

高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定 PM_{2.5} 中硒形态

周闰, 孟元华, 曹修玉, 徐志飞, 龚燕*

(无锡市疾病预防控制中心, 江苏 无锡 214023)

摘要: 石英空气滤膜样品以 5 mmol/L 柠檬酸为提取剂, 75 °C 水浴超声浸提 3 h, 浸提液用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP/MS) 测定硒酸根 [Se(VI)]、亚硒酸根 [Se(IV)]、硒脲 (SeUr)、硒代蛋氨酸 (SeMet) 等 4 种硒形态。结果表明, 方法在 0 μg/L ~ 50.0 μg/L 范围内线性良好, 上述 4 种硒形态方法检出限分别为 0.25 μg/L、0.58 μg/L、1.17 μg/L、0.25 μg/L。空白滤膜加标样 11 次测定结果的 RSD 为 1.1% ~ 4.9%, 平均加标回收率为 70.0% ~ 103%。将该方法用于分析无锡地区 PM_{2.5} 中的硒, 发现主要是无机硒形态, 未检出有机硒形态。

关键词: 硒; 形态分析; 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法; PM_{2.5}

中图分类号: O657.63; O657.7⁺2

文献标志码: B

文章编号: 1006-2009(2023)06-0057-04

Determination of Selenium Species in PM_{2.5} by High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

ZHOU Run, MENG Yuan-hua, CAO Xiu-yu, XU Zhi-fei, GONG Yan*

(Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi, Jiangsu 214023, China)

Abstract: The samples collected by quartz filter membrane were extracted by ultrasound in 75 °C water bath for 3 h, using 5 mmol/L citric acid as the extraction agent. Selenate [VI], selenite [IV], selenourea (SeUr) and selenomethionine (SeMet) in the extraction solution were determined by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP/MS). The results showed that the method had good linearity in the range of 0 μg/L to 50.0 μg/L, and the method detection limits for the above four selenium species were 0.25 μg/L, 0.58 μg/L, 1.17 μg/L and 0.25 μg/L, respectively. The RSD of 11 measurements of spiked blank filter membrane samples ranged from 1.1% to 4.9%, and the average recoveries ranged from 70.0% to 103%. The method was applied in analyzing selenium in PM_{2.5} in Wuxi area, inorganic selenium was found to be dominant, but organic selenium was not detected.

Key words: Selenium; Morphological analysis; HPLC-ICP/MS; PM_{2.5}

硒(Se)是一种人体所必需的微量化学元素, 对维持人体系统稳态至关重要^[1-2], 摄入过多硒或缺硒都会对人造成不利影响^[3-5]。硒在自然界有多种存在形态, 常分为无机硒和有机硒两种。无机硒有亚硒酸根 [SeO₃²⁻, Se(IV)] 和硒酸根 [SeO₄²⁻, Se(VI)], 有机硒包括硒代蛋氨酸 (SeMet)、硒脲 (SeUr) 等, 有机硒和无机硒在一定条件下能相互转化^[6]。对硒的形态分析研究主要集中在食品领域和水中, 而对于环境样品中硒形态的分析研究较少^[7-11]。有研究表明, 大气中硒主要存在于 PM_{2.5} 中, 而报道多集中于硒总量研究, 有关 PM_{2.5}

中硒形态分析研究却鲜有报道。因此, 建立一种简单、准确检测 PM_{2.5} 中硒形态的分析方法, 对空气环境监测分析和生命健康具有一定意义。

今建立一种高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP/MS), 同时测定大气 PM_{2.5} 中

收稿日期: 2022-11-28; 修订日期: 2023-10-24

基金项目: 无锡市科协软课题基金资助项目 (KX-23-C134); 无锡市公共卫生中心课题基金资助项目 (LCZX2021006)

作者简介: 周闰 (1984—), 女, 江苏无锡人, 副主任医师, 本科, 从事环境卫生与检测工作。

* 通信作者: 龚燕 E-mail: 113203615@qq.com

硒酸根、亚硒酸根、硒脲、硒代蛋氨酸等 4 种不同硒形态,结果令人满意。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

1260/7900 型高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱仪, ZORBAX Rx-C8 型色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 美国安捷伦公司; PXSJ-216 型离子计, 上海雷磁公司; XS105DU 型电子天平, 瑞士梅特勒公司; Milli-Q 型超纯水仪, 美国密理博公司。

硒酸根、亚硒酸根、硒代蛋氨酸标准品, 以 Se 计分别为 (0.525 ± 0.017) μmol/g, (0.543 ± 0.011) μmol/g, (0.499 ± 0.013) μmol/g, 中国计量科学研究院; 硒脲 (纯度 99%), 阿法埃莎中国化学有限公司; 甲醇 (色谱纯), 上海安谱实验科技股份有限公司; 甲酸 (色谱纯), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 磷酸二氢铵、柠檬酸、氨水 (GR), 上海国药试剂集团。

标准储备溶液: 准确称取 0.634 2 g 硒代蛋氨酸、0.602 8 g 硒酸根和 0.582 8 g 亚硒酸根标准品溶液, 用超纯水溶解并定容至 5 mL, 分别得到 5 mg/L 的标准储备溶液; 准确称取 0.007 8 g 硒脲标准品, 用超纯水定容至 10 mL, 得到 500 mg/L 的标准溶液, 用超纯水稀释 100 倍, 得到 5.00 mg/L 的标准储备溶液, 于 0 °C ~ 5 °C 避光保存。各取 100 μL 的标准储备溶液, 用超纯水定容至 10 mL, 制得 50 μg/L 的混合标准溶液。

1.2 样品采集与前处理

在无锡市 PM_{2.5} 监测点用大气采样器收集石英空气滤膜样品, 共采集 PM_{2.5} 样品 7 份。用陶瓷剪刀取 1/4 的 PM_{2.5} 空气采样滤膜, 置于洁净的 15 mL 塑料离心管底部, 加入 5 mL 浸提液 (5 mmol/L 的柠檬酸) 并拧紧盖子, 混匀, 于水浴中 75 °C 下超声浸提 3 h (每 30 min 振荡混匀 1 次)。浸提结束后取出静置到室温, 经由 0.45 μm 微孔滤膜分离净化滤液, 待测。

1.3 测定条件

高效液相色谱条件: ZORBAX Rx-C8 型色谱柱保护柱流动相为体积分数 2% 的甲醇溶液 (用 5 mmol/L 柠檬酸调节 pH 值为 3.5), 流量为 1.0 mL/min; 进样体积为 100 μL。

ICP/MS 条件: 射频功率 1 550 W; 等离子体气

流量 15 L/min; 辅助气流量 1.0 L/min; 积分模式为峰面积积分; 监控元素为 ⁷⁸Se。

2 结果与讨论

2.1 监控元素 Se 质量数选择

硒在元素周期表中是第 34 号元素, 相对原子质量 78.96, 同位素众多, 质量数分布在 73 ~ 82 之间。分析过程中主要存在同质原子的干扰, 例如 ⁷⁴Ge、⁷⁸Kr、⁸⁰Kr、⁸²Kr、⁷⁹Br、⁸¹Br 等。通过同位素分析和干扰测定, 发现 ⁸⁰Se 和 ⁷⁸Se 同位素丰度都比较大, 分别为 49.00% 和 24.00%, 干扰元素 ⁸⁰Kr 和 ⁷⁸Kr 的丰度分别为 6.20% 和 0.56%, 质量数为 78 时干扰较小, 故选择 ⁷⁸Se 作为监控元素。该结果与季海冰等^[6]的研究结果一致。

2.2 色谱条件的优化

分别考察 Hamilton PRP-X100 型阴离子交换色谱柱和 ZORBAX Rx-C8 型反相色谱柱用于硒形态分析。结果表明, 采用 PRP-X100 阴离子交换色谱柱对硒的 4 种形态进行分析时, 硒代蛋氨酸和硒脲无法实现基线分离, 而采用 ZORBAX Rx-C8 反相色谱柱可在 5.5 min 内实现 4 种硒形态的快速分离。故选择 Agilent ZORBAX Rx-C8 反相色谱柱作为分离色谱柱。

文献报道硒形态分析常用的流动相有柠檬酸溶液^[11]和磷酸盐溶液^[12]等, 可以加入甲醇、乙酸铵、七氟丁酸或烷基磺酸钠等提高分离效果^[13-16]。选用 ZORBAX Rx-C8 反相色谱柱, 考察甲酸和柠檬酸分别作为流动相时对硒的 4 种形态的分离效果, 以及磷酸二氢盐对峰形的改善能力。参照姜伟等^[17]的研究结果, 选择在流动相中加入体积分数为 2% 的甲醇。结果表明, 采用体积分数为 2% 的甲醇-体积分数为 0.1% 的甲酸溶液作为流动相时, 只有硒代蛋氨酸能被有效检测, 其余 3 种形态的硒化合物无法分离, 且硒脲的色谱峰响应值过低。向该流动相中加入少量磷酸二氢铵, 虽然分离效果得到改善, 但仅分离检测出 3 个形态的硒化合物, 且硒酸根、亚硒酸根分离效果差, 硒脲响应值仍然很低。换用体积分数为 2% 的甲醇溶液-5 mmol/L 柠檬酸溶液作为流动相, 当 pH 值为 3.5 时, 4 种不同的硒形态能有效分离, 峰形良好且响应值高, 加入磷酸二氢铵后峰形未见明显改变。故确定流动相为体积分数为 2% 的甲醇溶液-5 mmol/L 的柠檬酸溶液。

各种硒形态在不同 pH 值条件下以阴阳离子

或两性离子形式存在^[9],故流动相 pH 值的改变会影响硒形态的分离效果。分别考察当用氨水调节流动相 pH 值为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 时,4 种硒形态的分离和保留情况。试验表明,当 pH 值为 3.0 时,4 种形态的硒化合物响应值较低,且硒酸根和亚硒酸根两者出峰时间接近,色谱峰有重叠,分离效果不理想;当 pH 值为 3.5 时,4 种形态的硒化合物能够达到基线分离且峰形良好;pH 值继续增大,4 种形态的硒虽能完全分离,但峰形变宽,且保留时间变长。故确定流动相的 pH 值为 3.5。

分别考察当流动相流量为 0.6 mL/min、0.8 mL/min、1.0 mL/min 和 1.2 mL/min 时,不同硒形态的分离效果。试验表明,当流量较低时,分离时间过长,亚硒酸根峰形出现明显的拖尾,且各形态硒的色谱峰有展宽,分离度较低;当流量为 1.0 mL/min 时,4 种硒形态的峰形良好,在 5.5 min 内即达到基线分离;当流量为 1.2 mL/min 时,出峰最早的硒酸根和亚硒酸根色谱峰稍有重叠,分离效果不佳。综合考虑分析时间、分离效果等,确定流动相流量为 1.0 mL/min。

2.3 样品前处理过程的优化

对样品中的硒元素进行形态分析,要求其中硒的形态不能被破坏和改变,且又需要将硒元素与其他杂质分离,转变为适于测定的样品形式,因而样品的预处理方法至关重要。目前硒形态常用的提取方法有微波萃取法^[18]、酶提取法^[19]、酸提取法^[20]等。参考 PM_{2.5} 中金属、类金属元素的提取方法^[21]及硒形态的提取方法,对硒形态的提取选用超声酸提取的方法。

试验分别考察了 5% 硝酸、5 mmol/L 柠檬酸两种提取溶剂对 10 μg/L 的加标样本硒形态的提取效果。研究发现,用硝酸对 4 种硒形态进行提取时,其形态和保留时间会发生改变,主要表现为硒代蛋氨酸、硒脲含量降低,与此同时亚硒酸根含量升高。用 5 mmol/L 柠檬酸溶液可有效提取 4 种不同形态的硒元素,其保留时间和形态都相对比较稳定,故选取 5 mmol/L 柠檬酸溶液作为提取溶剂。

2.4 方法效能验证

用超纯水逐级依次稀释混合标准溶液,得到 0 μg/L、1.25 μg/L、2.50 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、30.0 μg/L、40.0 μg/L、50.0 μg/L 的混合标准系列溶液。空白滤膜中加入混合标准溶液系列,经 5 mmol/L 柠檬酸提取后,

在 1.3 条件下测定,30.0 μg/L 的混合标准溶液总离子流见图 1。以硒形态的峰面积响应值为纵坐标,对应的质量浓度为横坐标绘制标准曲线,结果见表 1。对空白滤膜加标,使其提取后的混合溶液质量浓度为 1.0 μg/L,连续测定 7 次,按照公式 $MDL=t \times s$ 计算方法检出限,以 4 倍的检出限为定量下限,结果见表 1。由表 1 可知,硒酸根、亚硒酸根、硒脲、硒代蛋氨酸 4 种硒化合物在 0 μg/L ~ 50.0 μg/L 范围内线性良好,相关系数 r 均 > 0.999,方法检出限分别为 0.25 μg/L、0.58 μg/L、1.17 μg/L、0.25 μg/L。

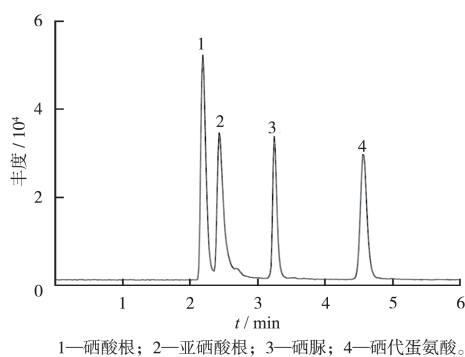


图 1 混合标准溶液总离子流

Fig. 1 Total ion current of mixed standard solution

表 1 标准曲线与方法检出限

Table 1 Standard curve and method detection limits

硒形态	回归方程	检出限 $\rho/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	定量下限 $\rho/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
硒酸根	$y = 5.16 \times 10^3 x - 0.230$	0.25	1.00
亚硒酸根	$y = 4.02 \times 10^3 x - 0.397$	0.58	2.32
硒脲	$y = 2.82 \times 10^3 x - 0.361$	1.17	4.68
硒代蛋氨酸	$y = 3.99 \times 10^3 x + 0.186$	0.25	1.00

在空白滤膜中加入 100 μg/L 的 4 种硒形态混合标准溶液,经前处理后做 3 个质量浓度水平的加标回收试验,平行试验 11 次,结果见表 2。由表 2 可知,4 种硒形态 11 次平行试验结果的 RSD 为 1.1% ~ 4.9%,硒酸根、亚硒酸根、硒脲的加标回收率为 79.8% ~ 103%,硒代蛋氨酸的加标回收率为 70.0% ~ 99.2%。低浓度时,硒代蛋氨酸加标回收率较低,可能原因是该硒形态的化学性质不稳定,随着时间的延长,硒代蛋氨酸会转化成其他硒形态。研究发现,其他硒形态的浓度也会随着存放时间的延长而变化,有机硒的变化较无机硒更显著,

这与相关文献报道的结论一致^[22]。

2.5 实际样品测定

利用建立的方法对 2020 年 1 月无锡地区采集的 PM_{2.5} 空气滤膜样品进行硒形态测定,结果表明所有样品中只检出硒酸根(0.98 μg/L ~ 21.99 μg/L)、亚硒酸根(0.71 μg/L ~ 2.06 μg/L)两种硒形态,未检出硒脲和硒代蛋氨酸,表明无锡地区大气 PM_{2.5} 中的硒以无机硒为主。

表 2 加标回收试验结果
Table 2 Test results of recovery

硒形态	加标量 ρ/ (μg · L ⁻¹)	测定均值 ρ/ (μg · L ⁻¹)	平均回收率/ %	RSD/ %
硒酸根	5.00	4.84	96.8	3.2
	10.0	9.95	99.5	2.2
	30.0	30.78	103	1.4
亚硒酸根	5.00	3.99	79.8	4.3
	10.0	8.70	87.0	3.6
	30.0	28.71	95.7	2.3
硒脲	5.00	4.79	95.8	2.6
	10.0	9.68	96.8	2.1
	30.0	28.83	96.1	1.1
硒代蛋氨酸	5.00	3.50	70.0	4.9
	10.0	8.05	80.5	3.3
	30.0	29.76	99.2	2.8

3 结语

建立了一种 HPLC-ICP/MS 高效分离测定 PM_{2.5} 样品中 4 种硒形态的方法,该方法样品前处理简单,分离效果好,精密度高、准确度高,可以为了解大气 PM_{2.5} 中硒污染状况及元素形态分布提供技术支撑。

[参考文献]

- [1] MICHA S, MARTA M K, EWA S. The role of selenium in thyroid gland pathophysiology[J]. Endokrynol Pol, 2017, 68(4): 440-465.
- [2] 泮剑英. 生物体中微量元素硒的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2019, 36(1): 71-73.
- [3] 何伟彪, 李少艾, 叶毓婧, 等. ICP-MS 碰撞池技术消除复杂水样中硒的基体干扰[J]. 环境监测管理与技术, 2014, 26(5): 40-42.
- [4] WEEKS B S, HANNA M S, COOPERSTEIN D. Dietary selenium and selenoprotein function[J]. Med Sci Monit, 2012, 18(8): 127-132.
- [5] DINH Q T, CUI Z W, HUANG I, et al. Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: A review[J]. Environ Int, 2018, 112: 294-309.
- [6] 季海冰, 方敏, 林洋, 等. 反相离子对色谱联合电感耦合等离子体质谱法测定环境水样中 5 种形态硒[J]. 分析仪器, 2019(2): 156-160.
- [7] 何彩梅, 吴桂容, 陈春岚, 等. 食品中硒与硒形态分析方法研究进展[J]. 食品工业, 2017(9): 218-222.
- [8] 章寒英, 杨洋, 吴骏, 等. 液相色谱-柱后衍生-原子荧光联用对食品中硒形态分析的研究[J]. 贵州科学, 2019, 37(3): 93-96.
- [9] 赵彤, 周慧敏, 江洁. 离子色谱-电感耦合等离子体质谱法测定香菇中 5 种硒形态[J]. 理化检验: 化学分册, 2020, 56(10): 1113-1117.
- [10] 邵鹏威, 路国慧, 郑宇, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱测定大米粉中的硒形态[J]. 环境化学, 2020, 39(5): 1434-1441.
- [11] 李艳苹, 王翠翠, 刘小骥. HPLC-ICP/MS 测定水体中硒形态的条件研究[J]. 盐科学与化工, 2018, 47(9): 33-36.
- [12] 陈绍占, 唐德剑, 李晓玉, 等. 谷类食品中硒形态超声酶提取-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定[J]. 中国公共卫生, 2020, 36(1): 130-136.
- [13] JIANG S J. Determination of selenium compounds in food supplements using reversed-phase liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Microchem J, 2013, 110(9): 1-7.
- [14] 曾凤泽, 姚宇泽. 微波辅助酶萃取-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定灵芝中 6 种硒形态[J]. 理化检验: 化学分册, 2020, 56(11): 1152-1157.
- [15] 张春林, 王东, 王岩, 等. HPLC-ICPMS 联用法测定富硒酵母粉中砷和硒的形态分析[J]. 食品科技, 2019, 44(6): 326-331.
- [16] SENTKOWSKA A, PYRZYNSKA K. Hydrophilic interaction liquid chromatography in the speciation analysis of selenium[J]. J Chromatogr B, 2018, 1074/1075: 8-15.
- [17] 姜伟, 张璐, 刘志斌, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定富硒大米中有机硒的形态[J]. 广东化工, 2020, 47(2): 166-167.
- [18] 秦冲, 施畅, 万秋月, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用检测土壤中的无机硒形态[J]. 岩矿测试, 2018, 37(6): 664-670.
- [19] GRIJALBA A C, FIORENTIN E F, WULLLOUD R G. Ionic liquid-assisted separation and determination of selenium species in food and beverage samples by liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2017, 1491: 117-125.
- [20] 姚真真, 哈雪姣, 马智宏, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法检测富硒苹果中 5 种硒形态[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(3): 475-480.
- [21] 洪月玲, 钱云霞, 齐斌. 电感耦合等离子体质谱法测定大气 PM_{2.5} 中的 12 种元素[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(2): 160-162.
- [22] 陆奕娜, 张林田, 魏建华, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时测定食品中 7 种硒形态[J]. 分析科学学报, 2021, 37(1): 69-74.