

环境中硒形态分析方法的研究进展

秦海波^{1,2}, 朱建明¹, 李社红¹, 雷磊^{1,2}, 尚林波³

1. 中国科学院 地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049;
3. 中国科学院 地球化学研究所 矿床地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002

摘要: 硒的形态研究是了解环境中硒的毒性、生物可利用性、迁移和生物地球化学循环等方面的基础, 其研究方法一般分为直接和间接法。本文总结了环境中硒形态的研究方法, 特别是对环境样品中常用的硒形态分析技术——连续化学浸提技术作了全面详细的讨论, 并综述了其它硒形态分析方法的最新动态。

关键词: 硒形态; 硒结合态; 连续化学浸提技术

中图分类号: P595; X132 文献标识码: A 文章编号: 1007-2802(2008)02-0180-08

Advances in the Speciation Analysis of Selenium in the Environment

QIN Hai-bo^{1,2}, ZHU Jian-ming¹, LI She-hong¹, LEI Lei^{1,2}, SHANG Lin-bo³

1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
3. State Key Laboratory of Ore Deposit Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China

Abstract: Toxicity, mobility and bioavailability of selenium are controlled by chemical speciation in the environment. Determination of Se speciation is a key aspect to understand its biogeochemistry cycle and potential environmental consequence. The speciation analysis of selenium in environmental samples, which are summarized in this paper, is commonly divided into direct or indirect method. In particular, the sequential chemical extraction technique, which was commonly applied on selenium speciation in the environment, was discussed in great details. Meanwhile, the trends of other methods were also reviewed.

Key words: selenium speciation; selenium fractionation; sequential chemical extraction technique

硒是人体和动物必需的微量元素^[1~3], 但其毒性与营养的阈值范围极窄。国际学术组织联合会 (FAO/WHO/IAEA) 建议成年男女膳食硒适宜需要量分别为 40 和 30 $\mu\text{g}/\text{日}$ ^[4]。长期食用低于 0.1 mg/kg 的含硒食物会导致人体硒缺乏反应症, 长期食用硒高于 1 mg/kg 的食物则会引起硒中毒^[5]。不同生态环境中硒的分布差异很大, 这种不均一的分布导致不同区域的生态健康效应, 如美国加州 Kesterson 水库的鸟禽^[6]、中国湖北恩施的人畜硒

中毒事件^[7], 以及中国低硒带的大骨节病、克山病等缺硒疾病^[8]。研究表明, 硒的生物可利用性不仅取决于环境介质中硒的总量, 更依赖于硒的存在形式与转化^[9~11]。因此, 环境中硒的形态研究能够为深入了解硒的生物可利用性、生物地球化学循环及其环境行为和效应等方面提供重要的信息。

根据国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 和诸多学者^[12,13]对元素形态分析的定义和理解, 硒形态分析技术可分为直接法和间接法。由于地质样

收稿日期: 2007-12-01 收到, 2008-01-23 改回

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40573050); 教育部留学回国人员科研启动项目

第一作者简介: 秦海波 (1984—), 男, 硕士研究生, 专业方向: 环境地球化学。E-mail: qinhaibo@mails.gyig.ac.cn

通讯作者: 朱建明。E-mail: zhujianming@vip.skleg.cn

品中硒形态的复杂性,难以对其进行直接定量分析,一般采用连续化学浸提技术。本文系统综述了硒形态的分析方法,重点论述了硒的连续化学浸提技术。

1 环境中硒的存在形式

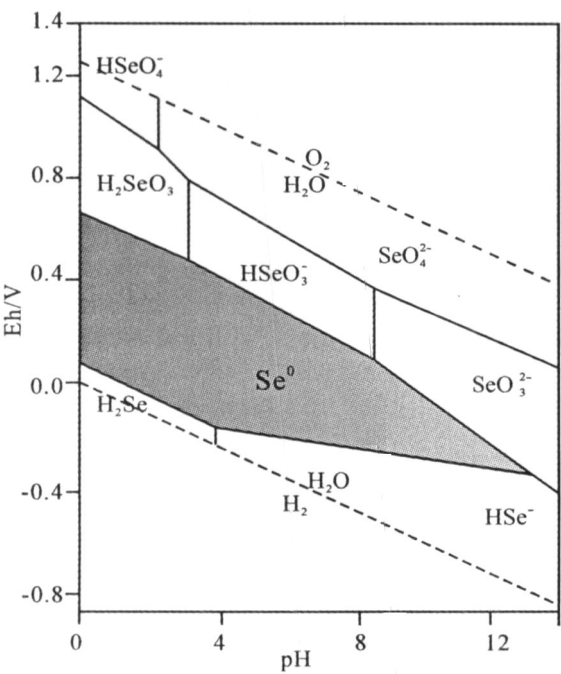
硒存在形式的早期研究主要集中于矿床学、矿物

学和环境地球化学。朱建明等^[14]于 2003 年对已发现的 107 种硒矿物进行了总结和归类,概述了表生环境中硒的存在形式。环境中硒主要以无机和有机硒形式存在(表 1)^[10~12,15],不同硒形态间会因 pH、Eh 和生物作用(如甲基化)等因素的影响而发生转变,其中 pH、Eh 是主要的影响因素。图 1 给出了常温常压下不同形态硒稳定存在的 pH-Eh 范围。

表 1 环境中主要的硒化合物^[10,15]

Table 1 The major selenium compounds in the environment		
硒化合物	化学式	存在条件
无机硒	硒化氢()	H ₂ Se 气体,不稳定,水中易分解成 Se ⁰
	硒氢化物()	Se ²⁻ 还原环境,金属硒化物,土壤中
	元素硒(0)	Se ⁰ 还原环境稳定存在,水中不溶解
	亚硒酸盐()	SeO ₃ ²⁻ 弱氧化条件,易溶解,如土壤或大气颗粒
	偏亚硒酸盐()	HSeO ₃ ⁻ 酸性或中性条件,易还原,如土壤中
	二氧化硒()	SeO ₂ 化石燃料燃烧放出的气体,易溶于水
	硒酸盐()	SeO ₄ ²⁻ 弱氧化条件,易还原,易为植物利用
	硒酸根()	SeO ₄ ²⁻ , HSeO ₄ 一般土壤环境
有机硒	二甲基硒化物(DMSe)	(CH ₃) ₂ Se 土壤中微生物、细菌形成的挥发组分
	二甲基二硒化物(DMDSe)	(CH ₃) ₂ Se ₂ 植物形成的挥发组分
	二甲基硒砷	(CH ₃) ₂ SeO ₂ DMSe 的前期还原挥发产物,由代谢形成
	三甲基硒	(CH ₃) ₃ Se ⁺ 动物代谢产物,以尿形式排放

注: 表示无机硒化合物中硒的价态; 表示该硒化合物具有挥发性



改自文献[16]

Modified from ref. [16]

图 1 常温常压下硒的 pH-Eh 图

Fig 1 Eh-pH diagram of selenium species at 25 °C, 1 atm, and ΣSe = 10⁻⁶ M

此外,生物体内还有硒代半胱氨酸 (Selenocysteine)、硒代胱氨酸 (Selenocystine)、硒代蛋氨酸 (Selenomethionine)、硒乙硫基氨基酸 (Selenothionine)、硒甲基硒代半胱氨酸 (Se-methylselenocysteine)、硒甲基硒代蛋氨酸 (Se-methylselenomethionine)、γ-谷氨酰硒甲基硒代半胱氨酸 (γ-glutamyl-Se-methylselenocysteine)、硒蛋白 (Selenoprotein) 等有机硒化合物^[15,17],对它们的分离和定量分析一般要用仪器联用技术。

2 硒形态的间接分析技术

2.1 硒连续化学浸提技术

连续化学浸提技术是一种根据物理性质(如粒度、溶解度)或化学性质(如结合状态、反应活性)的差异进行元素分类提取的元素形态分析方法^[12,13]。它不仅能为土壤、沉积物样品中元素的形态、分布、循环、转化等提供详细信息,而且如选择适宜的提取剂还能预测元素的生物可利用性。在勘查地球化学中它是寻找深部隐伏矿床的一种有效手段^[18]。

早在 20 世纪 70 年代,连续化学浸提技术就被用来分析海洋沉积物中的微量元素形态^[19],但只是分出可溶态和残留态两类。Tessier 等^[20]于 1979

年首次系统总结了浸提方案,提出了五种结合态(相态)分类的浸提方案,研究了沉积物中 Cu、Co、Ni、Cd、Pb、Zn、Fe、Mn 等金属元素的形态。然而,在用 X 射线衍射和扫描电镜技术研究模拟的沉积物或土壤^[21]后,“ Tessier 方案”的准确性和合理性受到质疑,认为提取过程中未考虑元素的再分配,也没有考虑提取剂(如 NaOCl、混合酸)可能导致的元素形态变化;指出形态分析只能给出相应结合态中元素的总浓度,而不能全面准确反映元素的形态信息。尽管连续化学浸提技术有上述缺陷,并且用于模拟自然过程(如氧化、酸化)的提取剂也与实际自然条件不同(提取剂反应更强烈、速度更快)^[22],但适宜的浸提方案仍能成功地给出元素生物可利用性的定性或半定量信息。

Cutter^[23]首次研究了沉积物和生物成因颗粒物中硒的形态(表 2)。但由于硒极易发生重新吸附,硒形态也容易受提取剂影响而发生改变^[21],传

统的金属元素浸提方案并不适用于硒。Chao 和 Sanzalone^[24]遂提出了适合硒的连续化学浸提方案,将土壤中硒划分为五种结合态(表 3),探讨了方案的有效性、准确性和实用性,指出方案的精密度好,准确度高。随后,Tokunaga 等^[25]提出了八级浸提方案,把前人方案中的 Fe-Mn 氧化物结合态拆分为易还原氧化物结合态、无定型氧化物结合态和晶体氧化物结合态(表 3),但这种分类方案并不适用于所有样品。在研究湿地生态系统沉积物中硒的形态时发现它们几乎不含碳酸盐和无定型铝硅盐结合态硒,易还原、无定型和晶体氧化态结合态硒的含量也很低^[26]。因此,碳酸盐和无定型铝硅盐结合态被剔除,三种铁氧化物的结合态硒归并为一类。他们还借鉴前人方案^[27]提取了元素态硒,考虑到强氧化剂(NaOCl)提取有机结合态硒时可能会将元素硒一并提取出来^[28],所以将其放在可吸附态之后、有机结合态提取之前。

表 2 Tessier 与 Cutter 的连续化学浸提方案

Table 2 The scheme of sequential chemical extraction of Tessier and Cutter

结合态	Tessier 方案 ^[20]	Cutter 方案 ^[23]
可交换态	1mol/L MgCl ₂ (pH = 7. 0)	1mol/L MgCl ₂ (pH = 7. 0)
碳酸盐结合态	1mol/L NaOAc/ HOAc (pH = 5. 0)	1mol/L NaOAc/ HOAc (pH = 5. 0)
Fe-Mn 氧化物结合态	0. 04mol/L NH ₂ OH · HCl + 25 % HOAc (pH = 2. 0)	0. 04mol/L NH ₂ OH · HCl + 25 % HOAc (pH = 2. 0)
有机结合态	H ₂ O ₂ / HNO ₃ (pH = 2. 0) + NH ₄ OAc	HNO ₃ + HClO ₄
残渣态	HF + HClO ₄	无此步

表 3 Tokunaga 和 Chao 的硒连续化学浸提方案

Table 3 The scheme of selenium sequential chemical extraction of Tokunaga and Chao

结合态	Tokunaga 方案 ^[25]	Chao 方案 ^[24]
水溶态	0. 25mol/L KCl	0. 25mol/L KCl
可交换态	0. 1mol/L K ₂ HPO ₄ (pH = 8. 0)	1mol/L KH ₂ PO ₄ (pH = 4. 7)
碳酸盐结合态	1mol/L NaAc (pH = 5. 0) + 0. 1mol/L K ₂ HPO ₄ (pH = 8. 0)	无此步
有机结合态	NaOCl (pH = 9. 5)	KClO ₃ + 12mol/L HCl
易还原氧化物结合态	0. 1mol/L NH ₂ OH (pH = 2) + 0. 1mol/L KOH	
无定型氧化物结合态	0. 25mol/L NH ₂ OH/ HCl (50) + 0. 1mol/L KOH	
晶体氧化物结合态	4mol/L HCl	Fe-Mn 氧化物结合态 4mol/L HCl
		15. 8mol/L HNO ₃ + 11. 7mol/L
无定型铝硅盐结合态	0. 5mol/L NaOH	残渣态 HClO ₄ + 28. 9mol/L HF

硒结合态分类时,亦应优化提取剂的选择。1997 年首次用 K₂ HPO₄- KH₂ PO₄ (pH = 7. 0) 缓冲溶液取代 KH₂ PO₄ (pH = 4. 8) 来提取可交换态硒^[28],因为后者的酸性提取可能会提前释放碳酸盐和无定型结合态硒,导致过高估计可交换态硒含量。在提取有机结合态硒时,用 K₂ S₂ O₈ 或 NaOH 取代 NaOCl,比较了

K₂ S₂ O₈ 与 NaOH 的区别,K₂ S₂ O₈ 提取效率虽高,过强的氧化性却掩盖了结合态中硒价态的信息,选用 NaOH 提取则可以有效获取有机结合态硒及其中硒价态信息。元素态硒的提取剂一般是 Na₂ SO₃^[27],最近有人改用 CS₂^[29],后者的准确性比 Na₂ SO₃ 高,但提取效率仍有待提高。硫化物或硒化物结合态硒的

释放通常采用两种方法:氧化法用 $\text{KClO}_3 + \text{HCl}$ 为提取剂^[18];还原法用 $\text{CrCl}_2 + \text{HCl}$ 为提取液^[30~32] (表 4)。对残渣态硒有人用 $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ 微波辅助消解^[33,34],有人用 LiBO_2 熔融释放^[35],有人则用 γ 光谱仪直接测定^[36]。

硒连续化学浸提方案在实践中得到应用和不断改进。有人应用连续化学浸提技术研究了 Moldova 土壤和沉积物中硒的结合态,指出地下水硒浓度过高的主要原因是人为活动^[37]。有人将水溶态与可交换态硒合并为可利用态硒,用于评估干旱-半干旱地区土壤中硒的生物可利用性,探讨了土壤硒与植物硒间的潜在关系^[38]。lim 等^[39]提出了有机质含量低、Fe-Mn 氧化物含量高土壤的硒连续化学浸提方案。他们指出 1:20 的固液比能保证结合态硒的完全提取,针对土壤有机质含量不高的特点,没有把强氧化剂作为必需的提取剂。有人针对酸性火山灰土壤 Fe、Al 含量较高的特点,提出用 NH_4Cl 、 NH_4F 、 NaCl (用于消除 NH_4F 的影响) + NaOH 分别提取水溶态硒、铝结合态硒、铁结合态硒的三步连续浸提方案,定性、定量研究土壤中硒的结合态^[40]。硒连续化学浸提技术一般局限于土壤和沉积物环境样品,也有人尝试将其应用于地质样品。如 Kulp 等^[30]利用七级浸提方案(表 4)研究了美国南达科他州和怀俄明州白垩纪富硒碳质页岩和白垩中硒的结合态。他们用“Martens 方案”提取水溶态、可交换态、有机结合态硒,用“Velinsky 和 Cutter 方案”提取元素硒和硫化物结合态硒,在元素硒提取之后,分析了碳酸盐结合态硒,提取剂为 CH_3COOH ^[25,27,28]。张忠等^[18]应用六级浸提方案研究了岩石中的结合态硒,朱建明等^[31,32]建立了用于高硒环境样品形态分析的连续化学浸提方案(表 4)。

表 4 张忠与 Kulp、朱建明连续化学浸提方案
Table 4 The scheme of selenium sequential chemical extraction of Zhang, Kulp and Zhu

结合态	张忠方案 ^[18]	Kulp、朱建明方案 ^[30~32]
水溶态	H_2O	H_2O
可交换态	0.1mol/L KH_2PO_4	0.1mol/L K_2HPO_4 - KH_2PO_4 (pH=7.0)
有机结合态	0.1mol/L $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	0.1mol/L NaOH
元素态	无此步	1mol/L Na_2SO_3 (pH=7.0)
碳酸盐结合态	4mol/L HCl	15% CH_3COOH
硫化物结合态	$\text{KClO}_3 + 12\text{mol/L HCl}$	0.5 mol/L $\text{CrCl}_2 + 3\text{mol/L HCl}$
残渣态	浓 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4 + \text{HF}$	浓 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4/\text{HF}$

上述各种浸提方案都不外乎水溶态、可交换态、Fe-Mn 氧化物结合态、碳酸盐结合态、有机结合态、元素态、硫化物结合态和残渣态等结合态的组合,或某一结合态(如 Fe-Mn 氧化物结合态)的进一步划分。

2.1.1 可利用态硒 基于生物可利用性的研究,研究者又将硒结合态归类为可利用态、潜在可利用态和不可利用态硒^[24,41]。早期研究者主要关注可利用态硒,目前有学者开始研究潜在可利用态和不可利用态硒^[30]。可利用态硒包括容易发生淋滤且易被植物吸收利用的水溶态和可交换态,潜在可利用态硒包括碳酸盐结合态和 Fe-Mn 氧化物结合态,是可利用态硒的直接来源。硫化物结合态、有机结合态和残渣态则属于不可利用态硒,但有机结合态硒中的富里酸硒容易矿化成可利用态硒,应当归属于潜在可利用态^[42,43]。元素硒的分类目前尚无定论,但依其地球化学特性,应归属于不可利用态。各结合态硒不是固定不变的,会随着时间、pH、Eh 的改变而变化。美国怀俄明州三个地区土壤的硒结合态的研究^[41]表明,硫化物与有机结合态硒风化后成为潜在可利用态硒,进而转变为可利用态硒;酸性提取态硒可缓慢转化为可交换态硒;可交换态硒则可逐渐转变为水溶态硒。Peters 等^[44]的研究表明,沉积物中有机或硫化物结合态硒会随着还原电位的增高,转变为可交换态和 Fe-Mn 氧化物结合态硒。

在研究可利用态硒时,常常一并分析硒的价态^[24,30~32,36,41]。 $\text{Se}(\text{I})$ 是植物的主要可利用态硒,但不稳定,很容易淋滤和迁移; $\text{Se}(\text{IV})$ 可被土壤颗粒高度吸附,生物可利用性相对较低;元素硒 $\text{Se}(0)$ 不溶于水,不易被植物吸收利用;有机硒则含量较低,生物可利用性也较低^[22~28,33~35]。因此,可利用态硒价态的信息对理解硒的生物可利用性和毒性有直接意义。可利用态硒的价态分析一般采用差减法^[24,28,30~32]。

2.1.2 有机结合态硒 各种结合态中,有机结合态硒所占的比例较大(约 30%~70%)^[24~39],对它的进一步研究有助于深入了解硒的分布和生物可利用性。有机结合态硒一般与腐殖质中的富里酸(FA)和胡敏酸(HA)结合,呈弱吸附、强吸附或与官能团的结合相。富里酸结构简单,既溶于酸,又溶于碱,与其结合的硒容易矿化分解为无机硒和低分子有机硒化合物,可以被植物利用;胡敏酸的结构稳定,只溶于碱,与其结合的硒难以被植物利用。因此,不少研究者将有机结合态硒区分为富里酸硒

(FA-Se)和胡敏酸硒(HA-Se)。如 Seby 等^[42]把有机结合态硒提取液(2mol/L NaOH 提取)酸化至 pH = 1.5,能溶于酸的是富里酸硒,沉淀的是胡敏酸硒,并分析了富里酸硒的价态。Coppin 等^[36]、葛晓立等^[43]也进行了类似研究,但在有机结合态硒提取剂的选择、酸化提取液所选用的酸及酸化程度等方面都有所差异。此外,也有学者用其他方法来研究硒与有机质间的关系,如用高分辨透射电镜(TEM)定性研究了不同硒矿床抽提的干酪根中的硒^[45],讨论了硒与有机质(主要是干酪根)的结合方式。但与硒结合的究竟是何种分子片段的有机质或具体的官能团,还有待进一步研究。

3 硒形态的直接分析技术

3.1 仪器分析技术

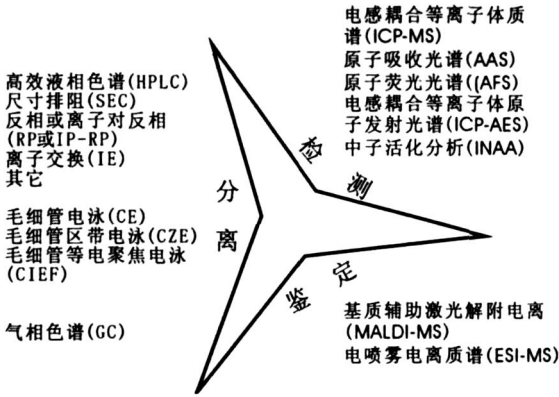
仪器分析技术可以直接分析环境样品中的硒形态。常用的有同步 X 射线荧光微探针(SXRFM)、X 射线吸收光谱(XAS)、近边 X 射线吸收精细结构谱(XANES)、扩展 X 射线吸收精细结构谱(EXAFS)、扫描电镜等。

用 SXRFM 技术对人工合成富硒土壤中硒的观察有力支持了 Se(Ⅳ)可以还原为 Se(Ⅲ)和 Se(Ⅱ)的“局部还原带模型”^[46]。用 XAS 技术研究了美国加州 Kesterson 水库受硒污染土壤和沉积物中的硒形态^[47],测定了 Se(Ⅳ)和 Se(Ⅲ),发现元素硒光谱,证实了土壤和沉积物中元素硒的存在,进一步确定元素硒为红色单斜晶元素硒^[48]。不足的是,由于有机硒的种类多样且 XAS 光谱特征相似,尚未进行详细区分。经微生物代谢的亚硒酸盐 XANES 光谱特征研究^[49]和 EXAFS 测定的元素硒的同质异形体——红硒和灰硒的研究证实了亚硒酸盐和硒酸盐发生还原反应转变为元素硒的途径。用扫描电镜、电子探针等微束分析技术对湖北恩施渔塘坝富硒碳质岩中硒的赋存状态的研究^[50,51],发现了多成因、多形态元素硒和硒铜蓝、方硒铜矿、硒银矿等矿物,首次证实了富硒碳质岩及其周围土壤中元素硒的存在。

3.2 仪器联用技术

近年来,分离技术与检测、鉴定技术的联用(图 2),使硒形态准确定量分析成为可能,使硒形态的研究深入一步。

3.2.1 分离技术 GC、HPLC 和 CE 是硒形态分析中常用的分离技术。GC 的最大优点是分离速度快,与检测或鉴定技术联用方便,适用于挥发性硒化合物(如表 1 中的 DMSe、DMDSe 等)的分析;非挥发性硒



改自文献[52]

Modified from ref. [52]

图 2 硒形态分析的联用技术

Fig 2 Hyphenated techniques in the analysis of selenium speciation

化物则需衍化后才能分析^[53]。HPLC 不需要衍化分析物,避免了衍化过程发生的热分解,它还拥有更多的可调节因素(如固定相流动相)和更好的分离重现性,它是最常用的分离方法^[52,54,55]。CE 是近十年发展起来的一项分离技术,以分析时间短、样品量少、分辨率高等优点而广泛应用于环境和生物样品的硒分离^[52,55,56],但较高的检测限和缓冲溶液对硒形态的影响不容忽视。此外,为实现复杂样品的高效分离,在用多维分离技术分离时,SEC 一般作为预分离模式,除去样品中的基体干扰,RP、IP 或 CE 则为二维或三维分离模式^[55]。

3.2.2 检测和鉴定技术 参与联用的检测技术有 AAS、ICP-AES、AFS 和 ICP-MS 等。其中 ICP-MS 的准确度和灵敏度最高,应用也相当广泛^[17,52~57]。但 ICP-MS 仪器和维持费用昂贵,操作时有光谱干扰和同位素干扰(如⁴⁰Ar⁺ 容易覆盖⁸⁰Se 的质量信号),用碰撞反应池技术和同位素稀释技术可消除干扰^[57,58]。目前与氢化物(HG)分离技术联用的 AAS、AFS 是常用的硒形态分析技术^[59],该项技术成本低廉,操作简单,结果准确可靠,已得到普及使用。ESI-MS 和 MALDI-MS 等鉴定技术不仅能对硒形态的微量和超微量分析,还能给出结构信息,这对新的硒化合物的发现和标准物质的构建有重要意义^[52,60,61]。

仪器联用技术在硒形态分析中已有大量应用^[53~61],但一般集中于含有大量复杂有机硒化合物的生物样品。同时,仪器联用技术需要很高的技术条件和昂贵的仪器联机,加上接口技术的非商业化,加大了推广的难度。

4 结 语

环境中硒形态的定性、定量分析在环境地球化学、环境科学、生命科学、食品科学领域都具有重要意义。适宜的分析技术是硒形态研究的保证,不同的硒形态分析技术应用范围不同,连续化学浸提技术主要应用于环境中硒结合态的分析,仪器联用技术则主要应用于生物样品中硒化合物的定性和定量分析,二者的结合使硒形态的研究更深入,有利于对硒生物学功能和毒性的理解。

连续化学浸提技术在环境硒形态分析中发挥着不可替代的作用。但迄今关于硒结合态的分类与浸取方案并未达成一致,不同的研究结果也难以相互比较^[39]。由于标准、统一的浸提方案存在理论上的不可行性,不可能适用于各种环境样品。因此寻求标准参考物质、选择最有效的提取剂、选用最佳的实验条件参数已为当务之急。欧洲共同体标准物质局(BCR)标准流程的构建和标准物质的开发是一个成功的范例^[62],而与仪器分析技术相结合的形态研究则是一个新的发展方向。

参考文献(References):

- [1] Rayman M P. The importance of selenium to human health [J]. *The Lancet*, 2000, 356: 233 - 241.
- [2] Ellis D R, Salt D E. Plant, selenium and human health[J]. *Curr. Opin Plant Bio.*, 2003, 6: 273 - 279.
- [3] Sors T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants[J]. *Photosynth Res.*, 2005, 86: 373 - 389.
- [4] 杨光圻, 顾履珍. 微量元素硒的人体需要量和安全摄入量范围[J]. *生理科学进展*, 1992, 23: 184 - 186.
Yang Guangqi, Gu L ŷhen. Body requirement and safe ranges of allowance of selenium[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 1992, 23: 184 - 186. (in Chinese)
- [5] Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. Selenium speciation from food source to metabolites: A critical review[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, 386: 1304 - 1323.
- [6] Weres O, Jaouni A R, Tsao L. The distribution, speciation and geochemical cycling of selenium in a sedimentary environment, Kesterson Reservoir, California, USA[J]. *Appl. Geochem.*, 1989, 4(6): 543 - 563.
- [7] 毛大钧, 苏宏灿, 严良英, 汪永鑫, 俞心田. 鄂西自治州硒中毒流行病学调查分析[J]. *中国地方病学杂志*, 1990, 9(5): 311 - 314.
Mao Dajun, Sun Hongcan, Yan Liangying, Wang Yongxin, Yu Xintian. Investigation of Se poisoning epidemic in south-west Hubei, China [J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 1990, 9(5): 311 - 314. (in Chinese with English abstract)
- [8] 地理研究所环境与地方病研究组. 我国低硒带和克山病、大骨节病病因研究[J]. *中国科学院院刊*, 1988, 1: 54 - 60.
The group of environment and endemic, institute of geography. Research on low selenium belt and the reasons of Keshan and Kaschin-Beck disease in China[J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 1988, 1: 54 - 60. (in Chinese)
- [9] Hartikainen H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health[J]. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2005, 18: 309 - 318.
- [10] Frankanberger W T, Benson S. Selenium in the environment [M]. New York: Marcel Dekker, Inc., 1994: 1 - 416.
- [11] 彭安, 王子健, Whanger P, Combs G F, Yeh J Y. 硒的环境生物无机化学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995: 1 - 204.
Peng An, Wang Zijian, Whanger P D, Combs G F, Yeh J Y. The environment biology inorganic chemistry of selenium [M]. Beijing: Chinese Environment Science Press, 1995: 1 - 204. (in Chinese)
- [12] Templeton D M, Ariese F, Cornelis R, Danielsson L G, Muntau H, Leeuwen H V, Lobinski A R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: Definitions, structural aspects, and methodological approaches[J]. *Pure Appl. Chem.*, 2000, 72: 453 - 1470.
- [13] 何红蓼, 李冰, 杨红霞, 倪哲明. 环境样品中痕量元素的化学形态分析——分析技术在化学形态分析中的应用[J]. *岩矿测试*, 2005, 24: 51 - 58.
He Hongliao, Li Bing, Yang Hongxia, Ni Zheming. Trace elemental speciation in environmental samples I analytical techniques applied in chemical speciation[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2005, 24: 51 - 58. (in Chinese with English abstract)
- [14] 朱建明, 梁小兵, 凌宏文, 王明仕, 汪福顺, 刘世荣. 环境中硒存在形式的研究现状[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2003, 22: 73 - 81.
Zhu Jianming, Liang Xiaobing, Ling Hongwen, Wang Mingshi, Wang Fushun, Liu Shirong. Advances in studying occurrence modes of selenium in environment [J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2003, 22: 73 - 81. (in Chinese with English abstract)
- [15] 徐辉碧, 黄开勋. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1994: 1 - 383.
Xu Huibi, Huang Kaixun. Chemistry, biochemistry and application in life sciences of selenium [M]. Wuhan: Central China Univ. Sci. Tech. Press, 1994: 1 - 383. (in Chinese with English abstract)
- [16] S ōy F, Potin- Gautier M, Giffaut E, Borge G, Donard O F X. A critical review of thermodynamic data for selenium species at 25 [J]. *Chem. Geol.*, 2001, 171: 173 - 194.
- [17] Hymer C B, Caruso J A. Selenium speciation analysis using inductively coupled plasma-mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr.*, 2006, 1114: 1 - 20.
- [18] 张忠, 周丽沂, 张勤. 地球化学样品中硒的循序提取技术[J]. *岩矿测试*, 1997, 16(4): 255 - 261.
Zhang Zhong, Zhou Liyi, Zhang Qin. Speciation of selenium

- in geochemical samples by partial dissolution technique[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 1997, 16(4): 255 - 261. (in Chinese with English abstract)
- [19] Chester R, Hughes M J. A chemical technique for the separation of ferro-manganese minerals, Carbonate minerals and adsorbed trace elements from pelagic sediments [J]. *Chem. Geol.*, 1967, 2: 249 - 262.
- [20] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Anal. Chem.*, 1979, 51(7): 344 - 351.
- [21] Kheboian C, Bauer C F. Accuracy of selective extraction procedures for metal speciation in model aquatic sediments [J]. *Anal. Chem.*, 1987, 59: 1417 - 1423.
- [22] Cappuyns V, Swennen R, Nicaes M. Application of the BCR sequential extraction scheme to dredged pond sediments contaminated by Pb-Zn mining: A combined geochemical and mineralogical approach[J]. *J. Geochem. Explor.*, 2007, 93: 78 - 90.
- [23] Cutter G A. Determination of selenium speciation in biogenic particles and sediments[J]. *Anal. Chem.*, 1985, 57: 2951 - 2955.
- [24] Chao T T, Sanzalone R F. Fractionation of soil selenium by sequential partial dissolution [J]. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1989, 53: 385 - 392.
- [25] Tokunaga T K, Douglas S, Benson S M, Yee A W, Oldfather J M, Duckart E C, Johannis P W, Halvorsen K E. Soil selenium fractionation, depth profiles and time trends in a vegetated site at Kesterson Reservoir[J]. *Water Air Soil Pollution*, 1991, 57/58: 31 - 41.
- [26] Zhang Y Q, Moore J N. Selenium fractionation and speciation in a wetland system[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, 30: 2613 - 2619.
- [27] Velinsky D J, Cutter G A. Determination of elemental selenium and pyrite-selenium in sediments [J]. *Anal. Chim. Acta*, 1990, 235: 419 - 425.
- [28] Martens D A, Suarez D L. Selenium speciation of soil/ sediment determined with sequential extractions and hydride generation atomic absorption spectrophotometry [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, 31: 133 - 139.
- [29] Chen Y W, Li L, D'Ulivo A, Belzile N. Extraction and determination of elemental selenium in sediment - A comparative study [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2006, 577: 126 - 133.
- [30] Kulp T R, Pratt L M. Speciation and weathering of selenium in Upper Cretaceous chalk and shale from South Dakota and Wyoming, USA[J]. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2004, 68(18): 3687 - 3701.
- [31] 朱建明, 秦海波, 李璐, 魏中青, 雷磊, 苏宏灿. 高硒环境样品中硒的形态分析方法[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2007, 26: 209 - 213.
- Zhu Jianming, Qin Haibo, Li Lu, Wei Zhongqing, Lei Lei, Su Hongcan. The method for analysis state of selenium in Se-rich environmental samples[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2007, 26: 209 - 213. (in Chinese with English abstract)
- [32] 朱建明, 秦海波, 罗泰义, 李璐, 苏宏灿. 西南寒武、二叠系富硒碳质岩中硒结合态的比较研究[J]. *高校地质学报*, 2007, 13: 69 - 74.
- Zhu Jianming, Qin Haibo, Luo Taiyi, Li Lu, Su Hongcan. A comparative study of selenium fractionation in Se-rich carbonaceous rock of lower Cambrian and Permian in southwest China[J]. *Geological Journal of China Universities*, 2007, 13: 69 - 74. (in Chinese with English abstract)
- [33] Bujdos M, KubovJ, Streko V. Problems of selenium fractionation in soil rich in organic matter[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2000, 408: 103 - 109.
- [34] Bujdos M, MuovA, KubovJ, MedvedJ. Selenium fractionation and speciation in rocks, soils, waters and plants in polluted surface mine environment [J]. *Environ. Geology*, 2005, 47: 353 - 360.
- [35] Lussier C, Veiga V, Baldwin S. The geochemistry of selenium association with coal waste in the Elk River Valley, Canada[J]. *Environ. Geology*, 2003, 44: 905 - 913.
- [36] Coppin F, Chabrouillet C, Martin-Garin A, Balesdent J, Gaudet J P. Methodological approach to assess the effect of soil ageing on selenium behaviour: First results concerning mobility and solid fractionation of selenium[J]. *Biol. Fertil. Soils*, 2006, 42: 379 - 386.
- [37] Hannigan R E, Bogdevich O P, Izmailova D N. Selenium in soils and groundwater of Moldova [J]. *Environ. Geosci.*, 2006, 13(4): 267 - 279.
- [38] Rodriguez M J, Rivero V C, Ballesta R J. Selenium distribution in topsoils and plants of a semi-arid Mediterranean environment [J]. *Environ. Geochem. Health*, 2005, 27: 513 - 519.
- [39] Lim T T, Goh K H. Selenium extractability from a contaminated fine soil fraction: Implication on soil cleanup [J]. *Chemosphere*, 2005, 58: 91 - 101.
- [40] Nakamaru Y, Tagami K, Uchida S. Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soil [J]. *Chemosphere*, 2005, 58: 1347 - 1354.
- [41] Sharmasarkar S, Vance G F. Fractional partitioning for assessing solid-phase speciation and geochemical transformations of soil selenium[J]. *Soil Sci.*, 1995, 160(1): 43 - 55.
- [42] Soy F, Potin-Gautier M, LespE G, Astruc M. Selenium speciation in soils after alkaline extraction[J]. *Sci. Tot. Environ.*, 1997, 207: 81 - 90.
- [43] 葛晓立, 李家熙, 万国江, 张光弟, 张忠. 张家口克山病地区土壤硒的地球化学形态研究[J]. *岩矿测试*, 2000, 19(4): 254 - 258.
- Ge Xiaoli, Li Jiaxi, Wan Guojiang, Zhang Guangdi, Zhang Zhong. Geochemical speciation in soil in zhangjiakou keshan disease area[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2000, 19(4): 254 - 258. (in Chinese with English abstract)
- [44] Peters G M, Maher W A, Barford J P, et al. Selenium associations in estuarine sediments: Redox effects[J]. *Water, Air Soil Pollution*, 1997, 99: 275 - 282.

- [45] 温汉捷, 裴愉卓, 刘世荣. 硒在干酪根中的两种不同赋存状态: TEM 证据[J]. 地球化学, 2003, 32(1): 21 - 28.
Wen Hanjie, Qiu Yuzhuo, Liu Shirong. Different occurrence of selenium in kerogen: TEM evidence[J]. Geochemistry, 2003, 32(1): 21 - 28.
- [46] Tokunaga T K, Sutton S R, Bajt S. Mapping of selenium concentrations in soil, aggregates with synchrotron x-ray fluorescence microprobe[J]. Soil Sci., 1994, 158(6): 421 - 433.
- [47] Pickering I J, Brown G E, Tokunaga T K. Quantitative speciation of selenium in soil using x-ray absorption spectroscopy[J]. Environ. Sci. Technol., 1995, 29(9): 2456 - 2459.
- [48] Tokunaga T K, Pickering I J, Brown G E. Selenium transformations in ponded sediments[J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 1996, 60: 781 - 790.
- [49] Buchanan B B, Bucher J J, Carlson D E, Edelstein N M, Hudson E A, Kaltsoyannis N, Leighton T, Lukens W, Shuh D K, Nitsche H, Reich T, Roberts K, Torretto P, Woicik J, Yang W S, Yee A, Yee B C. A XANES and EXAFS investigation of the speciation of Selenite following Bacterial Metabolization[J]. Inorg. Chem., 1995, 34: 1617 - 1619.
- [50] Zhu J M, Zuo W, Liang X B, Li Shehong, Zheng Baoshan. Occurrence of native selenium in Yutangba and its environmental implications[J]. Appl. Geochem., 2004, 19(3): 461 - 467.
- [51] 朱建明, 郑宝山, 刘世荣, 李社红, 苏宏灿, 毛大钧. 多形态自然硒的首次发现及其成因初探[J]. 矿物学报, 2000, 20(4): 337 - 341.
Zhu Jianming, Zheng Baoshan, Liu Shirong, Li Shehong, Su Hongcan, Mao Dajun. Some new forms of native selenium and their genetic investigation[J]. Acta Mineralogica Sinica, 2000, 20(4): 337 - 341. (in Chinese with English abstract)
- [52] Szpunar J. Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques[J]. Analyst, 2000, 125: 963 - 988.
- [53] Gomez-Ariza J L, Velasco-Arjona A, Giraldez I, Sanchez-Rodas D, Morales E. Coupling pervaporation-gas chromatography for speciation of volatile forms of selenium in sediments[J]. Inter. J. Environ. Anal. Chem., 2000, 78(3-4): 427 - 440.
- [54] Guerin T, Astruc A, Astruc M. Speciation of arsenic and selenium compounds by HPLC hyphenated to specific detectors: A review of the main separation techniques[J]. Talanta, 1999, 50: 1 - 24.
- [55] Uden P C. Modern trends in the speciation of selenium by hyphenated techniques[J]. Anal. Bioanal. Chem., 2002, 373(6): 422 - 431.
- [56] Deng B, Feng J, Meng J. Speciation of inorganic selenium using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry with on-line hydride generation[J]. Anal. Chim. Acta, 2007, 583: 92 - 97.
- [57] Wang R Y, Hsu Y L, Chang L F, Jiang S J. Speciation analysis of arsenic and selenium compounds in environmental and biological samples by ion chromatography-inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometer[J]. Anal. Chim. Acta, 2007, 590(2): 239 - 244.
- [58] Schaumlöffel D, Lobiński R. Isotope dilution technique for quantitative analysis of endogenous trace element species in biological systems[J]. Inter. J. Mass Spectrom., 2005, 242: 217 - 223.
- [59] Capelo J L, Fernandez C, Pedras B, Santos P, Gonzalez P, Vaz C. Trends in selenium determination/speciation by hyphenated techniques based on AAS or AFS[J]. Talanta, 2006, 28: 1442 - 1447.
- [60] Kotrebai M, Tyson J F, Uden P C, Birringer M, Block E. Selenium speciation in enriched and natural samples by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-MS with perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents[J]. Analyst, 2000, 125: 71 - 78.
- [61] Rosen A L, Hieftje G M. Inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray mass spectrometry for speciation analysis: Applications and instrumentation[J]. Spectrosc. Acta Pt. B, 2004, 59: 135 - 146.
- [62] Ure A M, Quevauviller P, Muntau H, Griepink B. Speciation of heavy metals in soils and sediments - An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the commission of the European communities[J]. Int. J. Environ. Anal. Chem., 1993, 51: 135 - 151.