

分析与监测

HPLC 与 ICP-MS 联用测定海水中 5 种硒形态

王翠翠, 李艳苹, 刘小骐, 潘献辉

(国家海洋局 天津海水淡化与综合利用研究所, 天津 300192)

摘要: 研究并建立了高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用(HPLC-ICP-MS)测定海水中 5 种硒形态的分析方法。采用 Hamilton PRP-X100 分析柱,在流动相为 30 mmol/L 柠檬酸、pH 为 4.0 的条件下,8 min 内即可完全分离 5 种硒形态。在色谱进样量为 100 μ L,质谱采用 He 碰撞池模式下,对 SeCys₂、MeSeCys、SeUr、SeMet 和 SeO₄²⁻ 的检出限分别为 0.42、0.70、0.65、1.63 和 0.31 μ g/L,线性相关系数均大于 0.998。该方法简便、快速、灵敏度高,可用于海水中硒形态的测定。

关键词: 高效液相色谱; 电感耦合等离子体质谱; 海水; 硒形态分析

中图分类号: TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)22-0111-05

Determination of 5 Selenium Species in Seawater by Hyphenated Technique of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Inductivity Coupled Plasma Mass Spectrometry

WANG Cui-cui, LI Yan-ping, LIU Xiao-qi, PAN Xian-hui

(The Institute of Seawater Desalination and Multipurpose Utilization, SOA <Tianjin>, Tianjin 300192, China)

Abstract: A method for determination of 5 selenium species in seawater by hyphenated technique of high performance liquid chromatography and inductivity coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) was established. The separation of 5 selenium species was operated by the Hamilton PRP-X100 analysis column within 8 min with mobile phase of 30 mmol/L citrate and pH 4.0. When the injection volume was 100 μ L and He collision cell mode was used in mass spectrometry, the detection limit of SeCys₂, MeSeCys, SeUr, SeMet and SeO₄²⁻ were found to be 0.42, 0.70, 0.65, 1.63 and 0.31 μ g/L, respectively. Moreover, all of the linear correlation coefficients were more than 0.998. The method was simple, rapid and with remarkably high sensitivity, which could be developed for the determination of selenium species in seawater.

Key words: high performance liquid chromatography; inductively coupled plasma mass spectrometry; seawater; selenium speciation analysis

近年来,随着海水利用工程事业的迅猛发展,海水重金属的污染问题逐渐成为环境问题的难点和重

点。大量研究表明,元素的分布、生物有效性、毒性不能简单地取决于其总浓度含量,更重要的是取决于该元素的化学形态及其浓度^[1]。硒元素在自然界中按其结合形态可分为无机硒和有机硒,其中无机硒毒性很大,而有机硒对人体有益,生物利用率高^[2]。开展海水中硒元素的形态分析研究,能够可靠地评价硒元素对环境和人体健康的影响,同时也是对海水中硒元素污染状态的考察。

由于硒的不同化学形态中既含有硒元素,又具有有机物的性质,因此将有机物分离技术如毛细管电泳(CE)、气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)与某些特征元素的检测技术,如原子荧光光谱法(AFS)、电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-AES)和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)等相结合的联用技术是发展的趋势^[3]。

目前报道最多的是反相液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法^[4~6]。Zheng等^[4]采用含混合离子对试剂(2.5 mmol/L 丁烷磺酸钠-8 mmol/L 四甲基氢氧化铵)的流动相对尿液中的5种硒形态进行分离,由于该混合离子对试剂中存在阳离子和阴离子官能团,故能够实现对多种硒形态(如阳离子、阴离子以及电中性态)的分离。Kotrebai等^[6]使用全氟羧酸(三氟乙酸、七氟丁酸)作为离子对试剂,应用于硒形态的分离。

笔者建立了HPLC-ICP-MS联用技术对海水中5种硒形态 SeCys_2 、 MeSeCys 、 SeUr 、 SeMet 和 SeO_4^{2-} 进行高效分离测定。目前将HPLC-ICP-MS联用技术用于硒元素的形态分析研究大多集中于食品^[7,8]、植物^[9]、生物样品^[10]等领域,在环境水样,特别是海水样品中,尚未见硒元素的形态分析报道,因此本实验的开展填补了硒元素形态分析在海水领域中的空白。以柠檬酸为流动相,与目前普遍采用的反相色谱技术相比,同时对有机和无机硒的分离效果更好。ICP-MS采用了He碰撞池技术以降低质谱干扰,该方法简便、快速、灵敏度高,可满足测定要求。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

iCAP Qc型电感耦合等离子体质谱仪[美国赛默飞世尔科技(中国)有限公司],E2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司),Milli-Q型纯水仪[密理博(中国)有限公司],ST3100型pH计[奥豪

斯仪器(常州)有限公司],KQ3200B型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

硒酸根溶液标准物质:浓度为75.1 $\mu\text{g/g}$,编号为GBW10033(中国计量科学研究院);硒代胱氨酸溶液标准物质:浓度为93.5 $\mu\text{g/g}$,编号为GBW10087(中国计量科学研究院);硒代蛋氨酸溶液标准物质:浓度为97.9 $\mu\text{g/g}$,编号为GBW10034(中国计量科学研究院);甲基-硒代半胱氨酸溶液标准物质:浓度为96.6 $\mu\text{g/g}$,编号为GBW10088(中国计量科学研究院);硒脲:纯度为99.97%[阿法埃莎(中国)化学有限公司];柠檬酸:优级纯(天津市光复科技发展有限公司);硝酸、氨水:优级纯。

1.2 仪器工作条件

1.2.1 HPLC仪

色谱柱:Hamilton PRP-X100分析柱(250 mm \times 4.1 mm, 10 μm);流动相:30 mmol/L 柠檬酸,pH值4.0;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;流量:1.0 mL/min;进样体积:100 μL 。

1.2.2 ICP-MS仪

射频功率:1 550 W;采样深度:5.0 mm;冷却气流速:13.8 L/min;辅助气流速:0.78 L/min;雾化器流速:1.07 L/min;He碰撞气流速:4.37 L/min。

1.3 样品采集与处理

采样器皿为聚乙烯材质,使用前器皿均在硝酸溶液(1+3)中浸泡24 h以上,并用超纯水洗净。采集来自天津的近岸海水和斯里兰卡的内海湾海水样品,样品在分析前用0.45 μm 微孔纤维滤膜过滤,稀释至一定的盐度后直接进样分析,若不能即刻分析,则需密封冷藏。

2 结果与讨论

2.1 谱峰定性分析

本实验以 ^{78}Se 的积分面积作为定量依据,但在质量数78处存在某些多原子离子干扰,如 $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^{+}$ 和 $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^{+}$ 等。自然界中Se有6种同位素,其中 ^{78}Se 天然丰度为23.7%, ^{77}Se 为7.63%,丰度比值 $^{78}\text{Se}/^{77}\text{Se}$ 为3.1。

图1为5种硒形态的混合溶液在不同质荷比下的色谱图,保留时间135.2、179.5、295.1、352.2和458.4 s处 m/z 78与77的峰面积比分别为3.39、3.40、3.36、3.43和3.40,均接近 $^{78}\text{Se}/^{77}\text{Se}$ 的天然丰度比3.1,据此可以判断出这5个色谱峰均是Se,而非 $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^{+}$ 和 $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^{+}$ 之类的干扰离子,这就表明

多原子离子的干扰在质谱采用 He 碰撞池的模式下被基本消除。进一步根据各个硒单形态标准溶液的保留时间,判断出峰顺序依次为 SeCys_2 、 MeSeCys 、 SeUr 、 SeMet 和 SeO_4^{2-} 。

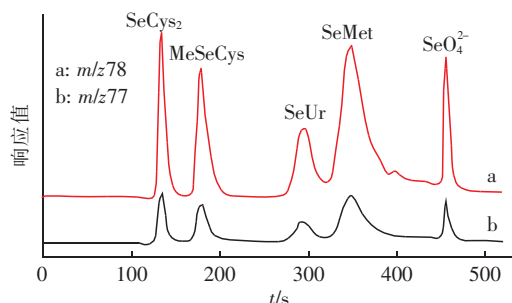


图1 5种硒形态混合溶液在不同质荷比下的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of 5 selenium species at different m/z

2.2 盐度的影响

为研究基体盐度对硒形态测定的影响,参照世界海水的平均盐度 3.5%,配制硒形态浓度相同,盐度分别为 1.75%、3.5% 和 4.0% 的混合溶液。结果表明,在不同的盐度条件下,不同形态的硒质谱检测的灵敏度有轻微差异, SeO_4^{2-} 的保留时间随盐度的升高而增大,而且当盐度升高至 3.5% 及以上时, SeO_4^{2-} 出现双峰。因此,综合考虑分离度、检测灵敏度以及工作效率,测定海水中的硒化合物时,将样品稀释降低盐度至 1.75% 左右即可。

2.3 流动相浓度的影响

实验中选用柠檬酸作为流动相,考察不同浓度流动相对 5 种硒形态保留时间的影响,结果如图 2 所示。

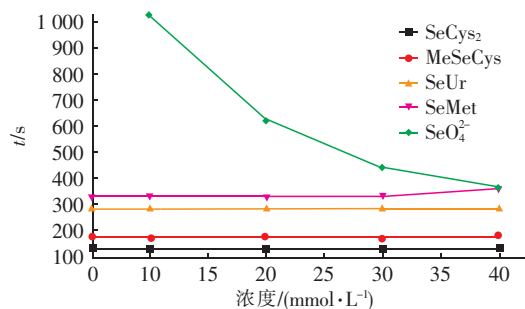


图2 流动相浓度对5种硒形态保留时间的影响

Fig. 2 Effect of concentration of citric acid on the retention time of 5 selenium species

从图 2 可以看出,随着柠檬酸溶液浓度的增大, SeO_4^{2-} 的保留时间急剧缩短,而对其他 4 种硒形态的影响则较小。综合考虑分离度和保留时间,选

择柠檬酸溶液的浓度为 30 mmol/L。

2.4 流动相酸度的影响

由于各种硒形态在不同的 pH 值条件下能够以阴离子、阳离子或两性离子存在,因此几种硒形态的出峰顺序、保留时间和分离效果会受到流动相酸度变化的影响^[8,11]。不同 pH 值的流动相对 5 种硒形态保留时间的影响如图 3 所示。

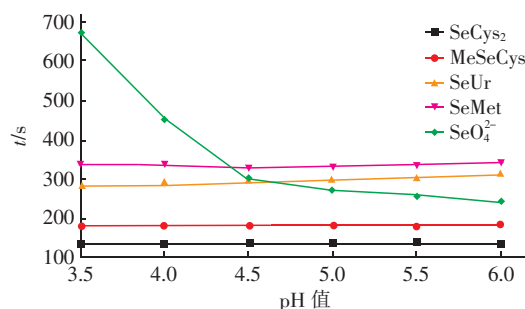


图3 流动相 pH 值对 5 种硒形态保留时间的影响

Fig. 3 Effect of pH of citric acid on the retention time of 5 selenium species

由图 3 可见, SeO_4^{2-} 的保留时间随着 pH 值的升高而急剧缩短, SeMet 和 SeUr 之间的分离度逐渐降低。综合考虑,实验选择 pH 值为 4.0 的柠檬酸溶液作为流动相。

2.5 流速的选择

实验中还研究了样品流速对硒形态保留时间的影响,结果见图 4。

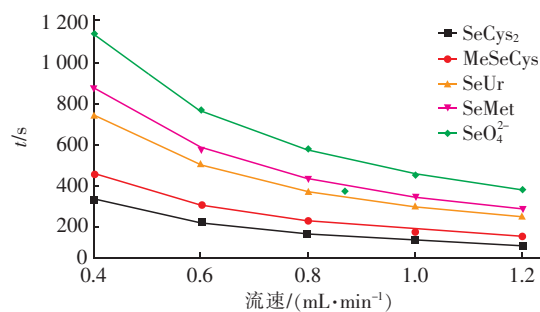


图4 流速对5种硒形态保留时间的影响

Fig. 4 Effect of flow rate of citric acid on the retention time of 5 selenium species

由图 4 可见,样品流速在 0.4 ~ 1.2 mL/min 范围内变化时, SeCys_2 、 MeSeCys 、 SeUr 、 SeMet 和 SeO_4^{2-} 的保留时间随流速的增加而缩短,其中 SeO_4^{2-} 的变化趋势尤为显著。为了缩短保留时间,样品流速越快越好,但考虑到流速过快有可能会损坏分离柱,影响其寿命。因此,综合考虑后选择样品流速为 1.0 mL/min。

2.6 标准曲线

以盐度为1.75%的水溶液逐级稀释硒形态标准溶液,配制混合标准溶液。其中 MeSeCys 和 SeCys₂ 浓度范围为 5~100 μg/L, SeO₄²⁻ 浓度范围为 1~40 μg/L, SeUr 浓度范围为 10~100 μg/L, SeMet 浓度范围为 20~300 μg/L。在优化的检测条件下,以各浓度色谱峰面积对应标准溶液浓度绘制工作曲线,得到回归方程。平行测定 11 次样品空白溶液,以 3 倍测定结果的标准偏差与空白溶液测定值的加和作为该方法的检出限。5 种硒形态的线性方程、相关系数和检出限见表 1。

表 1 5 种硒形态的线性方程、相关系数和检出限

Tab. 1 Standard curve, correlation coefficient and detection limit of 5 selenium species

硒形态	回归方程	相关系数	检出限/ (μg · L ⁻¹)
SeCys ₂	$Y = 434.6X - 711.1$	0.999 5	0.42
MeSeCys	$Y = 494.7X - 948.4$	0.999 4	0.70
SeUr	$Y = 465.5X - 1433.2$	0.998 5	0.65
SeMet	$Y = 362.6X - 3061.6$	0.998 7	1.63
SeO ₄ ²⁻	$Y = 852.1X - 518.6$	0.999 5	0.31

由表 1 可知,在最优化的条件下,5 种硒形态的线性相关系数均优于 0.998,在色谱进样量为 100 μL,质谱采用 He 碰撞池的模式下,对 SeCys₂、MeSeCys、SeUr、SeMet 和 SeO₄²⁻ 的检出限分别为 0.42、0.70、0.65、1.63 和 0.31 μg/L,与食品、植物以及生物样品^[8~10]中硒形态的分析研究结果相比,其检出限水平基本一致,满足痕量检测的要求。SeCys₂、MeSeCys、SeUr、SeMet 和 SeO₄²⁻ 的保留时间分别为 135.2、179.5、295.1、352.2 和 458.4 s,能够在 8 min 内完全分离,并且各峰面积的 RSD 值在 5.3%~5.9% 之间,重现性较好。

2.7 加标回收试验

在优化的色谱条件下,对来自天津和斯里兰卡的两份海水样品进行测定,并分别添加不同浓度的 5 种硒形态的混合标准溶液,其中来自天津的海水样品中 SeCys₂、MeSeCys、SeUr、SeMet 和 SeO₄²⁻ 浓度依次为 10.0、10.0、20.0、20.0 和 5.0 μg/L,而来自斯里兰卡的海水样品中该 5 种硒形态的浓度依次为 7.0、7.0、15.0、15.0 和 3.0 μg/L,进行加标回收率试验,其结果如表 2 所示。由表 2 可以看出,加标回收率在 94%~111% 之间,表明该方法的测定准确度较好。

表 2 海水样品中硒形态分析测定结果

Tab. 2 Results of selenium species analysis in seawater samples

硒形态	海水类型	本底值/ (μg · L ⁻¹)	加标测定值/ (μg · L ⁻¹)	加标回收率/%
SeCys ₂	天津	未检出	9.82	98
	斯里兰卡	未检出	7.70	110
MeSeCys	天津	未检出	10.8	108
	斯里兰卡	未检出	7.52	107
SeUr	天津	未检出	18.9	94
	斯里兰卡	未检出	14.4	96
SeMet	天津	未检出	21.8	109
	斯里兰卡	未检出	15.5	103
SeO ₄ ²⁻	天津	未检出	5.55	111
	斯里兰卡	未检出	3.24	108

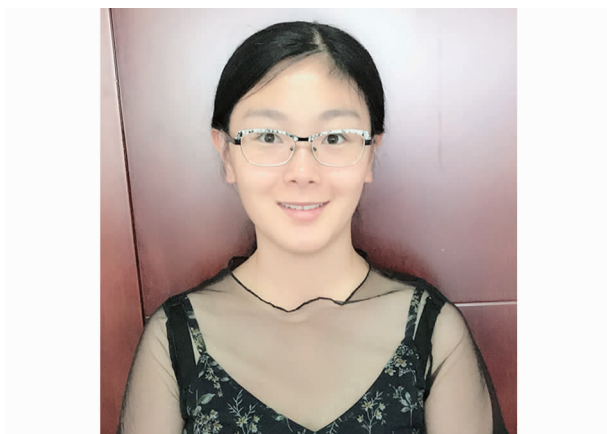
3 结语

建立了 HPLC-ICP-MS 联用技术测定海水中硒形态的方法,选用 Hamilton PRP-X100 分析柱,在以柠檬酸为流动相,质谱采用 He 碰撞池模式下,5 种硒形态能够在 8 min 内得到有效分离。该方法具有较好的测定精密度和准确度,并且不需要复杂的前处理,操作简单,为测定海水中硒化合物的重要方法。

参考文献:

- [1] Mazan S, Gilon N, Crétier J L, et al. Inorganic selenium speciation using HPLC-ICP-hexapole collision/reaction cell-MS [J]. J Anal At Spectrom, 2002, 17(4): 366-370.
- [2] 曲韵笙, 朱连勤, 孔涛. 微量元素硒的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(6): 68-69.
Qu Yunsheng, Zhu Lianqin, Kong Tao. The advanced research of trace selenium [J]. Studies of Trace Elements and Health, 2006, 23(6): 68-69 (in Chinese).
- [3] 邱建华, 王秋泉, 黄本立. 硒形态分析研究进展 [J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(9): 1692-1701.
Qiu Jianhua, Wang Qiuquan, Huang Benli. New approaches to selenium speciation [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, 26(9): 1692-1701 (in Chinese).
- [4] Zheng J, Shibata Y, Tanaka A. Study of the stability of selenium compounds in human urine and determination by mixed ion-pair reversed-phase chromatography with ICP-MS detection [J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 374(2): 348-353.
- [5] Gammelgaard B, Bendahl L, Sidenius U, et al. Selenium speciation in urine by ion-pairing chromatography with

- perfluorinated carboxylic acids and ICP-MS detection [J]. J Anal At Spectrom, 2002, 17(6): 570-575.
- [6] Kotreba M, Tyson J F, Block E, *et al.* High-performance liquid chromatography of selenium compounds utilizing perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents and inductively coupled plasma and electrospray ionization mass spectrometric detection [J]. J Chromatogr A, 2000, 866: 51-63.
- [7] 李晶, 孔维恒, 高峰, 等. HPLC-ICP-MS法分析测定富硒保健品中的硒形态[J]. 现代仪器, 2012, 18(3): 36-39.
- Li Jing, Kong Weiheng, Gao Feng, *et al.* Determination of selenium species in health care products by HPLC-ICP-MS [J]. Modern Instruments, 2012, 18(3): 36-39 (in Chinese).
- [8] 王欣, 幸苑娜, 陈泽勇, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法检测富硒食品中6种硒形态[J]. 分析化学, 2013, 41(11): 1669-1674.
- Wang Xin, Xing Yuanna, Chen Zeyong, *et al.* Determination of 6 selenium species in selenium-enriched food by hyphenated technique of high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(11): 1669-1674 (in Chinese).
- [9] 铁梅, 方禹之, 孙铁彪, 等. HPLC-ICP-MS联用技术在富硒金针菇硒的形态分析中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(4): 635-639.
- Tie Mei, Fang Yuzhi, Sun Tiebiao, *et al.* Application of HPLC-ICP-MS in speciation analysis of selenium in selenium-enriched flammulina velutipes [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2007, 28(4): 635-639 (in Chinese).
- [10] 喻宏伟, 陈春英, 高愈希, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法分析生物样品中硒的化学形态[J]. 分析化学, 2006, 34(6): 749-753.
- Yu Hongwei, Chen Chunying, Gao Yuxi, *et al.* Chemical speciation analysis of selenium in biological samples by a hyphenated technique of high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(6): 749-753 (in Chinese).
- [11] Zheng J, Ohata M, Furuta N, *et al.* Speciation of selenium compounds with ion-pair reversed-phase liquid chromatography using inductively coupled plasma mass spectrometry as element-specific detection [J]. J Chromatogr A, 2000, 874(1): 55-64.



作者简介:王翠翠(1989-),女,河北邯郸人,博士,工程师,从事水质检测,研究方向为海水及苦咸水分析。

E-mail: pig313716@126.com

收稿日期: 2018-06-20

全面推行河长湖长制, 维护河湖健康生命