

张斐然, 冯 静, 张华峰, 等. 菊花中硒定量分析方法的建立与应用[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(4): 927-932.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.04.030

菊花中硒定量分析方法的建立与应用

张斐然¹, 冯 静¹, 张华峰¹, 赵爱青¹, 薛梦莹¹, 杨晓华²

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院/中俄食品与健康科学国际联合研究中心/西北濒危药材资源开发国家工程实验室, 陕西 西安 710119; 2. 西安交通大学医学部, 卫生部法医学重点实验室, 陕西 西安 710061)

摘要: 为运用氢化物原子荧光光谱法测定陕西省市售菊花样品的硒含量。采用单因素试验和正交试验优化得到氢化物原子荧光光谱法的最佳测定条件为: 负高压为 320 V, 灯电流为 85 mA, 硼氢化钠质量分数为 1.0%。系统适用性试验结果显示, 该方法的标准曲线方程为 $Y = 116.86x + 88.69$ ($r = 0.9998$), 线性范围为 10.00~100.00 $\mu\text{g/L}$, 检出限(LOD)、定量限(LOQ)分别为 2.60 $\mu\text{g/L}$ 、7.88 $\mu\text{g/L}$, 精密度为 1.27%, 平均回收率为 98.38%。该方法精确、灵敏、简便、安全, 分析成本较低。测定发现, 陕西省各地市售菊花样品中硒的含量存在较大差异。

关键词: 硒; 菊花; 氢化物原子荧光光谱法; 定量分析

中图分类号: TS207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)04-0927-06

Establishment and application of quantitative analysis method for selenium in *Chrysanthemum morifolium*

ZHANG Fei-ran¹, FENG Jing¹, ZHANG Hua-feng¹, ZHAO Ai-qing¹, XUE Meng-ying¹, YANG Xiao-hua²

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, International Joint Research Center of Shaanxi Province for Food and Health Sciences, National Engineering Laboratory for Resources Development of Endangered Crude Drugs in Northwest China, Xi'an 710119, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Health for Forensic Sciences, Health Science Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract: A hydride generation atomic fluorescence spectrometric method was used to detect the content of selenium in *Chrysanthemum morifolium* samples purchased from Shaanxi province. The optimal conditions for the hydride generation atomic fluorescence spectrometry obtained by single factor experiments and orthogonal test were as follows: negative high voltage of 320 V, lamp current of 85 mA, and NaBH_4 mass fraction of 1.0%. System suitability test results indicated that regression equation of standard curve was $Y = 116.86x + 88.69$, the correlation coefficient (r) was 0.9998, and linear range was 10.00–100.00 $\mu\text{g/L}$. Limits of detection (LOD) and limits of quantitation (LOQ) were 2.60 $\mu\text{g/L}$ and 7.88 $\mu\text{g/L}$, respectively. Precision and average recovery were 1.27% and 98.38%, respectively. The method is accurate, sensitive, simple, safe as well as low-cost. A large variation of selenium contents was found among *Chrysanthemum morifolium* samples from different regions in Shaanxi province.

收稿日期: 2018-01-10

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2018ZDXM-SF-006); 陕西省国际科技合作基地项目(2017GHJD-006); 陕西省安康市汉阴县人民政府科技创新项目(1204070141); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(GK201703076、1301031567)

作者简介: 张斐然(1994-), 女, 山西榆次人, 硕士研究生, 研究方向为药食同源植物资源开发与利用。

通讯作者: 张华峰, (Tel) 029-85310517; (E-mail) isaacsau@sohu.com

Key words: selenium; *Chrysanthemum morifolium*; hydride generation atomic fluorescence spectrometry; quantitative analysis

硒是维持人体健康的必需微量元素之一, 具有多种生理功能; 1) 参与谷胱甘肽过氧化物酶的构成^[1]; 2) 影响 B 淋巴细胞的结构与功能^[2]; 3) 降低重金属毒性^[3]。中国很多地区的土壤缺硒, 通过饮

食补硒有助于保护居民健康^[4]。但是,硒摄入过量对人体也有害处,可能出现头发、指甲脱落等中毒症状^[5-6]。优化硒定量分析方法,精确检测食品中硒的含量,有助于指导居民改善膳食结构,合理食用富硒食品。菊花味甘苦,性微寒,具有散风清热、平肝明目、清热解毒等作用^[7],是中国著名的药食两用植物。陕西省安康市是中国著名的富硒地区,被誉为“中国硒谷”,该地区种植的富硒菊花产量高、销售范围广、消费人群多,已成为重要的支柱型产业。但是有关菊花中硒定量分析方法的研究很少,制约了富硒菊花产业的发展。建立菊花中硒元素的定量分析方法,准确测定菊花中硒的含量,对于菊花资源的开发利用具有积极作用。

硒元素的测定方法包括紫外分光光度法、分子荧光光谱法、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体-质谱法等^[8-9]。不同方法的优缺点和适用范围各异。紫外分光光度法的灵敏度往往较低^[10];电感耦合等离子体-质谱法准确灵敏,但是操作复杂,测试成本较高^[11];原子吸收光谱法操作简便,但是紫外区的背景吸收容易干扰测定结果^[12];分子荧光光谱法通常需要使用剧毒试剂(如 2,3-二氨基萘)^[13]。相比而言,氢化物原子荧光光谱法的灵敏度和准确度较高,操作简便,对人体没有明显的毒害作用^[14-15]。目前,关于氢化物原子荧光光谱法测定硒的研究较多^[16-18],但是有关菊花中硒定量分析方法的研究很少,并且大多数研究没有对测定条件进行优化,缺乏完整的系统适应性试验数据。鉴于此,本研究运用正交试验优化氢化物原子荧光光谱法的测定条件,进行较完整的系统适应性试验,最终建立一种定量分析菊花中硒元素的新方法,并运用该方法测定陕西省市售菊花中硒的含量。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

富硒菊花由陕西省安康市安康聚源实业有限公司提供,陕西省市售菊花样品购自当地药房。硒标准储备溶液(1 000.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$)购自国家钢铁材料测试中心,高氯酸、硝酸、盐酸为优级纯,水为超纯水,其余试剂为分析纯。

主要仪器包括:AFS-9700 型全自动注射泵原子荧光光度计(北京海光仪器公司产品),电热板(湖南吴得仪器设备有限公司产品),FW400A 型高速万

能粉碎机(北京科伟永兴仪器有限公司产品),LGJ-18C 型真空冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂产品),GZX-9146 MBE 型数显鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品),BS224S 型万分之一天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 样品处理方法 参考莫海珍^[19]的方法,将菊花样品分拣除杂,冷冻干燥 1 d 后粉碎过筛(80 目),制得样品粉末。

1.2.2 湿法消化方法 参考高建忠等^[20]的方法,称取 2.0 g 菊花样品粉末,加入 10 ml 混合酸(HNO_3 : HClO_4 = 4 : 1, 体积比),混匀后静置过夜。次日置电热板上加热 4 h,注意及时补加混合酸,防止干烧。待液体变得澄清并逸出白烟时,停止加热。冷却后加入 6 mol/L 盐酸 5 ml,继续加热。待棕黄色气体消失时停止加热,冷却后用超纯水定容至 50 ml,用 0.45 μm 滤膜过滤后得到样品消化液。

1.2.3 原子荧光光度计测定方法

1.2.3.1 硒标准溶液的配制 参考 Shabani 等^[21]的方法,用 20% 盐酸溶液稀释硒标准储备溶液(1 000.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$),配得质量浓度分别为 10.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、20.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、40.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、80.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的硒标准系列溶液。

1.2.3.2 样品消化液和硒标准系列溶液的处理 取 30.00 ml 菊花样品消化液,加入 12.00 ml 浓盐酸,再加入 6.00 ml 铁氰化钾溶液,混匀待测。硒标准系列溶液的处理与样品消化液相同。

1.2.3.3 测定流程 开机后先预热 30 min,然后调节气压至 0.5 MPa,设置载气流速为 400 ml/min,屏蔽气流速为 900 ml/min,原子化器高度为 8 mm。优化光电倍增管的负高压和激发光源的灯电流。将 5% 盐酸溶液装入载流瓶,将不同浓度的硼氢化钠溶液装入还原剂瓶。测定方式选择标准曲线法,读数模式选择峰面积。

1.2.4 数理统计与系统适应性实验方法 采用单因素试验和正交试验优化负高压、灯电流和硼氢化钠质量分数 3 个重要参数。按照 Zhang 等^[22]的方法进行系统适应性试验,配制质量浓度分别为 10.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、20.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、40.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、80.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的硒标准系列溶液,测定荧光值,每个质量浓度设 5 个重复,以硒标准溶液质量浓度和荧光值的平均值绘制标准曲线,并测定检出限(LOD)、定量限(LOQ)、回收

率和精密度等。使用 SPSS 17.0 软件进行方差分析和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 负高压对荧光值的影响 光电倍增管是原子荧光光度计的检测器,其两端的负高压越大,荧光值就越大,但是噪声也越大^[16]。为了优化负高压参数,对不同负高压条件下的荧光值以及标准曲线的相关系数(r)进行了比较研究。由图 1 可见,在灯电流为 80 mA、硼氢化钠质量分数为 2.0%的条件下,随着负高压的增大,荧光值不断增大。由表 1 可知,在试验负高压范围内, r 随着负高压的增加而呈现出先增大后减小的趋势。当负高压为 300 V 时, r 最高(0.999 2)。负高压过低,荧光值偏低;负高压过高, r 偏低,这可能与暗电流、噪音等的影响有关。为此,将负高压控制在 300 V 左右较为适宜。

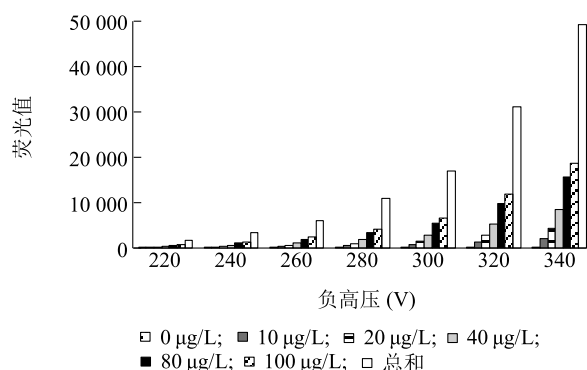


图 1 负高压对荧光值的影响

Fig.1 Effect of negative high voltage on fluorescence value

表 1 不同负高压条件下的标准曲线方程与相关系数

Table 1 Standard curve equation and the correlation coefficient (r) under different negative high voltages

负高压(V)	标准曲线方程	相关系数(r)
220	$Y=6.33x+13.65$	0.997 3
240	$Y=12.46x+28.91$	0.997 2
260	$Y=23.11x+33.63$	0.995 0
280	$Y=41.20x+118.27$	0.998 3
300	$Y=64.75x+122.63$	0.999 2
320	$Y=118.20x+248.95$	0.998 1
340	$Y=187.37x+415.55$	0.997 6

x 为硒标准溶液质量浓度, Y 为荧光值。

2.1.2 灯电流对荧光值的影响 原子荧光光度计

激发光源的发射强度受到灯电流的影响。在一定范围内,荧光值随灯电流的增大而增大,但是灯电流过大时可能出现自吸现象,缩短激发光源的寿命^[17]。由图 2 可见,在负高压为 300 V、硼氢化钠质量分数为 2.0%的条件下,随着灯电流的增大,硒标准溶液各质量浓度所对应荧光值的总和也不断增大。但是,质量浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液在 85 mA 时的荧光值小于在 80 mA 时的荧光值,可能是因为激发光源出现了自吸现象。由表 2 可知,在试验的灯电流范围内,标准曲线方程的 r 均较高。因此,将灯电流调整在 80 mA 左右较为合适。

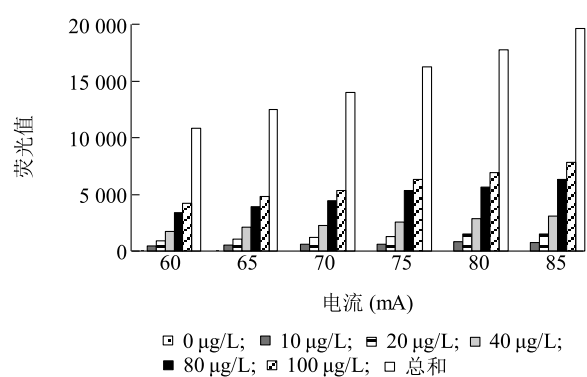


图 2 灯电流对荧光值的影响

Fig.2 Effect of lamp current on fluorescence value

表 2 不同灯电流条件下的标准曲线方程与相关系数

Table 2 Standard curve equation and its correlation coefficient (r) under different lamp current conditions

灯电流(mA)	标准曲线方程	相关系数(r)
60	$Y=42.04x+50.92$	0.999 6
65	$Y=47.48x+104.43$	0.998 5
70	$Y=53.51x+100.23$	0.998 6
75	$Y=64.75x+12.02$	0.998 5
80	$Y=68.87x+93.03$	0.999 5
85	$Y=78.89x+13.52$	0.999 9

x 为硒标准溶液质量浓度, Y 为荧光值。

2.1.3 硼氢化钠质量分数对荧光值的影响 硼氢化钠作为还原剂对荧光值有直接影响。硼氢化钠质量分数过低时,难以产生足够的氢化物;硼氢化钠质量分数过高时,产生的过量氢气会稀释原子蒸汽,导致荧光值降低^[18]。在负高压为 300 V、灯电流为 80 mA 的条件下,荧光值随着硼氢化钠质量分数的增加而呈现出先增高后降低的趋势(图 3)。当硼氢化钠质量分数为 1.5% 时,荧光值总和最高;低于 1.5% 时,可能

由于氢化反应不完全,荧光值偏低;高于 1.5% 时,可能由于氢气产生过量,荧光值偏低(图 3)。由表 3 可知,在试验的硼氢化钠质量分数范围内,标准曲线方程的 r 均较高。因此,将硼氢化钠质量分数控制在 1.5% 左右较好。

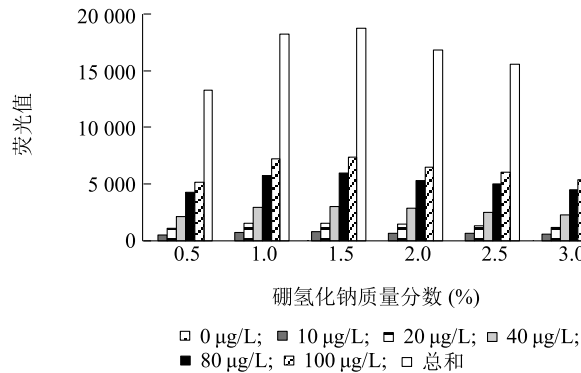


图 3 硼氢化钠质量分数对荧光值的影响

Fig.3 Effect of NaBH_4 mass fraction on fluorescence value

表 3 不同硼氢化钠质量分数条件下的标准曲线方程与相关系数

Table 3 Standard curve equation and its correlation coefficient (r) under different NaBH_4 mass fraction conditions

硼氢化钠质量分数(%)	标准曲线方程	相关系数(r)
0.5	$Y = 73.24x + 89.81$	0.999 2
1.0	$Y = 51.98x + 53.65$	0.999 2
1.5	$Y = 71.77x + 40.92$	0.999 8
2.0	$Y = 73.43x + 60.31$	0.999 8
2.5	$Y = 64.99x + 95.74$	0.999 4
3.0	$Y = 60.78x + 57.32$	0.999 0

x 为硼标准溶液质量浓度, Y 为荧光值。

2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,采用正交试验进一步优化了硼氢化钠质量分数(A)、灯电流(B)、负高压(C) 3 个参数(表 4)。由表 4、表 5 可以看出,硼氢化钠质量分数、灯电流、负高压对荧光值均有极显著影响($P < 0.01$),三者的影响次序为 $C > B > A$ 。由极差分析可知,理论优化组合为 $A_1B_3C_3$,即硼氢化钠质量分数为 1.0%、灯电流为 85 mA、负高压为 320 V。在正交试验的第 9 个试验中,对荧光值影响较大的 C 和 B 因素均处于最佳水平($A_3B_3C_3$),与理论优化组合($A_1B_3C_3$)最为接近,并且其荧光值(27 499.55)也高于正交试验的其他 8 个组合(表 4),说明理论优化组合具有较高的合理性。为了进一步验证理论优化组

合,又在该条件下测定了荧光值,发现 $A_1B_3C_3$ 的总荧光值显著高于正交试验的 9 个试验组合($P < 0.01$)。同时, r 也高达 0.999 8。因此,本研究得到的优化组合($A_1B_3C_3$)为最优测定条件。在国家标准方法中,负高压为 340 V,灯电流为 100 mA,硼氢化钠质量分数为 2.0%^[23]。同国家标准方法相比,本研究优选到的原子荧光光谱法的负高压、灯电流均较低,这有助于减小暗电流、噪音或激发光源自吸导致的误差,使测定结果更加精确,同时也有利于延长激发光源的使用寿命。此外,本方法的硼氢化钠质量分数(用量)也明显减小,有助于降低分析成本。

表 4 正交试验设计与结果

Table 4 Design and results of orthogonal test

处理号	A 硼氢化钠质量分数(%)	B 灯电流(mA)	C 负高压(V)	总荧光值(平均值)
1	1.0	75	280	9 346.95
2	1.0	80	320	26 847.23
3	1.0	85	300	19 607.38
4	1.5	75	320	24 111.57
5	1.5	80	300	16 767.15
6	1.5	85	280	11 006.68
7	2.0	75	300	13 532.03
8	2.0	80	280	9 538.11
9	2.0	85	320	27 499.55
T_1	55 801.55	46 990.55	29 891.74	
T_2	51 885.40	53 152.48	49 906.56	
T_3	50 569.70	58 113.61	78 458.35	
K_1	18 600.52	15 663.52	9 963.91	
K_2	17 295.13	17 717.49	16 635.52	
K_3	16 856.57	19 371.20	26 152.78	
R	1 743.95	3 707.69	16 188.87	

表 5 正交试验方差分析

Table 5 Variance analysis of orthogonal test

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	1.48×10^7	2	7.41×10^6	51.74	**
B	6.21×10^7	2	3.11×10^7	216.91	**
C	1.19×10^9	2	5.96×10^8	4161.44	**
误差	2.86×10^6	20	1.43×10^5		
总计	9.62×10^9	26			

A: 硼氢化钠质量分数, B: 灯电流, C: 负高压。**: 差异极显著($P < 0.05$)。

2.3 系统适应性试验

2.3.1 线性范围 以硒标准溶液质量浓度(x)为横坐标、荧光值(Y)为纵坐标绘制标准曲线,计算得到的回归方程为 $Y=116.86x+88.69$, r 为0.999 8。由表 6 可知,硒标准溶液质量浓度在 10.00~100.00 $\mu\text{g/L}$ 范围时,相对标准偏差(RSD)均低于 3.50%,说明精密度较好。

表 6 标准曲线的构建与分析

Table 6 Construction and analysis of calibration curve

硒标准溶液质量浓度 ($\mu\text{g/L}$)	荧光值 ($n=5$)	标准偏差	相对标准偏差 (RSD) (%)
10.00	1 309.66	28.32	2.16
20.00	2 498.32	79.34	3.18
40.00	4 753.31	48.93	1.03
80.00	9 308.72	120.38	1.29
100.00	11 479.76	183.60	1.60

2.3.2 检出限(LOD)、定量限(LOQ) 通常,当信噪比(S/N)为 3 时,对应的样品浓度为检出限(LOD),而当信噪比为 10 时,对应的样品浓度为定量限(LOQ)^[24]。计算结果表明,本方法的 LOD 和 LOQ 分别为 2.60 $\mu\text{g/L}$ 和 7.88 $\mu\text{g/L}$ 。实际测定发现,计算得到的 LOD 和 LOQ 符合要求,说明该方法灵敏度较高。

2.3.3 精密度和回收率 采用本方法连续 5 次测定菊花样品的硒含量,平均测定值为 17.55 $\mu\text{g/L}$, RSD 为 1.27%,说明该方法的精密度较好。在样品中添加低、中、高 3 种浓度的硒标准溶液,测得的回收率在 93.60%至 102.75%之间,平均回收率为 98.38%(表 7),符合定量分析相关要求^[24]。

表 7 菊花中硒定量分析方法的回收率

Table 7 Recovery of quantitative analysis method for selenium in *Chrysanthemum morifolium*

处理号	原含量 ($\mu\text{g/L}$)	添加量 ($\mu\text{g/L}$)	检出量 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)
1	17.55	10.00	26.91	93.60
2	17.55	40.00	57.07	98.80
3	17.55	80.00	99.75	102.75

2.4 陕西省菊花样品中硒含量的测定

由表 8 可知,陕西省市售菊花样品中的硒含量在 0.010 $\mu\text{g/g}$ 至 0.420 $\mu\text{g/g}$ 之间。不同地市菊花样品中硒元素的含量差异较大,其中安康、西安、渭南的菊花样品达到了富硒食品标准^[25-26]。根据硒含

量可将陕西省 10 个地市的菊花样品分成 4 个类群,其中安康市的菊花样品中硒含量最高(图 4)。

表 8 陕西省菊花样品中硒含量

Table 8 Contents of selenium in *Chrysanthemum morifolium* samples from different regions in Shaanxi province

编号	样品购买地点	硒含量 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)
1	延安	0.032Cc	3.31
2	汉中	0.010Ef	2.90
3	西安	0.061Bb	1.41
4	榆林	0.030Ccd	1.90
5	铜川	0.021De	3.22
6	渭南	0.058Bb	3.48
7	咸阳	0.029Cd	3.91
8	宝鸡	0.018De	2.60
9	商洛	0.020De	3.08
10	安康	0.420Aa	1.27

同列中不同大、小写字母分别表示样品间差异达到极显著 ($P<0.01$)、显著($P<0.05$)水平。

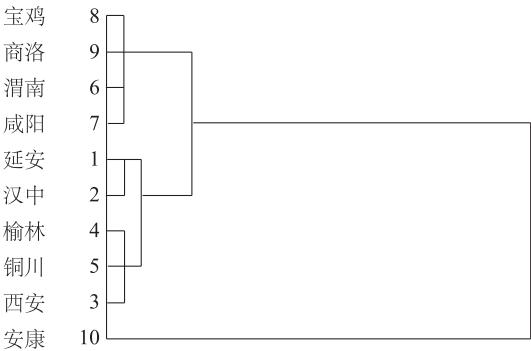


图 4 陕西省市售菊花样品硒含量的聚类分析

Fig.4 Dendrogram of hierarchical cluster analysis according to selenium contents among *Chrysanthemum morifolium* samples from Shaanxi province

3 讨论

本研究采用单因素试验和正交试验优化了负高压、灯电流、硼氢化钠质量分数 3 个原子荧光光谱测定条件,通过系统适应性试验考察了精密度、检出限(LOD)、定量限(LOQ)和回收率等指标,建立了一种精确定量分析菊花中硒含量的新方法,并运用该方法定量分析了陕西省市售菊花样品中硒元素的含量。本研究建立的氢化物原子荧光光谱法具有以下优势:1)同国家标准方法相比,该方法的负高压、灯

电流、硼氢化钾质量分数等数值较低,有助于延长激发光源的使用寿命、降低分析成本;2)系统适应性试验结果表明,该方法具有较好的精密度和准确度, LOD 和 LOQ 较低,灵敏度较高;3)在配制硒标准溶液时,使用20%盐酸溶液定容,能够更好地保护 Se^{4+} 不被氧化成 Se^{6+} ,有助于提高方法的准确度;4)未使用2,3-二氨基萘等剧毒试剂,安全环保。本研究建立的方法可用于菊花中硒含量的精确测定和富硒菊花资源的深度开发。

参考文献:

- [1] LYMBURY R S, MARINO M J, PERKINS A V. Effect of dietary selenium on the progression of heart failure in the ageing spontaneously hypertensive rat[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 54(10): 1436-1444.
- [2] HAWKES W C, KELLEY D S, TAYLOR P C. The effects of dietary selenium on the immune system in healthy men[J]. *Biological Trace Element Research*, 2001, 81(3): 189-213.
- [3] CABAÑERO A I, MADRID Y, CÁMARA C. Mercury-selenium species ratio in representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method[J]. *Biological Trace Element Research*, 2007, 119(3): 195-211.
- [4] WHANGER P D. China, a country with both selenium deficiency and toxicity: some thoughts and impressions[J]. *Journal of Nutrition*, 1989, 119(9): 1236-1239.
- [5] FAIRWEATHER-TAIT S J, BAO Y P, BROADLEY M R, et al. Selenium in human health and disease[J]. *Biochemistry of Selenium*, 2011, 14(7): 1337-1383.
- [6] SHARMA V K, MCDONALD T J, SOHN M, et al. Assessment of toxicity of selenium and cadmium selenium quantum dots: a review[J]. *Chemosphere*, 2017, 188(12): 403-413.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 310-311.
- [8] 陈翠婷, 鲁璐, 刘琪. 有机硒的定性定量分析研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26(2): 360-362.
- [9] PENG C Y, HE M, CHEN B B, et al. Magnetic sulfur-doped porous carbon for preconcentration of trace mercury in environmental water prior to ICP-MS detection[J]. *The Royal Society of Chemistry*, 2017, 142(23): 4570-4579.
- [10] MIN M, SHEN C, FANG L, et al. A functionalized cellulose regenerative microcolumn combined with ultraviolet spectrophotometry for economic detection of selenium in purple potato[J]. *The Royal Society of Chemistry*, 2016, 8(45): 8084-8091.
- [11] JAGTAP R, MAHER W. Determination of selenium species in biota with an emphasis on animal tissues by HPLC-ICP-MS[J]. *Microchemical Journal*, 2016, 124(1): 422-529.
- [12] MALEKI N, SAFAVI A, DOROODMAND M M. Determination of selenium in water and soil by hydride generation atomic absorption spectrometry using solid reagents[J]. *Talanta*, 2005, 66(4): 858-862.
- [13] GÜLER N, MADEN M, BAKIRDERE S, et al. Speciation of selenium in vitamin tablets using spectrofluorometry following cloud point extraction[J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1793-1799.
- [14] CHEN M, WU L C, YI X, et al. Tellurium speciation in a bioleaching solution by hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. *The Royal Society of Chemistry*, 2017, 9(20): 3061-3066.
- [15] ZHAO Q X, CHEN Y W, BELZILE N, et al. Low volume microwave digestion and direct determination of selenium in biological samples by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 665(2): 123-128.
- [16] 孙林超. 微波消解-氢化物原子荧光法在食用油种测定中的应用[J]. *中国粮油学报*, 2009, 24(10): 128-130, 139.
- [17] 刘丙正. 微波消解-原子荧光光谱法测定富硒精米中硒[J]. *环境卫生学杂志*, 2013, 3(2): 136-139.
- [18] 苟体忠, 唐文华, 张文华, 等. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定植物样品中的硒[J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(5): 1401-1404.
- [19] 莫海珍. 高有机硒保存率蔬菜富集和加工机理研究[D]. 无锡:江南大学, 2007.
- [20] 高建忠, 秦顺义, 黄克和. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定富硒酵母中的有机硒和无机硒[J]. *分析科学学报*, 2006, 22(2): 157-160.
- [21] SHABANI A M H, DADFARNIA S, NOZOHOR M. Indirect spectrophotometric determination of ultra trace amounts of selenium based on dispersive liquid-liquid microextraction-solidified floating organic drop[J]. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 116(116C): 1-5.
- [22] ZHANG H F, NIU L L, YANG X H, et al. Analysis of water-soluble polysaccharides in an edible medicinal plant *Epimedium*: method development, validation and application[J]. *Journal of AOAC International*, 2014, 97(3): 784-790.
- [23] 中华人民共和国卫生部. 食品中硒的测定: GB5009.93-2010[S]. 北京:中国标准出版社, 2010.
- [24] SHABIR G A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 987(1/2): 57-66.
- [25] 安康市质量技术监督局. 富硒食品硒含量分类标准: DB6124.01-2010[S]. 安康:安康市质量技术监督局, 2010.
- [26] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准-食品营养强化剂使用标准: GB14880-2012[S]. 北京:中国标准出版社, 2013.

(责任编辑:张震林)