

# LC-ICP-MS联机技术与同位素稀释质谱法

## 精确测定小麦粉中硒代蛋氨酸

韦超<sup>1</sup>, 王军<sup>1</sup>, 周原晶<sup>1</sup>, 贺欣宇<sup>2</sup>, 刘丽丽<sup>2</sup>, 陈登云<sup>3</sup>

(1. 中国计量科学研究院, 北京 100013; 2. 北京化工大学, 北京 100013;

3. 安捷伦科技有限公司, 北京 100022)

## Accurate Determination of Selenomethionine in Wheat Flour by Species-Specific Isotope Dilution-LC-ICPMS

WEI Chao<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, ZHOU Yuan-jing<sup>1</sup>, HE Xin-yu<sup>2</sup>, LIU Li-li<sup>2</sup>, CHEN Deng-yun<sup>3</sup>

(1. National Institute of Metrology, Beijing 100013, China;

2. Beijing Chemistry Engineering University, Beijing 100013, China; 3. Agilent Tech. Ltd., Beijing 100022, China)

**Abstract:** The precise determination of selenomethionine (SeMet) in wheat flour has been performed by species specific isotope dilution mass spectrometric analysis (IDMS) using an inductively coupled plasma mass spectrometer as detector after liquid chromatography (LC-ICP-MS). A labeled <sup>76</sup>SeMet species-specific isotope enriched spike solution was used for these determinations. The experiment procedure included spiking, extraction, and a simultaneous separation and detection procedure. The method gave yield to good precision (<2%). The accuracy of the method has been validated on the certified reference materials. The result obtained was in good agreement with the certified reference value. And this method was used to do the international comparison CCQM-K60.

**Key words:** liquid-chromatography, ICP-MS; speciation analysis; selenium; selenomethionine

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-33-02

硒是人和动物所必需的营养元素,被WHO列为人和动物所必需的14种微量元素之一。自然水体和沉积物中,硒主要以亚硒酸盐、硒酸盐等形式存在;而环境中的微生物和植物可以将无机硒通过生物甲基化过程转化为有机硒化合物,如硒代胱氨酸、硒代蛋氨酸(SeMet)、硒代胱氨酸、硒蛋白、硒多糖等<sup>[1]</sup>。不同形态的硒化合物的营养学性质和毒理学性质相差很大。例如,无机硒过量会导致有机生物体的中毒反应,而有机的硒代胱氨酸则有延缓衰老、防癌抗癌等作用,国内外的保健品市场出现了越来越多的补硒药物<sup>[2]</sup>。目前国际上对硒元素各种化合物的营养性和毒性研究已较为透彻,但对于复杂基体样品中硒形态分析技术的需求还没有得到满足,目前的普通方法受基体影响和前处理效率影响严重。而同位素稀释质谱法因为其受基体影响较小,测量结果准确,对样品前处理要求较低,几乎不用考虑回收率等等优点,成为硒元素形态分析领域的最新发展方向<sup>[3]</sup>。2008年,国际物质质量咨询委员会无机工作组组织了测定小麦粉基体当中的Se元素总量及硒代蛋氨酸化合物浓度的国际比对(CCQM-K60)。本实验室参加了此项比对,并将先进的同位素稀释质谱法与HPLC-ICPMS方法结合起来,进行了方法开发与验证,对样品中硒代蛋氨酸含量进行了测量,获得了满意的结果。

基金项目: 中国计量科学研究院国际比对专项经费(2007CCQM-K60)

作者简介: 韦超(1979~),男(汉族),山东梁山人,硕士,分析化学专业。E-mail: weichao@nim.ac.cn

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7500c 型 ICP-MS ; Agilent 1100HPLC 系列高效液相色谱工作站。

所有化学试剂均为优级纯或色谱纯, 实验用水为 MilliQ-Element A10 型超纯水机制备。硒代蛋氨酸浓缩同位素稀释剂来自英国政府化学家实验室 LGC 提供的  $^{76}\text{SeMet}$ 。

### 1.2 实验条件

**1.2.1 色谱条件** 25 cm ZORBAX RX-C8 色谱柱, 4.1 mm 内径, 填料粒径 5  $\mu\text{m}$ ; 流动相: 98% 水, 2% 甲醇, 0.1% 甲酸; 流速 0.7  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量 25  $\mu\text{L}$ 。

**1.2.2 质谱条件** 雾化器为 PFA 自提升微流雾化器 (200  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 雾室为石英双通道雾室, 炬管为 1.5 mm 内径石英炬管, 采样锥与截取锥均为铂锥。

### 1.3 实验过程

采用生物酶萃取方法萃取样品中硒化合物。称取适量的  $^{76}\text{SeMet}$  稀释剂和 0.5 g 左右的样品混合, 置于 15 mL 塑料离心管中, 加入 60 mg Protease 酶、40 mg Lipase 酶, 3 mL Tris-HCl 缓冲试剂 (pH 7.5) 溶液, 用封口膜密封, 置于恒温水浴摇床中振荡 20 h, 而后以 4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  转速离心分离 10 min, 将上清液取出; 向残留的沉淀物中定量加入 60 mg Protease 酶、40 mg Lipase 酶, 3 mL Tris-HCl 缓冲试剂溶液, 恒温振荡 20 h, 取出上清液; 再次向残留的沉淀中加入 50 mg 的 Driselase 酶和 3 mL Tris-HCl 缓冲试剂 (pH 7.5) 溶液, 恒温振荡 20 h, 取出上清液。将 3 次的上清液混合, 经过适当的稀释, 进样至 HPLC-ICPMS 系统, 测定硒代蛋氨酸色谱峰中  $^{76}\text{Se}$  与  $^{80}\text{Se}$  的比值, 即可计算得到样品中的硒代蛋氨酸含量。

## 2 结果与讨论

经过色谱分离条件的摸索后, 以 CCQM-P86 酵母片样品进行方法验证, 对 3 个样品的 9 个测量结果统计得到酵母片样品中硒代蛋氨酸含量为  $(518\pm 7)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 乘以湿度校正因子 1.052 (100  $^{\circ}\text{C}$  烘干至恒重, 样品前后质量比值), 得到最终对酵母片中硒代蛋氨酸的定值结果为  $(545\pm 7)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 与其参考值  $(561\pm 30)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  相符, 方法验证完毕。

测试国际物质质量咨询委员会统一发放的 CCQM K60 比对——小麦粉样品, 6 个平行样的 12 个测量数据统计得到该样品中硒代蛋氨酸含量为  $(27.61\pm 0.21)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 乘以湿度校正因子 1.056, 得到最终小麦粉比对样品中硒代蛋氨酸的定值结果为  $(29.23\pm 0.23)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。此结果与其他国家计量院的测量结果等效一致, 处于本次比对的 KCRV 值  $(28.89\pm 1.03)\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  区间内, 即结果准确可靠。

## 3 结论

本项研究将同位素稀释质谱法和传统的形态分析方法结合起来, 集 ICP-MS 的高灵敏度和高精度, HPLC 的高选择性, 高适应性以及同位素稀释质谱法的高准确性和对样品处理的低要求诸优势于一体, 是一种准确、可靠的形态分析手段。

### 参考文献:

- [1] QUEVAUVILLER P. Method performance studies for speciation analysis[J]. The Royal Society of Chemistry, 1998.
- [2] GOENAGA I H, STURGEON, R, TURNER J, et al. Total selenium and selenomethionine in pharmaceutical yeast tablets: assessment of the state-of-the-art of measurement capabilities through international intercomparison study CCQM-P86[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 390: 629-642.
- [3] HARRINGTON C F, VIDLER D S, WATTS M J, et al. Potential for using isotopically altered metalloproteins in species specific isotope dilution analysis of proteins by HPLC coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2005, 77: 4 034-4 041.