

硒形态分析研究进展

邱建华, 王秋泉*, 黄本立

厦门大学化学系, 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005

摘要 综述了近年来在硒形态分析的研究领域所取得的进展。主要包括分离检测方法, 接口技术, 以及硒形态的结构分析的最新发展状况, 并且介绍了硒形态分析中各种样品的前处理方法。

关键词 硒; 形态分析; 综述

中图分类号: O65

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2006)09-1692-10

引言

从1817年Berlius发现硒以来, 硒对生物体的重要性很长一段时期未被人们认识。在20世纪30年代初期, 人们发现动物的“碱毒病”(Alkali disease)和“蹒跚病”(Blind stagger)是由于动物食入了含硒量过高的植物而引发的硒中毒症, 于是硒在很长一段时间内被认为是有毒元素。1957年, Schwarz等^[1]发现硒是防止大鼠食饵性肝坏死的一种保护因子, 硒对生命体有益的方面才开始被认识。Rotruck等^[2]证明硒是谷胱甘肽过氧化物酶活性中心的必需元素后, 硒作为营养元素的特征进一步得到认证; 随着对硒的研究的不断深入, 人们不但加深了对其致毒机理的理解, 而且对其营养机制的了解已有了进一步的深入。现已证明, 硒是人体必需的微量元素^[3], 它是红细胞谷胱甘肽过氧化物酶的组成成分, 主要作用是参与了酶的合成, 保护细胞膜的结构和功能免受过度氧化损伤^[4]; 而且硒和维生素E相互作用可以起到抗癌的作用等^[5]。Karam等^[6]新近合成了一种低毒有机硒化合物, 经过动物实验证明, 此化合物可以抑制甚至杀死乳腺癌、结肠癌和肺癌中的癌细胞, 还能够抑制烟叶中亚硝酸胺对人体的毒害, 有望减少吸烟人群中癌症的发生。虽然硒是人体必不可少的营养元素, 但是人体内过量的硒则会导致疾病。Whanger^[7]讨论了硒在人体内的代谢途径, 并建议最高日摄入量为400 mg, 最低日摄入量为40 mg, 当日摄入量低于11 mg时将会导致硒缺乏症。硒存在的化学形态不同导致其迁移和转化机制以及在生物体内的代谢途径不同。通过对老鼠的实验表明, 亚硒酸通过扩散直接吸收, 硒酸通过载体运输吸收, 硒代胱氨酸的代谢机理与胱氨酸相同^[8]; 治疗硒缺乏病症时注射亚硒酸的吸收效率高, 注射硒酸则更安

全^[9]。硒是一个典型的双功能元素, 其生物功能不仅取决于其量的多少, 而且与其存在形态密切相关。在评价硒的毒性和生物可利用性时, 其存在形态信息的获得至关重要。关于硒形态分析方面的研究, 国内外已经有多篇综述性的文章^[10-15]。近些年来随着这一领域研究的进一步开展, 硒形态分析方法研究不断深入, 在线联用技术已经成为硒形态分析中常用的技术, 各种新技术和新方法层出不穷。本文对近些年应用于硒形态分析的联用技术, 包括分离、检测和接口技术, 样品的储存和处理方法进行了综述。

1 分离技术

1.1 高效液相色谱(HPLC)

作为高效的分离技术, HPLC在硒形态分析中得到广泛的应用, 是迄今为止硒形态分析中使用最多的分离方法。由表1中各种硒形态的pKa值可知, 在相同的pH条件下, 各种硒形态所带的电荷不同, 导致各种硒形态在色谱的固定相和流动相间的分配也各不相同。因此, 可以应用于分离各种硒形态。常用的分离模式有离子交换色谱法(IEC)和离子对色谱法(IPC)。Sanz-Medel等^[16]提出胶团介质(Vesicles)离子对色谱法, 在流动相中加入含有2个疏水基团的表面活性剂对十二烷基溴化铵(DDAB)。这种离子对试剂在超声作用下, 重排成的胶团状聚集体, 与一般的胶束介质相比, 这种聚集体能与流动相中的待分离组分有更多的相互作用(疏水、电荷和空间位阻), 能区分更多的形态, 而且后续检测的灵敏度有所提高^[17]。Zheng等^[18]使用含混合离子对试剂(2.5 mmol·L⁻¹丁基磺酸盐-8 mmol·L⁻¹四丁基氢氧化铵-4 mmol·L⁻¹的丙二酸-0.05%甲醇)的流动相对硒形态进行分离, 此混合离子对试剂中既有阳离子官能团又有阴离子官能

收稿日期: 2005-08-18, 修订日期: 2005-11-28

基金项目: 国家自然科学基金(20535020, 20475046, 21075019)资助项目

作者简介: 邱建华, 女, 1978年生, 厦门大学化学系硕士研究生 *通讯联系人

团,可同时分离阳离子、阴离子和电中性的多种硒形态。Gammelgaard 等^[19,20]用全氟羧酸(三氟乙酸、七氟丁酸和九氟戊酸)作为离子对试剂,应用于硒形态的分离,后者在 30 min 内能分离出 23 种硒形态。Ghaleb 等^[21]研究了儿几种有机硒在多孔石墨碳固定相上的保留和分离行为,与常用的反相

色谱的固定相比较,多孔石墨碳疏水性更强,机械强度更大。Reyes 等^[22]利用亲合色谱能够分离含硒蛋白,硒蛋白 P 保留在肝磷脂-琼脂糖凝胶柱上,白蛋白保留在蓝琼脂糖柱上,而谷胱甘肽过氧化物酶则不保留,将三个主要的含硒组分,硒蛋白 P、白蛋白和谷胱甘肽过氧化物酶分离。

Table 1 The pKa values of Se species

硒形态	Pka ₁	Pka ₂	Pka ₃	Pka ₄
亚硒酸	(H ₂ SeO ₃)		1.7	
硒酸(H ₂ SeO ₄)	2.4	67.31		
硒代蛋氨酸(SeMet)	2.19	9.05		
硒代乙硫氨酸(SeEt)		与硒代蛋氨酸相近		
硒代胱氨酸(SeCys ₂)	1.68	2.15	8.07	8.94
三甲基硒阳离子(TMSe ⁺)		带正电荷		
硒代胱氨酸(SeCM) 硒尿(SeUr)		低 pH 时带两个正电荷,高 pH 时呈中性		

在硒的形态分析中,尺寸排阻色谱(size exclusion chromatography, SEC)主要用于分离含硒蛋白,实现对复杂生物样品的分离和纯化^[23]。McSheehy 等^[24]用 G-75 Sephadex 凝胶 SEC 分离大蒜中水溶性的含硒形态,发现大蒜中所含的硒组分几乎全部在低分子量片段内,与蛋白结合部分含量很少。Shaha 等^[25]用 Superdex Peptide HR 柱以 3-环己氨基-1-丙磺酸(3-cyclohexylamino-1-propanesulfonic acid, CAPS)缓冲溶液作流动相分离绿洋葱中的含硒组分,检测结果表明硒不仅出现在低分子量部分,也出现在高分子量区域。Daun^[26]用 Superdex 200 10/30 柱,分离 7 种动物肉中可溶性的含硒化合物,分离出分子量约为 200 kDa, 65~90 kDa, 5 Da 和 2 Da 的 4 个含硒组分;Casiot 等^[27]用凝胶色谱柱(聚丙烯酰胺)将酵母中的硒分为高分子量(>100 kDa, 占 30%),低分子量(>10 kDa, 占 22%)和小分子(<10 kDa, 占 6%)三个部分。

1.2 毛细管电泳(CE)

毛细管电泳是形态分析中极具潜力的分离技术,在硒形态分析中的应用发展迅速。Pyrzynska^[28]对 CE 在硒形态分析中的应用作了综述。CE 分离是通过待分析组分在载流中电泳淌度的差别而实现的,毛细管中待分离组分的表观淌度是其固有电泳淌度和电渗流淌度(EOF)的矢量和。应用正电荷模式时,电泳淌度方向指向阳极,EOF 的方向指向阴极,如果 EOF 大于电泳淌度,缓冲液中的阴离子(如硒酸根离子,SeO₄²⁻;亚硒酸离子,SeO₃²⁻)就会向阴极移动,2 种带负电荷的无机硒形态得到分离。但是在此条件下,Se 的出峰时间长且会产生宽的不对称峰,而 Se 则几乎检测不到^[29]。所以,在应用 CE 分离硒形态时常需要应用负电荷模式,并且减小 EOF,或者用阳离子表面活性剂修饰毛细管壁,使其表面带正电荷,从而使电渗流的方向发生改变。常用的阳离子表面活性剂主要是三甲基盐,如十六烷基三甲基溴化铵(CTAB),十四烷基三甲基溴化铵(TTAB),十四烷基三甲基氢氧化铵(TTAOH),十六烷基三乙基磷酸铵(HDTA)及十六烷基三乙基溴化铵(HDTAB)。Bendahl 等^[30]向背景电解液中加入十六烷基三甲基氢氧化铵(CTAOH)使电渗流

(EOF)的方向发生改变,将缓冲液的 pH 值调节为 9.25,在 5.4 min 内分离了 Na₂SeO₄, Na₂SeO₃, SeCys₂ 和 SeMet,无机硒电泳峰宽度小于 3 s,理论塔板数为 60 000。Matthew 等^[31]应用流体动力学方法修饰电渗流(HMEOF),常规的进样,毛细管分离 Se 和 Se,测定了饮用水中的无机硒形态。Michalke^[32]分别将毛细管区带电泳(CZE)和毛细管等电聚焦电泳(CIEF)和 ICP-MS 联用进行硒形态分析。CZE 在碱性背景(Na₂CO₃ 和 NaOH)条件下分离出 6 种硒形态,CIEF 在 pH 为 2~10 范围分离有机硒形态,应用于富集 10 倍后的人奶和血浆中硒形态的分析。Bendahl 等^[33]在反向电压模式下,加入 Hexadimetre 使电渗流发生反向,分离实际尿样中的三个含硒形态。Bendahl^[34]用聚乙烯磺酸脂动力学修饰的毛细管区带电泳分离,ICP-MS 检测以硒酵母为基质的补硒药品中硒形态,毛细管分离的理论塔板数达 620 000。

1.3 气相色谱(GC)

气相色谱具有分辨率高、分析速度快、仪器设备消耗低等优点,应用于硒形态分析中^[35]。它能够直接分离挥发性的化合物,如二甲基硒、二甲基二硒等^[36]。Dietz 等^[37]用多通道毛细管气相色谱(MC-GC)分离, MIP-AES 和 ICP-MS 检测,应用于硒富集的生物样品,如酵母,印度芥末和大蒜中可挥发性硒形态(二甲基硒,二乙基硒和二甲基二硒)的检测。然而,硒在自然界中存在形态多是难挥发性的含硒化合物(如硒代氨基酸),应用 GC 分离时,需要对分析物进行衍生化。硒代氨基酸的衍生化一般有两步,分别是羧酸的酯化和氨基的酰化,将其转化为可挥发性的物质。常用的衍生试剂有 N-三氟乙酸(TFA)-O-异丙基酯^[38], 氯甲酸乙酯(ECF)^[39], 氯甲酸甲酯(MCF), 氨基氯甲酸(MenCF)等, Troyer 等^[40]比较常用的三种氯甲酸衍生试剂(ECF, MCF, MenCF)对三种硒代氨基酸的衍生,结果表明 MCF 的衍生产率高、重现性好且受检测条件的影响小,能够满足对含硒形态定量测定的需要。

1.4 多维分离技术

多维分离技术是依照样品中各组分的特点,采用多种模

式的 HPLC 和 CE 分离相结合, 通过不同分离模式联用来实现复杂样品的高效分离。硒形态分析中应用的多维分离有阴离子交换色谱(AEC)和反相色谱(RPC)联用^[41]以及 RPC^[42]和 IPC^[43]联用; 在分离实际样品中经常用到的多维分离的方法是 SEC 和 IEC 的联用。由于 IEC 具有分析速度快、分离效率高、流动相组分与检测器相匹配的特点, 通常被选为多维色谱分离中最后一维的分离模式, 而 SEC 可以作为样品的预分离模式, 除去样品中大量的基体干扰。Chatterjee 等^[23]用 SEC-RPC 联用的二维色谱分离大蒜中含硒形态; Mcsheehy 等^[24]用 SEC-RP-IPC 联用分离富硒绿洋葱中硒形态。Mc-sheehy 等^[44]分别使用二维的 SEC-RP-HPLC^[45]和三维 SEC-AIC-阳离子交换色谱(CIC)分离富硒酵母提取物, 此方法可以分离出超过 30 种不同的含硒化合物。Mounicou 等^[46]用 SEC-离子交换快速蛋白液相色谱(FP-IEC)分离出野生富硒

芸苔中的几种含硒蛋白。Mounicou 等^[47]利用 SEC-CZE 联用二维分离方法, 用于富硒酵母液态提取物中的硒形态, 实验结果表明富硒酵母提取物中存在多种硒形态。

值得注意的是, 硒在生物体内多以硒代氨基酸为单元结构形式存在, 对各种硒代氨基酸的手性分离研究也有开展。Sanz-Medel 等^[48]比较了几种利用 GC 和 HPLC 分离手性硒代氨基酸的方法。GC^[38]分离用 L-缬氨酸-3-丁基氨修饰的聚二甲基硅橡胶基手性固定相(Chirasil-L-Val), 分离经过衍生的 SeMet 对映异构体; 液相色谱法用商品手性色谱柱(Crownpak(+))^[49]分离 9 种手性硒代氨基酸, 色谱手性分离能够提供更多的对映结构体信息。Mendez 等^[50]以糖肽抗生素基(Teicoplanin)-手性固定相(Chirobiotic T), 利用 HPLC 直接分离了非衍生的手性硒代氨基酸。

Table 2 The interface used in the hyphenated technique

接口技术	分离	检测	结论	文献
DIN	CE	ICP-MS		[30]
微波消解氢化物发生(MW-HG)	离子交换色谱	AAS		[52][53][54][55]
紫外可见光照射氢化物发生(UV-HG)	阴离子交换色谱	石英炉 AAS	—	[56][57]
HHPN	反相色谱	ICP-MS	与 Meinhard 雾化比较, HHCN 存在明显的优势	[58]
MCN 和 DIN	反相色谱和离子对色谱	ICP-MS	DIN 的灵敏度比 MCN 的灵敏度要高, 但是 DIN 很容易被样品中的盐晶体阻塞	[59]
HG 和三种雾化技术(空气、超声波和水力高压)	离子对色谱	AFS	和雾化技术比较 HG 能消除干扰, 进样效率高	[60]
气动雾化(Barbington 型)和 USN	混合离子对色谱	ICP-MS	USN 对各种硒形态信号的增强值不同, 与 ICP-MS 联用, 受流动相中钠盐的干扰较大	[61]
交叉雾化(CFN)和 USN	阴离子交换色谱	ICP-MS	USN 的灵敏度提高了十倍, 但是检测限并没有比 CFN 的检测限降低很多	[62]
HHPN 和气动雾化(Meinhard 型)	反相色谱和离子对色谱	AFS/ICP-MS	HHPN 比 Meinhard 的灵敏度高 7~11 倍	[63][64][65]
HCl 和 KBr 在线光化学(254 nm)消解氢化物发生 UV-HG	离子对色谱	AFS	—	[66]
Meinhard, HHPN 和 MCN	反相和离子对色谱	六级杆反应池 ICP-MS	HHPN 的相对检测限最低, 而 MCN 的绝对检测限最低	[67]
基于纳米 TiO ₂ 光催化的 UV/TiO ₂ 光催化接口(PCD)氢化物发生装置	离子交换色谱	AFS	采用紫外可见灯照射让纳米 TiO ₂ 产生光生电子, 在线还原六价硒	[68]

2 接口技术

目前在硒形态分析化学的研究中, 高效的动态分离技术与高灵敏的检测技术联合使用占据了主要地位。合适的接口技术将动态的分离和在线的检测高效链接起来, 接口传输性能的优劣将直接影响形态分析的结果, 这是研究者关注的一个焦点。如表 2 列出了目前硒形态分析中研究较多的几种接口技术。其中由于 HPLC 的淋洗液流速与原子光谱检测器的进样速度相匹配, 色谱流出液可以直接进入检测器的进样

系统。而 CE 的流量很小, 与检测器联用时, 需要特殊的接口装置, 此装置首先要保证毛细管内电流稳定地导通, 其次需要加入补充缓冲液或降低雾化流速保证 CE 的流出液与雾化器进样的液流速匹配, 另外在加入补充缓冲液时, 应注意防止毛细管内发生层流紊乱等一系列问题的发生。

在硒形态分析中常用的接口技术有氢化物发生进样(HG)和各种雾化技术(气动雾化、热雾化、超声波雾化和水力高压雾化)。表 2 列出了几种主要在线联用接口技术及其使用效果。其中, 气动雾化装置(Meinhard 同心雾化器, Barbington 雾化器)的设备简单, 且对样品中各形态的进样效率

没有差别,是普遍应用的气动雾化接口。但是它的雾化效率较低,往往导致实际样品中待测组分进入检测器的量低于所需要的检测限。微同心雾化器(MCN)和直接注入式雾化器(DIN)是气动雾化器的改进装置,适合小流量样品,主要与微柱和毛细管电泳联用。超声雾化法(USN)由于其产生的雾滴颗粒细、不受气流影响、雾化效率及进样效率较高等原因,对各种硒形态的检测灵敏度均有提高。但是由于USN的记忆效应严重,空白值高,且受流动相中盐份干扰很大,因此只能用于短时间的研究工作,而不适合实际样品的测定。水力高压雾化器(hydraulic high-pressure nebulisation, HHPN)是硒形态分析中一种新兴的雾化进样技术,但仪器设备比较复杂,应用范围较小。

由于硒在酸性条件下能与硼氢化钾(钠)反应产生挥发性的氢化物,此气态产物可以从反应介质中很好地分离,并使进样效率有了很大的提高,因此作为简便、高效的接口技术, HG广泛应用于硒形态分析中。然而,在硒的氢化物发生法中,由于各种硒形态的氢化物发生效率不同(Se 的发生效率很高, Se 产生 SeH_2 的效率几乎为零),使用 HG 作为形态分析联用技术的接口时常常需要在线的预还原将各种形态的硒转化为 $\text{Se}^{[51-53]}$,这也成为 HG 在硒形态分析中应用的一个瓶颈问题。我们提出纳米 TiO_2 光催化还原接口技术,

实现了高价硒的在线还原,很好地解决了这个棘手的问题,显示了其巨大的应用潜力^[68]。

3 检测技术

3.1 电感耦合等离子质谱(ICP-MS)

由于 ICP-MS 的高灵敏度和高选择性特点,已逐渐成为元素形态分析中应用最多的检测器。然而,对于硒而言,其第一电离能较高($I_1 = 9.752 \text{ eV}$),使得离子化效率相对较低;而且存在多种多原子离子的干扰,如 $^{40}\text{Ar} \ ^{36}\text{Ar}^+$ 对 ^{76}Se ; $^{40}\text{Ar} \ ^{38}\text{Ar}^+$ 对 ^{78}Se ; $^{40}\text{Ar} \ ^{37}\text{Ar}^+$ 对 ^{77}Se ; $^{37}\text{Cl} \ ^{37}\text{Cl}^+$ 对 ^{74}Se 以及 $^{81}\text{Br} \ ^1\text{H}$ 对 ^{82}Se 等;这些问题的存在严重制约了普通型 ICP-MS 检测硒的灵敏度和准确性。如表 3 所示,ICP-MS 分析中常采取的减少干扰的方法重要有以下几种:(1)选择多个同位素同时监测;(2)应用动态碰撞池或者反应池系统,通过反应气体与多原子离子进行碰撞或反应再选择性地消除多原子离子的干扰;(3)采用高分辨的双聚焦质量分析器;(4)应用可调离子气源,低压 ICP(LP-ICP)、微波诱导等离子体(MIP)和辉光放电(GD)用氦气作为等离子体气,可以避免氩的聚合物的光谱干扰。

Table 3 Mass spectroscopic determination of Se species

	减少干扰的方法	检测限	样品	文献
四极杆 ICP-MS	77, 78	$1.0 \sim 5.3 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (51 ~ 267 pg)	标液	[16]
	77, 82	$1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	尿	[18]
多个同位素检测	78, 82	$0.8 \sim 1.7 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, (2.3 ~ 5.1 pg)	尿	[19]
	77, 82	$3.42 \pm 0.17 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (TMSe)	尿	[23]
	77, 78, 82	-	酵母	[27]
	77, 82	$10 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ Se}$, $24 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ Se}$	饮用水	[31]
	77, 78	$10 \sim 30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	人奶和血浆	[32]
高分辨质谱	双聚焦 ICP-MS	$5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (50 pg)	尿	[17]
利用动态碰撞/反应池技术	同位素稀释法(IDA)和八极杆反应体系(ORS) ICP-MS	-	人体血浆	[22]
	以氦气作为缓冲气,氫气作为碰撞气的六极杆碰撞池 ICP-MS	$30 \sim 80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	尿	[65]
	用六极杆碰撞池 ICP-MS 检测	$(35 \pm 90) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	富硒酵母	[67]
应用能量可调的质谱源	以甲烷气作反应气的 DRC-ICP-MS	$0.57 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	血浆和尿液	[69]
	用高压氮微波诱导等离子体质谱	$0.25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	加标尿样	[70]
	射频辉光放电离子源质谱	$100 \text{ pg}(\text{SeMet})$	富硒酵母	[71]

3.2 原子吸收光谱 AAS

AAS 是目前原子光谱类检测器中使用最多的元素分析技术,但在元素形态分析中的应用却不是很多;主要因为普遍使用的火焰原子吸收(FAAS)虽然可以与色谱方便地连接,但背景吸收较大,检测灵敏度较低。Pedersen 等^[72]用氫氢混合焰、窄缝原子阱(slotted atom trap, STAT) FAAS 检测硒形态。与常用的乙炔空气火焰相比,氫氢焰提高了信噪比,STAT 的使用可以使信号强度提高二到三倍,方法的检测限为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Cobo-Fetnandez 等^[73]采用石英炉原子吸收(QFAAS)作为色谱的检测器,灵敏度较 FAAS 有所改善。Johansson 等^[74]以同样的方法实现了各种硒形态的检

测,检测限达到 $1.0 \sim 1.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Chatterjee^[75]建立了流动注射-氢化物发生(FH-G)电热 T 型石英管火焰原子吸收测定 SeEt 的方法,检测限达到 $0.25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。石墨炉电热原子吸收(GFAAS)用作检测器,灵敏度有很大的提高,但 GFAAS 与常规色谱难以联用。Emteborg 等^[76]利用微孔柱流速小的特点,采用一个微孔阴离子交换色谱柱分离,流速为 $80 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,每 $20 \mu\text{L}$ 自动收集样品,Zeeman 效应校正,ETAAS 断续检测,方法的检测限为 $2.8 \sim 4.1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (绝对检测限达 $42 \sim 61 \text{ pg}$)。

3.3 原子荧光光谱(AFS)

AFS 的光谱简单、选择性高,当与 HG 进样技术联合使

用时具有很高的检测灵敏度,使其很适合作元素形态分析的检测器。目前的商品 AFS 由于数据采集和硬件控制等原因不能与色谱直接联用,应用于硒形态分析的 AFS 报道较少。我们研究小组^[77]编写了原子荧光光谱仪的数据采集和处理软件,成功地应用于 HPLC 和 AFS 联用时的数据采集和处理。其他一些研究小组也实现了 AFS 与色谱的联用, Mester 等分别用超声喷雾^[60]和水力高压喷雾^[64]作为色谱和 AFS 的接口,通过加热和液体冷却装置减少进入火焰中的水分,对于 SeMet, SeCys₂ 和 SeEt 的检测限达到 50, 42 和 71 ng · mL⁻¹, 并将此方法应用于富硒蘑菇中硒含量的测定。Ipolyi 等^[78]用 HG 作为 HPLC-AFS 的接口检测 Se 和硒代氨基酸,各形态 SeCys, SeMet, SeEt 和 Se 的检测限分别为 18, 70, 96 和 16 ng · mL⁻¹, 结合在线紫外光照射转化,测定了实验室参考物质巴西坚果中的硒形态^[67]。Dumont 等^[79]用微波辅助氢化物发生原子荧光检测,获得 7 种硒标准形态 Se, Se, SeMet, SeCys₂, 硒代胱氨酸, 硒甲基硒代半胱氨酸的检测限分别为 0.8, 1.3, 1.2, 1.2, 1.3 和 1.1 ng · mL⁻¹。

3.4 原子发射光谱(AES)

AES 是最早使用的原子光谱分析方法,早期的直流电弧和电火花光源的灵敏度相对较低,很难满足元素形态分析的要求。等离子体激发技术,如直流等离子体(DCP)、电感耦合等离子体(ICP)、微波诱导等离子体(MIP)的应用,使 AES 的灵敏度提高了几个数量级。ICP-AES 具有高的激发温度和原子化效率,是硒形态分析中使用较多的检测技术。

AES 能够方便作为 GC 的检测器,用于检测各种挥发性的含硒形态,检测限可以达到 ng · mL⁻¹ 级^[34]。Ghaleb 等^[21]用 ICP-AES 作为色谱的检测器,实验证明 AES 检测对多种流动相介质中的硒化合物均有较好的响应。Davis 等^[80]研究了粒子束空心阴极辉光发射光谱(PB/HC-OES)作为硒形态研究的检测器,应用于五种含硒形态的分析,当 200 μL 进样时的检测限可以达到 μg · mL⁻¹ 级,能够满足硒形态分析的要求。Jin 等^[81]利用 PB/HC-OES 测定一系列含硒化合物,应用实验所得的经验公式对硒形态进行定量分析,线性范围是 0.01 ~ 1 000 μg · mL⁻¹, SeMet 的检测限是 16 ng, 硒甲基硒代胱氨酸的检测限是 11 ng。

3.5 硒形态的鉴定

研究硒在各种生物体内的存在形态和吸收利用的途径是硒形态研究中很重要的一个方面,其中对各种代谢中间产物的结构鉴定是理解其生物转化过程的重要依据。以上介绍的各种原子光谱/质谱检测器虽然有高的灵敏度和准确度,却只能给出各种硒形态中硒元素的含量信息,而具体形态只能通过与标准物质对照来确定。但是,目前商品的标准物质只有很少的几种,加之硒在生物体内吸收和代谢过程的复杂性和多样性,应用原子光谱技术很难实现实际样品中各种含硒未知形态的分析,所以常常需要具有分子结构鉴定能力的分析技术。如表 4 所示,目前在未知硒形态的结构鉴定中应用较多的是 ESFMS; Q-TOFMS 和 MALDI-TOF-MS 等也有应用。

Table 4 Identification of selenium-containing compounds

硒形态	样品	检测器	文献
硒甲基硒代半胱氨酸及硒胱硫醚等	葱属植物, 紫云英属	ESFMS	[20]
- 谷胱甘肽- 硒甲基硒代半胱氨酸(-glutamyl-Se-methylselenocysteine)	大蒜	ESFMS/MS	[23]
Se-methyl-N-acetyl galactosamine(硒甲基乙酰基半乳糖胺) Se-methyl-N-acetylglucosamine(乙酰氨基葡萄糖)	尿	ICP-MS	[59]
硒形态标准	-	ESFMS	[82]
谷胱甘肽中硫被硒取代后的形态	营养酵母水提取物	ESFMS/MS	[83]
硒甲基-N-乙酰基硒氨基己醇	老鼠尿样	Q-TOFMS	[84]
五种硒代氨基酸	-	三极四极杆和飞行时间质谱	[85]
氨基酸序列为 SeMet-Asn-Ala-Gly-Arg 的硒形态	酵母水溶性硒蛋白的胰蛋白	MALDI-TOFMS/MS/ESFQ-TOF	[86]
蛋白质的氨基酸序列	实验室自制的酵母	MALDI-TOF-MS 和 Q-TOFMS	[87]
第一次发现了新的含硒蛋白, 此蛋白是在 SIP18 (Mr 8874) 的 2-9 个蛋氨酸被硒代蛋氨酸取代而得的	富硒酵母水溶性蛋白	MALDI-TOFMS/ESFQ-TOF MS	[88]

4 样品的处理

硒形态的各种分析方法只有应用于实际样品,才能解决各种环境和生命科学中的问题。硒在自然界中存在十分广泛,如土壤、水体和各种动植物,其中尿液中的硒形态是动物硒代谢的重要产物,通过对尿样中硒形态的分析可以判断硒在动物体内的消化吸收过程,甚至可以判断各种与硒有

关的疾病。所以有大量硒形态的分析的文献测定尿样中含硒形态。表 5 对文献中近年来,有关尿样中硒形态分析的研究进行了粗略统计。

4.1 样品中硒形态的提取

自然界中的硒不仅以无机态形式存在,还以烷基硒和硒代氨基酸形式结合在肽链或蛋白质中。为了能够准确测定样品中的硒形态,必须有一个能够保证样品中各种硒形态完整高效地转移到提取液中的样品处理方法。在提取过程中,分

析物和提取溶液、介质及提取容器壁会发生一些化学反应,可能会导致形态的转化和损失,使得样品测定结果不准确甚至是错误的信息。所以研究样品的处理方法,使样品中的各种形态能够高效完整地转移到提取溶液中,已经成为硒形态分析研究中的一个重要内容。形态的提取常常需要一步或多步萃取,一步萃取的方法相对比较简单,形态发生变化较小,但是提取效率较低;而多步萃取方法可以根据各种硒形

态不同特点采取不同的萃取方法,大大提高样品的提取效率,但是经过多步萃取,很难保持样品中硒形态的完整性。表 6 中列出了硒形态分析所用的样品及其提取方法和样品测定结果。从表中可知,硒形态分析的样品主要是一些酵母,坚果和蘑菇等。其中,除了泥土中常使用无机溶剂以外,其他生物样品中的硒形态多采用酶解的方法提取。

Table 5 Identification of Se species in urea

尿样来源	处理方法	分离	检测	测定出含硒形态	参考文献
-	1 1 超纯水稀释	C18 离子对胶团介质	QC-AAS ICP-MS	三种未知形态的硒化合物	[16]
健康的志愿者	1 1 超纯水稀释	胶团介质	MW-HG-ICP-MS	Se 和两个未知形态	[17]
健康的志愿者	0.22μm 膜过滤	混合离子对色谱	ICP-MS	加标测定	[18]
服用 SeMet 一个月的志愿者	1 1 超纯水稀释后 C18 柱过滤	离子对色谱	ICP-MS	硒代 氨基丁酸 (Se Gaba) 和一个中性的含硒化合物	[19]
-	-	GS-220 凝胶柱	ICP-MS	两个未知形态	[23]
服用 SeMet 一个月的志愿者	冠醚提取	阳离子交换色谱	ICP-MS	SeMet 和三个未知硒形态	[33]
商品尿样	C18 柱过滤	反相和阴离子交换	AFS	SeCys 和 Se	[41]
服用了硒酵母的健康志愿者	氮气流下浓缩	C18 和 C8 反相离子对色谱	ICP-MS	Se ⁻ methyl-Nacetyl galactosamine 和 Se ⁻ methyl-N-acetyl-glu cosamine	[59]
健康的志愿者	-	GS-220 凝胶渗透柱	MIP-MS	Se 和两个未知形态	[70]
服用一个月富硒酵母和维生素 E	C18 柱过滤	阴离子交换柱	HG-AAS	Se() 和 SeCys	[89]
三个健康志愿者	C18 柱过滤	AMINO 反相色谱	ICP-MS	TMSe ⁺ 和两个未知形态	[90]

4.2 样品中硒形态的富集方法

在测定实际样品的过程中,由于大多数的样品中各种硒形态的含量很低,且样品基体复杂,干扰分离和检测,因此为了达到富集和纯化的目的,需要对样品进行预处理。常用的富集方法有液液萃取和固相微萃取技术 (SPME)。液液萃取应用有机溶剂提取,在一定条件下除去大量的溶剂,达到富集和减小基体干扰的目的。Gammelgaard 等^[62]用甲醇提取尿样,在氮气流中挥发浓缩,可以使各硒形态浓度富集 10 倍以上,最高富集倍数达到 100 倍。此法在富集分离的同时也能够提高方法的灵敏度。与液液萃取技术相比,SPME 技术具有操作简便、提取效率高、溶剂消耗低和高回收率等优点。Abbas- Ghaleb 等^[21]研究了有机硒在多空石墨固定相上的保留,酸性介质中洗脱,可以达到富集的效果。Lu 等^[106]利用四价硒与吡咯烷二巯基氨基酸 (PDTC) 形成络合物,在 PTFE 微柱的表面发生吸附,从而达到富集的效果。Dietz 等^[107]研究了常规固定相 (碳 CAR, 聚二乙烯基苯 DVB, 聚乙二醇 CW, 聚二甲基硅 PDMS, 聚丙稀 PA) SPME 富集可挥发性有机硒化合物,然后在自制的加热解吸附装置中解吸,实现可挥发性有机硒化合物的富集。

4.3 样品的储存

在测定实际样品的过程中,由于时间和空间的限制,很多情况下不能保证样品采集或处理后马上测定,因此研究样品的合适保存方法是十分重要的。硒形态分析中常见的样品有富硒酵母和尿样,由于富硒酵母样品多是以粉末形式存

在,很容易保存。而尿样中含有大量的无机离子 (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 等),有机质 (葡萄糖,白蛋白和尿酸等)和细菌,霉菌,寄生虫甚至病毒细胞等,其基体的复杂性和物理化学性质的特殊性与硒形态的稳定保存条件存在很大关系。为了避免化学形态的改变,常采用调节 pH、调节温度和避免光照等措施。Zheng 等人^[18]研究了尿样的保存条件,1:9 稀释的加标尿样保存在聚乙烯管中,25℃ 条件下 9 天就发生变质,在 4℃ 时 30 天后发生明显变质,在 -20℃ 保存 30 天没有发生明显变化,因此最佳的保存条件是在 -20℃ 条件下短时间保存。Moreno 等^[102, 103]研究了牡蛎样品的保存条件,比较了几种保存温度和贮存容器的材料。发现与 Pyrex 玻璃相比较,聚乙烯管较好的避免光照和氧化性试剂的接触。而对于温度分别为 -18, -4, 20℃ 的研究发现,4℃ 是最适合牡蛎样品的保存温度。

5 展望

从目前硒形态分析方法学研究的状况来看,多种技术联合使用是硒形态分析的主流,高效链接各种分离方法和检测系统的结构技术是研究的焦点,各种接口鉴定技术已经得到了相当程度的使用。硒形态分析方法的发展已经很大程度上依靠各种分析装置的发展。由于硒在实际样品中存在的多样性和复杂性,目前所发展的联用技术和方法在短时间内还很难直接应用于实际样品的常规分析。方法的简单化、实用化

和标准化是联用技术真正应用于硒形态分析的必要步骤。硒形态分析中另一个值得关注的热点问题是分析化学与生命和环境科学研究的结合,了解各种含硒形态在整个生物圈和生

命体内的转化和代谢途径及其生物功能,这些都是最近提出的“元素/金属组学(Metallomics)^[108]”的研究内容。

Table 6 Extraction of Se species from samples

测定样品	提取方法	总含硒量	主要含硒形态	参考文献
培养的富硒植物	热水和蛋白酶	几千 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	甲基硒代半胱氨酸(葱属植物); SeMet(富硒酵母); 硒胱硫醚(紫云英属植物)	[20]
BCR No. 402 参考物质	5, 2, 5() 甲醇和氯仿混合液	$(6.80 \pm 0.30) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	主要为六价硒和未知结构的硒形态	[72]
富硒绿洋葱	pH 8.0 的 Tris 缓冲液 1 mM CaCl ₂ 和蛋白酶 K	$30.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	SeCys ₂ , 硒甲基硒代胱氨酸, SeMet 和无机硒	[25].
肉类中的含硒化合物	pH 7.5 的 Tris-醋酸缓冲液	-	谷胱甘肽过氧化酶和硒蛋白 W	[26]
Dolt-2 参考物质 (Dogfish liver)	水, 蛋白酶分别提取	$(46.29 \pm 3.1) \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	SeCys(7.79 \pm 0.4) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, SeMet (6.89 \pm 1.8) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 未知形态 (29.29 \pm 1.9) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[43]
可食蘑菇	三步序列提取法(水, 胃蛋白酶和胰蛋白酶)	$110.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	SeCys ₂ 27.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Se 46.4 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	[64]
CRM 白苜蓿中硒形态	1:1 甲醇/水加入 4% 氨水	$(5.63 \pm 0.67) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	1.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Se (22%)	[74]
罐装金枪鱼内	甲醇和水, 盐水提取	-	主要的硒形态是 SeCys ₂	[91]
巴西坚果	链霉菌蛋白酶-E	$82.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	79.9 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ SeMet; 少量的 SeCys ₂	[92]
泥土样品中总硒	去离子水、热水、AB-DTPA、NaOH 和 KH ₂ PO ₄ 分别提取	-	主要是无机硒形态	[93]
Stewart 湖底泥	水、0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液、5% TMAH 和 1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硫酸钠顺序提取	-	主要为无机硒形态	[94]
希腊 (EOT) 温泉的土壤样品	水、热水、甲醇和 0.5 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸提取	-	S (102 \pm 4) $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$; Se (650 \pm 26) $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	[95]
油菜属植物 (Stanleya pinnata)	水、NaCl 溶液和稀 HCl 溶液的分步提取	几百 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	硒代氨基酸占 73% ~ 85.5%, Se 占 7.5% ~ 19.5%, 其它形态硒含量少于 7%	[96]
花椰菜	27 种无机溶液提取	$876 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	硒甲基硒代胱氨酸	[97]
野生富硒植物芸苔	几种不同的蛋白提取方法	-	几种含硒蛋白	[98]
亚硒酸钠的液态培养的油菜	HCl, Tris-HCl 缓冲液, 和酶萃取(蛋白酶 K 和蛋白酶)	硒量达到了几千个 ppm	SeMet 的含量为 ppb 级	[99]
富硒的蘑菇	细胞壁消解酶(Lysing)	$160 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	15.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ SeMet	[100]
自制的 ⁷⁷ Se 的富硒酵母	葡萄糖苷酶和混合的蛋白酶分别提取	$1390 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	SeMet 占 82%	[101]
冷冻干燥牡蛎样品	水, 枯草杆菌蛋白酶提取	$(1.22 \pm 0.03) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	(0.11 \pm 0.02) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (TMSe), (0.56 \pm 0.08) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (SeMet) 和未知形态	[102]
牡蛎	水, 非特异性蛋白酶	$(1.22 \pm 0.03) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	TMSe(9.8 \pm 0.8%), SeMet(66%)	[103]
雪鱼肉	蛋白酶和脂肪酶	$(904 \pm 104) \text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	SeMet(603 \pm 65) $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	[104]
动物器官	水提取, 酶解	-	SeMet(0.2 ~ 600 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), SeCys ₂ (0.1 ~ 0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), TMSe(0.10.3 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	[105]

参 考 文 献

- [1] Schwarz K, Foltz C M. J. Am. Chem. Soc. , 1957, 79: 3292.
- [2] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, et al. Science, 1973, 179: 5880.
- [3] Cornelis R. Clin. Lab. Sci. , 1996, 26: 252.
- [4] Rayma M. The Lancet , 2000, 356: 233.
- [5] Klein E A, Thompson I M, Lippman S M, et al. Urologic Oncology, 2003, 21: 59.
- [6] Karam E B, Pramod U, Chae Y H. Journal of Cellular Biochem. , 2004, 59: 92.
- [7] Whanger P D. J. Trace Elem. Exp. Med. , 1998, 11: 227.
- [8] Susan J F T. Fresenius J. Anal. Chem. , 1999, 363: 536.
- [9] Kobayashi Y, Ogra Y, Kazuo T S. J. Chromatogr. B. , 2001, 760: 73.
- [10] Guerin T, Astruc A, Astruc M. Talanta, 1999, 50: 1.
- [11] XU Fang, QIU De-ren, YANG Peng-yuan, et al(徐 芳, 邱德仁, 杨芃原, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(2): 331.
- [12] Uden C P. Anal. Bioanal. Chem. , 2002, 373: 422.
- [13] Hamilton J S. Sci. Total. Environ. , 2004, 326: 1.
- [14] Uden C P, Boakye H T, Chethaka K, et al. J. Chromatogr. A. , 2004, 1050: 85.
- [15] YAN Xiu-ping, NI Zhe-ming(严秀平, 倪哲明). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(5): 945.
- [16] Sanz-Medel A, Gonza LaFuente J M. J. Anal. At. Spectrom. , 1998, 13: 423.
- [17] Gonzalez LaFuente J M, Marchante Gauyou J M, Fernandez Sanchez M L. Talanta, 1999, 50: 207.
- [18] Zheng J, Shibata Y, Tanaka A. Anal. Bioanal. Chem. , 2002, 374: 348.
- [19] Gammelgaard B, Bendahl L, Sidenius U, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2002, 17: 570.
- [20] Kotrebai M, Birringer M, Uden C P. Analyst , 2000, 125: 71.
- [21] Abbas-Ghaleb K, Gilon N, Critier G, et al. Anal. Bioanal. Chem. , 2003, 377: 1026.
- [22] Hinojosa Reyes L, Marchante Gayon J M, Garc Alonso J I, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2003, 18: 1210.
- [23] Chatterjee A, Tao H, Shibata Y, et al. J. Chromatogr. A. , 2003, 997: 249.
- [24] McSheehy S, Yang W j, Pannier Florence, et al. Anal. Chim. Acta, 2000, 421: 147.
- [25] Shaha S M, Kannamkumarath, Jorgelina C A W, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2004, 19: 381.
- [26] Daun C, Lundh T. J. Anal. At. Spectrom. , 2004, 19: 129.
- [27] Casiot C, Szpunar J, Lobinski R, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 1999, 14: 645.
- [28] Pyrzynska K. Talanta, 2001, 55: 657.
- [29] Zheng J, Greschonig H, Liu F, et al. Trace Elem. Electrolytes, 2000, 17(1): 40.
- [30] Bendahl L, Gammelgaard B, Jons O, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001, 16: 38.
- [31] Matthew L, Creed J T M, Brockhoff A C. Analyst, 1997, 122: 1057.
- [32] Michalke B, Schramel P. J. Chromatogr. A. , 1998, 807: 71.
- [33] Gammelgaard B, Jons O, Bendahl L. J. Anal. At. Spectrom. , 2001, 16: 339.
- [34] Bendahl L, Gammelgaard B. J. Anal. At. Spectrom. , 2004, 19: 129.
- [35] Moreno M E, Conde C P, Camara C. Anal Bioanal. Chem. , 2003, 375: 666.
- [36] Dietz C, Landaluze S J, Ximenez-Embun P, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2004, 19: 260.
- [37] Dietz C, Landaluze J S, Ximenez-Embun P, et al. Anal. Chim. Acta. , 2004, 501: 157.
- [38] Mendez S P, Bayon M M, Gonzalez E B, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 1999, 14: 1333.
- [39] Bayon M M, Hymer C, Ponce C A, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001, 16: 492.
- [40] Troyer C H, Alvarez-Llamas G, Zitting E, et al. J. Chromatogr. A. , 2003, 1015: 1.
- [41] Ariza J L G, Rodas D S, Carode Torre M A, et al. J. Chromatogr. A, 2000, 889: 33.
- [42] Petropoulou M O, Michalke B, Kavouras D, et al. Anal. Chim. Acta. , 2003, 478: 219.
- [43] Zheng J, Shibata Y, Furuta N. Talanta, 2003, 59: 27.
- [44] McSheehy S, Pawe P L, Szpunar J, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001, 16: 68.
- [45] McSheehy S, Pannier F, Szpunar J, et al. Analyst , 2002, 127: 223.
- [46] Mounicou S, Meija J, Caruso J. Analyst, 2004, 129: 116.
- [47] Mounicou S, McSheehy S, Szpunar J, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2002, 17: 15.
- [48] Sanz-Medel A, Gonzalez E B. Trends in Anal. Chem. , 2002, 21: 709.
- [49] Claudia A P L, Sutton K L, Caruso A J, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2000, 15: 1103.
- [50] Mendez S P, Gonzalez E B, Sanz-Medel A. J. Anal. At. Spectrom. , 2000, 15: 1109.

- [5 1] Brunori C, Calle G M B, Morabito R. Fresenius J. Anal. Chem. , 1998 , 360 : 26.
- [5 2] Gomez M M, Gasparic T, Palacios M A , et al. Anal. Chim. Acta , 1998 , 374 : 241.
- [5 3] Cobo-Fetnandez M G. Fresenius J. Anal. Chem. , 1995 , 351 : 438.
- [5 4] Sanz-Medel A, Jand M, LaFuente G. Spectrochim. Acta , Part B , 1996 , 51 : 1849.
- [5 5] Johansson M, Biodin G, Rodriguez R A. Analyst , 2000 , 125 : 273.
- [5 6] Vilano M, Padro A, Rubio R, et al. J. Chromatogr. A , 1998 , 819 : 211.
- [5 7] Vilano M, Rubio R. J. Anal. At. Spectrom. , 2000 , 15 : 177.
- [5 8] Thomas C, Jakubowski N, Stuewer D, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 1998 , 13 : 1221.
- [5 9] Gammelgaard B, Bendahl L. J. Anal. At. Spectrom. , 2004 , 19 : 135.
- [6 0] Mester Z, Fodor P. Anal. Chim. Acta , 1999 , 386 : 89.
- [6 1] Zheng J, Ohata M, Furuta N, et al. J. Chromatogr. A , 2000 , 874 : 55.
- [6 2] Gammelgaard B, Jons O. J. Anal. At. Spectrom. , 2000 , 15 , 499.
- [6 3] Puskel E, Mester Z, Fodor P. J. Anal. At. Spectrom. , 1999 , 14 : 973.
- [6 4] Stefanka Z, Ipolyi I, Dernovics M, et al. Talanta , 2001 , 55 : 437.
- [6 5] Marchante-Gan J M, Feldmann I, Thomasand C, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001 , 16 : 457.
- [6 6] Marchante-Gayon J M, Thomas C, Feldmanna I, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2000 , 15 : 1093.
- [6 7] Erzsöet T B, Stefanka A, Ipolyi I, et al. Anal. Bioanal. Chem. , 2003 , 377 : 32.
- [6 8] Wang Q Q, Liang J, Qiu J H, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2004 , 19 : 715.
- [6 9] Nixon E D, Neubauer R K, Eckdahl J S, et al. Spectrochim. Acta , Part B , 2003 , 58 : 97.
- [7 0] Chatterjee A, Shibata Y, Morita M. J. Anal. At. Spectrom. , 2000 , 15 : 913.
- [7 1] Bayon M M, Hymer B C, Ponce A C, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001 , 16 : 492.
- [7 2] Pedersen G A, Larsen E H. Fresenius J. Anal. Chem. , 1997 , 358 : 591.
- [7 3] CoboFetnandez M G, Palacios M A, Camara C. Fresenius J. Anal. Chem. , 1995 , 351 : 438.
- [7 4] Johansson M, Biodin G, Rodriguez A R. Analyst , 2000 , 125 : 273.
- [7 5] Chatterjee A, Shibata Y, Tanaka A, et al. Anal. Chim. Acta , 2001 , 436 : 253.
- [7 6] Emteborg H, Bordin G, Rodriguez A R. Analyst , 1998 , 123 : 893.
- [7 7] HONG Yurchen, WANG Qiu-quan, YAN Hua, et al(洪煜琛,王秋泉,严 华,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析) , 2003 , 23(2) : 354.
- [7 8] Ipolyi I, SteF Anka Zs, Fodor P. Anal. Chimica , Acta , 2001 , 435 : 367.
- [7 9] Dumont Emmie, Cremer Koen De, Van Hulle Marijn. J. Anal. At. Spectrom. , 2004 , 19 : 167.
- [8 0] Davis W C, Jin F X, Dempster A M, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2002 , 17 : 99.
- [8 1] Jin F X, Marcus R K. J. Anal. At. Spectrom. , 2003 , 18 : 589.
- [8 2] Michalke B, Schramel P, Ketttrup A, et al. Fresenius J. Anal. Chem. , 1999 , 363 : 456.
- [8 3] McSheehy S, Szpunar P J, Potin-Gautier M, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001 , 16 : 68.
- [8 4] Huerta V D, Szpunar J, Lobinski R, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2003 , 18 : 1471.
- [8 5] Lindemann T, Hintelmann H. Anal. Bioanal. Chem. , 2002 , 372 : 486.
- [8 6] Encinar J R, Ruzik R, Buchmann W, et al. Analyst , 2003 , 128 : 220.
- [8 7] Encinar J R, Sliwka-Kaszynska M, Poatajko A, et al. Anal. Chim. Acta , 2003 , 500 : 171.
- [8 8] Encinar J R, Ouedane L, Buchmann W, et al. Anal. Chem. , 2003 , 75 : 3765.
- [8 9] Gomez M M, Gasparic T, Palacios M A, et al. Anal. Chim. Acta , 1998 , 374 : 241.
- [9 0] Quijano M A, Gutierrez A M, Perez-Conde M C, et al. Talanta , 1999 , 50 : 165.
- [9 1] Le X C, Li X F, Lai V, et al. Spectrochim. Acta , Part B , 1998 , 53 : 899.
- [9 2] BodóT E, Stefanka A, Ipolyi I, et al. Anal. Bioanal. Chem. , 2003 , 377 : 32.
- [9 3] Sharmasarkar S, Vance G F. Environmental Geology , 1997 , 29 : 17.
- [9 4] Claudia A Ponce de le ón, Katie De Nicola, Maria Montes Bayon, et al. Jounal. Environmental. Monitoring , 2003 , 5 : 435.
- [9 5] Ochsensk ün-Petropoulou M, Michalke B, Kavouras D, et al. Anal. Chim. Acta , 2003 , 478 : 219.
- [9 6] Zhang Y Q, Frankenberger W T. Sci. Total. Environ. , 2001 , 269 : 39.
- [9 7] Roberge T M, Borgerding J A, John F. J. Agric. Food Chem. , 2003 , 51 : 4191.
- [9 8] Sandra Mounicou, Juris Meija, Joseph Caruso. Analyst , 2004 , 129 : 116.
- [9 9] Montes-Bayo M, Yanes E G, Claudia P L, et al. Anal. Chem. , 2002 , 74 : 107.
- [100] Dernovics M, Stef ánka Z, Fodor P. Anal. Bioanal. Chem. , 2002 , 372 : 473.
- [101] Larsen E H, Sloth J, Hansen M, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2003 , 18 : 310.
- [102] Moreno P, Quijano M A, Guti érez A M, et al. Anal. Bioanal. Chem. , 2002 , 374 : 466.
- [103] Moreno P, Quijano M A, Gutierrez A M, et al. J. Anal. At. Spectrom. , 2001 , 16 : 1044.

- [104] Huerta V D, Sanchez M L F, Sanz-Medel A. J. Anal. At. Spectrom., 2004, 19: 644.
 [105] Moreno P, Quijano M A, Guti érez A M, et al. Anal. Chim. Acta, 2004, 524: 315.
 [106] Lu C Y, Yan X P, Zhang Z P, et al. J. Anal. At. Spectrom., 2004, 19: 277.
 [107] Dietz C, Perez-Corona T, Madrid-Albarran Y, et al. J. Anal. At. Spectrom., 2003, 18: 467.
 [108] Haraguchi H. J. Anal. At. Spectrom., 2004, 19: 5.

New Approaches to Selenium Speciation

QIU Jian-hua, WANG Qiu-quan*, HUANG Ben-li

Department of Chemistry, the MOE Key Laboratory of Modern Analytical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract A review of the recent developments in selenium speciation analysis was presented, focusing on the techniques of separation, interface, elemental specific detection and identification of selenium species; the methods of sample storage and pretreatment storage for selenium speciation were also introduced.

Keywords Selenium; Speciation analysis; Review

(Received Aug. 18, 2005; accepted Nov. 28, 2005)

*Corresponding author

历史资料

CSI历届开会时间及地点

届	年份	主办国家	开会的城市	届	年份	主办国家	开会的城市
1	1949	法国	Strasbourg	19	1976	美国	Philadelphia
2	1951	意大利	Venice	20	1977	捷克	Prague
3	1952	英国	Hoddesdon	21	1979	英国	Cambridge
4	1953	德国	Munster	22	1981	日本	Tokyo
5	1955	澳大利亚	Gmunden	23	1983	荷兰	Amsterdam
6	1956	荷兰	Amsterdam	24	1985	德国	Garmisch
7	1958	比利时	Liege	25	1987	加拿大	Toronto
8	1959	瑞士	Lusern	26	1989	保加利亚	Sofia
9	1961	法国	Lyon	27	1991	挪威	Gergen
10	1962	美国	Maryland	28	1993	英国	York
11	1963	南斯拉夫	Belgrade	29	1995	德国	Leipzig
12	1965	英国	Exeter	30	1997	澳大利亚	Melbourne
13	1967	加拿大	Ottawa	31	1999	土耳其	Ankara
14	1968	匈牙利	Debrecen	32	2001	南非	Pretoria
15	1969	西班牙	Madrid	33	2003	西班牙	Granada
16	1971	德国	Heidelberg	34	2005	比利时	Antwerp
17	1973	意大利	Florence	35	2007	中国	厦门
18	1975	法国	Grenoble				