

ICS

T/GXDSL

团体标准

T/GXDSL 122—2025

硒形态分析技术规范

Technical Specification for Selenium Speciation Analysis

征求意见稿

2025 - - 发布

2025 - - 实施

广西电子商务企业联合会 发布

目 次

前 言 II

一、引言 1

二、范围 1

三、规范性引用文件 1

四、术语和定义 2

五、方法原理 5

六、试剂与材料 5

七、仪器设备 6

八、分析步骤 6

九、质量控制 6

十、附则 7

前 言

本文件依据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》的规定起草。

请注意本文件的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。

本文件由广西产学研科学研究院提出。

本文件由广西电子商务企业联合会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

硒形态分析技术规范

一、引言

本标准基于广西产学研科学研究院在硒形态分析领域 10 年的研究成果和实践经验制定，旨在规范硒形态分析技术，提高分析结果的准确性和可比性。本标准规定了硒形态分析的术语定义、方法原理、试剂材料、仪器设备、样品处理、分析步骤、质量控制等内容，适用于食品、农产品、环境样品等各类样品中硒形态的分析测定。

二、范围

本部分规定了硒形态分析的术语定义、方法原理、试剂材料、仪器设备、样品处理、分析步骤、质量控制等技术要求。适用于食品、农产品、环境样品、生物样品等各类样品中硒形态的分析测定，包括无机硒（硒酸盐、亚硒酸盐）和有机硒（硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸、硒甲基硒代半胱氨酸等）的分离与定量。根据 2024 年全国实验室间比对数据，执行本标准的实验室分析结果相对标准偏差 $\leq 8\%$ ，加标回收率 85%–105%，方法检出限达到 0.0005mg/kg。本部分要求采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术（HPLC-ICP-MS）作为基准方法，色谱分离度 ≥ 1.5 ，峰对称因子 0.8–1.2，保留时间相对标准偏差 $\leq 2\%$ 。质量控制要求包括方法验证、仪器校准、过程控制、结果确认等环节，确保分析结果的准确可靠。实验室环境要求温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度 $50\% \pm 10\%$ ，洁净度达到万级标准。所有分析数据保存期限不少于 10 年，实现全过程可追溯。

三、规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 27404-2008 《实验室质量控制规范 食品理化检测》

T/GXDSL 122—2025

GB/T 27417-2017 《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》

JJG 1151-2018 《液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪检定规程》

GB 5009.93-2023 《食品安全国家标准 食品中硒的测定》

HJ 168-2020 《环境监测分析方法标准制修订技术导则》

ISO 17294-2:2016 《水质-电感耦合等离子体质谱法应用》

US EPA Method 6020B 《电感耦合等离子体质谱法》

GH/T 1429-2023 《农产品中五种硒元素形态的测定高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法》

GB/T 15171-2025 《软包装件密封性能试验方法》

GB/T 22502-2025 《超市销售生鲜农产品管理技术规范》

四、术语和定义

（一）硒形态分析

采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术（HPLC-ICP-MS）对样品中不同化学形态的硒进行分离、鉴定和定量的分析过程。主要分析对象包括无机硒（硒酸盐、亚硒酸盐）和有机硒（硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸、硒甲基硒代半胱氨酸等）。方法性能要求：色谱分离度 ≥ 1.5 ，峰对称因子 0.8-1.2，保留时间相对标准偏差 $\leq 2\%$ ；方法检出限 $\leq 0.0005\text{mg/kg}$ ，定量限 $\leq 0.0015\text{mg/kg}$ ，线性范围 0.001-1.000mg/L，相关系数 $r \geq 0.999$ ，加标回收率 85%-105%，精密度 $\text{RSD} \leq 8\%$ 。样品前处理采用酶解提取法，提取温度 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ，提取时间 12-16 小时，提取液 pH 值 7.0 ± 0.1 ，确保硒形态的完整性和稳定性。

（二）高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术（HPLC-ICP-MS）

将高效液相色谱的分离能力与电感耦合等离子体质谱的高灵敏度检测能力相结合的分析技术。色谱条件：采用阴离子交换柱（ $250\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ ， $5\mu\text{m}$ ），柱温 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ，流速 1.0mL/min ，进样量 $10\mu\text{L}$ ，流动相为柠檬酸铵缓冲液（ $5\text{--}50\text{mmol/L}$ ， $\text{pH}=5.0$ ），梯度洗脱程序 0-30min。质谱条件：射频功率 1550W，等离子气流 15.0L/min ，辅助气流 0.8L/min ，雾化气流 0.95L/min ，监测同位素 ^{78}Se 、 ^{82}Se ，采用 ^{72}Ge 或 ^{115}In 作为内标，采集模式跳峰，驻留时间 100ms。仪器性能要求：灵敏度 $\geq 5000\text{cps/ppb}$ （ 1

¹⁵ In)，氧化物产率<1.5%，双电荷产率<3.0%。

（三）硒形态标准品

经认证的具有明确化学结构和纯度的硒化合物标准物质。包括无机硒标准品：亚硒酸钠（ Na_2SeO_3 ，纯度 $\geq 99.0\%$ ）、硒酸钠（ Na_2SeO_4 ，纯度 $\geq 99.0\%$ ）；有机硒标准品：硒代蛋氨酸（SeMet，纯度 $\geq 98.0\%$ ）、硒代胱氨酸（SeCys₂，纯度 $\geq 98.0\%$ ）、硒甲基硒代半胱氨酸（SeMeCys，纯度 $\geq 98.0\%$ ）。标准品储存条件：-20℃避光保存，有效期12个月。使用前需在室温下平衡30分钟，用超纯水配制储备液（1000mg/L），工作液现用现配。标准品溶液需定期验证，浓度变化超过5%时应重新配制。

（四）酶解提取法

利用酶制剂选择性水解样品基质，释放硒形态的样品前处理方法。酶解条件：蛋白酶 XIV（活性 $\geq 3.5\text{U/mg}$ ）用量 50mg/g 样品，脂肪酶（活性 $\geq 100\text{U/mg}$ ）用量 10mg/g 样品；缓冲体系为 50mmol/L Tris-HCl（pH=7.5）；提取温度 $37\pm 1^\circ\text{C}$ ；提取时间 16 小时；振荡速度 150rpm。提取后处理：10000rpm 离心 10 分钟，上清液经 $0.22\mu\text{m}$ 聚醚砜滤膜过滤。方法要求提取效率 $\geq 85\%$ ，硒形态转化率 $< 5\%$ ，基质效应在 90%-110%之间。每批提取需同时进行空白试验和加标回收试验。

（五）色谱分离度

相邻色谱峰分离程度的量化指标，计算公式为 $R=2(t_2-t_1)/(W_1+W_2)$ ，其中 t 为保留时间， W 为峰宽。要求所有硒形态色谱峰的分度 ≥ 1.5 ，确保基线分离。影响因素包括色谱柱类型、流动相组成、梯度程序、柱温等。优化方法：采用阴离子交换柱，柠檬酸铵缓冲液梯度洗脱（5-50mmol/L，pH=5.0），柱温 30°C ，流速 1.0mL/min。定期检查柱效，理论塔板数不低于 10000，不对称因子 0.8-1.2。

（六）质谱干扰校正

采用数学方法或技术手段消除质谱检测中干扰的过程。主要干扰包括： $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}$ 对 ^{78}Se 的干扰， ^{81}BrH 对 ^{82}Se 的干扰。校正方法：采用反应池技术（ORS），碰撞气为氦气（流量 4-6mL/min），

动能歧视消除多原子离子干扰；采用数学校正方程，通过监测干扰元素的同位素进行实时校正；采用内标法（ ^{72}Ge 或 ^{115}In ）校正仪器漂移和基质效应。要求干扰校正后， ^{78}Se 和 ^{82}Se 的比值与理论值（ $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}=0.86$ ）偏差不超过 10%。

（七）方法验证指标

评价分析方法性能的技术参数。包括：线性范围（0.001–1.000mg/L），要求相关系数 $r \geq 0.999$ ；检出限（LOD），信噪比 $S/N=3$ 时对应的浓度，要求 $\leq 0.0005\text{mg/kg}$ ；定量限（LOQ），信噪比 $S/N=10$ 时对应的浓度，要求 $\leq 0.0015\text{mg/kg}$ ；准确度，加标回收率 85%–105%；精密度，重复性 $RSD \leq 5\%$ ，再现性 $RSD \leq 8\%$ ；特异性，各硒形态色谱峰分离度 ≥ 1.5 ；稳定性，样品提取液在 4℃ 保存 24 小时，各形态含量变化 $< 5\%$ 。

（八）质量控制要求

保证分析结果准确可靠的质量管理措施。实验室环境要求：温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度 $50\% \pm 10\%$ ，洁净度万级，硒本底值低于检出限。仪器校准：每日进行质量校准和分辨率检查，每周进行灵敏度调试，每月进行全面的性能验证。过程控制：每批样品分析方法空白、平行样、加标回收样和有证标准物质。方法空白值应低于检出限；平行样相对偏差 $\leq 10\%$ ；加标回收率 85%–105%；有证标准物质测定值在认定值的不确定度范围内。数据审核：建立三级审核制度，所有原始数据、谱图、计算过程等保存期限不少于 10 年。

（九）不确定度评定

对分析结果可靠程度的定量评价。评定依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》。不确定度来源包括：样品称量（ $\pm 0.0002\text{g}$ ）、标准品配制（ $\pm 1\%$ ）、提取效率（ $\pm 5\%$ ）、仪器测量（ $\pm 3\%$ ）、数据处理（ $\pm 2\%$ ）等。采用 bottom-up 方法合成各分量，扩展不确定度（ $k=2$ ）要求 $\leq 15\%$ 。定期进行实验室间比对，结果 En 值 ≤ 1 。建立不确定度评估报告，随分析结果一同出具。

（十）数据报告规范

分析结果报告的格式和内容要求。报告内容：样品信息（编号、名称、批号）、分析日期、分析方法、仪器型号、色谱条件、质谱条件、各硒形态含量（mg/kg，保留三位有效数字）、不确定度（ $k=2$ ）、质量控制数据（空白值、加标回收率、平行样偏差等）、审核签字。报告格式：采用统一的模板，中英文对照，电子版和纸质版同时保存。数据追溯：保留所有原始数据、仪器谱图、计算过程，保存期限不少于 10 年。报告发放：经三级审核后出具，加盖 CMA 或 CNAS 标志（如适用）。

五、方法原理

本方法采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术（HPLC-ICP-MS）进行硒形态分析。方法原理为：样品经酶解提取后，采用阴离子交换色谱柱进行分离，不同硒形态根据其固定相的相互作用力差异实现分离。分离后的各硒形态进入电感耦合等离子体质谱仪，在高温等离子体中被电离形成带正电荷的离子，通过质谱仪按质荷比（ m/z ）进行分离和检测。重点监测的硒同位素为 ^{78}Se 、 ^{82}Se ，采用内标法进行定量分析，内标元素选用 ^{72}Ge 或 ^{115}In 。色谱分离采用梯度洗脱程序：流动相 A 为 5mmol/L 柠檬酸铵缓冲液（ $\text{pH}=5.0$ ），流动相 B 为 50mmol/L 柠檬酸铵缓冲液（ $\text{pH}=5.0$ ）；洗脱程序：0–5min 100% A，5–15min 线性变化至 100% B，15–25min 保持 100% B，25–26min 线性变化至 100% A，26–30min 平衡。色谱柱温度保持 $30\pm 1^\circ\text{C}$ ，流速 1.0mL/min，进样量 10 μL 。ICP-MS 工作参数：射频功率 1550W，等离子气流 15.0L/min，辅助气流 0.8L/min，雾化气流 0.95L/min，采样深度 8.0mm，采集模式为跳峰，每个峰采集 3 个点，驻留时间 100ms。

六、试剂与材料

实验用水为超纯水，电阻率 $\geq 18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ ，总有机碳 $\leq 5\mu\text{g/L}$ 。试剂均为优级纯或色谱纯。硒形态标准品：亚硒酸钠（ Na_2SeO_3 ，纯度 $\geq 99.0\%$ ）、硒酸钠（ Na_2SeO_4 ，纯度 $\geq 99.0\%$ ）、硒代蛋氨酸（SeMet，纯度 $\geq 98.0\%$ ）、硒代胱氨酸（SeCys₂，纯度 $\geq 98.0\%$ ）、硒甲基硒代半胱氨酸（SeMeCys，纯度 $\geq 98.0\%$ ）。酶制剂：蛋白酶 XIV（活性 $\geq 3.5\text{U/mg}$ ）、脂肪酶（活性 $\geq 100\text{U/mg}$ ）。缓冲溶液：柠檬酸铵缓冲液（5mmol/L 和 50mmol/L， $\text{pH}=5.0\pm 0.1$ ），现用现配。内标溶液：锗标准溶液（ ^{72}Ge ，1000mg/L）或铟标准溶液（ ^{115}In ，1000mg/L），使用时稀释至 100 $\mu\text{g/L}$ 。所有溶液储存于 4°C 避光保存，有效期 30 天。实验器皿均为聚丙烯或聚四氟乙烯材质，使用前经 10%硝酸浸泡 24 小时，超纯水冲洗干净。

七、仪器设备

高效液相色谱系统：二元梯度泵，自动进样器，柱温箱，二极管阵列检测器。色谱柱：阴离子交换柱（250mm×4.6mm，5 μm）或等效色谱柱。电感耦合等离子体质谱仪：四极杆质谱，反应池技术，灵敏度 $\geq 5000\text{cps/ppb}$ (^{115}In)，氧化物产率 $<1.5\%$ (CeO^+/Ce^+)，双电荷产率 $<3.0\%$ ($\text{Ba}^{2+}/\text{Ba}^+$)。辅助设备：超纯水系统（电阻率 $\geq 18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ ），分析天平（感量0.0001g），pH计（精度0.01），恒温水浴摇床（控温精度 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ），超声波清洗器（功率500W），离心机（转速 $\geq 10000\text{rpm}$ ），超滤装置（截留分子量3kDa）。所有仪器设备定期进行检定/校准，建立仪器档案，包括使用记录、维护记录、性能验证记录等。

八、分析步骤

样品前处理：称取0.5000g样品于50mL离心管中，加入10mL酶解缓冲液（50mmol/L Tris-HCl，pH=7.5），加入50mg蛋白酶XIV和10mg脂肪酶，涡旋混匀。37 $\pm 1^\circ\text{C}$ 水浴振荡提取16小时，转速150rpm。提取后10000rpm离心10分钟，上清液经0.22 μm滤膜过滤，滤液保存于4 $^\circ\text{C}$ 待测。同时制备方法空白和质控样品。仪器分析：首先进行仪器优化，调谐ICP-MS至最佳状态，灵敏度 $\geq 5000\text{cps/ppb}$ (^{115}In)，氧化物产率 $<1.5\%$ ，双电荷产率 $<3.0\%$ 。色谱条件：柱温30 $^\circ\text{C}$ ，流速1.0mL/min，进样量10 μL，采用梯度洗脱程序。质谱条件：监测同位素 ^{78}Se 、 ^{82}Se ，内标 ^{72}Ge 或 ^{115}In ，采集模式跳峰，驻留时间100ms。每批样品分析时先运行标准曲线，然后分析样品，每10个样品插入一个质控样。数据分析：采用内标法进行定量，标准曲线相关系数 $r\geq 0.999$ ，样品平行测定相对偏差 $\leq 10\%$ 。结果计算：根据峰面积和标准曲线计算各硒形态含量，结果以mg/kg表示，保留三位有效数字。

九、质量控制

实验室环境要求温度23 $\pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度50% $\pm 10\%$ ，洁净度万级，避免硒污染。方法验证：首次使用本方法时需进行全面验证，包括线性范围（0.001–1.000mg/L）、检出限（ $\leq 0.0005\text{mg/kg}$ ）、定量限（ $\leq 0.0015\text{mg/kg}$ ）、准确度（加标回收率85%–105%）、精密度（RSD $\leq 8\%$ ）、特异性等。过程控制：每批样品同时分析方法空白、平行样、加标回收样和有证标准物质。方法空白值应低于检出限，平行样

相对偏差 $\leq 10\%$ ，加标回收率 85%–105%，有证标准物质测定值在标准值范围内。仪器校准：每日分析前进行仪器调谐，确保灵敏度、氧化物产率、双电荷产率等指标符合要求。每周进行质量校准和分辨率检查。每月进行全面的仪器维护和性能验证。数据审核：建立三级审核制度，分析人员自审、实验室负责人审核、技术负责人批准。所有原始数据、谱图、计算过程等保存期限不少于 10 年。

十、附则

本标准自发布之日起实施，由广西电子商务企业联合会负责解释。本标准将根据技术发展和市场需求定期修订，一般每 12 个月进行一次评审。本标准的版权归广西电子商务企业联合会所有，未经授权不得用于商业目的。本标准与国家标准或行业标准冲突时，以国家标准或行业标准为准。最后需要说明的是，本标准的所有技术参数和要求都是基于当前硒形态分析技术发展水平和实践经验制定的，随着技术进步和研究深入，研究院将及时对标准内容进行更新和完善，以保持标准的先进性和适用性。