

# ICP-MS直接进样对大米酶解液中痕量硒的测定

赵尔敏<sup>1</sup>, 方 勇<sup>1</sup>, 王明洋<sup>2</sup>, 李 彭<sup>1</sup>, 胡秋辉<sup>1</sup>, 邱伟芬<sup>1,\*</sup>

(1.南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室, 江苏 南京 210023; 2.南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

**摘 要:** 建立电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)直接进样测定大米酶解液中痕量硒的方法,并应用于体外模拟消化实验,得出硒的生物利用率。将样品酶解液离心过膜后ICP-MS直接进样测定硒含量,在0~160  $\mu\text{g/L}$ 范围内线性相关系数为0.999 5,方法检出限为0.009  $\mu\text{g/L}$ ,加标回收率在95.3%~102.8%之间,精密度为0.87%~4.48%。ICP-MS直接进样法操作简单环保,可作为大米等粮食酶解液中痕量硒的批量分析方法,并有望用于粮食类补硒食物的营养价值体外初评研究。

**关键词:** 直接进样; 电感耦合等离子体质谱; 硒; 体外模拟消化

## Determination of Trace Selenium in Enzymatic Hydrolysates of Rice by Direct Injection-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

ZHAO Ermin<sup>1</sup>, FANG Yong<sup>1</sup>, WANG Mingyang<sup>2</sup>, LI Peng<sup>1</sup>, HU Qiuhui<sup>1</sup>, QIU Weifen<sup>1,\*</sup>

(1. Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing of Jiangsu Province, Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China; 2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** A new method was developed for the determination of trace selenium (Se) in enzymatic hydrolysates of rice by direct injection-inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), and applied to evaluate the Se bioaccessibility during *in vitro* gastrointestinal digestion. After filtration and centrifugation, the prepared samples were determined by direct injection-ICP-MS. The proposed method showed a good linearity in the concentration range of 0–160  $\mu\text{g/L}$  with correlation coefficient above 0.999 5 and a limit of detection (LOD) of 0.009  $\mu\text{g/L}$ . The recoveries of spiked samples were between 95.3% and 102.8%, and the relative standard deviations (RSDs) were in the range of 0.87% to 4.48%. Furthermore, the direct injection-ICP-MS method was successfully applied to determine trace Se in *in vitro* gastrointestinal digestion products of cooked rice with short analysis time and environmental friendliness. In conclusion, this method can be used in nutritional evaluation *in vitro* of Se-enriched grain materials.

**Key words:** direct injection; inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS); selenium; *in vitro* gastrointestinal digestion

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201710028

中图分类号: S132

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 10-0168-05

引文格式:

赵尔敏, 方勇, 王明洋, 等. ICP-MS直接进样对大米酶解液中痕量硒的测定[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 168-172. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201710028. <http://www.spkx.net.cn>

ZHAO Ermin, FANG Yong, WANG Mingyang, et al. Determination of trace selenium in enzymatic hydrolysates of rice by direct injection-inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. Food Science, 2017, 38(10): 168-172. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201710028. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-01-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31101247); 江苏省高校自然科学研究重大项目(13KJA550001); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

作者简介: 赵尔敏(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物化学与营养。E-mail: erminzhao@hotmail.com

\*通信作者: 邱伟芬(1965—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: weifenqiu711@163.com

硒是世界卫生组织于1973年确认的人体14种必需的微量元素之一,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤<sup>[1-2]</sup>、提高机体免疫力<sup>[3-4]</sup>以及拮抗重金属毒性等功能<sup>[5]</sup>。硒摄入量过低或过高对人体均有副作用,成人长期摄入低于推荐量60  $\mu\text{g}/\text{d}$ 会提高患心肌炎、加速衰老的风险,严重可导致克山病、大骨节病<sup>[6]</sup>;摄入过量硒则会导致脱发、指甲变形等中毒症状<sup>[7]</sup>。我国有72%以上的地区属于低硒或缺硒地区<sup>[8]</sup>,这些地区天然食物中硒含量低,因此建立准确分析食物中痕量硒的检测方法对科学评价人群硒摄入量和指导补硒有重要意义。

检测硒含量有电化学法<sup>[9]</sup>、分子荧光光谱法<sup>[10]</sup>、紫外分光光度法<sup>[11]</sup>、原子荧光光谱法<sup>[12]</sup>,氢化物发生-原子吸收光谱法<sup>[13]</sup>、石墨炉原子吸收光谱法<sup>[14]</sup>,目前检测食品中硒含量主要是原子荧光法<sup>[15]</sup>。电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)法是以等离子体为离子源的质谱型元素分析方法,具有更高的灵敏度、更宽的线性范围等优点<sup>[16]</sup>。常用的硒检测样品前处理方法有干法消化、湿法消化和微波消解法。干法消化主要用于有机样品中硒含量测定,实验加热时间长、灰化装置昂贵且易造成硒的损失<sup>[17-18]</sup>。湿法消化适用于环境和矿物样品,存在污染大、消解时间长等缺点<sup>[19-20]</sup>。微波消解法是将固体样品和强酸加入密闭容器中利用微波加热消解样品,但后续赶酸操作会对环境造成污染,并且消解管等价格昂贵,不易推广。针对基质组成简单的食物样品,以及对食物硒进行营养初步评价实验过程中,待检样品常是液体,且含量在痕量级别( $\mu\text{g}/\text{L}$ ),建立针对含硒液体样品的检测方法可以缩短实验周期并减少对环境的污染。

本实验分别以酶解法和传统微波消解法分解大米样品,并评价2种样品处理方式的优劣性,以建立直接进样ICP-MS法分析液体粮食样品中硒含量的方法;并将此法应用于体外模拟消化液中硒含量的测定,考察稻米中硒的利用效果,为初步评价大米中硒的生物有效性和安全性提供技术支持和理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

富硒大米(武运粳23) 南京远望富硒有限公司;普通大米 市购;米粉由部分普通大米样品用高速万能粉碎机粉碎后过100目筛制得;硒标液(1 000  $\mu\text{g}/\text{L}$ ) 国家有色金属及电子材料分析中心;元素混合标准溶液(10  $\text{mg}/\text{L}$  Rh、Ag、Al、As、Be、Cd、Co、Cu、Zn、Ni、Pb、Mn)、质谱调谐液(10  $\text{mg}/\text{L}$ ) 美国Agilent公司;硝酸(优级纯) 德国Merck公司;盐酸、氧化氢(均为优级纯)、氯化钠、碳酸氢钠(均为分析纯)

国药集团化学试剂有限公司;环己烷(分析纯) 南京化学试剂有限公司; $\alpha$ -淀粉酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶 丹麦诺维信公司。

### 1.2 仪器与设备

7700x型ICP-MS仪 美国Agilent公司; Mars6高通量密闭微波消解仪 美国CEM公司; pHS-25型数显pH计 上海精密科学仪器有限公司; CS501-SP数显恒温振荡水浴锅 重庆四达试验仪器有限公司; Millipore-Q纯水仪(18  $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ ) 美国Millipore公司; KQ-500E型数控超声波清洗器 昆山超声仪器有限公司; Allegra系列冷冻离心机 美国Beckman Coulter有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品前处理

##### 1.3.1.1 直接进样法

称量0.500 0 g米粉于锥形瓶中,加入50 mL超纯水,调至酶的最适pH值,加入一定量的碱性蛋白酶,最适温度条件下振荡酶解一定时间。反应结束后,10 000 $\times$ g离心15 min,收集上清液,过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜后定容待测。每组样品同时做3次平行。

方法的准确度选用富硒大米的酶解液考察,酶解每小时取一个样,共取5次样,每个样品做3次平行。将所取样品分别通过直接进样法与微波消解法(将酶解液浓缩冻干、微波消解后换算得质量浓度)测定。

##### 1.3.1.2 大米中无机硒提取

准确称取大米粉1.000 0 g于50 mL离心管中,加入30 mL超纯水,超声提取15 min,然后40  $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡10 min,冷却至室温后,10 000 $\times$ g离心15 min,取上清液用环己烷反复萃取3次,分出水相后用5%硝酸溶液定容于20 mL容量瓶中。过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜后,待测。

有机硒含量利用差值法<sup>[21]</sup>计算,即总硒含量减去无机硒含量。

##### 1.3.1.3 体外模拟胃肠消化法

大米样品的熟制:取大米或米粉0.500 0 g于100 mL锥形瓶中,加入3 mL超纯水,封口膜封住杯口,将上述锥形瓶置于90  $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热30 min。

体外消化过程:参考美国药典配制模拟胃肠消化液<sup>[22]</sup>,并稍做改进。胃消化液:将0.2 g氯化钠加入60 mL超纯水,用6 mol/L盐酸调整pH值至1.5,称取0.30 g猪胃蛋白酶,加入上述混合溶液,加超纯水定容至100 mL。肠消化液:使用碳酸氢钠调节上述胃液pH值至7.0,每100 mL加入0.175 g  $\alpha$ -淀粉酶,0.5 g胰蛋白酶,充分溶解后,静置、保存备用。

取上述熟制大米样品加入50 mL胃消化液,将其置于37  $^{\circ}\text{C}$ 水浴中振荡提取2 h,10 000 $\times$ g离心10 min,取上清液1 mL得到胃消化液样品。将上述溶液涡旋振荡重新溶解,饱和碳酸氢钠调节pH值至7.0,按照每100 mL

胃液加入0.175 g  $\alpha$ -淀粉酶, 0.5 g胰蛋白酶配制模拟肠液, 充分搅拌使混合均匀, 37 ℃水浴继续振荡提取4 h, 10 000×g离心10 min。取上清液1 mL获得体外模拟胃肠消化液, 与上述胃消化液的上清液分别过0.22  $\mu$ m滤膜, 每组样品同时做3次平行。

#### 1.3.1.4 微波消解法

称量0.500 0 g米粉或其他酶解液冻干粉于聚四氟乙烯消解管中, 加入7 mL 75%硝酸溶液浸泡1 h, 再加入1 mL 30%过氧化氢溶液, 旋紧管盖后放进微波消解仪, 设置消解条件<sup>[23]</sup>。消解结束后赶酸至消解液剩余1~2 cm高度时, 冷却样品并转移至10 mL容量瓶, 用2%硝酸溶液定容待测, 每组样品同时做3次平行。

#### 1.3.2 硒标准溶液的配制

吸取一定量的硒标准溶液用2%硝酸溶液配制质量浓度为0、2、4、8、20、40、80、160  $\mu$ g/L的硒元素标准溶液系列。

#### 1.3.3 硒含量的测定

采用ICP-MS测定样品含硒量, 工作条件: 使用1  $\mu$ g/L质谱调谐液将ICP-MS调到最佳工作状态, 将试剂空白、硒标准溶液、样品进行测定。仪器的射频功率为1 550 W, 雾化室温度2 ℃, 等离子气体(Ar)流量15.0 L/min, 采用高氨模式, 采集模式为时间分辨分析, 积分时间0.5 s, 采集周期0.5 s, 采集时间30 s。

#### 1.3.4 硒的生物利用率计算

大米体外模拟消化液中硒的生物利用率按下式计算:

$$\text{生物利用率}/\% = \frac{C \times V}{C_s \times M} \times 100$$

式中:  $C$ 为消化液中硒质量浓度/ $\mu$ g/L;  $V$ 为反应溶液体积/L;  $C_s$ 为大米总硒含量/ $\mu$ g/g;  $M$ 为大米称样量/g。

#### 1.4 数据处理

通过独立的3次重复实验得出数据平均值, 采用SPSS 19.0软件进行方差分析和Duncan's多重比较进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱干扰的消除

ICP-MS法测定样品前, 本实验选用 $^7\text{Li}$ 、 $^{89}\text{Y}$ 和 $^{205}\text{Tl}$ 作为校正因子, 校正仪器使其分辨率在0.65~0.080 u之间, 氧化物(156/140)不大于2%, 双电荷(70/140)不大于3.0%, 消除双电荷离子、同位素、氧化物、氢化物、多原子等物质干扰检测结果, 最优化仪器条件。氩和氯离子是测定硒最主要的干扰元素, 本实验采用高氨模式, 并使用调谐液对仪器条件进行最优化, 用仪器内设的标准干扰校正方程消除氯和氩离子的干扰。

内标选择对检测结果的影响非常重要, 用于减弱基体效应<sup>[24]</sup>。有文献<sup>[25]</sup>选用Ge作为内标元素进行外部校正, 来检测硒含量。本实验中配制Ge、Cs、Rh内标溶液进行优化筛选, 通过对信号漂移和稳定性的考察优化, 选择在大米样品中不含有的 $^{103}\text{Rh}$ 元素作为内标。实验中采用 $^{78}\text{Se}$ 进行测定, 在优化实验中发现 $^{80}\text{Se}$ 的基底噪音较大,  $^{77}\text{Se}$ 的仪器响应值明显低于 $^{78}\text{Se}$ 。同时, 为提高硒的仪器响应值, 延长积分时间为0.99 s, 适当延长样品提升时间为50 s。

### 2.2 硒的标准曲线与相关系数结果

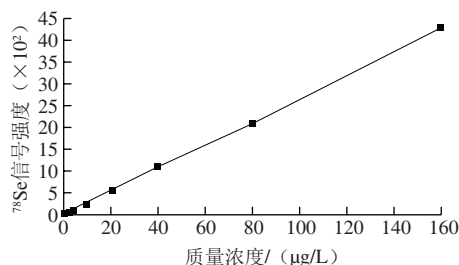


图1 硒质量浓度与信号强度的关系

Fig. 1 Linear relationship between Se concentration and signal intensity

依据样品中的硒含量范围配制的硒元素标准溶液, 如图1所示, 回归方程为 $Y=26.219x+6.6486$ , 相关系数0.999 5, 硒元素信号强度与硒质量浓度线性关系良好。

### 2.3 方法的检出限与准确度结果

本实验以空白溶液连续测定( $n=12$ )所得的标准偏差3倍为检出限, 得检出限为0.009  $\mu$ g/L。

表1 2种不同样品前处理方法所测得酶解上清液中硒质量浓度  
Table 1 Selenium concentrations of enzymatic hydrolysates of rice by different pre-treatment methods

前处理方法	酶解时间/h				
	1	2	3	4	5
直接进样法	4.260	8.201	9.071	9.926	11.320
微波消解法	4.411	8.336	8.604	9.601	10.795

以国家标准物质辽宁大米GBW10043 (GSB-21) 硒含量来评价建立方法的准确度。标准大米的含硒标准值为 $(0.040 \pm 0.013)$  mg/kg, 微波消解法实测值为 $(0.0403 \pm 0.0050)$  mg/kg, 符合标准物质标准值与不确定度的要求<sup>[26]</sup>。直接进样法适合液体样品的分析, 选用富硒大米的体外酶解液(酶解每小时取一个样)来考察其准确度, 同时与微波消解法(将酶解液浓缩冻干、微波消解后换算得质量浓度)的测定结果进行对比。如表1所示, 2种前处理方法所测结果相互吻合, 误差在参考值范围内, 表明直接进样法的准确度良好。直接进样ICP-MS法测定硒含量, 避免了赶酸、冻干等实验操作, 操作简单环保快速, 适用于液体样品快速准确的检测。



## 2.4 方法的加标回收率和精密度结果

表2 精密度与回收率 ( $n=9$ )Table 2 Recovery rates and precision ( $n=9$ )

酶解液	本底值/ ( $\mu\text{g/L}$ )	加标质量浓度/ ( $\mu\text{g/L}$ )	终质量浓度/ ( $\mu\text{g/L}$ )	回收 率/%	精密 度/%
标准大米	0.320	1	1.258	95.3	4.48
		2	2.255	97.2	3.57
普通大米	0.317	1	1.309	98.0	4.39
		2	2.321	101.3	2.74
富硒大米	9.490	2	11.424	96.7	1.57
		5	14.896	102.8	0.95
		10	19.393	99.5	0.87

如表2所示,根据食品分析质量控制要求,元素平均回收率在95%~105%之间,精密度(相对标准偏差)低于5%,则满足检测准确度要求。本实验采用国家标准物质辽宁大米GBW10043(GSB-21)、普通大米和富硒大米的酶解液作为样品,采用加标回收实验验证直接进样-ICP-MS法的精密度与准确度。由表2可知,样品加标回收率为95.3%~102.8%,相对标准偏差在0.87%~4.48%之间,说明直接进样法满足检测分析要求。

## 2.5 ICP-MS直接进样法的应用

## 2.5.1 无机硒含量测定

表3 大米样品中的硒含量

Table 3 Selenium contents of different rice products

样品	总硒含量/( $\text{mg/kg}$ )	无机硒含量/( $\mu\text{g/L}$ )	有机硒百分比/%
标准大米	0.040 3 $\pm$ 0.005 0	0.154	85.63
普通大米	0.036 4 $\pm$ 0.003 3	0.149	86.79
富硒大米	1.201 0 $\pm$ 0.007 6	4.370	85.61

如表3所示,本实验采用直接进样法测定无机硒,相比常规方法<sup>[23]</sup>省去了将无机硒提取液浓缩冻干、强酸消解和赶酸等步骤。大米中85%以上的硒形态主要由有机硒构成,普通大米与富硒大米在有机硒所占百分比上没有显著差别,可见大米是一种优良的补硒食物载体,可将土壤、肥料中的亚硒酸钠转化为低毒性且利于人体吸收的有机硒<sup>[27]</sup>。

## 2.5.2 体外模拟消化液中硒含量分析

表4 直接进样法分析大米体外模拟消化液中硒含量

Table 4 Se concentrations of enzymatic hydrolysates (*in vitro* digestion products) of rice by direct injection-ICP-MS

品种	体外模拟消化阶段	硒质量浓度/( $\mu\text{g/L}$ )
普通大米	胃酶解液	0.132 $\pm$ 0.050
	胃肠酶解液	0.309 $\pm$ 0.092
富硒大米	胃酶解液	3.612 $\pm$ 0.054
	胃肠酶解液	9.490 $\pm$ 0.073

应用直接进样ICP-MS法分析普通与富硒大米体外模拟胃消化和胃肠消化后酶解液中的痕量硒,如表4所示。富硒大米的体外模拟消化液中硒含量显著高于市售普通

大米。同种大米,胃消解液中硒含量显著低于胃肠体外模拟消解液。

生物利用率在食品营养范畴中指在正常生理功能条件下,食物经过口腔、胃肠道后生物体所能吸收利用营养素的比率<sup>[28]</sup>。研究人体胃肠道中硒的生物利用率是非常必要的,然而人体实验往往有显著的个体差异且成本较高<sup>[29]</sup>,而体外模拟消化技术可以提供初步营养评价信息。对于硒元素而言,体外模拟胃肠消化即可,因为食物在口腔咀嚼时间有限,且唾液中主要含淀粉酶,难以释放结合在蛋白质中的硒。本研究通过经典的体外二步胃肠模拟消化法,并采用直接进样ICP-MS法可直接测定体外模拟消化液中硒含量,在短时间对食物载体中硒的营养价值进行科学评价。

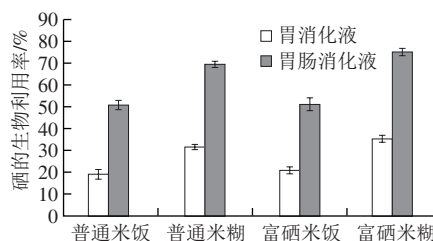


图2 不同大米样品中硒的生物利用率

Fig. 2 Bioaccessibility of selenium in different rice samples

通过表3、4数据计算可得大米硒的生物利用率,如图2所示。经胃肠消化后,硒的生物利用率比胃消化有显著性提高( $P<0.01$ )。因为胃消解阶段已经将部分大分子蛋白质水解<sup>[30]</sup>,露出更多的可供胰蛋白酶水解的肽键。其次,硒主要存在于大米储藏蛋白中<sup>[31]</sup>,此种蛋白易溶于偏碱性的环境中,而胃蛋白酶的最佳pH值为1.5。最后,因为肠消化时会有 $\alpha$ -淀粉酶同时将大分子淀粉颗粒降解,对释放束缚在大分子淀粉<sup>[32]</sup>和蛋白中的硒有促进作用。

综上,由于硒是一种多价态低温易挥发元素<sup>[33]</sup>,检测硒含量的样品前处理方法需慎重选择,既要样品中的结合硒消解成含硒酸根或游离硒代氨基酸,如硒(IV)、硒(VI)、硒代甲硫氨酸、硒代半胱氨酸,又要避免前处理过程中的硒损失。本实验中固体样品前处理选用微波消解法,但微波消解法不能处理水分含量过高的样品,需对样品进行浓缩或冻干。对于基质组成简单的食物样品,比如功能饮料及实验过程中的液体样品检测,采用直接进样ICP-MS法可准确地检测液体食品中硒含量,操作简单、不使用强酸,环保高效。

## 3 结论

建立ICP-MS直接进样法对大米酶解液中痕量硒的检测方法,在0~160  $\mu\text{g/L}$ 范围内线性相关系数为

0.999 5, 方法检出限为0.009  $\mu\text{g/L}$ , 样品加标回收率在95.3%~102.8%之间, 精密密度为0.87%~4.48%。应用于体外模拟消化实验数据表明, 硒的生物利用率经胃肠消化处理后明显高于胃消化 ( $P<0.01$ ), 最高可达75.03%。富硒大米中有机硒含量高达85.61%, 说明富硒大米是补充硒营养不足有效安全的硒补剂。本研究建立了食物样品不经过微波消解直接酶解离心过膜后进样, 检测速度快, 操作简单环保安全, 大大减少硒在检测过程中的损失和微波消解、赶酸等操作对环境的污染。ICP-MS直接进样法可作为粮食类液体样品痕量硒的批量分析检测方法和补硒食物的初步营养评价研究。

#### 参考文献:

- [1] HOFFMANN F W, HASHIMOTO A C, SHAFER L A, et al. Dietary selenium modulates activation and differentiation of CD4<sup>+</sup> T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols[J]. The Journal of Nutrition, 2010, 140(6): 1155-1161. DOI:10.3945/jn.109.120725.
- [2] 刘玲, 卓滋泽, 马文军. 硒与肿瘤的关系研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2013, 30(9): 844-848. DOI:10.3969/j.issn.1009-4822.2003.03.013.
- [3] PIECZYŃSKA J, GRAJETA H. The role of selenium in human conception and pregnancy[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology Organ of the Society for Minerals and Trace Elements, 2015, 29: 31-38. DOI:10.1016/j.jtemb.2014.07.003.
- [4] FERGUSON L R, KARUNASINGHE N, ZHU S, et al. Selenium and its' role in the maintenance of genomic stability[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2012, 733(1/2): 100-110. DOI:10.1016/j.mrfmmm.2011.12.011.
- [5] FANG Y, XU Z, SHI Y, et al. Protection mechanism of Se-containing protein hydrolysates from Se-enriched rice on Pb<sup>2+</sup>-induced apoptosis in PC12 and RAW264.7 cells[J]. Food Chemistry, 2017, 219: 391-398. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.131.
- [6] 王权, 李秀霞, 李伦, 等. 硒与大骨节病相关性的Meta分析[J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(12): 1421-1430. DOI:10.7507/1672-2531.20130245.
- [7] 杨月欣. 公共营养师: 国家职业资格三级[M]. 北京: 中国劳动社会保障出版社, 2009: 106-107.
- [8] 张东威. 中国土壤中硒及其土壤环境质量标准研究: 简报[J]. 水土保持研究, 1994, 1(5): 112.
- [9] 孙莉, 李方实. 催化极谱法测定生物样品中的微量硒[J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2006, 28(3): 82-85. DOI:10.3969/j.issn.1671-7627.2006.03.019.
- [10] 马安德, 董卫军, 沈梅, 等. 生物样品中Se的荧光测定方法[J]. 广东微量元素科学, 2005, 12(11): 49-54. DOI:10.3969/j.issn.1006-446X.2005.11.012.
- [11] 李丽清, 韩俊杰, 苏辉. 紫外分光光度法测定大米中微量元素硒的含量[J]. 环境科学与管理, 2012, 37(1): 147-149. DOI:10.3969/j.issn.1673-1212.2012.01.036.
- [12] 段敏, 王波. HG-AFS法测定甲鱼肉中硒[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(8): 1358-1360. DOI:10.3321/j.issn:1000-0593.2005.08.052.
- [13] 邓世林, 李新凤, 郭小林. 流动注射氢化物发生原子吸收光谱法测定禽蛋中的硒[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(3): 809-811. DOI:10.3964/j.issn.1000-0593(2010)03-0809-03.
- [14] 杨潇, 芮光伟, 许海东. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法检测大米中硒元素的含量[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(1): 138-141. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2010.01.021.
- [15] 北京市卫生防疫. 食品中硒的测定: GB/T 5009.93—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [16] LOPEZ H I, PALOMO M, MADRID Y. Selenoproteins: the key factor in selenium essentiality. State of the art analytical techniques for selenoprotein studies[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 400(6): 1717-1727. DOI:10.1007/s00216-011-4916-4.
- [17] 薛华. 分析化学[M]. 2版. 北京: 清华大学出版社, 1994: 359-360.
- [18] 孙长霞, 张美婷, 刘海学. 预处理方法对测定芥菜中金属元素含量的影响[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(8): 62-64. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2011.08.019.
- [19] 李月娟, 吴霞明, 刘静, 等. 微波/湿法/干法消解: 分光光度法测定馒头中的铝含量[J]. 中国酿造, 2013, 32(1): 148-151. DOI:10.3969/j.issn.0254-5071.2013.01.040.
- [20] 陈晓霞, 赵叶. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定血清中硒含量研究[J]. 中国测试, 2016, 42(7): 43-46. DOI:10.11857/j.issn.1674-5124.2016.07.009.
- [21] SUN M, LIU G, WU Q. Speciation of organic and inorganic selenium in selenium-enriched rice by graphite furnace atomic absorption spectrometry after cloud point extraction[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 66-71. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.03.002.
- [22] WURSTER D E, BURKE G M, BERG M J, et al. Phenobarbital adsorption from simulated intestinal fluid, U.S.P. and simulated gastric fluid, U.S.P. by two activated charcoals[J]. Pharmaceutical Research, 1988, 5(3): 183-186. DOI:10.1023/A:1015969008019.
- [23] 王明洋, 方勇, 裴斐, 等. 硒对杏鲍菇营养品质和抗氧化酶活性的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 208-213. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201611036.
- [24] 侯冬岩, 回瑞华, 李红, 等. 茶叶中锆、硒的电感耦合等离子体质谱法分析[J]. 质谱学报, 2008, 29(6): 353-355.
- [25] 墨淑敏. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定大米中痕量硒和锶[J]. 分析试验室, 2013(10): 84-86. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2013.0274.
- [26] 鄢明才, 史长义, 顾铁新, 等. 生物成分系列标准物质的研制[J]. 岩矿测试, 2006, 25(2): 159-172. DOI:10.15898/j.cnki.11-2131/tl.2006.02.016.
- [27] DUMONT E, VANHAECKE F, CORNELIS R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 385(7): 1304-1323. DOI:10.1007/s00216-006-0529-8.
- [28] DAVIDE T, ELENA V, DAVIDE B, et al. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols[J]. Food Chemistry, 2010, 120: 599-606. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.10.030.
- [29] ANTONIO C, ANTONIO G, FRANCISCO T, et al. Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells[J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 813-820. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.10.019.
- [30] 王旋, 赵磊, 王成涛. 马鹿茸水溶性蛋白的提取与体外模拟消化研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 81-86. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.12.008.
- [31] FANG Y, CATRON B, ZHANG Y, et al. Distribution and *in vitro* availability of selenium in selenium-containing storage protein from selenium-enriched rice utilizing optimized extraction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(17): 9731-9738. DOI:10.1021/jf100934p.
- [32] ZHU Y G, PILON-SMITS E A H, ZHAO F J, et al. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(8): 436-442. DOI:10.1016/j.tplants.2009.06.006.
- [33] HABASHI F. Handbook of extractive metallurgy[M]. Weinheim: Federal Republic of Germany, 1997: 1557-1570.