

ICS 67.040  
C 53



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 12399—1996

---

## 食品中硒的测定

Determination of selenium in foods

1996-06-19 发布

1996-09-01 实施

---

中华人民共和国卫生部 发布

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
食 品 中 硒 的 测 定

GB/T 12399—1996

\*

中国标准出版社出版  
北京复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

电 话:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售  
**版权专有 不得翻印**

\*

开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 8 千字

1997年3月第一版 1997年3月第一次印刷

印数 1—1 500

\*

书号: 155066·1-13538 定价 8.00 元

\*

标 目 304—37

## 前 言

硒是人体必需的微量元素,但若摄入过多会对人体健康造成危害,近年来我国营养学家杨光圻教授根据大量人体资料,提出了硒的每人每日安全摄入量为 400  $\mu\text{g}$ ,我国卫生部为了控制人体硒的摄入量,也制定了食品中硒的卫生标准 GB 13105—91,并配套研制了国家标准 GB 12399—90《食品中硒的荧光测定法》。鉴于该法操作繁琐、所用试剂 2,3-二氨基萘(2,3-diaminonaphthalene,简称 DAN)毒性大、且需进口,本次修订提出了用较快速、简便、准确度、精密度好的氢化物原子荧光光谱法测定各类食品中的硒,以弥补 GB 12399—90 的不足。鉴于原子荧光光度计在国内尚未普及,故作为第二法补充本标准。

本标准于 1991 年首次发布,1994 年进行第一次修订。

本标准从发布之日起,同时代替 GB 12399—90。

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准第一法由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所起草。

本标准第一法主要起草人:王光亚、周瑞华。

本标准第二法由北京市卫生防疫站、卫生部食品卫生监督检验所负责起草;北京进口食品卫生监督检验所参加起草。

本标准第二法主要起草人:田佩瑶、杨惠芬、毛红、阎军、黄流生。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。



# 中华人民共和国国家标准

## 食品中硒的测定

Determination of selenium in foods

GB/T 12399—1996

代替 GB 12399—90

### 1 范围

本标准规定了用荧光法和氢化物原子荧光光谱法测定食品中硒的方法。  
本标准适用于各类食品中硒的测定。

### 第一篇 荧光法(第一法)

### 2 原理

样品经混合酸消化后,硒化合物被氧化为四价无机硒( $\text{Se}^{4+}$ ),与 2,3-二氨基萘(2,3-diaminonaphthalene,简称 DAN)反应生成 4,5-苯并苯硒脑(4,5-benzo piaselenol),其荧光强度与硒的浓度在一定条件下成正比。用环己烷萃取后于激发光波长 376 nm,发射光波长 520 nm 处测定荧光强度,与绘制的标准曲线比较定量。本方法检出限为 3 ng。

### 3 试剂

3.1 环己烷。

3.2 硝酸。

3.3 过氯酸。

3.4 盐酸。

3.5 氢溴酸。

3.6 (1+9)盐酸溶液:取 10 mL 盐酸,加 90 mL 水。

3.7 (1+1)氨水。

3.8 (5+95)去硒硫酸:取 5 mL 去硒硫酸,加于 95 mL 水中。

去硒硫酸:取 200 mL 硫酸,加于 200 mL 水中,再加 30 mL 氢溴酸,混匀,置沙浴上加热蒸去硒与水至出现浓白烟,此时体积应为 200 mL。

3.9 0.2 mol/L EDTA:称 37 g EDTA 二钠盐,加水并加热溶解,冷却后稀释至 500 mL。

3.10 10%盐酸羟胺:称取 10 g 盐酸羟胺溶于水中,稀释至 100 mL。

3.11 混合酸:硝酸+过氯酸(2+1)。

3.12 0.1%2,3-二氨基萘(纯度 95%~98%):需在暗室配制。称取 200 mg DAN 于一带盖三角瓶中,加入 200 mL 0.1 mol/L 盐酸,振摇约 15 min,使其全部溶解。约加 40 mL 环己烷,继续振摇 5 min,将此液转入分液漏斗中,待溶液分层后,弃去环己烷层,收集 DAN 层溶液。如此用环己烷纯化 DAN 直至环己烷中的荧光数值降至最低时为止(纯化次数视 DAN 纯度不同而定,一般约需纯化 3~4 次)。将提纯后的 DAN 溶液储于棕色瓶中,约加 1 cm 厚的环己烷覆盖溶液表面。置冰箱中保存。必要时再纯化一次。

3.13 硒标准溶液

3.13.1 硒标准储备液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):精确称取 100.0 mg 元素硒(光谱纯),溶于少量硝酸中,加 2 mL 过氯酸,置沸水浴中加热 3~4 h,冷却后加入 8.4 mL 盐酸,再置沸水浴中煮 2 min。准确稀释至 1 000 mL,其盐酸浓度为 0.1 mol/L。此储备液浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.13.2 硒标准使用液(0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):将 3.13.1 液用 0.1 mol/L 盐酸稀释,使含硒为 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。于冰箱中保存。

3.14 0.02%甲酚红指示剂:称取 50 mg 甲酚红溶于水中,加(1+1)氨水 1 滴,待甲酚红完全溶解后加水稀释至 250 mL。

3.15 EDTA 混合液:取 0.2 mol/L 的 EDTA(3.9)和 10%盐酸羟胺(3.10)液各 50 mL,混匀,再加 5 mL(3.14)溶液,用水稀释至 1 L。

## 4 仪器和设备

4.1 实验室常用设备。

4.2 荧光分光光度计。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品处理及消化

5.1.1 粮食:样品用水洗三次,于 60℃烘干,用不锈钢磨磨成粉,储于塑料瓶内,放一小包樟脑精,盖紧盖保存,备用。

5.1.2 蔬菜及其他植物性食物:取可食部分用水冲洗三次后用纱布吸去水滴,用不锈钢刀切碎,取混合均匀的样品于 60℃烘干,称重,粉碎,备用。

5.1.3 称取 0.5~2.0 g 样品(含硒量 0.01~0.5  $\mu\text{g}$ )于磨口三角瓶内,加 10 mL(5+95)去硒硫酸,样品湿润后,再加 20 mL 混合酸液放置过夜。次日于沙浴上逐渐加热,当激烈反应发生后(溶液变无色),继续加热至产生白烟,溶液逐渐变成淡黄色即达终点。某些蔬菜样品消化后常出现浑浊,难以确定终点,所以要细心观察。还有含硒较高的蔬菜含有较多的  $\text{Se}^{6+}$ ,需要在消化达到终点时冷却后加 10 mL(1+9)盐酸,继续加热,使  $\text{Se}^{6+}$  还原成  $\text{Se}^{4+}$ 。按上述方法确定终点。

### 5.2 测定

于样品消化液中加 20 mL EDTA 混合液,用氨水(1+1)或盐酸调至淡红橙色(pH 1.5~2.0)。以下步骤在暗室进行:加 3 mL DAN 试剂,混匀,置沸水浴中煮 5 min,取出立即冷却,加 3 mL 环己烷,振摇 4 min,将全部溶液移入分液漏斗,待分层后弃去水层,环己烷层转入带盖试管中,小心勿使环己烷中混入水滴,于激发光波长 376 nm,发射光波长 520 nm 处测定苯硒脑的荧光强度。

5.3 硒标准曲线绘制:准确吸取硒标准使用液 0, 0.2, 1.0, 2.0 及 4.0 mL,加水至 5 mL,按样品测定步骤同时进行。硒含量在 0.5  $\mu\text{g}$  以下时荧光强度与硒含量呈线性关系,在常规测定样品时,每次需做试剂空白与样品硒含量相近的标准管(双份)即可。

## 6 结果

### 6.1 计算

$$X = \frac{C - B}{A - B} \times m_1 \times \frac{1}{m_2} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: X——样品中硒含量,  $\mu\text{g}/\text{g}$ ;

A——标准管荧光读数;

B——空白管荧光读数;

C——样品管荧光读数;

$m_1$ ——标准管中硒质量,  $\mu\text{g}$ ;

$m_2$ ——试样质量,  $\text{g}$ 。

## 6.2 结果的允许差

同一实验室平行测定或重复测定结果相对偏差绝对值 $\leq 10\%$ 。

## 第二篇 氢化物原子荧光光谱法(第二法)

### 7 原理

样品经酸加热消化后,在  $6 \text{ mol/L}$  盐酸( $\text{HCl}$ )介质中,将样品中的六价硒还原成四价硒,用硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ )或硼氢化钾( $\text{KBH}_4$ )作还原剂,将四价硒在盐酸介质中还原成硒化氢( $\text{SeH}_2$ ),由载气(氩气)带入原子化器中进行原子化,在硒特制空心阴极灯照射下,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。

### 8 试剂

本方法中,除特殊规定外,所用试剂为分析纯,试验用水为蒸馏水或同等纯度水。

8.1 硝酸(优级纯)。

8.2 高氯酸(优级纯)。

8.3 盐酸(优级纯)。

8.4 混合酸:硝酸+高氯酸(4+1)混合酸。

8.5 氢氧化钠(优级纯)。

8.6 硼氢化钠溶液( $8 \text{ g/L}$ ):称取  $8.0 \text{ g}$  硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ ),溶于氢氧化钠溶液( $5 \text{ g/L}$ )中,然后定容至  $1\ 000 \text{ mL}$ 。

8.7 铁氰化钾( $100 \text{ g/L}$ ):称取  $10.0 \text{ g}$  铁氰化钾( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ),溶于  $100 \text{ mL}$  蒸馏水中,混匀。

8.8 硒标准储备液:精确称取  $100.0 \text{ mg}$  硒(光谱纯),溶于少量硝酸中,加  $2 \text{ mL}$  高氯酸,置沸水浴中加热  $3\sim 4 \text{ h}$ ,冷却后再加  $8.4 \text{ mL}$  盐酸,再置沸水浴中煮  $2 \text{ min}$ ,准确稀释至  $1\ 000 \text{ mL}$ ,其盐酸浓度为  $0.1 \text{ mol/L}$ ,此储备液浓度为每毫升相当于  $100 \mu\text{g}$  硒。

8.9 硒标准应用液:取  $100 \mu\text{g/mL}$  硒标准储备液  $1.0 \text{ mL}$ ,定容至  $100 \text{ mL}$ ,此应用液浓度为  $1 \mu\text{g/mL}$ 。

### 9 仪器

9.1 AFS-210 双道原子荧光光度计或同类仪器。

9.2 电热板。

9.3 自动控温消化炉。

### 10 分析步骤

#### 10.1 样品处理及消化

10.1.1 粮食:样品用水洗三次,于  $60^\circ\text{C}$  烘干,用不锈钢磨粉碎,储于塑料瓶内,备用。

10.1.2 蔬菜及其他植物性食物:取可食部用水洗净后用纱布吸去水滴,打成匀浆后备用。

10.1.3 称取  $0.5\sim 2.0 \text{ g}$  样品于  $150 \text{ mL}$  高筒烧杯内,加  $10.0 \text{ mL}$  混合酸及几粒玻璃珠,盖上表面皿冷消化过夜。次日于电热板上加热,并及时补加混酸。当溶液变为清亮无色并伴有白烟时,再继续加热至剩余体积  $2 \text{ mL}$  左右,切不可蒸干。冷却,再加  $5 \text{ mL}$   $6 \text{ mol/L}$  盐酸,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,以完全将六价硒还原成四价硒。冷却,转移定容至  $50 \text{ mL}$  容量瓶中。同时做空白试验。

10.1.4 吸取  $10 \text{ mL}$  样品消化液于  $15 \text{ mL}$  离心管中,加浓盐酸  $2 \text{ mL}$ ,铁氰化钾溶液  $1 \text{ mL}$ ,混匀待测。

10.2 标准曲线的配制:分别取  $0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 \text{ mL}$  标准应用液于  $15 \text{ mL}$  离心管中,用去离

子水定容至 10 mL,再分别加浓盐酸 2 mL,铁氰化钾 1 mL,混匀,制成标准工作曲线。

### 10.3 测定

10.3.1 仪器参考条件:负高压:340 V;灯电流:100 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。

10.3.2 测定:根据实验情况任选以下一种方法。

10.3.2.1 浓度测定方式测量:设定好仪器最佳条件,逐步将炉温升至所需温度后,稳定 10~20 min 后开始测量。连续用标准系列的零管进样,待读数稳定之后,转入标准系列测量,绘制标准曲线。转入样品测量,分别测定样品空白和样品消化液,每测不同的样品前都应清洗进样器。样品测定结果按以下公式计算。

10.3.2.2 仪器自动计算结果方式测量:设定好仪器最佳条件,在样品参数画面,输入以下参数:样品质量(g 或 mL),稀释体积(mL),并选择结果的浓度单位。逐步将炉温升至所需温度后,稳定 10~20 min 后开始测量。连续用标准系列的零管进样,待读数稳定之后,转入标准系列测量,绘制标准曲线。在转入样品测定之前,再进入空白值测量状态,用样品空白消化液进样,让仪器取其均值作为扣底的空白值。随后即可依次测定样品。测定完毕后,选择“打印报告”即可将测定结果自动打印。

### 10.4 结果

#### 10.4.1 计算

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中: X——样品中硒的含量,mg/kg(或 mg/L);

C——样品消化液测定浓度,ng/mL;

C<sub>0</sub>——样品空白消化液测定浓度,ng/mL;

m——样品质量(体积),g(mL);

V——样品消化液总体积,mL。

10.4.2 本标准检出限:仪器检出限为 0.5 ng/mL。

标准曲线线性范围 0~400 ng/mL。

方法回收率:标准粉 85.7%~102.3%;奶粉 88.8%~101.2%。

标准参比物质控结果:

标准物	测定次数(n)	测定值	标准值
茶叶 (GB W08 505)	7	0.044	0.041±0.010
猪肝 (GB W08 551)	7	0.931	0.940±0.050

相对标准偏差:RSD=2.6%(n=12)



GB/T 12399-1996

版权专有 不得翻印

\*

书号:155066·1-13538

定价: 8.00 元

\*

标目 304-37