

中华人民共和国国家标准

《饲料中硒的测定》

编制说明

（征求意见稿）

国粮武汉科学研究设计院有限公司

长沙兴嘉生物科技股份有限公司

山东新希望六和集团有限公司

2022 年 8 月

目 录

一、工作简况	1
1.1 任务来源	1
1.2 标准修订背景	1
1.3 工作过程	4
二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据	8
2.1 标准编制原则	8
2.2 主要修订内容	8
2.2.1 修改适用范围	8
2.2.2 优化前处理、增加微波消解法	8
2.2.3 增加电感耦合等离子体质谱法	9
2.3 微波消解	9
2.3.1 消解体系选择	9
2.3.2 微波消解程序	10
2.3.3 适用范围	11
2.3.4 赶酸	12
2.3.5 回收率和精密度	13
2.4 湿法消解方法选择和优化	15
2.4.1 取样质量	16
2.4.2 混合酸的使用量	17
2.4.3 湿法消解中的碳化现象及应对措施	18
2.4.4 回收率和精密度	20
2.5 氢化物发生-原子荧光光谱法和荧光分光光度法的检出限、定量限	23
2.6 电感耦合等离子体质谱法方法学研究	24
2.6.1 修订思路及条件选择	24
2.6.2 线性范围考察	25
2.6.3 典型样品 ICP-MS 质谱图考察	26
2.6.4 方法精密度和回收率考察	29
2.6.5 方法检出限和定量限	32
2.7 方法适用性考察	33
2.8 修订前后技术内容的对比	34
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果	37
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况	37
五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准	39
六、与有关法律、法规的关系	39
七、重大分歧意见的处理经过和依据	39
八、涉及专利的有关说明	39
九、贯彻国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议	39
十、其他应当说明的事项	40

一、工作简况

1.1 任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2019 年第三批推荐性国家标准计划的通知》（国标委发[2019] 29 号），本标准修订项目编号为 20193217-T-469，项目名称为《饲料中硒的测定》，项目承担单位为国粮武汉科学研究设计院有限公司[国家饲料质量检验检测中心（武汉）]、长沙兴嘉生物科技股份有限公司和山东新希望六和集团有限公司。本标准由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC76）提出并归口。

1.2 标准修订背景

硒是动物体内必需的微量元素。近年来大量资料证明。许多疾病与硒缺乏有关。硒是 1818 年瑞士化学家 Berzelius 发现的。在 20 世纪 50 年代以前，硒一直被认为是一种毒性很强的元素。1957 年，Schwarz 发现硒能使大鼠免于饮食性肝坏死，并指出硒是机体不可缺少的微量元素。硒在生物体内，尤其是动物体内发挥着十分重要的生物学功能，其中抗氧化性是硒生化作用的基础。而后，人们又发现硒的抗衰老、增强机体免疫力、促进动物生长发育等生物学特性。缺硒会造成机体免疫力降低，引起幼畜的白肌病、腹泻、水肿、肝脏坏死等疾病，从而导致动物发育迟缓、生产水平下降、繁殖力减退。畜禽缺硒已成为世界性畜牧业中的主要问题之一。

饲料是畜禽硒的良好来源，而饲料中硒的含量主要受地区土壤影响，我国 2/3 以上地区属于缺硒地区，这些地区的配合饲料中硒含量比较低，为满足畜禽生长对硒的需求，在这些缺硒和严重缺硒的地区几乎所有动物饲料中都添加硒。由于动物对硒的需要量和中毒量相差不大，一旦添加过

量便可能对动物机体造成不良影响，甚至毒害作用。因此，为了防止硒缺乏症的发生，同时又防止硒过量，需准确控制禽畜硒的摄入量，因此，能否准确测定饲料中的硒含量便至关重要。

测定硒的常用方法有 2,3-二氨基萘荧光法、氢化物发生-原子荧光光谱法、原子吸收法、比色法及电感耦合等离子体发射光谱-质谱法（ICP-MS）等，详见表 1。其中几种测定方法均有较大短板，故鲜少采用，如原子吸收法中火焰法灵敏度低；石墨炉法有严重的基体干扰；比色法虽然简便但灵敏度低。

我国现行有效饲料中硒的测定国家标准为《饲料中硒的测定》（GB/T 13883-2008），该标准中仲裁法为氢化物发生-原子荧光光谱法，方法原理是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，用硼氧化钠（钾）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。利用氢化物发生-原子荧光光谱法测定饲料中硒的含量，灵敏度高，检出限低，可以准确的测得饲料中硒的含量，为饲料中硒的添加提供可靠的数据保障。

表 1 国内外食品、饲料中硒的测定标准方法

序号	标准编号	标准名称	检测方法
1	BS EN 16159-2012	Animal feeding stuffs. Determination of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after microwave digestion (digestion with 65 % nitric acid and 30 % hydrogen peroxide) 饲料中硒的测定 微波消解-氢化物原子吸收法(HGAAS)(用 65%的硝酸和 30%的过氧化氢消解)	氢化物原子吸收法
2	ASTM D3859-2008	Standard Test Methods for Selenium in Water 水中硒含量	原子吸收分光光度法
3	ISO/TS 17379-1-2013	Water quality - Determination of selenium - Part 1: Method using hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS)水质-硒的测定.第 1 部分:氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)	氢化物发生-原子荧光光谱法
4	DIN EN 14627-2005	Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of total arsenic and selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after pressure digestion 食品-痕量元素砷和硒的测定: 高压消解-氢化物原子吸收法(HGAAS)	原子吸收分光光度法
5	ISO 20649-2015	Infant formula and adult nutritionals - Determination of chromium, selenium and molybdenum - Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)婴幼儿配方奶粉和成人营养品-铬、硒、钼的测定 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)	电感耦合等离子体质谱法
6	GB/T 13883-2008	饲料中硒的测定	氢化物发生-原子荧光光谱法 2,3-二氨基萘荧光法
7	NY/T 1945-2010	饲料中硒的测定 微波消解-原子荧光光谱法	氢化物发生-原子荧光光谱法
8	GB 5009.93 - 2017	食品安全国家标准 食品中硒的测定	氢化物发生-原子荧光光谱法 2,3-二氨基萘荧光法 电感耦合等离子体质谱法
9	SN/T 0860 - 2016	出口食品中硒的测定方法	电感耦合等离子体质谱法 2,3-二氨基萘荧光法

本次修订拟改进：氢化物发生-原子荧光光谱法、2,3-二氨基萘荧光法前处理方面：一是增加了微波消解，微波消解法虽称样量有限制,但是加热快、升温高，消解能力强，大大缩短溶样时间，采用密闭的消解罐，避免了样品中或在消解过程中形成的挥发性组分的损失，保证了测量结果的准确性。也避免了样品之间的相互污染和外部环境的污染，适于痕量及超纯分析和易挥发元素(如 Se、Hg)的检测。微波消解法试样挥发损失少，试剂带入的干扰以及受污染的情况也减少，而且相较于湿法消解，微波消解因为消化用酸较少经济对环境友好，自动化程度高可极大的简化检测人员的操作 4 等一系列优点，所以加入微波消解法；二是优化了氢化物发生-原子荧光光谱法中湿法消解前处理方法，减小实验误差，提高方法的稳定性和重复性，节省试剂和缩短检测耗时。增加电感耦合等离子体质谱法，开展样品前处理研究和方法学考察，考察方法的适用性，采用两种方法对不同饲料中硒的含量进行测定，通过添加回收实验考察方法的准确性。

通过本次修订，目的是提高饲料中硒的测定国家标准方法的准确性和稳定性，为饲料行业提供稳定、可靠的饲料中硒的测定标准方法，保障饲料产品的质量安全，促进我国饲料工业、畜牧业和水产养殖业的高质量发展。

1.3 工作过程

1.3.1 成立标准编制小组

国粮武汉科学研究设计院有限公司[国家饲料质量检验检测中心（武汉）]、长沙兴嘉生物科技股份有限公司和山东新希望六和集团有限公司接

到国家标准修订任务后，成立了标准编制小组，落实了分工。详见表 2。

表 2 标准主要起草人员和任务分工

人 员	职 称	任务分工
黄昌郡	工程师	项目负责人，负责项目全面工作
钟 芳	工程师	检测方法研究、样品检测，标准文本和编制说明编制
郭团结	工程师	检测方法研究、样品检测，标准文本和编制说明编制
王思思	高级工程师	检测方法研究、样品检测
刘小敏	副研究员	标准文本和编制说明编制、修改
张凤枰	教授级高工	标准文本和编制说明编制、修改
苏勇豪	工程师	试验条件摸索、数据整理
杨 青	高级工程师	试验方案指导、资源配置
洪双胜	工程师	检测方法研究、样品检测
邵 瑞	工程师	检测方法研究、样品检测
陈梦莹	工程师	检测方法研究、样品检测
黄逸强	高级工程师	标准文本和编制说明修改
王永强	工程师	样品准备、数据整理分析

1.3.2 标准修订技术路线和方案制定

2019 年 10 月，标准编制小组查阅了国内外有关标准文献资料，制定了标准修订内容和技术路线草案。2019 年 12 月，国粮武汉科学研究设计院有限公司[国家饲料质量检验检测中心（武汉）]在湖北省武汉市组织有关专家、主要起草人员召开标准修订项目启动会，确定标准修订的主要内容、技术路线、分工、完成时限等。

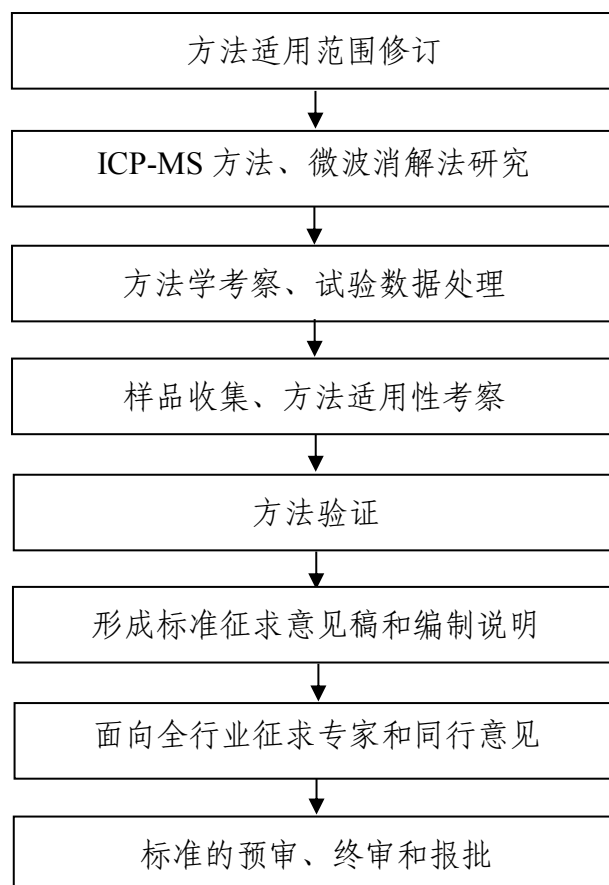


图 1 标准修订技术路线图

1.3.3 样品收集、方法学研究和实际样品检测

2020 年 1 月~2022 年 3 月，开展样品收集、方法学研究和实际样品检测。

1.3.4 编写编制说明和征求意见稿

2022 年 5 月，标准编制小组完成标准文本、编制说明定向征求意见稿编制工作。

1.3.5 标准验证和预审稿

2022 年 6 月~2022 年 7 月，标准编制小组根据所反馈的专家意见修改完善标准文本和编制说明，并邀请多家省级以上检测机构或独立第三方开展验证试验，出具验证报告。

1.3.6 标准预审

2022年8月11日,全国饲料工业标准化技术委员会饲料检测方法标准化工作组组织专家对国粮武汉科学研究设计院有限公司等单位起草的国家标准《饲料中硒的测定》(预审稿)进行了认真审查。专家组由常碧影、李祥明、罗绪刚、李云、李宏、任玉琴、霍惠玲、杨海锋、李芳、郭凤鑫10位专家组成。在听取起草专家汇报的基础上,专家组审查了标准文本及编制说明,提出如下修改意见:

- (1) 进一步优化硼氢化钾还原条件。
- (2) 进一步补充编制说明中高铜、高锌样品干扰试验数据。
- (3) 编制说明中补充准确度试验的称样量、加标浓度数据。
- (4) 进一步补充编制说明中样品测定数据的统计分析。
- (5) 补充氢化物发生-原子荧光光谱法和荧光分光光度法矿物质饲料原料的检测数据。
- (6) 补充定量限和最高限量添加回收试验数据。
- (7) 进一步考察方法消解体系对高碳酸盐蛋鸡饲料产品的适用性。
- (8) 按照 GB/T 1.1 - 2020、GB/T 20001.4 - 2015 的要求规范标准文本及编制说明。

与会专家一致同意标准起草单位按照上述意见修改形成公开征求意见稿,报全国饲料工业标准化技术委员会秘书处。

二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

2.1 标准编制原则

按照 GB/T 1.1 – 2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》、GB/T 20001.4 – 2015《标准编制规则 第 4 部分：试验方法标准》的规定和要求编写标准全文。查阅了国内外相关标准，结合现行标准实施情况，以保证标准的先进性和衔接性。在氢化物发生-原子荧光光谱法、2,3-二氨基萘荧光法方面，改进前处理方法，并添加了微波消解前处理法；新增电感耦合等离子体质谱法，以保证标准的科学性、先进性、稳定性和可靠性。

2.2 主要修订内容

2.2.1 修改适用范围

本文件描述了饲料中硒测定的氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法和电感耦合等离子体质谱法。

本文件氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和饲料原料中硒的测定，电感耦合等离子体质谱法适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料中硒的测定。

当取样量为 1g、定容体积为 50 mL 时，氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法的检出限为 0.01 mg/kg、定量限为 0.02 mg/kg；当取样量为 0.5 g、定容体积为 50 mL 时，电感耦合等离子体质谱法的检出限为 0.01 mg/kg、定量限为 0.02 mg/kg。

2.2.2 优化前处理、增加微波消解法

参考《饲料中硒的测定 微波消解-原子荧光光谱法》(NY/T 1945-2010) 重点对微波消解适用范围、微波消解条件等进行选择、考察、优化, 保证样品消化完全, 样品加标回收率符合要求, 精密度、再现性良好。

2.2.3 增加电感耦合等离子体质谱法

参考《食品安全国家标准 食品中硒的测定》(GB 5009.93-2017)、《婴幼儿配方奶粉和成人营养品-铬、硒、钼的测定 电感耦合等离子体质谱法》(ISO 20649-2015) 和《出口食品中硒的测定方法》(SN/T 0860-2016) 和有关文献, 建立饲料中硒的测定电感耦合等离子体质谱法, 选择、优化样品前处理方法、电感耦合等离子体质谱仪器参考条件, 开展方法学考察。

2.3 微波消解

2.3.1 消解体系选择

首先确认消化用酸: 硫酸沸点较高, 在密闭的条件产生高温, 聚四氟乙烯消解罐可能会被损坏; 高氯酸在高温的环境下会分解产生高压, 密闭环境下使用高氯酸消解易发生爆炸; 盐酸难以消解饲料样品中有机质。综上所述, 以上三种酸皆不适用于微波消解饲料样品。

硝酸是消解最常用的强氧化性酸, 在硝酸中加入过氧化氢可以大幅提高其氧化能力, 使得在纯硝酸体系中不能完全氧化的样品充分消解。参考《饲料中硒的测定 微波消解-原子荧光光谱法》(NY/T 1945-2010), 依然选择硝酸-过氧化氢混合液进行消解。

在消解过程中如果消解剂过多, 消解过程中会产生大量气体, 使消解罐压力过大, 产生危险, 造成泄压不利于样品测定准确性, 且赶酸时间过

长，可能造成赶酸过程中硒的损失；但倘若消解剂量不足会使得样品消解不净，难以保证消化效果。饲料样品难消解的是高油脂样品，选取鱼粉、大豆，根据消解罐的规格，在称取 0.5 g 时，消解效果如表 3 所示。

表 3 消解试剂用量的选择

消解试剂用量 (mL) V(HNO ₃) : V(H ₂ O ₂)	消解效果	
	鱼粉	大豆
6:2	有沉淀，浅棕色	无沉淀，较澄清
6:1	有沉淀，棕色	有沉淀，淡黄色
8:2	无沉淀，淡黄色	无沉淀，澄清透亮
10:2	无沉淀，淡黄色	无沉淀，澄清透亮

结果表明，消解剂为 8 mLHNO₃+2mLH₂O₂ 与 10 mLHNO₃+2mLH₂O₂ 时，样品能够完全消化，但为了减少后期赶酸过程中时间消耗和元素损失，选择 8 mLHNO₃+2 mLH₂O₂ 适宜。

2.3.2 微波消解程序

参考《饲料中硒的测定 微波消解-原子荧光光谱法》(NY/T 1945-2010) 中的微波消解程序，见表 4:

表 4 微波消解参考程序

步骤	温度 °C	升温时间 min	保持时间 min
1	80	5	5
2	110	5	5
3	180	5	10

使用该微波消解程序，利用原子荧光光谱法测定硒的含量有良好的回收率。但该消解方法，部分饲料消解不够澄清透亮，如鱼粉消解液呈现浅棕色，大豆消解液呈现淡黄色。在荧光分光光度法中“加 2 滴甲酚红指示剂 (5.2.10)，用氨水溶液 (5.2.3) 中和至黄色，用盐酸 (5.2.4) 中和至橙色

(pH 1.5 ~ 2)”即通过颜色调节 pH，该消化液因本身呈淡黄或浅棕色造成调节 pH 误差较大，实验结果重复性差。

查阅文献可知，加大消解剂用量，提高微波消解温度，延长微波消解时间可有效促进样品消解，使得消解液更澄清透亮。

加大消解剂用量，会导致消解罐压力过大，造成泄压产生危险，不利于样品测定准确性，且赶酸时间过长，可能造成赶酸过程中硒的损失；提高微波消解温度，也会导致消解罐压力过大，造成危险，且硒在高温下易挥发损失；因此，应适当延长微波消解反应时间。采取表 5 的微波消解程序，两种微波消解程序检测结果对比见表 6，部分数据缺失是因消解液不够澄清无法调节 pH 使得实验失败。

表 5 微波消解参考程序

步骤	温度 °C	升温时间 min	保持时间 min
1	80	5	5
2	110	5	5
3	180	5	25

表 6 微波消解-荧光分光光度法不同微波消解程序检测结果

样品名称	微波消解程序	测定值 (mg/kg)					平均值 (mg/kg)	RSD
鱼粉	表 4	0.826	-	-	1.160	0.992	0.993	16.70
	表 5	1.125	1.349	1.209	1.026	1.090	1.160	10.75
豆粕	表 4	0.369	0.256	-	0.329	0.219	0.293	23.23
	表 5	0.414	0.352	0.359	0.399	0.369	0.379	7.05

2.3.3 适用范围

由于微波的特性，金属如铁、铜、铝等不吸收微波，微波作用在金属

上会被反射，反射的微波对微波消解仪的磁控管有损害。饲料预混料中可能有较高含量的各类金属元素，如铁、铜、锰、锌，长期利用微波消解预混料可能会损害消解设备，且一般预混料中有机质含量较少，采用湿法消解液亦能快捷、完全地消化样品，故不推荐微波消解用于复合预混料。

微波消解的适用范围为配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和非矿物质饲料原料。

2.3.4 赶酸

根据实际操作发现，微波消解最消耗人工和时间的是赶酸步骤，鉴于国内部分实验室的实际情况，本标准选取可控温电热板为赶酸设备（采用专业的赶酸仪器更佳）。赶走的酸越少，越节省时间，也能更有效避免赶酸至烧焦的状态出现。同时考虑到如残留酸过多会腐蚀仪器，所以设定赶酸剩余量最大不宜超过 3 mL。由于硒的易挥发性，赶酸时的温度不宜过高。参考《饲料中硒的测定 微波消解-原子荧光光谱法》（NY/T 1945-2010），应用原子荧光光谱法，选取赶酸温度为 150 ℃，样品选择含硒量较高的精料补充料，以及较低的小麦，研究同一赶酸温度下，不同赶酸程度对样品加标硒含量测定的影响。

表 7 150℃精料补充料不同赶酸程度硒的含量测定结果比较

不同赶酸程度	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率 (%)	RSD (%)
赶酸至黄豆粒状	10	92.3	91.7	85.6	99.6	89.3	91.7	5.6
赶酸至 1mL	10	95.2	96.1	95.6	103.2	96.7	97.4	3.4
赶酸至 2mL	10	96.3	85.1	107.2	95.6	91.2	95.1	8.5
赶酸至 3mL	10	62.3	76.3	75.9	93.2	69.7	75.5	15.1

表 8 150 ℃小麦不同赶酸程度硒的含量测定结果比较

不同赶酸程度	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率	RSD
赶酸至黄豆粒状	0.4	72.7	68.9	72.3	92.8	109.3	83.2	20.9
赶酸至 1mL	0.4	85.7	101.3	82.6	89.4	97.1	91.2	8.6
赶酸至 2mL	0.4	112.6	85.9	96.2	94.2	89.2	95.6	10.8
赶酸至 3mL	0.4	45.2	65.9	95.9	65.1	82.4	70.9	27.1

实验结果表明当赶至烧焦至黄豆粒状时，低浓度的空白加标回收率偏低，这可能是因为硒在赶酸过程中的损失所致。赶酸至 3 mL 时，普遍回收率偏低，有可能是因为硝酸是氧化性酸，残留的硝酸较多，可能抑制在盐酸介质中，将试样中的六价硒还原成四价硒，从而导致回收率偏低，相对标准偏差过大。赶酸至 2 mL 和赶酸至 1 mL 回收率和精密度较为理想，综合经济性、便利性选取“赶酸至 2 mL”为赶酸程度。

2.3.5 回收率和精密度

采用上述微波消解方法，分别考察了微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法、微波消解-2,3-二氨基萘荧光法各类饲料样品的回收率和精密度。加标范围选择在样品浓度的 30%~150%，考察样品的精密度，另外选择了硒含量较低的饲料原料如小麦、玉米做加标回收试验考察加标量为检出限、定量限附近的回收率。

表 9 微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法回收率和精密度试验结果

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率	RSD
禽用复合预混合料	100	103.0	98.6	102.8	105.2	94.1	100.7	4.4
	50	99.2	110.6	124.7	94.0	108.4	107.4	11.0
	25	81.7	95.9	101.3	103.3	97.6	96.0	8.8

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率	RSD
玉米	0.01	91.8	96.8	85.1	93.7	99.9	93.5	6.0
	0.025	98.3	96.5	90.1	89.7	88.7	92.7	4.8
	0.05	98.0	89.7	91.1	93.1	99.0	94.2	4.4
乳猪配合饲料	0.25	81.0	96.3	108.2	86.1	97.7	93.9	11.3
	0.5	93.4	98.6	100.4	98.1	91.5	96.4	3.9
	1	97.7	90.7	93.7	92.4	91.8	93.3	2.9
鱼粉	2.5	97.6	104.4	103.7	98.9	103.3	101.6	3.1
	1	92.2	100.5	89.6	98.2	89.0	93.9	5.5
	0.5	97.0	102.6	102.1	104.2	90.3	99.2	5.7
鸡配合饲料	0.25	90.1	104.6	96.3	89.8	94.0	95.0	6.4
	0.5	93.0	93.2	88.1	85.5	90.5	90.1	3.7
	1	100.9	99.4	101.0	102.4	93.3	99.4	3.6

表 10 微波消解-荧光分光光度法回收率和精密度试验结果

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率	RSD
小麦	0.02	90.0	100.0	120.0	75.0	95.0	96.0	17.0
	0.05	86.0	98.0	92.0	78.0	96.0	90.0	9.0
玉米	0.02	135.0	105.0	90.0	110.0	75.0	103.0	21.9
	0.05	82.0	96.0	88.0	110.0	86.0	92.4	12.0
豆粕	0.2	105.0	93.5	98.0	111.5	86.0	98.8	10.0
	0.5	80.4	94.4	91.4	89.2	104.6	92.0	9.5
鸡配合饲料	0.2	101.5	102.0	86.0	97.5	112.5	99.9	9.6
	0.5	108.4	89.4	84.6	99.4	87.0	93.8	10.6
鸭配合饲料	0.2	89.5	98.5	87.0	103.5	94.0	94.5	7.1
	0.5	85.8	91.6	85.2	100.0	107.4	94.0	10.2
宠物配合饲料	0.2	98.5	106.5	95.5	89.5	97.0	97.4	6.3
	0.5	95.4	91.8	90.6	96.0	97.2	94.2	3.0
乳猪配合饲料	0.2	86.0	90.5	107.5	93.0	113.0	98.0	11.9

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率	RSD
	0.5	103.2	89.2	90.6	97.0	97.8	95.6	6.0
中猪配合饲料	0.2	98.0	106.0	89.0	104.0	90.0	97.4	8.0
	0.5	96.8	98.6	95.6	90.4	87.4	93.8	5.0
大猪配合饲料	0.2	87.5	92.0	95.0	89.0	95.0	91.7	3.7
	0.5	88.0	96.0	88.8	98.0	95.8	93.3	4.9
猪浓缩饲料	0.5	107.0	91.8	83.6	85.2	98.2	93.2	10.4
	1	91.2	88.5	101.6	91.1	96.6	93.8	5.6
精料补充料	0.5	93.8	96.4	112.0	93.2	107.6	100.6	8.6
	1	105.3	89.4	91.6	84.0	92.3	92.5	8.5
鱼粉	0.5	94.4	99.0	95.4	92.2	87.8	93.8	4.4
	1	97.9	104.3	90.5	99.0	89.2	96.2	6.5
水产配合饲料	0.5	101.4	92.0	94.0	98.2	100.4	97.2	4.2
	1	94.0	89.5	97.2	96.6	83.3	92.1	6.3

结果表明, 采用该微波消解法完成试样前处理, 氢化物发生-原子荧光光谱法中, 饲料原料、配合饲料、预混料样品的加标回收率在 88.7%~108.4% 之间, 相对标准偏差在 2.9%~11.3%之间; 2,3-二氨基萘荧光法中饲料原料、配合饲料、精料补充料样品的加标回收率在 75.0%~113.0%之间, 相对标准偏差在 3.0%~21.9%之间。各浓度梯度下加标回收率、组内加标回收率的相对标准偏差均符合 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》所规定限值。

2.4 湿法消解方法选择和优化

重点针对预混料、配合饲料、浓缩饲料、精料补充料中硒含量差异, 对前处理的称样量、混合酸的使用量进行修订, 区分了预混料与配合饲料、浓缩料、精料补充料、饲料原料的前处理方式。并结合湿法消解的实际情

况规范了操作步骤，使实验人员能更好的掌握本方法。2,3-二氨基萘荧光法
荧光法中湿法消解仍决定采用 GB/T 13883-2008 中方法。因为先用硝酸消
化，再添加高氯酸的方式比直接用混酸消化所得消化液更加澄清，这有利
于接下来调节 pH。

2.4.1 取样质量

变更了取样质量，排除了样品硒浓度高低不同所带来的结果误差。预
混料中硒含量高达 10 mg/kg~900 mg/kg，而配合饲料、浓缩料、精料补充
料中硒含量一般为 0.2 mg/kg~3 mg/kg，饲料原料中的硒含量更可低至 0.03
mg/kg，预混料中硒的浓度比饲料中硒的浓度含量高几百倍甚至上千倍，若
使用相同称样量，则检测预混料中的硒稀释倍数太大，有可能需二次甚至
三次稀释，结果偏差大。但称样量也不宜过小，部分预混料会因混合均匀
度问题，造成测量结果的相对标准偏差过大。综合考虑将原标准的预混料
取样量 2.0 g 更改为 0.5 g，可以兼顾。

表 11 湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法不同称样量的预混料检测结果

样品名称	称样量为 2g，硒含量测定值 (mg/kg)	称样量为 0.5g，硒含量测定值 (mg/kg)
仔猪 预混 料	267.15	198.64
	251.87	209.62
	232.35	193.51
	185.53	220.05
	317.35	217.73
	161.17	207.85
	152.24	194.25
	194.30	218.41
	339.85	204.38

样品名称	称样量为 2g, 硒含量测定值 (mg/kg)	称样量为 0.5g, 硒含量测定值 (mg/kg)
	168.62	192.45
平均值 (mg/kg)	227.043	205.689
RSD(%)	29.09	5.22
反刍用预混料	414.62	461.51
	499.15	485.75
	564.31	504.62
	508.8	472.05
	532.32	487.62
	449.64	492.67
	496.75	506.71
	381.08	495.48
	576.81	502.1
	569.41	518.38
平均值 (mg/kg)	499.29	492.69
RSD(%)	13.3	3.42

2.4.2 混合酸的使用量

针对预混料样品有机物含量较低的情况, 降低了混酸使用量。预混料相对玉米、配合饲料、浓缩料而言, 有机物占比少, 且预混料称样量更小, 应适当减少混合酸的添加量。通过实验表明将原标准的预混料样品混合酸添加量由 15 mL 更改为 10 mL, 亦能完全消解。减少混合酸的添加量, 不仅更加经济绿色环保, 也大大缩短样品消解时间, 提高检测效率。

表 12 湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法不同混合酸添加量的预混料检测结果

样品名称	混合酸的添加量 (15 mL) 硒含量测定值 (mg/kg)	混合酸的添加量 (10 mL) 硒含量测定值 (mg/kg)
仔猪预混料	239.78	198.64
	231.89	209.62
	241.87	193.51

样品名称	混合酸的添加量（15 mL） 硒含量测定值（mg/kg）	混合酸的添加量（10 mL） 硒含量测定值（mg/kg）
	198.21	220.05
	255.89	217.73
	176.09	207.85
	173.21	194.25
	208.67	218.41
	240.89	204.38
	198.08	192.45
平均值（mg/kg）	216.46	205.689
RSD(%)	13.61	5.22
反刍用预混料	475.12	461.51
	498.76	485.75
	510.23	504.62
	466.32	472.05
	456.33	487.62
	499.45	492.67
	541.43	506.71
	501.33	495.48
	515.23	502.1
	542.43	518.38
平均值（mg/kg）	500.66	492.69
RSD(%)	5.77	3.43

2.4.3 湿法消解中的碳化现象及应对措施

样品加入混酸，放置一段时间后轻摇混匀。于中小火力下进行加热消解，烧杯内不久开始出现反应，同时伴有气泡和棕色气体的产生。慢慢地，气泡越来越多，液体开始沸腾，同时伴有大量的棕色气体产生，此时，由于样品的成分、取样量及样品本身形态的原因将可能有较多糊状泡沫产生并不断上涌，应适时取下，在泡沫不再上涌并慢慢大致恢复至原液面时，

再继续加热，如此反复数次后，反应趋于平稳进行。然后改用中等稍大的火力，此时瓶内的棕色气体已越来越淡，消化液则呈深浅不一的黄或棕黄色并仍呈沸腾状态。渐渐地，瓶内液体不断被浓缩，同时颜色也在慢慢地发生着改变，在玻璃珠刚露出液面时，因取样量、样品的种类以及消化液的加入量和种类的不同，液体会呈无色或深浅不一的黄或棕黄色。

注意此时是消化的成功与否的关键点。当液面呈现无色或颜色很浅时可直接继续加热，但当颜色呈较深棕黄色时有并愈发变深，有变黑碳化迹象时需取下，稍冷后，补混酸继续加热，再观察颜色变化，循环反复直至液体颜色变浅，此时烧杯内液体已所剩不多，且消化接近终点，因此改用中小火力继续消化，瓶内的液体不断地减少，开始出现中等大小且浓密的气泡，随着液体继续被浓缩，气泡越来越多且细密，注意控制火力不要将溶液溅出。在某一瞬间，反应会突然剧烈起来，此时应立即取下烧杯，并轻轻摇动，若反应还在继续剧烈进行，在绝大多数情况下是要碳化了，应继续轻摇散热，防止碳化，稍冷后补加少量混酸继续消化，上述过程可能要重复数次。随着消化的进行，在某一瞬间，而且绝大多数的时候会出这样一种很特殊的现象：瓶内液面以上的内壁会突然变黄或黄绿色，颜色深浅不一，在数十秒内，一定可以看到：或出现白色烟雾，而且越来越多，黄或黄绿色越来越淡，并逐渐被浓密的白色高氯酸的烟雾所替代，大量的白色烟雾从烧杯逸出；或在液体中或液面与瓶内壁交界的边线处看到黑或褐色，此时，应立即取下，轻摇散热，防止碳化，放冷后补加少量硝酸继续消化。若样品消化时不出现上述现象，就直接产生白色高氯酸烟雾，此时液体必定无色。

综上所述，因样品有机物种类、含量各异，消解过程中的现象各有不同。有机物多，加热过程中可能出现碳化现象，消解液若开始变黑，及时移走，冷却至室温后补添 5 mL 混合酸溶液继续加热，当溶液表层有大量白烟体积约在 2 mL 左右时，即可移开；有机物少，可能添加第 1 次混合酸后就直接可消解完全，有大量白烟产生体积约在 2 mL 左右。一定要到这一步骤后才能加入 5 mL 盐酸 1:1 溶液加热至高氯酸冒白烟，切不可蒸干，冷却。否则样品就还没有消解完全，检测结果不准确。

2.4.4 回收率和精密度

采用湿法消解，分别考察了氢化物发生-原子荧光光谱法、2,3-二氨基萘荧光法各类饲料样品的回收率和精密度。

表 13 湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法回收率和精密度试验结果

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率 (%)	RSD (%)
禽用复合预混合料	2000	95.9	106.9	105.1	109.2	101.3	103.7	5.0
	1000	101.3	117.0	108.0	114.6	99.0	108.0	7.3
	500	113.4	89.4	83.6	110.2	96.7	98.7	13.1
玉米	0.2	75.9	86.5	82.6	92.6	86.9	84.9	7.3
	0.5	92.1	76.5	93.2	83.6	79.2	84.9	8.8
	1	85.6	86.6	90.6	83.5	92.1	87.7	4.1
乳猪配合饲料	5	85.3	102.3	95.6	106.1	90.7	96.0	8.8
	10	95.6	89.9	103.6	97.2	93.4	95.9	5.3
	20	104.4	102.7	90.6	89.4	91.1	95.6	7.6
鱼粉	50	97.0	102.6	102.1	92.6	90.1	96.9	5.8
	20	109.8	101.5	103.2	98.6	95.2	101.7	5.4
	10	105.6	96.8	93.2	107.0	94.4	99.4	6.5
鸡配合饲料	5	91.8	89.9	94.2	95.2	97.9	93.8	3.3

	10	93.0	93.2	88.1	85.5	90.5	90.1	3.7
	20	105.2	89.2	92.3	91.1	100.2	95.6	7.1
猪浓缩饲料	10	89.9	97.2	95.6	104.2	94.6	96.3	5.4
	20	92.3	99.5	93.1	87.6	96.2	93.7	4.8
精料补充料	10	102.8	98.2	91.6	90.9	98.1	96.3	5.2
	20	92.6	100.3	88.5	93.2	91.7	93.3	4.6

表 14 湿法消解-荧光分光光度法回收率和精密度试验结果

样品名称	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)					平均回收率 (%)	RSD (%)
小麦	0.4	55	85	115	65	85	81	28.4
	1	82	88	74	106	62	82.4	19.9
玉米	0.4	135.0	55.0	110.0	70.0	90.0	92.0	34.5
	1	76.0	102.0	68.0	74.0	86.0	81.2	16.4
豆粕	4	72	105.5	98	80	108	92.7	17.2
	10	83.2	96	94.6	99.6	87	92.1	7.3
鸡配合饲料	4	101.5	68.0	77.5	100.0	82.5	85.9	16.9
	10	109.4	91.4	83.8	90.8	86.6	92.4	10.8
鸭配合饲料	4	92	80.5	98	73.5	110.5	90.9	16.0
	10	81.8	80.4	94.2	79.6	97	86.6	9.6
宠物配合饲料	4	111.0	95.0	87.5	118.5	81.0	98.6	16.0
	10	90.4	94.0	71.2	90.6	88.6	87.0	10.4
乳猪配合饲料	4	81	108.5	96	91	106.5	96.6	11.7
	10	96.8	93	91.4	103.2	80.6	93.0	8.9
中猪配合饲料	4	103.5	83.0	93.0	90.0	86.5	91.2	8.6
	10	91.4	90.2	88.2	95.2	101.4	93.3	5.6
大猪配合饲料	4	86	89	94	93	96.5	91.7	4.6
	10	92.4	100.4	89.8	88.6	97.4	93.7	5.4
猪浓缩饲料	10	86.2	95.2	108.2	83.8	90.4	92.8	10.4
	20	89.5	97.6	86.4	102	96.1	94.3	6.7

精料补充料	10	113.0	84.2	96.8	87.6	85.0	93.3	13.0
	20	93.9	84.1	102.0	92.5	95.3	93.6	6.9
鱼粉	10	95.6	90.2	85.6	102	90.2	92.7	6.8
	20	92.8	102.4	96.4	95.2	100.3	97.4	4.0
水产配合饲料	10	88.6	90.4	94.4	101.8	88.0	92.6	6.2
	20	92.8	86.3	96.0	105.4	92.1	94.5	7.4
水产复合预混料	100	93.6	87.4	116.8	79.5	95.7	94.6	14.7
	200	104.7	90.9	94.8	117.8	86.3	98.9	12.7
猪用复合预混料	1000	71.2	98.4	98.5	102.4	88.6	91.8	13.7
	2000	91.2	105.4	86.5	87.8	95.9	93.4	12.0
禽用复合预混料	1000	87.4	85.7	125.4	105.2	77.9	96.3	19.8
	2000	84.4	115.2	104.8	82.6	93.5	96.1	14.4

结果表明，采用修订后湿法消解方法完成试样前处理，氢化物发生-原子荧光光谱法中，饲料原料、配合饲料、预混料样品的加标回收率在84.9%~108.0%之间，相对标准偏差在3.3%~13.1%之间；荧光分光光度法中饲料原料、配合饲料、精料补充料样品的加标回收率在81.0%~98.9%之间，相对标准偏差在4.0%~34.5%之间。各浓度梯度下加标回收率、组内加标回收率的相对标准偏差均符合GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》所规定限值。

2.5 氢化物发生-原子荧光光谱法和荧光分光光度法的检出限、定量限

通过不同类型样品进行测定，结合称样质量、试样溶液总体积、测定时移取试样溶液的体积，并考虑不同饲料基质的适用性，在氢化物发生-原子荧光光谱法和 2,3-二氨基萘荧光法中最终确定：在称取试样质量为 1.00 g，试样溶液定容到 50 mL 时，硒的检出限为 0.010 mg/kg、定量限为 0.020 mg/kg。

表 15 氢化物发生-原子荧光光谱法检出限和定量限

项目	荧光值										
空白平行测定	322.9	325.2	319.6	316.2	327.0	335.4	315.0	336.7	324.3	347.3	328.2
	s=9.589										
	3s=28.767										
硒标准曲线	浓度（μg/L）	10	20	30	40	50	60				
	荧光值	1901.05	3711.25	5200.41	6737.69	8518.52	10066.35				
	曲线方程	I =165.9301*C+184.2796									
	相关系数（r）	r=0.9994						a=165.9301		b=184.2796	
最低检出限（μg/L）		0.173									
检出限和定量限		在称取试样质量为 1.00 g，试样溶液定容到 50 mL 时，硒计算得出的检出限为 0.008 mg/kg，定量限 0.024 mg/kg。									
备注		检出限为空白标准偏差的 3 倍除以曲线方程的斜率，定量限选为检出限的 3 倍。									

表 16 荧光分光光度法检出限和定量限

项目	荧光值										
空白平行测定	26.98	23.88	18.65	24.86	19.23	25.92	20.26	19.26	20.82	18.21	23.99
	s=3.178										
	3s=9.534										
硒标准曲线	浓度（μg/L）	1	2.5	5	10	15	20				
	荧光值	108.5	218.50	406.5	746.1	1083.2	1398				
	曲线方程	I= 67.946C + 54.279									
	相关系数（r）	r=0.9996						a=67.946		b=54.27	
最低检出限（μg/L）		0.140									
检出限和定量限		在称取试样质量为 1.00 g，试样溶液定容到 50 mL 时，硒计算得出的检出限为 0.007 mg/kg，定量限 0.021 mg/kg。									

2.6 电感耦合等离子体质谱法方法学研究

2.6.1 修订思路及条件选择

为解决硒含量较低样品的测定问题，建立电感耦合等离子体质谱法。综合考虑不同前处理的准确性、适用性以及可操作性，与其它检测标准的衔接性，确定了微波消解法作为前处理条件的修订思路。参考了国内外相关标准中的电感耦合等离子体质谱法前处理条件，对配合饲料、精料补充料及饲料原料中硒的含量进行测定，并验证了方法的适用性和可操作性。对于微量元素预混合饲料样品，一方面由于产品中铜铁锰锌等矿物质元素含量很高，普遍在 1%~5%水平，在测定过程中对硒元素的干扰难以彻底消除，尤其是 $^{64}\text{Zn}+\text{N}^{14}$ 、 $^{63}\text{Cu}+\text{N}^{15}$ 等多原子离子，严重影响了硒的测定；另一方面进样液中矿物质元素浓度过高，会对检测器有着比较大的影响，所以，对硒元素的干扰较大，本方法对此类样品不做研究。

2.6.1.1 仪器参考条件

按照ICP-MS厂家提供的参考条件进行优化，得到ICP-MS分析仪器参考条件，如下：

射频功率（W）：1600

射频匹配（V）：1.80

采样深度(mm)：5.0

等离子气流量（L/min.）：14.0

辅助气流量（L/min.）：0.80

雾化是温度（℃）：2-3

蠕动泵转速（rpm）：40

碰撞气流量 氦气流量 (L/min.) *: 5

分析质量数: ⁷⁸Se

*注: 检测模式为碰撞模式, 选择氦气。

2.6.1.2 样品前处理

微波消解见2.3。

2.6.2 线性范围考察

分别移取 1 µg/mL 硒元素标准工作中间液 0.0 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用硝酸溶液 (5+95) 定容至刻度, 摇匀。此系列标准曲线的浓度分别为 0.0 µg/L、1.0 µg/L、2.0 µg/L、5.0 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L、50.0 µg/L。将仪器调节至最佳工作状态, 依次将硒标准系列工作溶液注入 ICP-MS 中, 以硒元素的质量浓度为横坐标, 硒元素响应值为纵坐标, 绘制标准曲线。结果见表 17, 标准曲线见下图 1。

表 17 电感耦合等离子体质谱法标准曲线浓度范围及响应值

硒浓度 (µg/L)	0	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	50.0
强度 (cps)	1.83	53.51	93.51	253.64	497.89	1045.68	2555.66

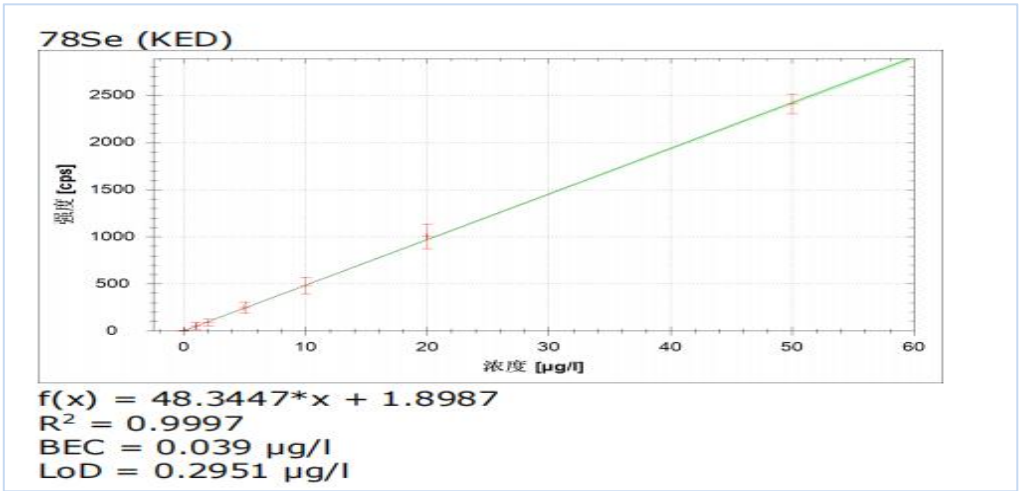


图 1 硒 ICP-MS 法标准工作曲线

2.6.3 典型样品 ICP-MS 质谱图考察

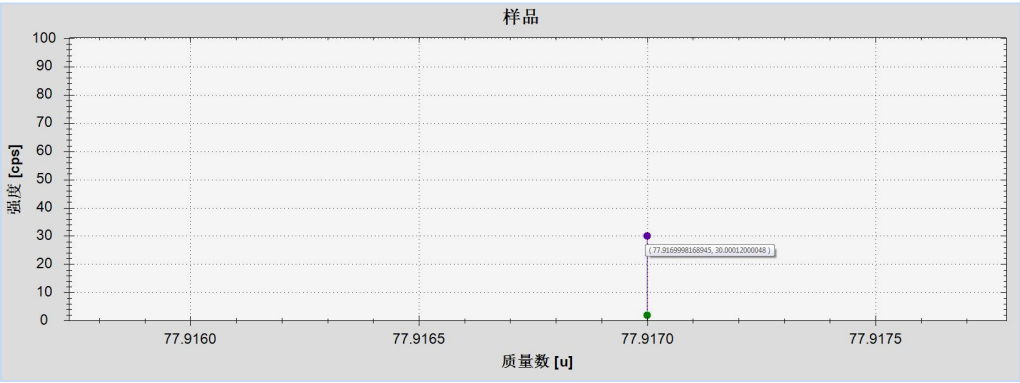


图2 玉米样品ICP-MS质谱图

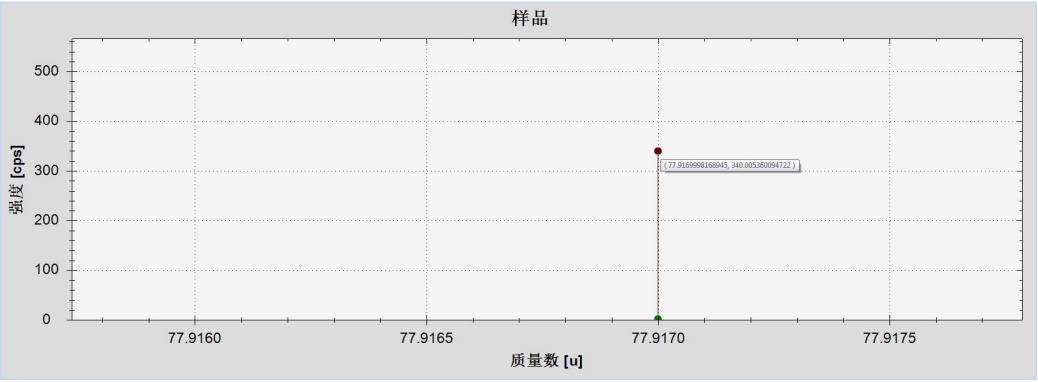


图3 豆粕样品ICP-MS质谱图

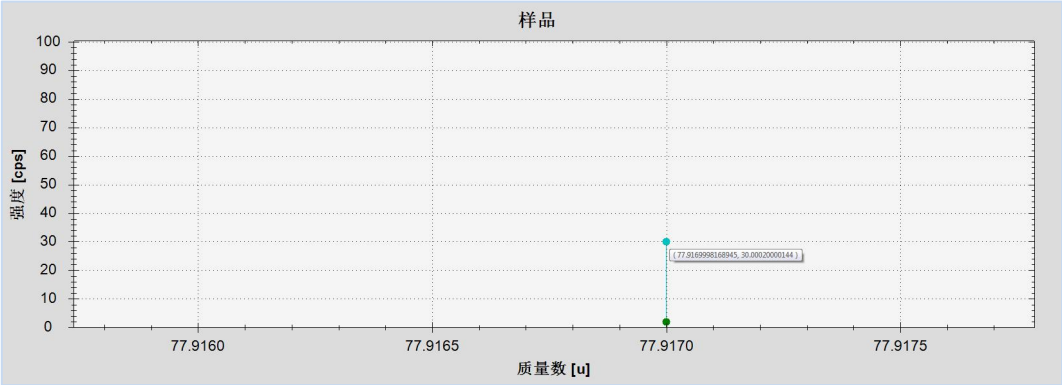


图4 小麦样品ICP-MS质谱图

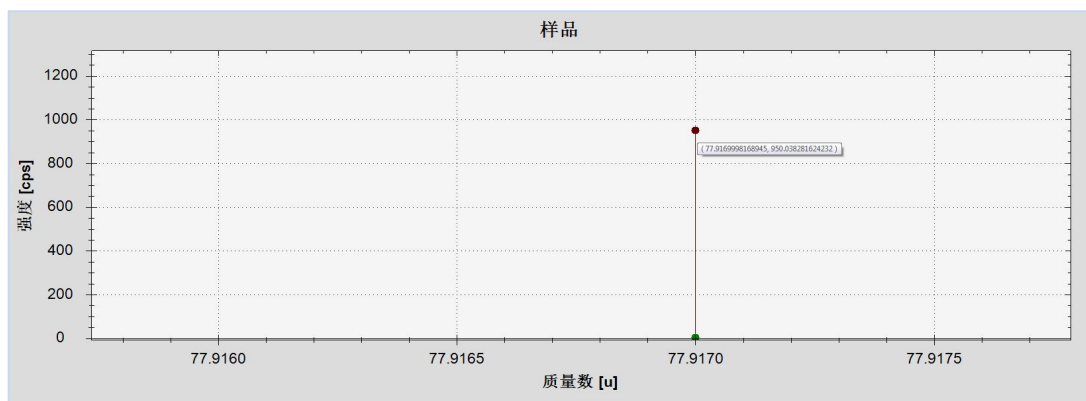


图5 鱼粉样品ICP-MS质谱图

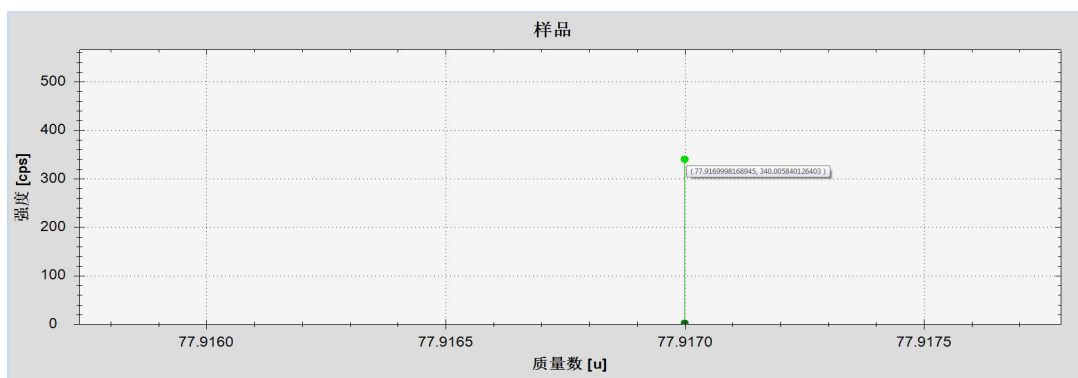


图6 鸡配合饲料样品ICP-MS质谱图

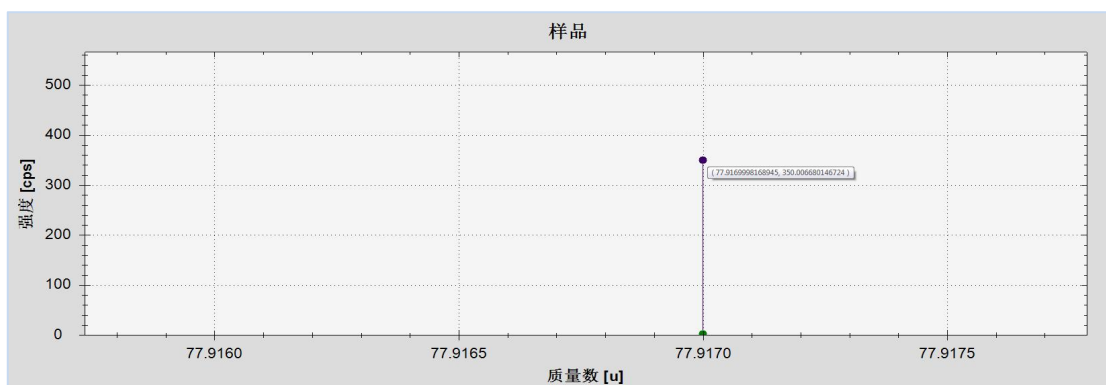


图 7 鸭配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

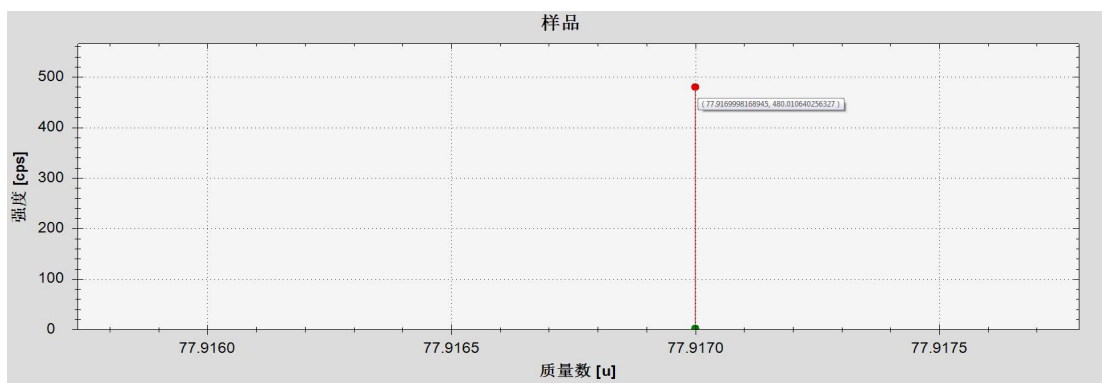


图 8 乳猪配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

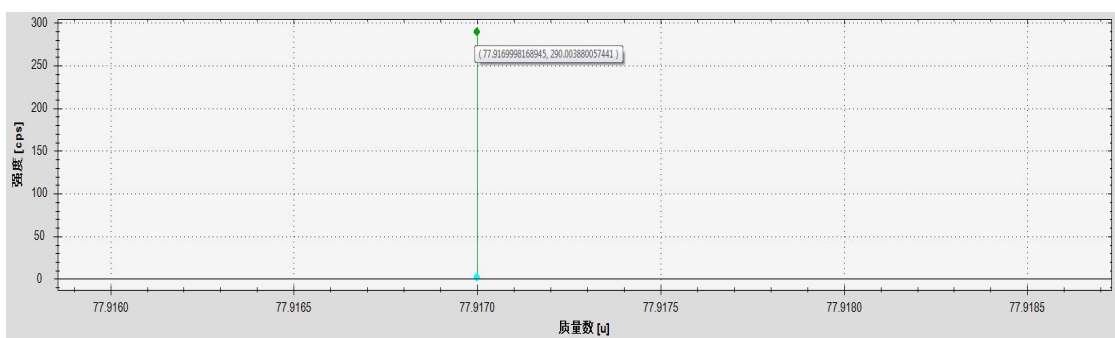


图 9 中猪配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

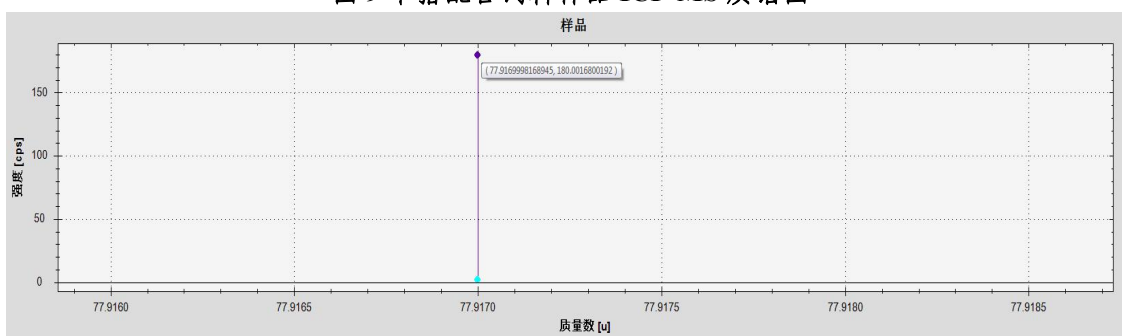


图 10 大猪配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

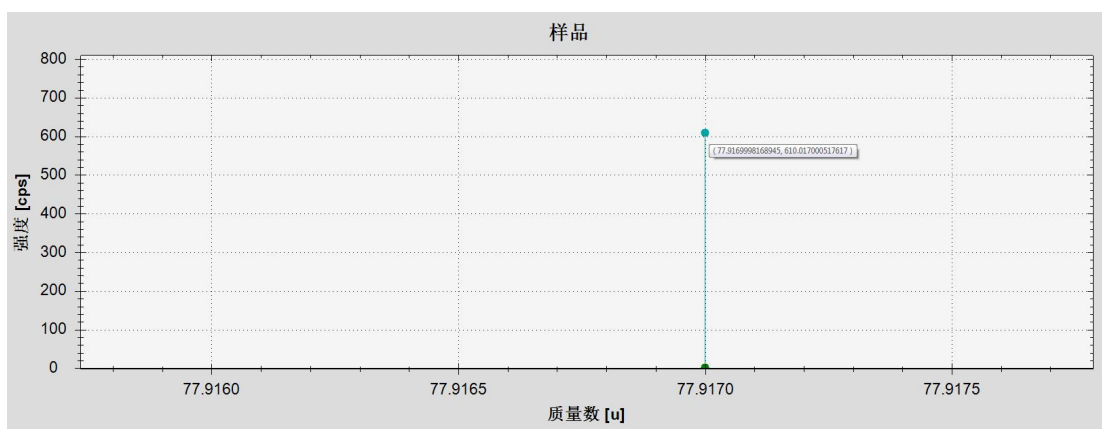


图 11 水产配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

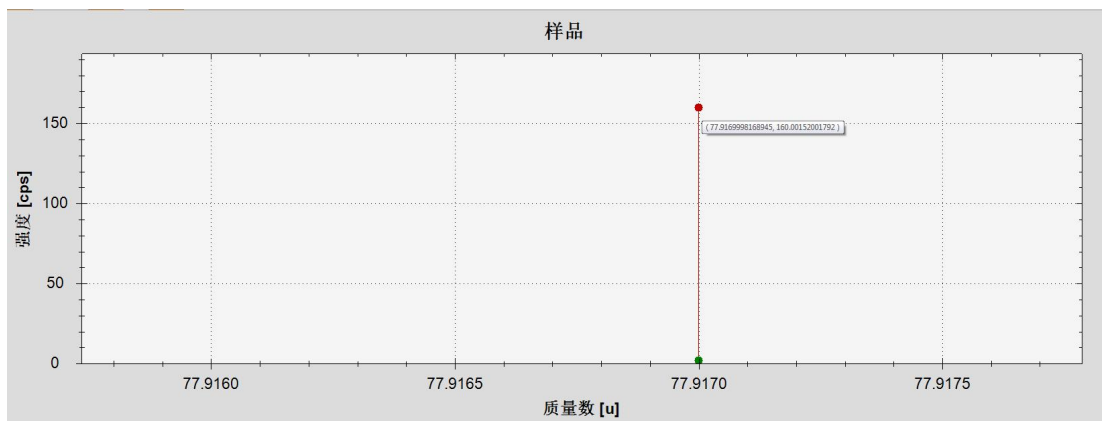


图 12 宠物配合饲料样品 ICP-MS 质谱图

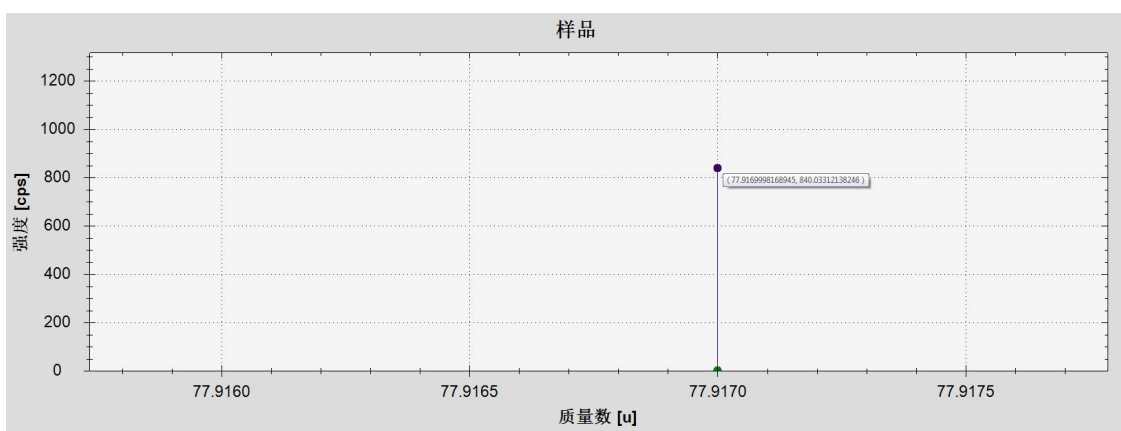


图 13 精料补充料样品 ICP-MS 质谱图

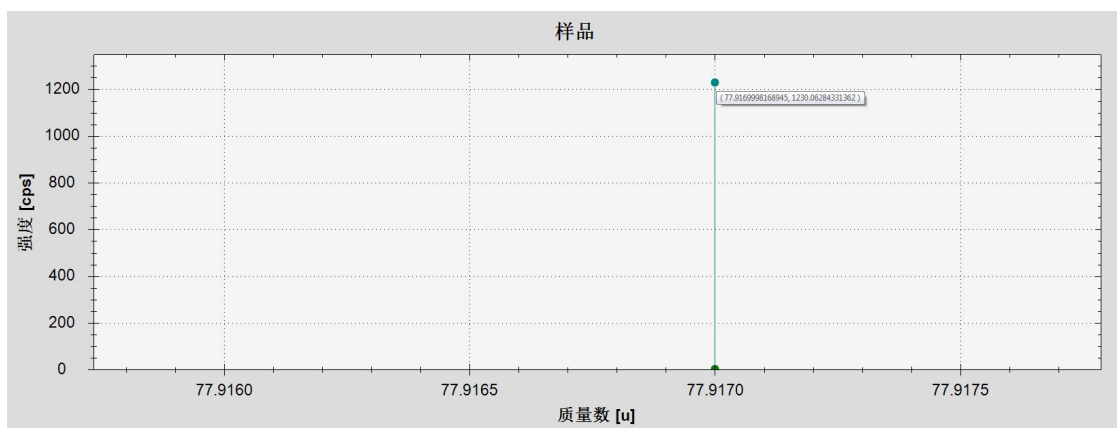


图 15 猪浓缩饲料样品 ICP-MS 质谱图

2.6.4 方法精密度和回收率考察

2.6.4.1 方法精密度

选取常见的饲料原料、配合饲料、精料补充料、浓缩饲料用电感耦合等离子体质谱法进行本底值测定，验证方法的精密度，具体测定结果见下

表 18。

表 18 方法精密度考察表

样品类型	测定值 (mg/kg)					平均值 (mg/kg)	RSD (%)
小麦	0.053	0.053	0.037	0.041	-	0.05	17.9
鱼粉	1.822	1.463	1.456	1.310	1.457	1.50	12.7
玉米	0.042	0.058	0.058	-	-	0.05	17.5
豆粕	0.317	0.403	0.377	-	-	0.37	12.1
精料补充料	1.699	1.767	2.043	1.743	1.900	1.83	7.7
水产配合饲料	1.160	1.306	1.169	1.135	1.111	1.18	6.5
宠物配合饲料	0.316	0.273	0.377	0.344	-	0.35	13.5
猪浓缩饲料	2.461	2.241	2.436	2.420	2.303	2.37	4.0
鸡配合饲料	0.641	0.621	0.659	0.554	0.715	0.64	9.2
鸭配合饲料	0.606	0.538	0.555	0.581	0.617	0.58	5.8
乳猪配合饲料	0.958	0.948	0.807	0.877	0.810	0.88	8.2
中猪配合饲料	0.376	0.322	0.368	0.373	0.283	0.34	11.8
大猪配合饲料	0.236	0.203	0.180	0.216	0.136	0.19	19.7

由表 18 可以看出：小麦、玉米含量 $< 0.1 \text{ mg/kg}$ ，由于含量比较低，考虑结果重复性，精密度设定为 20%；宠物配合饲料、猪配合饲料等含量在 $0.1 \text{ mg/kg} \sim 0.4 \text{ mg/kg}$ 的样本，考虑结果重复性，精密度设定为 15%；鱼粉、鸡配合饲料、猪浓缩饲料等含量在 0.4 mg/kg 以上的样本，考虑结果重复性，精密度设定为 10%。

2.6.4.2 方法回收率的考察

选取常见的饲料原料、配合饲料、精料补充料、浓缩饲料采用检出限 1 倍、3 倍、10 倍加标回收试验，回收率见下表 19。

表 19 方法回收率考察表

原料种类	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)					平均回收率 (%)	RSD (%)
小麦	0.05	75.78	92.89	73.76	83.17	69.05	78.9	11.8
	0.15	76.08	73.60	73.00	80.07	81.81	76.9	5.1
	0.50	78.56	76.38	85.30	77.78	74.94	78.6	5.1
鱼粉	0.05	81.61	63.68	79.73	78.01	73.85	75.4	9.5
	0.15	76.89	87.52	88.93	83.08	84.88	84.3	5.6
	0.50	82.44	67.01	74.20	75.85	64.77	72.9	9.8
精料补充料	0.05	80.26	57.15	62.33	68.30	69.75	67.6	12.9
	0.15	82.37	68.85	61.04	71.34	76.85	72.1	11.2
	0.50	84.93	91.17	88.40	74.54	93.24	86.5	8.5
水产配合饲料	0.05	79.53	75.39	74.67	75.78	82.34	77.5	4.2
	0.15	79.17	84.48	82.12	78.90	81.00	81.1	2.8
	0.50	73.76	98.04	86.92	60.60	88.31	81.5	17.8
宠物配合饲料	0.05	82.95	55.88	69.80	64.21	85.01	71.6	17.3
	0.15	83.78	71.98	86.30	80.55	75.70	79.7	7.3
	0.50	81.67	78.91	83.05	87.21	101.77	86.5	10.4
猪浓缩饲料	0.05	70.02	67.31	68.64	55.62	59.74	64.3	9.7
	0.15	71.59	71.36	69.65	76.15	77.35	73.2	4.6
	0.50	77.58	88.73	76.86	78.29	77.57	79.8	6.3
鸡配合饲料	0.05	75.06	76.55	64.68	81.51	70.27	73.6	8.7
	0.15	81.68	71.68	68.49	79.62	78.66	76.0	7.4
	0.50	82.02	88.38	76.41	86.52	70.25	80.7	9.2
鸭配合饲料	0.05	92.70	87.75	63.68	89.14	79.59	82.6	14.1
	0.15	83.31	78.84	78.10	69.38	83.66	78.7	7.3
	0.50	76.30	86.53	75.03	78.21	79.75	79.2	5.7
乳猪配合饲料	0.05	80.76	67.53	91.51	70.05	72.48	76.5	12.8
	0.15	84.19	81.69	84.73	78.34	80.67	81.9	3.2
	0.50	79.53	70.09	72.61	76.77	84.04	76.6	7.2

原料种类	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)					平均回收率 (%)	RSD (%)
中猪配合饲料	0.05	79.09	79.53	76.68	91.02	92.32	83.7	8.8
	0.15	78.22	77.93	76.99	71.77	71.39	75.3	4.5
	0.50	59.20	99.34	73.20	78.70	83.34	78.8	18.6
大猪配合饲料	0.05	91.87	79.50	94.56	69.97	81.59	83.5	11.9
	0.15	83.35	78.32	80.61	84.96	86.77	82.8	4.1
	0.50	85.11	83.74	73.47	67.31	85.80	79.1	10.5
玉米	0.05	80.32	86.48	92.65	78.94	97.45	87.2	9.1
	0.15	76.31	84.07	76.31	83.16	85.67	81.1	5.5
	0.50	97.73	79.23	80.61	88.13	79.23	85.0	9.4
豆粕	0.05	80.18	88.32	83.62	87.07	83.57	84.6	3.8
	0.15	80.85	76.04	82.90	78.10	84.69	80.5	4.4
	0.50	62.87	78.61	74.50	88.88	84.07	77.8	12.8

结果表明配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、饲料原料等样品，在添加浓度为 1 倍、3 倍、10 倍检出限时，采用电感耦合等离子体发射光谱法测定饲料中的硒，其回收率范围在 64.3%~87.2%之间，变异范围为 2.8%~18.6%，回收率满足方法要求。

2.6.5 方法检出限和定量限

根据国际纯粹与应用化学联合会（IUPAC）对检出限的规定，方法检出限是指通过某一分析方法全部测定过程后（包括样品预处理）被分析物产生的信号能以 99%置信度区别于空白样品而被测定出来的最低浓度，一般以产生 3 倍空白样品测量值标准偏差对应的浓度为检出限。在本试验中，在仪器处于最佳状态下，制备系列硒元素标准工作溶液和空白溶液，分别上机测定，以浓度值为横坐标，强度值为纵坐标，建立标准曲线，连续测量空白溶液 11 次，用空白测量结果标准偏差 s 的 3 倍除以标准曲线斜率 a ,

得到最小检出浓度。

表 20 电感耦合等离子体质谱法检出限

项目	强度（cps）										
空白测定	3.817	3.270	1.939	1.757	3.635	1.757	3.513	3.878	1.817	3.635	1.757
	SD=0.9640										
	3s=2.8920										
硒标准曲线	浓度（ug/L）		0.0	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	50.0		
	强度（cps）		1.817	53.513	93.513	253.638	497.890	1045.683	2555.661		
	曲线方程		y=51.251x-1.1901								
	相关系数（r）		R=0.9999 a=51.251 b=-1.1901								
最小检出浓度 DL（μg/L）			0.0564								

通过不同类型样品进行测定情况，并结合称样量、定容体积以及不同饲料基质的适用性，对方法的定量限进行考察，确定硒元素的定量限：当称样量为 0.5 g，定容体积为 50 mL 时，检出限为 0.006 mg/kg，定量限为 0.018 mg/kg。

2.7 方法适用性考察

表 21 实际样品测定结果

序号	样品名称	测定结果 (mg/kg)				
		ICP-MS 法	微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法	湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法	湿法消解-2,3-二氨基萘荧光法	微波消解-2,3-二氨基萘荧光法
1	小麦	0.04±0.015	0.09±0.01	0.06±0.01	0.03±0.003	0.04±0.01
2	鱼粉	1.50±0.013	1.32±0.15	1.43±0.03	1.11±0.07	1.16±0.1
3	精料补充料	1.83±0.14	1.64±0.12	1.37±0.05	1.93±0.10	2.05±0.17
4	水产配合饲料	1.18±0.08	1.28±0.04	0.99±0.01	1.13±0.13	1.32±0.07
5	宠物配合饲料	0.35±0.06	0.66±0.03	0.44±0.07	0.23±0.01	0.23±0.01
6	猪浓缩饲料	2.37±0.09	1.99±0.16	1.52±0.05	1.49±0.05	1.68±0.08
7	鸡配合饲料	0.64±0.06	0.33±0.01	0.48±0.04	0.57±0.05	0.56±0.04
8	鸭配合饲料	0.58±0.03	0.43±0.05	0.43±0.01	0.52±0.07	0.57±0.03

序号	样品名称	测定结果 (mg/kg)				
		ICP-MS 法	微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法	湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法	湿法消解-2,3-二氨基萘荧光法	微波消解-2,3-二氨基萘荧光法
9	乳猪配合饲料	0.88±0.07	0.51±0.02	0.49±0.02	0.73±0.02	0.71±0.04
10	中猪配合饲料	0.34±0.04	0.36±0.02	0.30±0.03	0.46±0.03	0.44±0.02
11	大猪配合饲料	0.19±0.04	0.21±0.02	0.21±0.02	0.29±0.02	0.31±0.03
12	玉米	0.05±0.015	0.04±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
13	豆粕	0.32±0.04	0.39±0.03	0.39±0.01	0.32±0.03	0.38±0.03
14	水产复合预混料	/	26.0±8.0	25.6±8.6	28.5±4.0	/
15	猪用复合预混料	/	262.0±21	251.9±20.5	220.0±10.3	/
16	禽用复合预混料	/	292.7±16	294.3±22.6	316.9±27.6	/

2.8 修订前后技术内容的对比

本标准修订前后技术内容的对比详见表 19。

表 22 标准修订前后技术内容对比

No.	章条编号	修订前	修订后	主要技术差异
1	1	<p>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。</p> <p>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发生-原子荧光光谱法定量限 0.01 mg/kg; 荧光法定量限 0.02 mg/kg</p>	<p>本文件描述了饲料中硒测定的氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法和电感耦合等离子体质谱法。</p> <p>本文件氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和饲料原料中硒的测定，电感耦合等离子体质谱法适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料中硒的测定。</p> <p>当取样量为 1 g、定容体积为 50 mL 时，氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法的检出限为 0.01 mg/kg、定量限为 0.02 mg/kg; 当取样量为 0.5 g、定容体积为 50 mL 时，电感耦合等离子体质谱法的检出限为 0.01 mg/kg、定量限为 0.02 mg/kg。</p>	<p>修改了氢化物发生-原子荧光光谱法定量限。</p> <p>增加了电感耦合等离子体质谱法，增加了定量限。</p> <p>氢化物发生-原子荧光光谱法、2,3-二氨基萘荧光法的适用范围增加了饲料原料。</p>
2	4.5.1.2 5.5.1.2	无	氢化物发生-原子荧光光谱法、荧光分光光度法中样品前处理微波消解法	增加了试样前处理的微波消解法
3	4.5.1.1.1 4.5.1.1.2	<p>3.5.1 试样的处理</p> <p>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</p>	<p>4.5.1.1.1 预混合饲料</p> <p>准确称取 0.5 g (准确到 0.000 1g) 试样，置于 100 mL 高型烧杯或消解管中，加入 8.0 mL 混合酸溶液 (4.2.4) 及几粒玻璃珠，盖上表面皿消化过夜 (有机物含量较少可直接进行下一步)，放置于电热板上加热，当溶液上层有大量白烟产生，剩余溶液体积约在 2 mL 左右时，停止加热[加热过程中若发现溶液出现变黑现象，及时移走，冷却至室温后补添 5mL 混合酸溶液 (4.2.4) 继续加热至溶液上层有白烟产生]。冷却至室温，然后加入 5 mL 盐酸溶液 (4.2.11) 加热至高氯酸冒烟，</p>	<p>区分了氢化物发生-原子荧光光谱法试样前处理中湿法消解，预混合饲料与配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、饲料原料不同的处理方式，并描述了消化过程中当样品发生碳化现象的处理办法。</p>

No.	章条编号	修订前	修订后	主要技术差异
		mL 容量瓶中，加 8mL 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。	<p>切不可蒸干，冷却，转入至 50 mL 容量瓶，摇匀，作为试样消化液。再从消化液中量取 1 mL 的体积至 50 mL 容量瓶中，加入 8 mL 盐酸（4.2.3），2 mL 铁氰化钾溶液（4.2.8），用水稀释定容并摇匀，作为试样待测液。同时在相同条件下，做试剂空白试验。</p> <p>4.5.1.1.2 配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、饲料原料</p> <p>准确称取 0.5 g ~ 2 g（准确到 0.000 1g）试样，置于 100 mL 高型烧杯中，加入 15.0 mL 混合酸溶液（4.2.4）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，当溶液表层有大量白烟，剩余溶液体积约在 2 mL 左右时，停止加热，冷却至室温[加热过程中若发现溶液出现变黑现象，及时移走，冷却至室温后补添 5mL 混合酸溶液（4.2.4）继续加热至溶液上层有白烟产生]。再加 5 mL 盐酸溶液（4.2.11）加热至高氯酸冒烟，切不可蒸干，冷却，转移至 50mL 容量瓶，然后加入 8 mL 盐酸（4.2.3），2mL 铁氰化钾溶液（4.2.8），用水定容并混匀，作为试样待测液。同时在相同条件下，做空白试验。</p>	
4	6	无	电感耦合等离子体质谱法	增加了电感耦合等离子体质谱法

三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

硒是动物体内必需的微量元素。近年来大量资料证明，许多疾病与硒缺乏有关。在 20 世纪 50 年代以前，硒一直被认为是一种毒性很强的元素。但硒在生物体内，尤其是动物体内发挥着十分重要的生物学功能，其中抗氧化性是硒生化作用的基础。而后，人们又发现硒的抗衰老、增强机体免疫力、促进动物生长发育等生物学特性。缺硒会造成机体免疫力降低，引起幼畜的白肌病、腹泻、水肿、肝脏坏死等疾病，从而导致动物发育迟缓、生产水平下降、繁殖力减退。畜禽缺硒已成为世界性畜牧业中的主要问题之一。

饲料是畜禽硒的主要来源，由于动物对硒的需要量和中毒量相差不大，一旦添加过量便可能对动物机体造成不良影响，甚至毒害作用。因此，为了防止硒缺乏症的发生，同时又防止硒过量，需准确控制禽畜硒的摄入量，因此，能否准确测定饲料中的硒含量便至关重要。

本次修订改进了氢化物发生-原子荧光光谱法和 2,3-二氨基萘荧光法中样品前处理，并增加了微波消解法；增加国内外普遍采用的电感耦合等离子体质谱法，提高饲料中硒的测定国家标准方法的可操作性、准确性和稳定性，为饲料行业提供稳定、可靠的饲料中硒的测定标准方法，保障饲料产品的质量安全，促进我国饲料工业、畜牧业和水产养殖业的高质量发展。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

与国际、国外同类标准技术内容的对比详见表 23。

表 23 与国外同类标准技术内容对比

No.	标准号	标准名称	GB/T 13882 - 202×
1	BS EN 16159-2012	Animal feeding stuffs. Determination of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after microwave digestion (digestion with 65 % nitric acid and 30 % hydrogen peroxide) 饲料中硒的测定 微波消解-氢化物原子吸收法(HGAAS)(用 65%的硝酸和 30%的过氧化氢消解)	氢化物发生-原子荧光光谱法、2,3-二氨基萘荧光法和电感耦合等离子体质谱法
2	ASTM D3859-2008	Standard Test Methods for Selenium in Water 水中硒含量	
3	ISO/TS 17379-1-2013	Water quality - Determination of selenium - Part 1: Method using hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS)水质-硒的测定.第 1 部分:氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)	
4	DIN EN 14627-2005	Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of total arsenic and selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after pressure digestion 食品-痕量元素砷和硒的测定: 高压消解-氢化物原子吸收法(HGAAS)	
5	ISO 20649-2015	Infant formula and adult nutritionals - Determination of chromium , selenium and molybdenum - Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)婴幼儿配方奶粉和成人营养品-铬、硒、钼的测定 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)	

五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准

无。

六、与有关法律、法规的关系

本标准的制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章等、严格执行国家强制性标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

本标准未明确涉及某一具体专利，但某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

九、贯彻国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

(1) 首先应在实施前保证文本的充足供应，让每个使用者都能及时得到文本；

(2) 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，建议全国饲料工业标准化技术委员会组织标准起草单位通过标准培训、会议宣贯、影音文件等方式，积极开展本标准的宣贯工作。

(3) 建议本标准正式发布后，设定 6 个月的过渡期，过渡 6 个月后实

施。

十、其他应当说明的事项

无。