



中华人民共和国国家标准

GB/T 13883—2008
代替 GB/T 13883—1992

饲料中硒的测定

Determination of selenium in feeds

2008-08-01 发布

2008-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准代替 GB/T 13883—1992《饲料中硒的测定》。

本标准与 GB/T 13883 1992 相比主要变化如下：

——引入氢化物原子荧光光谱法并作为仲裁法；

——规定 2,3-二氨基萘荧光法的激发波长为 376 nm,发射波长为 520 nm。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国饲料工业协会、国家饲料质量监督检验中心(武汉)。

本标准主要起草人：何一帆、辛盛鹏、栗胜兰、徐锦萍、邹大琼、刘小敏、高丽红。

本标准于 1991 年首次发布为国家标准 GB 13883—1992。1997 年调整为非强制性标准，编号改为 GB/T 13883 1992。本次修订是该标准的第一次修订。

饲料中硒的测定

1 范围

本标准规定了配合饲料、浓缩饲料及预混合饲料中硒的测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料及预混合饲料中硒的测定。

氢化物原子荧光光谱法定量限 0.01 mg/kg; 荧光法定量限 0.02 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

GB/T 14699.1 饲料 采样(GB/T 14699.1—2005, ISO 6497:2002, IDT)

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备(GB/T 20195—2006, ISO 6498:1998, IDT)

3 第一法 氢化物原子荧光光谱法(仲裁法)

3.1 原理

试样经酸加热消化后,在盐酸介质中,将试样中的六价硒还原成四价硒,用硼氢化钠作还原剂,将四价硒在盐酸介质中还原成硒化氢,由载气带入原子化器中进行原子化,在硒空心阴极灯照射下,基态硒原子被激发至高能态,在去活化回到基态时,发射出特征波长的荧光,其荧光强度与硒含量成正比,与标准系列比较定量。

3.2 试剂

以下试剂除特别注明外,均为分析纯,水应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。

3.2.1 硝酸:优级纯。

3.2.2 高氯酸:优级纯。

3.2.3 盐酸:优级纯。

3.2.4 混合酸溶液:硝酸+高氯酸=4+1。

3.2.5 氢氧化钠:优级纯。

3.2.6 硒粉:光谱纯。

3.2.7 硼氢化钠溶液(5 g/L):称取 5.0 g 硼氢化钠(NaBH_4),溶于氢氧化钠溶液(5 g/L)中,然后定容至 1L。

3.2.8 铁氰化钾溶液(200 g/L):称取 20.0 g 铁氰化钾 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$,溶于 100 mL 水中,混匀。

3.2.9 硒标准贮备液:准确称取 100.0 mg 硒粉(3.2.6),溶于少量硝酸(3.2.1)中,加 2 mL 高氯酸(3.2.2),置沸水浴中加热 3 h~4 h 冷却后再加 8.4 mL 盐酸(3.2.3),再置沸水浴中煮 2 min,用水移入 1L 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀。其盐酸浓度为 0.1 mol/L,此贮备液浓度为每毫升含 100 μg 硒。

3.2.10 硒标准工作液:准确量取 1.00 mL 硒标准贮备液(3.2.9)于 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。此标准工作液为每毫升含 1 μg 硒。现用现配。

3.3 仪器、设备

3.3.1 分析天平:感量 0.000 1 g。

3.3.2 原子荧光光度计。

3.3.3 电热板。

3.3.4 实验室用样品粉碎机。

3.3.5 载气：氩气或氮气。

3.4 试样的制备

按 GB/T 14699.1 采样,按 GB/T 20195 制备试样,试样磨碎,通过 0.45 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存备用。

3.5 测定步骤

3.5.1 试样的处理

称取试样 2.0 g,准确到 0.000 1 g,置于 100 mL 高型烧杯内,加 15.0 mL 混合酸溶液(3.2.4)及几粒玻璃珠,盖上表面皿冷消化过夜。次日于电热板上加热,当溶液高氯酸冒烟时,再继续加热至剩余体积 2 mL 左右,切不可蒸干。冷却,再加 2.5 mL 盐酸(3.2.3),用水吹洗表面皿和杯壁,继续加热至高氯酸冒烟时,冷却,移入 50 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为试样消化液。量取 20 mL 试样消化液于 50 mL 容量瓶中,加 8 mL 盐酸(3.2.3),加 2 mL 铁氰化钾溶液(3.2.8),用水稀释至刻度,摇匀,待测。

同时在相同条件下,做试剂空白试验。

3.5.2 标准曲线的制备

分别准确量取 0.0,0.25,0.50,1.00,2.00,3.00 mL 硒标准工作液(3.2.10)于 50 mL 容量瓶中,加入 10 mL 水,加入 8 mL 盐酸(3.2.3),加 2 mL 铁氰化钾溶液(3.2.8),用水稀释至刻度,摇匀。

3.5.3 仪器参考条件

光电倍增管负高压:340 V;硒空心阴极灯电流:60 mA;原子化温度:800 ℃;炉高:8 mm;载气流速:500 mL/min;屏蔽气流速:1 000 mL/min;测量方式:标准曲线法;读数方式:峰面积;延迟时间:1 s;读数时间:15 s;加液时间:8 s;进样体积:2 mL。

3.5.4 测量

设定好仪器最佳条件,待炉温升至设定温度后,稳定 15 min~20 min 开始测量。连续用标准系列的零瓶进样,待读数稳定之后,首先进行标准系列测量,绘制标准曲线。再转入试样测量,分别测量试剂空白和试样,在测量不同的试样前进样器应清洗。测其荧光强度,求出回归方程各参数或绘制出标准曲线。从标准曲线上查得溶液中含硒量,试样中硒的测定结果按 3.6.1 计算。

3.6 分析结果的计算和表示

3.6.1 结果计算

试样中硒含量 X ,以质量分数计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V_0 \times 1\,000}{m \times V_1 \times 1\,000 \times 1\,000} = \frac{(c - c_0) \times V_0}{m \times V_1 \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c ——试样消化液中硒的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

c_0 ——试剂空白液中硒的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V_0 ——试样消化液总体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

V_1 ——分取试液的体积,单位为毫升(mL)。

测定结果用平行测定后的算术平均值表示,计算结果表示到 0.01 mg/kg。

3.6.2 重复性

在同一实验室,同一分析者对两次平行测定的结果,应符合以下相对偏差的要求:

当硒的质量分数小于或等于 0.20 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 25\%$;

当硒的质量分数大于 0.20 mg/kg 而小于 0.40 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 20\%$;

当硒的质量分数大于 0.40 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 12\%$ 。

4 第二法 2,3-二氨基萘荧光法

4.1 原理

试样经混合酸消化,使硒游离出来,在微酸性溶液中硒(Se^{4+})和 2,3-二氨基萘(DAN)生成 4,5-苯基苯并硒二唑,用环己烷直接在生成络合物的同一酸度溶液中萃取。用荧光光度计在激发波长为 376 nm、发射波长为 520 nm 条件下测定荧光强度,从而计算出试样中硒的含量。

4.2 试剂

以下试剂除特别注明外,均为分析纯,水应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。

4.2.1 高氯酸:优级纯。

4.2.2 硝酸:优级纯。

4.2.3 氨水溶液:1+1。

4.2.4 盐酸溶液: $c(\text{HCl})=3 \text{ mol/L}$ 。

4.2.5 盐酸溶液: $c(\text{HCl})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

4.2.6 环己烷:若有荧光杂质,需重新蒸后使用。

4.2.7 盐酸羟胺-乙二胺四乙酸二钠(EDTA)溶液:称取 10 g EDTA 溶于 500 mL 水中,加入 25 g 盐酸羟胺使其溶解,用水稀释至 1 L。

4.2.8 2,3-二氨基萘(DAN)溶液:称取 0.1 g DAN 于 250 mL 烧杯中,加入 100 mL 盐酸溶液(4.2.5)使其溶解,移入 250 mL 分液漏斗,加入 20 mL 环己烷(4.2.6)振荡 1 min,待分层后弃去环己烷,水相重复用环己烷处理 2 次~3 次。水相放入棕色瓶中上面加盖 1 cm 厚的环己烷,在暗处保存,此溶液可使用数周。

4.2.9 硒标准工作液:准确量取 10.0 mL 硒标准工作液(3.2.10)于 50 mL 容量瓶,用水稀释至刻度,摇匀。此标准工作液为每毫升含 0.2 μg 硒。现用现配。

4.2.10 甲酚红指示剂(0.4 g/L):称取 0.04 g 甲酚红于 150 mL 烧杯中,加少许氨水溶液(4.2.3)使其溶解后用水稀释至 100 mL,摇匀。

4.3 仪器

荧光光度计。

4.4 试样的制备

同 3.4。

4.5 测定步骤

4.5.1 试样的处理

4.5.1.1 配合饲料、浓缩饲料

称取试样 1.0 g,准确至 0.000 1 g($\text{Se} \leq 0.4 \mu\text{g}$),置入 100 mL 高型烧杯中,用水润湿试样加 10 mL 硝酸(4.2.2),加盖表面皿,放在电热板上低温加热,煮沸至硝酸体积减少到 5 mL 时,取下稍冷加入 5 mL 高氯酸(4.2.1)继续加热至高氯酸冒烟,取下稍冷,用水吹洗表面皿和杯壁,放在电热板上由低温升温至高氯酸冒烟并保持 5 min~10 min,取下冷却,加入 1 mL 水和 1 mL 盐酸溶液(4.2.4)煮沸,摇匀,放置 10 min,用水移入 50 mL 具塞比色管中[对于高含量硒样品,将消化液稀释至 100 mL 容量瓶,量取部分溶液($\text{Se} \leq 0.4 \mu\text{g}$)于 50 mL 具塞比色管中],稀释至 30 mL,加二滴甲酚红指示剂(4.2.10),用氨水溶液(4.2.3)中和至黄色,用盐酸溶液(4.2.4)中和至橙色($\text{pH} 1.5 \sim 2$),加入 3 mL 盐酸羟胺溶液(4.2.7)摇匀,加入 2 mL DAN 溶液(4.2.8),盖好塞子,摇匀,打开塞子,置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 沸水中保持 5 min。取出冷却至室温,用盐酸溶液(4.2.5)稀释至刻度,加 5 mL 环己烷(4.2.6)振荡 1 min,静置分层后,用作待测溶液。

同时在相同条件下,做试剂空白试验。

GB/T 13883—2008

4.5.1.2 预混合饲料

对于预混料样品,称取 1.0 g 样品(准确到 0.000 1 g),置入 100 mL 高型烧杯中,加入 10 mL 水和 15 mL 硝酸(4.2.2),盖上表面皿,放在电热板上低温煮沸 30 min,取下冷却,用水移入 100 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,量取部分上清液($S_e \leq 0.4 \mu\text{g}$)于 100 mL 高型烧杯中,加入 5 mL 高氯酸(4.2.1),以下按 4.5.1.1 加高氯酸后的分析步骤进行。

4.5.2 标准曲线的制备

分别准确量取 0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 mL 硒标准工作液(4.2.9),于 50 mL 具塞比色管中,加入 2 滴甲酚红指示剂(4.2.10),以下按 4.5.1.1“用氨水溶液(4.2.3)中和”后的分析步骤进行。

4.5.3 试样的测定

将待测溶液(4.5.1.1)上层的环己烷溶液吸入 1 cm 石英杯中,用荧光光度计在激发波长为 376 nm、发射波长为 520 nm 处分别测定其荧光强度,同时进行标准曲线的测定,绘制标准曲线。从标准曲线上查得溶液中含硒量,试样中硒的测定结果按 4.6.1 计算。

4.6 分析结果的计算和表示

4.6.1 结果计算

试样中硒含量 X ,以质量分数计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(2)计算。

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_0 \times 1\,000}{m_0 \times V_1 \times 1\,000} = \frac{(m_1 - m_2) \times V_0}{m_0 \times V_1} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

m_1 ——自标准曲线上查得样品的硒质量分数,单位为微克(μg);

m_2 ——自标准曲线上查得空白的硒质量分数,单位为微克(μg);

V_0 ——试液的总体积,单位为毫升(mL);

m_0 ——试样的质量,单位为克(g);

V_1 ——分取试液的体积,单位为毫升(mL)。

测定结果用平行测定后的算术平均值表示,计算结果表示到 0.01 mg/kg 。

4.6.2 重复性

在同一实验室,同一分析者对两次平行测定的结果,应符合以下相对偏差的要求:

当硒的质量分数小于或等于 0.10 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 40\%$;

当硒的质量分数大于 0.10 mg/kg 而小于 0.40 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 20\%$;

当硒的质量分数大于 0.40 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 15\%$ 。