

食品中硒的有机形态分析研究进展

王雪梅, 曹进*, 王钢力*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 硒是人体必不可少的微量元素, 不同形态的硒对人体的功能不同, 其中有机硒在抗氧化、抗癌、抗病毒、提高免疫力等方面对人体有重要作用。人体获取硒的途径主要通过膳食摄入, 如食用天然富硒食品、人工合成有机硒产品及有机硒强化剂等。市场上的富硒食品质量参差不齐, 为合理地评价食品中硒的摄入形态和水平, 对食品中硒的形态及含量的检测是近年来研究的一个重点。本文对食品中有机硒检测分离、形态分析及含量测定等进行了综述, 并对以液相萃取法和酶解法为主的分离方法, 以气相色谱-电感耦合等离子体质谱法(gas chromatography-inductively coupled plasma spectrometry, GC-ICP-MS)、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma spectrometry, HPLC-ICP-MS)、高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)以及电泳-电感耦合等离子体质谱法(capillary electrophoresis-inductively coupled plasma spectrometry, CE-ICP-MS)为主的检测方法等研究进展进行了总结, 以期对食品中有机硒的检测提供相应的理论依据, 促进食品中有机硒检测标准的发展。

关键词: 有机硒; 富硒食品; 分离检测; 形态分析

Research progress of organic selenium speciation analysis in food

WANG Xue-Mei, CAO Jin*, WANG Gang-Li*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Selenium is an indispensable trace element in the human body, which has various functions due to the different forms. Organic selenium plays an important role in the body while is anti-oxidation, anti-cancer, anti-virus, and improving immunity. The main way for human body to obtain selenium is dietary intake, such as natural selenium rich foods, synthetic organic selenium products and organic selenium fortifiers. The uneven qualities for the food products of selenium-rich on the market have been a problem to assess the reasonable level and effective of selenium in food intake, while the forms inspection and content assay of selenium in food is one of the stressed research areas for food tests in recent years. This paper summarized the separation of organic selenium in food detection, morphological analysis, and content determination, including the research progress of the separation methods of liquid phase extraction and enzymatic hydrolysis, as well as gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (GC-ICP-MS), high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma

基金项目: 国家重点研发计划资助(2017YFC1601300)

Fund: Supported by National Key R&D Program of China (2017YFC1601300)

***通讯作者:** 曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

王钢力, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品和化妆品安全检测。E-mail: duneer@163.com

***Corresponding author:** CAO Jin, Ph.D, Professor, National Institutes for Food and Drug Administration District, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

WANG Gang-Li, Ph.D, Professor, National Institutes for Food and Drug Administration District, Beijing 100050, China. E-mail: duneer@163.com

mass spectrometry (HPLC-ICP-MS), high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC/MS/MS), and electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry (CE-ICP/MS) based detection methods, in order to provide the corresponding theoretical basis for tests of organic selenium in food, which also promoting the development of organic selenium inspection methods.

KEY WORDS: organic selenium; selenium-enriched food; separation and detection; morphological analysis

1 引言

硒来源于希腊月亮女神 Serene 的名字,由瑞士化学家 Berzelius 于 1818 年发现。随后人们开始研究硒对人体的生理作用,1973 年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将硒元素规定为人体和动物体必需的微量元素。在我国,1982 年杨光沂等^[1]发现克山病原因可能是硒的摄入量过低。与我国的硒摄取实际状况相结合,1988 年中国营养家学会将微量元素硒列入我们每日必须摄入的 15 种膳食营养素之中。中国居民膳食营养素参考摄入量 2017 版^[2]规定了成人对硒的平均需要量(estimated average requirement, EAR)为 50 $\mu\text{g}/\text{d}$ 、推荐摄入量(recommended nutrient intake, RNI)为 60 $\mu\text{g}/\text{d}$ 、可耐受最高摄入量(tolerable upper intake level, UL)为 400 $\mu\text{g}/\text{d}$ 。目前我国成人每日从膳食中摄取的硒含量平均仅为 36.7 μg ^[3],低于成人的硒平均需要量 50 $\mu\text{g}/\text{d}$ 。美国成人的推荐摄入量为 55 $\mu\text{g}/\text{d}$ 。在一些欧洲国家,推荐摄入量较高:英国推荐摄入量在 60~75 $\mu\text{g}/\text{d}$;比利时的推荐摄入量为女性 60 $\mu\text{g}/\text{d}$,男性 70 $\mu\text{g}/\text{d}$;法国成人平均硒摄入量为 53.7 $\mu\text{g}/\text{d}$ ^[4]。研究认为成人每日摄取 50~200 μg 硒才能维持正常的生理机能^[3]。硒是人体必不可少的微量元素,尤其是有机硒对人体有重要作用^[4]。人体获取硒的途径主要是通过膳食摄取,因此合理地评级食品中硒的摄入形态和水平极其重要。本文对食品中有机硒检测分离、形态分析、含量测定等进行了综述,以期对食品中有机硒的健康发展提供科学依据。

2 硒的基本概况

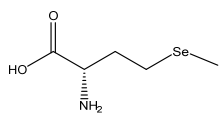
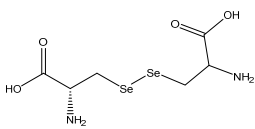
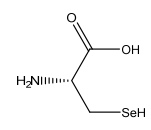
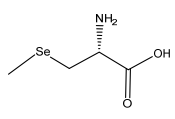
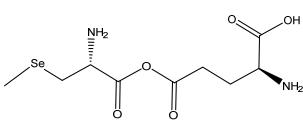
2.1 硒元素的存在形态

硒元素在自然界中大多以无机盐的形式存在,如硒酸盐和亚硒酸盐;在生物体内大多为有机硒形态,包括硒蛋白、硒代氨基酸、硒多糖以及硒核酸等,其中又以硒蛋白含量最高^[5]。目前已知存在的硒蛋白有 35 种,如谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidases, GPx),硒蛋白 K、硒蛋白 N、硒蛋白 O、硒蛋白 P、硒蛋白 W 和硒蛋白 F 等,组成含硒蛋白的硒代氨基酸包括硒代蛋氨酸(selenomethionine, SeMet)、硒甲基硒代半胱氨酸(selenomethylselenocysteine, MeSeCys)、硒代胱氨酸(selenocystine, SeCyst)、 γ -谷氨酰基-硒甲基硒代半胱氨酸等^[6]。几种硒代氨基酸的结构如表 1

所示。

表 1 常见硒代氨基酸的结构

Table 1 Structures of some of the most relevant organic selenium

名称	结构式
硒代蛋氨酸	
硒代胱氨酸	
硒代半胱氨酸	
硒甲基硒代半胱氨酸	
γ -谷氨酰基-硒甲基硒代半胱氨酸	

2.2 硒的生理活性

硒的生理活性主要包括以下几种。(1) 抗衰老。硒是体内许多酶的重要组成部分,如 GPx 和硫氧还原蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR)。TrxR 参与抗氧化防御和细胞内氧化还原调节,GPx 可催化体内的过氧化物反应,清除自由基延缓衰老^[6]。一些神经系统疾病如帕金森病、阿尔茨海默症、中风和癫痫等与体内的氧化应激有关,硒缺乏后硒依赖性酶活性降低可能是与神经系统疾病病理相关的重要因素^[7]。(2) 提高免疫力。Garousi 等^[8]发现在脾脏、肝脏和淋巴结中有大量的硒,硒刺激抗体形成和辅助 T 细胞及细胞毒性 T 细胞的活性,并刺激吞噬细胞迁移和吞噬,从而提高人体的免疫能力^[9]。(3) 抗癌。从 20 世纪开始,人们相继研究了硒缺乏对各种癌症如卵巢癌、膀胱癌、食管癌、肺癌、胃癌、胰腺癌和甲状腺癌等病理过程的影响,许多临床研究表明硒可以通过消除氧化损伤和诱变来抑制肿瘤发展^[10-12]。(4) 解毒排毒。硒蛋白可结合体内积累的铅、

镉、汞^[13]、铊、砷、锡等重金属, 形成金属-蛋白复合物排出体外起到解毒作用。Garcia 等^[14]发现硒蛋白可降低由顺铂引起的肾毒性, 顺铂与 SeMet 结合形成复合物, 最终排泄到尿液中, 由此减少动物肾脏损害。(5) 预防病毒性疾病。硒直接作用于病毒, 抑制病毒的复制, 从而预防一些病毒性疾病, 如乙肝、心肌炎等^[15]。(6) 增强生育能力。Qazi 等^[16]总结了硒蛋白对卵泡的成熟和形成及减少被氧化损伤有重要作用, 同时可通过影响甲状腺激素的产生来影响妊娠。(7) 预防心血管疾病。硒缺乏可导致动脉粥样硬化性心血管疾病发展, 其生化机制是血栓素 B₂ 增加, 血小板聚集^[17]。总之, 硒的这些生理作用对人体有很大的益处, 需要引起我们的重视, 利用好可以为人类健康提供一定保障。

2.3 有机硒与富硒食品

硒的生理功能不仅与其含量有关, 更与其存在形态相关。相对于无机硒而言, 有机硒生物活性强, 毒性低, 利于人体吸收, 所以人们常食用富含有机硒的食品来获取硒。富硒食品主要包括天然富硒食品、人工合成富硒食品以及有机硒强化剂等。

常见的天然富硒产品包括富硒大米、富硒茶叶^[5]、巴西坚果和蘑菇^[18]以及一些富硒肉类等。Rodrigo^[19]等发现不同食物来源的硒其生物利用度不同, 一般来自植物产品的硒生物利用度高于肉类产品。

人工合成的富硒产品按照生产方式分为 3 大类: 一是植物转化法生产的富硒食品, 通过富硒种子、富硒营养液或硒化肥培养富硒植物, 如富硒茶叶、富硒大蒜、富硒豆芽、富硒双孢蘑菇、富硒香菇等^[20]; 二是动物转化法生产的富硒产品, 在动物饲料中添加硒, 经动物转化成为有机硒贮存在动物体内, 如富硒鸡蛋、富硒牛奶以及富硒肉制品等^[21]; 三是微生物转化法生产的富硒产品, 通过培养富硒酵母, 利用酵母富集有机硒。

有机硒强化剂主要有富硒酵母、硒化卡拉胶(硒酸酯多糖)、硒蛋白等。Przemyslaw 等^[22]在对波兰市场上可用的 86 种硒膳食补充剂的研究中发现产品标签的硒含量声明值通常与实际不符, 对于大多数制剂, 硒含量达不到每日推荐摄入量。市场上的富硒食品质量难以保证, 急需合理的食品中有机硒形态含量检测标准, 进而有针对性地研发富含有益硒形态的食品, 这对人体健康具有重要的意义。

3 有机硒形态分析前处理技术

3.1 液相萃取法

液相萃取是目前最简单的有机硒提取方法, 萃取溶剂包括超纯水、有机溶剂、酸溶液和碱溶液^[23]。该方法适用于提取游离小分子有机硒, 操作简单、成本低, 但提取效率很低, 通常加热或超声辅助提高提取效率。但是该方

法在提取过程中可能会出现硒形态转变或有机硒的降解。Fang 等^[24]用超声辅助碱液提取富硒大米中的含硒蛋白, 结果测得硒蛋白含量为 75.61%±3.60%, 主要为 SeMet。

3.2 酶解法提取

酶解法是用酶水解样品, 使结合在蛋白质中的有机硒游离出来。常用的酶有蛋白酶 K、胃蛋白酶 XIV、胰蛋白酶等^[25]。该法应用范围较广, 既可以检测游离的硒代氨基酸, 也可以检测结合在蛋白质或多肽中的有机硒。酶解反应条件为 37 °C、pH7.0, 条件较温和, 不易引起硒形态的转变, 但耗时较长, 一般需要 12~48 h, 以保证蛋白质被充分水解。Vale 等^[26]运用超声辅助酶解技术提取硒营养强化剂中的硒化物, 耗时缩短且效率较高, 回收率达到 99%。

鉴于有机硒含量检测的目的是分析人体对其生物利用度以及吸收情况, 有研究者提出了一种体外模拟酶解提取方法, 即模拟体内胃肠的消化环境, 以胃液(含 6%的胃蛋白酶; 条件: 温度 37 °C、时间 4 h、pH2)和肠液(含 1.5%胰蛋白酶和 0.5%淀粉酶; 条件: 温度 37 °C、时间 1 h、pH 7)先后对样品进行酶解^[27]。该方法充分模拟了富硒食品在体内的消化过程, 为评价食品中有机硒的生物利用度提供了可靠的依据。Da 等^[28]用液相萃取提取巴西坚果中的有机硒, 结果显示有 SeMet 和 SeCyst, Silva 又对其进行了体外模拟酶解实验, 检测结果仅显示有 SeMet。此研究可看出人体对有机硒的真实吸收情况与体外化学提取检测方法有一定差异。

很多研究对酶解法与液相萃取的提取效率进行了比较。王欣等^[29]分别用酸浸提(0.1 mol/L 盐酸溶液)和酶解法(蛋白酶 K 和蛋白酶 XIV)对含 SeMet 的富硒玉米粉进行了提取, 结果表明酸浸提无法有效提取 SeMet, 而酶解法提取效果较好, 提取效率可达 75%。Zembruska 等^[30]分别用超声波辅助热水浸提和蛋白酶解法提取膳食补充剂中的有机硒, 结果表明: 热水单独浸提效率最低, 水浸提与酶解法联用提取效果最佳。表 2 中列举了一些研究中提取有机硒的样品前处理方法。在实际研究中酶解法普遍显示出比液相萃取法更高的提取效率和回收率, 可以开发以酶解法为主, 液相萃取法为辅的前处理方法并加以推广。

4 有机硒形态分析分离和检测技术

4.1 气相色谱-电感耦合等离子体质谱法

气相色谱法(gas chromatography, GC)以载气为流动相, 液体或固体为固定相, 利用样品的沸点和极性的差异来实现样品分离。GC 适用于分析易挥发的硒化合物。电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma spectrometry, ICP-MS)以电感耦合等离子体为离子源, 样品经高温气化成为气态离子, 进入质量分析器和检测器进行检测^[31-36]。Bueno 等^[37]用顶空-固相微萃取(headspace-solid phase

表 2 硒形态分析提取条件举例
Table 2 Examples of selenium species extractions conditions

提取方式	提取条件	样品	硒形态	参考文献
	茶粉 1 g 加入适量蒸馏水, 室温放置 3 d 浸提, 过滤, 滤液加盐酸调 pH 到蛋白质等电点, 蛋白质沉淀完全后离心(5000 r/min), 95%乙醇冲洗 2 次。	紫阳茶	硒蛋白	[31]
液相萃取	0.1 g 干燥富硒小白菜芽加入 10 mL 10%甲醇溶液, 超声 10 min, 60 °C 孵育 8 h, 5000 r/min 离心 30 min。	富硒小白菜	SeCys、MeSeCys、SeMet	[32]
	样品 0.1~1.5 g 加入 10 g 水, 涡旋混合, 50 °C 加热 1 h。	富硒膳食补充剂	MeSeCys、SeMet、硒酵母, 硒酸盐或亚硒酸盐	[33]
	100 μL 鲜牛奶加入 300 μL 乙腈, 充分涡旋后离心 5 min。	牛奶	SeMet	[34]
酶解法	0.05 g 冷冻干燥的样品与 15mg 蛋白酶 XIV-脂肪酶(2:1)和 3 mL 水混合, 超声(50 W) 2 min, 5000 r/min 离心 10 min。	富硒海藻	SeMet、SeCyst、MeSeCys	[35]
	0.2500 g 均化样品加入 3.0 mL pH 7 的 TRIS-HCl(60 mmol/L, 含 25 mg 蛋白酶 XIV 和 20 mg DTT), 37 °C 下微波 12 min(50 W), 过滤, 超纯水稀释至 10 mL 待测。	巴西坚果	SeCyst、SeMet	[36]

microextraction, HS-SPME)对尿液中微量的挥发性二甲基硒(dimethylselenide, DMSe)和二甲基二硒醚(dimethyldiselenide, DMDS)进行富集浓缩, 提高了分析效率, 用 GC-ICP-MS 方法对其进行定量检测, 检测限分别为 0.13 pg DMSe 和 0.26 pg DMDS。

4.2 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法

高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是分析硒形态最常用的分离技术, 该法适用范围较广, 可检测大多数的有机硒, 且灵敏度高、分离效率高。通过合适的接口将 HPLC 与 ICP-MS 连接, 可以实现在线分离检测。高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法比 GC 或电泳-电感耦合等离子体质谱法更适用于检测硒氨基酸的手性形态^[38]。目前研究者使用的液相色谱类型有反相离子对色谱(reversed phase-ion pair chromatography, RP-IP-HPLC)、离子交换色谱(ion exchange chromatography, IEC-HPLC)和分子排阻色谱(size exclusion chromatography, SEC-HPLC)。

4.2.1 反相离子对色谱法

RP-IP-HPLC 使用非极性固定相(如十八烷基硅烷或者辛烷基键合硅胶)和极性流动相, 通常在流动相中加入离子对试剂, 其可与样品中带电荷离子结合成电中性离子对, 减弱带电荷离子的极性, 从而与非极性固定相相互作用, 实现对不同物质的良好分离。硒形态分析中常用的离子对试剂为三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)和七氟丁酸(heptafluorobutyric acid, HFBA)^[39]。

4.2.2 离子交换色谱法

IEC-HPLC 分为阴离子交换色谱和阳离子交换色谱, 固定相常用离子交换树脂或化学键合离子交换剂, 流动相

为有一定 pH 和离子强度的缓冲溶液, 适用于分析带电荷的有机硒, 待分离样品中的带电荷离子与缓冲溶液中的离子在固定相上交换吸附完成洗脱分离。Lavru 等^[40]用阴离子交换色谱联合 ICP-MS 检测比较纯硒化合物与富硒粮食和食品补充剂在胃、小肠、结肠中的生物利用度。

4.2.3 分子排阻色谱法

SEC-HPLC 根据分子量大小进行分离, 固定相为凝胶色谱柱, 适用于硒代蛋白质和硒多肽等生物大分子的分离分析。但 SEC-HPLC 的分辨率较低, 经常与 IEC-HPLC 或 RP-IP-HPLC 串联使用。Bhatia 等^[41]研究体外模拟胃肠消化富硒平菇的水解成分, 通过 SEC-HPLC 与阴离子交换色谱法组合成二维液相色谱, 并联合 ICP-MS 对水解成分进行检测, 结果主要以 SeMet 的形态存在。Bryan 等^[42]用二维色谱 SEC-HPLC 联合 IEC-HPLC 检测心肌病相关病例的生物样品中硒蛋白含量, 进一步胰蛋白酶消化后用 RP-IP-HPLC 检测硒蛋白序列, 能够有效富集微量待测物, 提高检出率和灵敏度。

4.3 高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法

高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)的多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)分离选择性高, 灵敏度高, 适用于分析大量有机物。董亚蕾等^[43]利用该方法检测富硒口服液中 4 种硒代氨基酸, 采用多反应监测模式进行监测, 基质匹配外标法进行定量, 结果口服液中 4 种硒代氨基酸的线性关系良好($r > 0.996$), 平均回收率范围为 89.0%~104.5%, 相对标准偏差均小于 7%。

4.4 电泳-电感耦合等离子体质谱法

电泳法分为毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)和凝胶电泳(gel electrophoresis, GE)。CE以毛细管为分离通道,两端加高压直流电,通常加入缓冲溶液,根据不同组分不同的迁移速度和分配差异进行分离。适用于检测分析硒蛋白,该方法的优点为分辨率高、样品用量少、分析速度快,而且避免了使用固定相易造成的样品形态改变等。Zhao等^[44]运用CE-ICP-MS分析富硒大米中的硒形态,结果表明硒主要以SeMet存在,回收率为90%~103%。GE利用不同物质的电荷性质差异,在一定电场强度下迁移速率不同对组分进行分离。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺电泳是最常用的分离方法。

4.5 液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱法

液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱法为国家标准GB5009.93-2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》^[45]中规定的检测硒含量的方法,原理为将待测样品中的硒化合物还原为Se⁴⁺,再经硼氢化钠或硼氢化钾还原成气态硒化氢,之后经原子荧光光谱检测。该方法只适用于分析食品中总硒含量,目前第一步还原的方法有3种:微波辐照+还原剂(HBr/KBrO₄)、紫外线辐照(ultraviolet radiation, UV)、热还原模式(thermal reduction, TR)^[46]。Mazej等^[47]采用液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱法测菊苣叶片中硒化合物的含量,结果测得SeMet含量为4.2%~8.4%。

4.6 同位素稀释

同位素稀释(isotope dilution, ID)是在待测样品中加入已知丰度比的标记同位素的化合物,通过检测该比值的变化得出某形态硒的含量。Sanchez等^[48]通过高效液相色谱柱后ID-ICP-MS分析硒全白面包和硒全麦面包中的硒含量,结果分别为(1.28±0.02) μg/g和(1.16±0.02) μg/g, SeMet是富硒面包中的主要硒物种,占总硒含量的80%。

几种分离检测方法各有优缺点:GC-ICP-MS对待测物的沸点要求较为严格,相比于HPLC-ICP-MS来说,应用范围较窄,只适用于易挥发性硒化合物的检测;目前较为受欢迎的为HPLC-ICP-MS和HPLC-MS/MS,适用范围较宽且分离选择性较高、灵敏度高,但在使用固定相分离含硒化合物时可能造成样品形态改变,而使用较为温和的分离方式如CE和GE等对样品形态的破坏会降低很多。

近年来将以上几种分离检测方法结合使用的研究越来越多,Anan等^[49]将ICP-MS和电喷雾四极杆飞行时间质谱法(electrospray ionization-quadrupole-time of flight-mass spectrometry, ESI-Q-TOF-MS)互补用于分析含硒化合物,ESI-Q-TOF-MS能够轻松稳健地识别含硒化合物,分辨率高;ICP-MS灵敏度高,没有物种依赖性。Christian等^[50]使用物种特异性同位素稀释法和HPLC-ICP-MS/MS联用,准确定量血浆中的硒蛋白P,还通过离子阱质谱和HPLC-

ESI-Q-TOF-MS补充确证硒蛋白结构。Kokarnig等^[51]利用HPLC-ICP-MS和HPLC-MS/MS结合检测摄入硒补充剂后人血清和尿液中硒的形态,充分发挥了MS/MS检测的高灵敏度和准确性。

5 总结与展望

目前已颁布的检测硒含量的国家标准都为检测总硒含量的方法,没有建立对有机硒形态检测的标准检验方法,因此加快研究建立统一的硒形态分析检测标准值得关注。目前大多数检测分析手段只适用于已知有标准物质的特定形态的有机硒,无法对未知形态的硒进行有效精确的分析,因此联用一些其他手段如电喷雾质谱法(electrospray ionization-mass spectrometry, ESI-MS)和基质辅助激光解吸飞行时间质谱法(matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)等对未知形态的硒进行分析是很有必要的。鉴于市场上多数富硒产品的有机硒含量很低,甚至低于仪器方法的检测限,因此建立新的提高检测灵敏度的方法如寻找易检测的衍生物或者标记物也是其中一个发展方向。

另外,食品中硒形态分析的最终目的为分析其在人体内的生物利用情况,所以将硒形态分析与体内代谢、毒理学评价等相结合是目前发展的重要方向。

参考文献

- [1] 杨光圻, 王光亚, 殷泰安, 等. 我国克山病的分布和硒营养状态的关系[J]. 营养学报, 1982, 4(3): 191-200.
Yang GQ, Wang GY, Yin TA, *et al.* Relationship between the distribution of Keshan disease and selenium status [J]. J Nutr, 1982, 4(3): 191-200.
- [2] 中国居民膳食营养素参考摄入量 第3部分: 微量元素[S]. Dietary nutrient reference intakes for Chinese residents. Part 3: Trace elements [S].
- [3] 李宁. 富硒产品研究和发展现状[J]. 青海草业, 2016, 25(4): 46-50.
Li N. Research status and development of selenium rich products [J]. Qinghai Pratacult, 2016, 25(4): 46-50.
- [4] Thiry C, Schneider Y, Pussemier L, *et al.* Selenium bioaccessibility and bioavailability in se-enriched food supplements. biological trace element research [J]. Biol Trace Elem Res, 2013, 152(1): 152-160.
- [5] 姜能座. 富硒农产品中有机硒的分离与测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4653-4658.
Jiang NZ. Separation and determination of organic selenium in selenium-enriched agricultural products [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(14): 4653-4658.
- [6] 王婷婷. 硒的生物学作用[J]. 农家参谋, 2019, (3): 148.
Wang TT. The biological role of selenium [J]. Nongjia Canmou, 2019, (3): 148.
- [7] Agnieszka D, Anna W, Piotr W, *et al.* Selenium in the therapy of neurological diseases. Where is it going [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14(3): 282-299.
- [8] Garousi F, Domokos SÉ, Jánószky M, *et al.* Selenoamino acid-enriched

- green pea as a value-added plant protein source for humans and livestock [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2017, 72(2): 168–175.
- [9] Mehdi Y, Hornick J, Istasse L, *et al.* Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions [J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 3292–3311.
- [10] Short SP, Williams CS, Williams. Selenoproteins in tumorigenesis and cancer progression [J]. *Adv Cancer Res*, 2017, 136: 49.
- [11] Davis CD, Tsuji PA, Milner JA. Selenoproteins and cancer prevention [J]. *Annu Rev Nutr*, 2012, 32(1): 73–95.
- [12] Ekoue DN, Ansong, E, Liu L, *et al.* Correlations of selen of and selenop genotypes with serum selenium levels and prostate cancer [J]. *Prostate*, 2018, 78(4): 279–288.
- [13] Penglase S, Hamre K, Ellingsen S. Selenium prevents downregulation of antioxidant selenoprotein genes by methylmercury [J]. *Free Radical Bio Med*, 2014, 75: 95–104.
- [14] García SD, Montes BM, Blanco GE, *et al.* Reduction of cisplatin-induced nephrotoxicity *in vivo* by selenomethionine: the effect on cisplatin-DNA adducts [J]. *Chem Res Toxicol*, 2011, 24(6): 896–904.
- [15] Rayman MP. The importance of selenium to human health [J]. *Lancet*, 2000, 356(9225): 233–241.
- [16] Qazi IH, Angel C, Yang, HX, *et al.* Selenium, selenoproteins, and female reproduction: A review [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3053.
- [17] Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds [J]. *Biomed Pharmacol*, 2003, 57(3): 134–144.
- [18] Moreda PJ, Mored PA, Bermejo BP. *In vivo* and *in vitro* testing for selenium and selenium compounds bioavailability assessment in foodstuff [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2017, 57(4): 805–833.
- [19] Rodrigo S, Santamaria O, Chen Y, *et al.* Selenium speciation in malt, wort, and beer made from selenium-biofortified two-rowed barley grain [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(25): 5948–5953.
- [20] Maseko T, Callahan DL, Dunshea FR, *et al.* Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched agaricus bisporus [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3681–3687.
- [21] Zhou F, Yang, WX, Wang MK, *et al.* Effects of selenium application on Se content and speciation in lentinula edodes [J]. *Food Chem*, 2018, 265: 182–188.
- [22] Przemyslaw N, Magdalena W, Zaneta K. Selenium species in selenium fortified dietary supplements [J]. *Food Chem*, 2016, (190): 454–459.
- [23] 薛霞, 可成友, 于亮, 等. 天然有机硒的提取方法研究[J]. *亚太传统医药*, 2010, 6(1): 134–138.
Xue X, Ke CY, Yu L, *et al.* The extraction methods of natural organic selenium [J]. *Asia-Pacific Tradit Med*, 2010, 6(1): 134–138.
- [24] Fang Y, Pan X, Zhao, E, *et al.* Isolation and identification of immunomodulatory selenium-containing peptides from selenium-enriched rice protein hydrolysates [J]. *Food Chem*, 2019, 275: 696–702.
- [25] 高建忠, 黄克和. 动物硒蛋白研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2004, (7): 39–42.
Gao JZ, Huang KH. Advancements in animal selenoprotein research [J]. *Anim Husb Veter Med*, 2004, (7): 39–42.
- [26] Vale G, Rodrigues A, Rocha A, *et al.* Ultrasonic assisted enzymatic digestion (USAED) coupled with high performance liquid chromatography and electrothermal atomic absorption spectrometry as a powerful tool for total selenium and selenium species control in Se-enriched food supplements [J]. *Food Chem*, 2010, 121(1): 268–274.
- [27] Pedrero Z, Madrid Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review [J]. *Anal Chimica Acta*, 2009, 634(2): 135–152.
- [28] Da SEG, Verola MLR, Zezzi AMA. Speciation analysis of selenium in plankton, Brazil nut and human urine samples by HPLC-ICP-MS [J]. *Talanta*, 2013, 110: 53–57.
- [29] 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 X, Xing YN, Chen ZY, *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]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(11): 1669–1674.
- [30] Zembrzaska J, Matusiewicz H, Halina PM, *et al.* Simultaneous quantitation and identification of organic and inorganic selenium in diet supplements by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2014, 142: 178–187.
- [31] 谢娟平. 紫阳富硒茶中硒的赋存形态及浸出率研究[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(9): 156–159.
Xie JP. Study on the dissolved rate of selenium and combined of selenium in selenium-riched tea with hydride generation-atomic fluorescence method [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(9): 156–159.
- [32] Thosaiham W, Jitmanee K, Sittipout R, *et al.* Evaluation of selenium species in selenium-enriched pakchoi (*brassica chinensis* just var *parachinensis* (bailey) tsen & lee) using mixed ion-pair reversed phase HPLC-ICP-MS [J]. *Food Chem*, 2014, 145: 736–742.
- [33] Kubachka KM, Hanley T, Mantha M, *et al.* Evaluation of selenium in dietary supplements using elemental speciation [J]. *Food Chem*, 2017, 218: 313–320.
- [34] 何梦洁, 张双庆, 梁敏慧, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中游离硒代蛋氨酸[J]. *卫生研究*, 2016, 45(1): 65–67, 97.
He MJ, Zhang SQ, Liang MH, *et al.* Determination of free selenomethionine in cow milk by UPLC-MS/MS [J]. *J Hyg Res*, 2016, 45(1): 65–67, 97.
- [35] Sanchez RD, Mellano F, Morales E, *et al.* A simplified method for inorganic selenium and seleno aminoacids speciation based on HPLC-TR-HG-AFS [J]. *Talanta*, 2013, 106: 298–304.
- [36] Moreda PJ, Sánchez PJ, Mañana LA, *et al.* Selenium species determination in foods harvested in seleniferous soils by HPLC-ICP-MS after enzymatic hydrolysis assisted by pressurization and microwave energy [J]. *Food Res Int*, 2018, 111: 621–630.
- [37] Bueno M, Pannier F. Quantitative analysis of volatile selenium metabolites in normal urine by headspace solid phase microextraction gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2009, 78(3): 759–763.
- [38] Beibe C, Man H, Cheng Z. Chiral speciation of seleno amino acids in biological samples [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1363: 62–70.
- [39] 张涛, 吴刚, 陈春英, 等. 联用技术在植物硒形态分析中的应用[J]. *理化检验-化学分册*, 2009, 45(6): 749–760.
Zhang T, Wu G, Chen CY, *et al.* Application of hyphenation of different analytical methods to speciation analysis of selenium in plants [J]. *Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal*, 2009, 45(6): 749–760.
- [40] Lavu RVS, Van DW, Tom PVL, *et al.* Selenium bioaccessibility in

- stomach, small intestine and colon: Comparison between pure Se compounds, Se-enriched food crops and food supplements [J]. *Food Chem*, 2016, 197: 382–387.
- [41] Bhatia P, Aureli F, Amato DM, *et al.* Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified pleurotus mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues [J]. *Food Chem*, 2013, 140(1–2): 225–230.
- [42] Bryan CE, Bossart GD, Christopher SJ, *et al.* Selenium protein identification and profiling by mass spectrometry: A tool to assess progression of cardiomyopathy in a whale model [J]. *J Trace Elem Med Bio*, 2017, 44: 40–49.
- [43] 董亚蕾, 刘文婧, 曹进, 等. 超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法测定富硒食品中的硒代氨基酸[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(7): 2402–2406.
- Dong YL, Liu WJ, Cao J, *et al.* Determination of selenoaminoacid in selenium enriched foods by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(7): 2402–2406.
- [44] Zhao Y, Zheng JP, Yang MW, *et al.* Speciation analysis of selenium in rice samples by using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2011, 84(3): 983–988.
- [45] GB5009.93-2017 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S].
GB5009.93-2017 National food safety standard-Determination of selenium in food [S].
- [46] 顾浩峰. 食品中硒元素的形态分析研究进展[J]. *食品与发酵科技*, 2015, 51(2): 1–8.
- Gu HF. Advances of selenium speciation in foodstuffs [J]. *Food Ferment Technol*, 2015, 51(2): 1–8.
- [47] Mazej D, Falnoga I, Veber M, *et al.* Determination of selenium species in plant leaves by HPLC-UV-HG-AFS [J]. *Talanta*, 2006, 68(3): 558–568.
- [48] Sánchez MM, Teresa PC, Carmen C, *et al.* Preparation and characterization of a laboratory scale selenomethionine-enriched bread. Selenium bioaccessibility [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(1): 120–127.
- [49] Anan Y, Nakajima YG, Ogra Y. Complementary use of LC-ICP-MS and LC-ESI-Q-TOF-MS for selenium speciation [J]. *Anal Sci*, 2015, 31(6): 561–564.
- [50] Christian LD, Sedk AH. Accurate quantification of selenoprotein P (sepp1) in plasma using isotopically enriched seleno peptides and species-specific isotope dilution with HPLC coupled to ICP-MSMS [J]. *Anal Chem*, 2016: 1–9.
- [51] Kokarnig S, Tsirigotaki A, Wiesenhofer T, *et al.* Concurrent quantitative HPLC-mass spectrometry profiling of small selenium species in human serum and urine after ingestion of selenium supplements [J]. *J Trace Elem Med Bio*, 2015, 29: 83–90.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

王雪梅, 硕士, 主要研究方向为化妆品安全技术评价。

E-mail: wangxmsweet@163.com

曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn

王钢力, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品和化妆品安全检测。

E-mail: duneer@163.com