5	6	
玉米	亚硒酸根	0.104	10	7.48	7.99	8.22	8.07	7.95	7.46	4.0
			40	29.2	31.2	31.6	29.4	28.8	30.2	3.7
			80	57.7	58.2	62.1	61.1	62.0	59.9	3.2
	硒酸根	0.698	10	10.2	9.95	9.81	9.67	10.0	10.2	2.2
			40	38.7	38.9	37.6	39.6	37.2	39.0	2.4
			80	77.1	80.2	81.7	79.7	79.5	79.8	1.9
	硒代蛋氨酸	47.0	10	56.7	57.3	56.8	56.0	57.0	57.1	0.8
			40	87.8	88.7	88.2	88.5	87.9	91.3	1.5
			80	129	127	132	130	130	130	1.4
小麦	亚硒酸根	0.264	10	10.6	9.89	9.64	9.00	10.1	10.1	5.5
			40	42.0	38.2	37.3	37.6	37.1	36.2	5.3
			80	83.9	76.2	79.0	80.1	80.2	79.2	3.1
	硒酸根	3.58	10	13.3	12.4	12.6	13.7	12.8	12.6	3.7
			40	42.0	39.8	38.7	39.1	38.6	38.6	3.3
			80	81.7	76.1	76.5	79.1	82.5	80.2	3.3
	硒代蛋氨酸	90.5	10	101	99.8	99.1	98.1	101	99.2	2.4
			40	129	129	125	127	129	129	1.3
			80	166	159	166	166	171	171	2.6

5.8.5 方法加标回收率

表 10-6-1 加标回收试验结果 (1 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)						平均回 收率 (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	0.13	30	73.9	72.1	74.8	72.6	73.3	71.2	73.0
			50	72.1	73.4	71.9	72.9	71.7	73.1	72.5
			100	69.9	70.2	69.7	70.4	69.5	70.9	70.1
	硒代蛋氨酸	3.09	30	114	116	114	115	113	113	114
			70	115	114	115	114	115	115	115
			120	111	108	110	110	110	111	110
	硒酸根	0.37	30	104	102	101	101	102	101	102
			50	93.7	95.9	94.8	94.0	95.6	94.9	94.8

			100	94.3	98.7	93.6	95.4	96.2	97.0	95.9
小麦	亚硒酸根	0.10	30	87.2	88.2	88.3	90.4	90.9	90.6	89.2
			50	90.2	90.8	88.9	89.9	89.6	90.2	89.9
			100	91.3	90.6	91.1	90.9	91.8	90.5	91.0
	硒代蛋氨酸	1.74	30	99.1	101	94.4	96.4	97.3	97.4	97.7
			70	98.3	97.8	96.5	97.3	97.5	97.5	97.5
			120	97.8	98.0	97.3	98.0	97.1	98.8	97.8
	硒酸根	0.35	30	94.6	94.9	87.4	90.2	89.8	91.2	91.3
			50	89.8	88.8	89.5	90.1	89.4	89.1	89.5
			100	91.6	92.5	92.0	92.6	92.7	92.9	92.4

表 10-6-2 加标回收试验结果 (2 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)						平均回 收率 (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	0.23	5	111	111	114	114	108	117	112
			30	96.7	96.0	91.0	94.8	94.6	97.6	95.1
			60	97.0	98.8	100	102	101	106	101
	硒酸根	0.10	5	102	95.4	104	108	97.9	106	102
			30	91.6	94.2	93.4	95.4	98.4	97.3	95.0
			60	100	101	101	103	104	109	103
	硒代蛋氨酸	13.9	5	104	86.4	80.8	103	99.6	112	97.7
			30	106	107	97.4	104	103	105	104
			60	112	114	113	115	117	117	115
玉米	亚硒酸根	2.12	5	94.5	91.7	94.2	99.3	84.8	89.9	92.4
			30	110	111	99.9	102	103	106	105
			60	105	110	101	100	100	95.9	102
	硒酸根	2.06	5	93.4	92.7	95.2	90.9	81.3	83.4	89.5
			30	95.9	88.9	85.7	89.4	92.9	92.0	90.8
			60	96.5	92.4	86.7	90.6	87.1	88.8	90.4
	硒代蛋氨酸	30.0	5	86.7	105	92.4	114	109	106	102
			40	110	111	96.0	91.9	101	98.9	101
			80	95.0	100	91.1	91.4	91.2	91.9	93.4
小麦	亚硒酸根	0.10	5	105	100	108	102	97.9	101	102
			30	107	110	103	100	105	101	104
			60	107	105	106	107	102	104	105

硒酸根	1.06	5	98.1	104	103	101	105	107	103
		30	91.5	95.7	93.7	94.3	86.8	84.3	91.1
		60	98.2	99.8	103	106	101	103	102
硒代蛋氨酸	28.5	10	103	90.8	86.9	107	108	111	101
		50	94.9	103	100	99.3	92.1	89.0	96.4
		100	92.6	92.0	99.3	99.9	103	101	98.0

表 10-6-3 加标回收试验结果 (3 号实验室)

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)						平均回 收率 (%)
				1	2	3	4	5	6	
大米	亚硒酸根	<0.8	30	95.0	95.7	93.7	92.0	96.7	94.3	94.6
			50	92.0	94.2	93.2	90.6	92.0	87.0	91.5
			100	96.9	93.6	94.6	92.9	90.5	91.8	93.4
	硒酸根	<0.8	30	98.0	95.0	94.0	96.3	95.3	93.7	95.4
			50	98.2	105	105	101	98.6	94.6	100
			100	89.3	90.3	94.4	93.6	92.5	91.3	91.9
	硒代蛋氨酸	6.01	30	91.0	90.0	88.6	92.6	94.6	90.3	91.2
			70	98.8	105	102	105	102	97.4	102
			120	89.2	85.8	90.0	91.7	91.7	90.0	89.7
玉米	亚硒酸根	<0.8	30	89.3	91.7	94.3	93.3	92.3	96.0	92.8
			50	106	102	102	105	105	105	104
			100	104	103	102	104	106	103	104
	硒酸根	<0.8	30	97.0	94.0	100	101	98.0	98.3	98.0
			50	94.4	97.2	91.8	97.4	96.0	98.8	95.9
			100	88.3	91.3	91.2	93.3	91.9	90.5	91.1
	硒代蛋氨酸	<1.6	30	88.0	84.3	90.3	85.3	83.0	84.7	85.9
			70	83.1	84.3	84.7	83.1	88.6	87.3	85.2
			120	90.0	95.0	94.2	93.3	95.8	92.5	93.5
小麦	亚硒酸根	<0.8	30	93.3	89.7	88.3	89.3	88.0	86.7	89.2
			50	99.8	96.6	94.6	95.0	89.6	88.4	94.0
			100	96.2	97.9	94.8	99.0	99.7	97.8	97.6
	硒酸根	<0.8	30	91.0	87.7	90.0	85.7	83.0	84.7	87.0
			50	90.8	88.0	88.4	87.4	91.8	92.6	89.8
			100	87.7	91.1	89.0	88.5	86.3	87.9	88.4
	硒代蛋氨酸	<1.6	30	88.3	82.0	80.7	84.3	83.0	84.7	83.8

			70	92.5	88.1	85.4	86.9	93.0	91.4	89.6
			120	85.8	88.3	89.2	90.8	86.7	85.8	87.8

表 10-6-4 加标回收试验结果（4号实验室）

基质	组分名称	本底浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)						平均回收率 (%)
				1	2	3	4	5	6	
玉米	亚硒酸根	0.104	10	73.8	78.9	81.1	79.6	78.8	73.6	77.6
			40	72.8	77.8	78.7	73.4	71.7	75.3	74.9
			80	72.0	72.6	77.5	76.2	77.4	74.7	75.1
	硒酸根	0.698	10	95.3	92.5	91.2	89.8	93.2	95.2	92.8
			40	95.0	95.5	92.3	97.4	91.3	95.8	94.5
			80	95.5	99.4	101	98.7	98.5	98.9	98.7
	硒代蛋氨酸	47.0	10	97.6	103	98.8	90.0	100	101	97.6
			40	102	104	103	104	102	111	102
			80	103	100	107	104	104	103	103
小麦	亚硒酸根	0.264	10	103	96.2	93.7	87.3	98.7	98.0	96.2
			40	104	94.9	92.6	93.2	92.1	89.9	94.5
			80	104	94.6	98.4	99.8	100	98.7	99.3
	硒酸根	3.58	10	96.8	88.0	90.8	101	91.8	90.6	93.2
			40	95.9	90.5	87.7	88.9	87.6	87.4	89.7
			80	97.7	90.7	91.2	94.4	98.6	95.8	94.7
	硒代蛋氨酸	90.5	10	103	92.8	86.4	84.9	98.4	87.3	92.1
			40	95.8	95.8	86.3	92.0	96.4	96.3	93.8
			80	94.8	86.1	94.7	94.1	101	101	95.2

5.8.6 实际样品的测定

表 10-7-1 实际样品的测定（1号实验室）

样品名称	测定值 (mg/kg)		
	亚硒酸根	硒代蛋氨酸	硒酸根
大米-1	<LQ	0.082	<LQ
大米-2	<LQ	0.076	<LQ
大米-3	<LQ	0.072	<LQ
大米-4	<LQ	0.078	<LQ
小麦-1	<LQ	0.045	<LQ
小麦-2	<LQ	0.048	<LQ
小麦-3	<LQ	0.041	<LQ

小麦-4	<LQ	0.040	<LQ
------	-----	-------	-----

表 10-7-2 实际样品的测定（2 号实验室）

样品名称	测定值（mg/kg）		
	硒代蛋氨酸	亚硒酸根	硒酸根
大米-1	ND	ND	ND
大米-2	0.630	ND	ND
大米-3	0.0587	ND	ND
玉米-1	0.293	ND	ND
玉米-2	0.517	ND	ND
玉米-3	2.33	ND	1.48
小麦-1	1.20	ND	ND
小麦-2	0.0661	ND	ND
小麦-3	1.47	0.695	1.03

表 10-7-3 实际样品的测定（3 号实验室）

样品名称	测定值（mg/kg）		
	硒代蛋氨酸	亚硒酸根	硒酸根
大米-1	0.144	<0.02	<0.02
大米-2	<0.04	<0.02	<0.02
大米-3	<0.04	<0.02	<0.02
大米-4	<0.04	<0.02	<0.02
玉米-1	4.55	<0.02	<0.02
玉米-2	<0.04	<0.02	<0.02
玉米-3	<0.04	<0.02	<0.02
玉米-4	<0.04	<0.02	<0.02
小麦-1	<0.04	<0.02	<0.02
小麦-2	<0.04	<0.02	<0.02
小麦-3	<0.04	<0.02	<0.02
小麦-4	<0.04	<0.02	<0.02

10-7-4 实际样品的测定（4 号实验室）

样品名称	测定值（mg/kg）		
	硒代蛋氨酸	亚硒酸根	硒酸根
玉米-1	0.78	0.01	0.02
玉米-2	0.74	0.01	0.02
小麦-1	2.25	0.00	0.09
小麦-2	2.12	0.00	0.08

红黎-1	7.21	2.65	3.02
红黎-2	7.48	2.74	2.87
硒谷粉-1	3.53	1.19	0.02
硒谷粉-2	3.52	1.32	0.02

5.8.7 方法验证结论

按照标准草案《谷类食品中硒代蛋氨酸、亚硒酸根和硒酸根含量的测定 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法》提供的方法进行测定，方法线性范围、检出限、定量限、精密度、准确度是评价方法水平的主要技术指标，方法验证结果如下：

- (1) 3家单位参加了方法验证工作，所得数据均能满足方法要求。
- (2) 方法的线性范围为 2 $\mu\text{g/L}$ ~200 $\mu\text{g/L}$ ，线性相关系数均 >0.999 。
- (3) 本方法的检出限：硒代蛋氨酸 0.01 mg/kg，亚硒酸根 0.005 mg/kg，硒酸根 0.08 mg/kg；定量限为：硒代蛋氨酸 0.04 mg/kg，亚硒酸根 0.02 mg/kg，硒酸根 0.03 mg/kg。
- (4) 方法精密度：硒代蛋氨酸的相对标准偏差 $\text{RSD} \leq 4.3\%$ ，亚硒酸根的相对标准偏差 $\text{RSD} \leq 5.5\%$ ，硒酸根的相对标准偏差 $\text{RSD} \leq 4.8\%$ 。
- (5) 方法准确度：本方法中硒代蛋氨酸在不同浓度水平下的加标回收率范围为 80.8%~117%，亚硒酸根在不同浓度水平下的加标回收率范围为 69.5%~117%，硒酸根在不同浓度水平下的加标回收率范围为 81.3%~108%。

六、标准实施建议

建议标准实施前有 6 个月以上的实施前的宣贯培训期、缓冲期和过渡准备时间。

七、其他需要说明的事项

根据标准实际工作情况阐述需要说明的事项。