

# 饲料级磷酸盐中磷含量的快速测定方法研究

李优琴<sup>1,2</sup>, 吕康<sup>1,2</sup>, 周维仁<sup>3</sup>, 陈小龙<sup>1,2</sup> (1. 江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所, 江苏南京 210014; 2. 江苏省省部共建食品质量安全重点实验室, 江苏南京 210014; 3. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏南京 210014)

**摘要** [目的] 建立饲料级磷酸盐中磷的快速测定方法。[方法] 采用分光光度法研究了磷酸盐中总磷含量的测定条件, 并与国标方法进行比较测定了不同种类饲料级磷酸盐样品。[结果] 优化后的测试条件为: 测试波长 420 nm, 显色酸度控制在 0.5~1.0 mol/L, 显色温度不低于 15 ℃, 显色时间 20~30 min。方法回收率 97.5%~100.1%, 比较 2 种方法测定各样品的结果, 均满足标准要求。[结论] 采用分光光度法测定饲料级磷酸盐中磷的含量, 方法简单、快捷, 可以满足标准要求的准确度和精密度。

**关键词** 饲料级磷酸盐; 磷; 分光光度法

中图分类号 S816.11 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)32-0100-02

## Rapid Analysis Method of Phosphorus Content in Feed-grade Phosphate

LI You-qin<sup>1,2</sup>, LV Kang<sup>1,2</sup>, ZHOU Wei-ren<sup>3</sup> et al (1. Institute of Food Quality Safety and Detection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014; 2. Jiangsu Provincial Key Lab of Food Quality and Safety, Nanjing, Jiangsu 210014; 3. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014)

**Abstract** [Objective] To establish a method for the rapid determination of the phosphorus in feed-grade phosphate. [Method] The concentration of phosphorus in phosphate was determined by spectrophotometry method. Different types of feed-grade phosphate samples were detected and compared by national standard method. [Result] The optimized detection condition was as follows: 420 nm detection wavelength, 0.5-1.0 mol/L chromogenic acidity, color developing temperature greater than 15 ℃, and 20-30 min color developing time. Under this condition, the recovery rate was 97.5% - 100.1%. The results of two methods all met the requirement of standard. [Conclusion] Phosphorus content in feed-grade phosphate detected by spectrophotometry method is proved to be easy, rapid and accurate.

**Key words** Feed-grade phosphate; Phosphorus; Spectrophotometry method

饲料级磷酸盐作为动物必需的养分, 被广泛用于畜禽水产饲料中, 饲料中磷含量的高低直接影响动物的生长发育。磷含量测定方法有比色法、容量法、重量法、等离子光谱法、离子色谱法、示波极谱等。现行的标准饲料级磷酸氢钙 GB/T 22549—2008<sup>[1]</sup>、饲料级磷酸二氢钙 GB/T 22548—2008<sup>[2]</sup> 以及饲料级磷酸一、二钙 HG/T 3776—2005<sup>[3]</sup> 和饲料级磷酸二氢钾 HG/T 2860—2011<sup>[4]</sup> 中磷含量的测定都采用喹钼柠酮重量法, 这是一种比较经典的分析方法, 也是目前通用的仲裁方法, 但该方法操作繁琐耗时, 且喹钼柠酮试剂不太稳定, 需避光保存, 因此不能满足实际生产中快速测定的需求。饲料中磷含量的测定则是采用钒钼黄分光光度法 (GB/T 6437—92)<sup>[5]</sup>, 操作简便, 但一般光度法最适于磷含量较低的样品分析, 能否准确测定饲料级磷酸盐中磷含量一直存在争议。武英利等<sup>[6]</sup> 研究认为, 用分光光度法测定磷酸氢钙中磷的含量, 所得结果相比重量法偏高; 高大威等<sup>[7]</sup> 对测定磷酸氢钙中磷含量的重量法与分光光度法进行了对比研究, 结果 2 种方法检测值之差均小于方法的允许误差, 只是分光光度法所测的结果略高于重量法, 平行样间相差稍大, 变异系数也略大; 郭萍<sup>[8]</sup> 研究了磷酸氢钙和磷酸二氢钙中磷含量的分光光度测定法, 认为与国标法测定无显著差异; 而李冲等<sup>[9]</sup> 用分光光度法测定磷酸二氢钙中磷的含量结果都比标准值低; 李光明等<sup>[10]</sup> 比较了磷钼酸喹啉重量法、磷钼酸喹啉容量法和分光光度法测定饲料磷酸盐中磷含量, 认为采用分光光度法测定的总磷和水溶磷含量低于重量法和容量法。为了建立饲料级磷酸盐中磷的快速测定方法, 笔者对分

光光度法测定饲料级磷酸盐中磷的含量进行了研究, 改进了测定方法, 并与国标方法进行了比较, 获得了较好的结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品。** 不同种类的饲料级磷酸盐样品: 磷酸氢钙, 磷酸二氢钙, 磷酸一、二钙。

**1.1.2 主要仪器。** 752N 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; DHG-9070A 电热干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 坩埚式滤器。

**1.1.3 主要试剂。** 盐酸、硝酸、钼酸铵、偏钒酸铵、氢氧化钠、钼酸钠、柠檬酸、喹啉、丙酮, 均为分析纯; 磷酸二氢钾, 光谱纯; (1+1) 盐酸溶液; 1 mol/L 氢氧化钠溶液; 0.2% 2,4-二硝基酚指示剂。

**钒钼酸铵溶液:** 溶液 a, 25.00 g 钼酸铵溶于 400 mL 温水中 (50~60 ℃); 溶液 b, 1.25 g 钒酸铵溶于 300 mL 沸水中, 冷却后加 333 mL 浓盐酸, 再冷至室温; 将溶液 a 缓慢地倒入溶液 b 中, 不断搅匀, 用水稀释至 1 L, 储于棕色瓶中, 此溶液酸的浓度约为 4 mol/L [c(HCl)]。

**喹钼柠酮溶液:** 溶液 A, 称取 70 g 钼酸钠溶解于 150 mL 水中; 溶液 B, 称取 60 g 柠檬酸溶解于 150 mL 水和 85 mL 硝酸混合液中; 溶液 C, 在搅拌下缓缓将溶液 A 加入溶液 B 中; 溶液 D, 在 100 mL 水中加入 35 mL 硝酸和 5 mL 喹啉; 溶液 E, 缓缓地将溶液 D 倒入溶液 C 中, 混匀后在暗处放置 24 h, 然后过滤, 滤液中加入 280 mL 丙酮, 用水稀释至 1 000 mL, 混匀, 贮存于聚乙烯瓶中。

**磷 (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 标准储备溶液:** 称取 105 ℃ 烘 2 h 的磷酸二氢钾 1.917 6 g 于 400 mL 烧杯中, 用少量水溶解, 转入 1 000 mL 容量瓶中, 加 5 mL 浓硝酸, 用水定容, 此溶液浓度为 1 000

**作者简介** 李优琴 (1963-), 女, 浙江黄岩人, 副研究员, 从事农产品及产地环境质量安全检测与控制技术研究。

**收稿日期** 2016-09-21

mg/L  $P_2O_5$ , 可长期保存。

磷( $P_2O_5$ )标准溶液:取磷标准储备溶液,准确稀释10倍,即为100 mg/L的 $P_2O_5$ 标准溶液。

**1.2 样品前处理** 准确称取0.1 g样品(精确至0.000 2 g),加10 mL(1+1)盐酸溶液,煮沸10 min,冷却后移入250 mL容量瓶中,用水定容,摇匀备用。

**1.3 测定方法** 移取待测液5 mL(含 $P_2O_5$  0.5~2.0 mg)至50 mL容量瓶中,加2滴2,4-二硝基酚指示剂,用1 mol/L氢氧化钠溶液中和至刚呈微黄色,再加10 mL钒钼酸铵溶液,用水定容。最后酸度约为0.8 mol/L,20 min后于波长420 nm处比色测定。同时作空白试验。

**1.4 磷标准系列** 准确移取磷标准溶液0、2.5、5.0、7.5、10.0、15.0、20.0 mL于50 mL容量瓶中,按“1.3”中操作步骤显色,测定吸光值,标准系列 $P_2O_5$ 浓度为0、5、10、15、20、30、40 mg/L。

## 2 结果与分析

**2.1 测定波长的选择** 饲料级磷酸盐的磷含量高,所以不一定要选择最大吸收波长,可根据样品含量、吸光度值选择合适的波长和比色皿,尽量将吸光度值调整在0.2~0.8,磷测定波长可选400~490 nm。该试验选择的波长为420 nm,比色皿采用1 cm,也可选用450 nm波长,2 cm比色皿。

**2.2 比色酸度的影响** 钒钼黄比色法的适宜酸度范围为0.2~1.6 mol/L,酸度低时黄色加深灵敏度增高,酸度超过1.6 mol/L则所显颜色变淡,即使在这一范围内随着酸度的增大,显色速度也随之减慢。综合考虑显色温度和显色速度、稳定性,溶液酸度控制在0.5~1.0 mol/L,待测液和标准溶液的酸度要基本一致,从而消除因酸度相差太大对测定结

果的影响。

**2.3 显色温度、时间的确定** 光度法测定对于酸度和温度的要求较高,需严格把控。显色过程一般在室温下进行,不低于15℃,放置20~30 min,如温度较低,显色时间要相对延长。显色剂不能放置太久,如生成沉淀,则不能使用。

**2.4 回收率试验** 用饲料级磷酸氢钙样品进行回收率试验,结果见表1,回收率在97.5%~100.1%。

表1 比色法测定磷添加回收试验结果

Table 1 Recovery test results of phosphorus additives detected by colorimetric method

本底值 Back-ground value//%	加标量 (1% $P_2O_5$ ) Standard adding amount//mL	测定值 Measured value//%			平均值 Mean//%	回收率 Recovery rate//%
		重复1 Repet- ition 1	重复2 Repeti- tion 2	重复3 Repeti- tion 3		
17.17	2.50	22.54	22.38	22.43	22.45	98.6
17.17	5.00	27.47	27.40	28.11	27.66	97.5
17.17	10.00	38.61	39.05	38.09	38.58	100.1

**2.5 国标法和分光光度法比较** 分别采用国标重量法和分光光度法测定了不同种类的饲料级磷酸盐样品中总磷含量,结果见表2。分光光度法测定各样品的平行测定结果的绝对差值为0.04%~0.10%,标准要求是不大于0.20%,2种方法测定各样品的结果相差的绝对差值为0~0.04%,均满足标准要求。与国标采用的重量法相比,分光光度比色法较为快速,其中钒钼黄比色法最好,操作简便,颜色稳定,显色浓度范围及允许酸度范围都较宽,干扰因子少,可用于高磷含量样品(试液浓度 $P_2O_5$  2.5~50.0 mg/L)的测定。

表2 国标法和分光光度法测定结果

Table 2 Detection results of national standard method and spectrophotometry method

样品名称 Sample name	国标法 National standard method(重量法)			分光光度法 Spectro- photometry method			2种方法相差 Difference between the two methods
	测定值 Measured value	平均值 Mean	平行极差 Parallel range	测定值 Measured value	平均值 Mean	平行极差 Parallel range	
磷酸二氢钾(光谱纯) Monopotassium phosphate (spectrum pure)	22.70 22.72 22.70	22.71	0.02	22.71 22.73 22.69	22.71	0.04	0
磷酸氢钙(饲料级) Calcium hydrophosphate (feed grade)	17.21 17.20	17.18	0.07	17.20 17.15 17.15	17.17	0.05	0.01
磷酸二氢钙(饲料级) Monocalcium phosphate (feed grade)	21.60 21.60 21.59	21.60	0.01	21.54 21.59 21.62	21.59	0.08	0.01
磷酸一钙(饲料级) Mono-calcium and di-calcium phosphate (feed grade)	21.10 21.01 21.04	21.07	0.09	21.08 21.03 20.98	21.03	0.10	0.04

**2.6 光度法测定其他条件控制** 对于未知样品光度显色时吸取待测液量的确定,可事先吸取一定量的待测液,显色后用目测法观察颜色深度,再估算出应该吸取待测液的量。若重配显色剂,必须重新作标准曲线。

比色皿必须配套使用,事先应进行配对检验,使比色皿与溶剂的吸收度尽可能低,具体方法如下:分别向被测的2

只比色皿中注入同样的溶液,将仪器置于某一波长处,石英比色皿220 nm,玻璃比色皿700 nm处,将某一个皿的透射比值调至100%,测量其他各皿的透射比值,记录其示值之差及透光方向,如透射比之差在±0.5%则可以配套使用,若超出此范围应考虑其对测试结果的影响。

(下转第105页)

含量检测,即可通过检测数据计算得出生产线实时的提取率,方便快捷。但由于生产线通常采用多级逆流的提取工艺,随着提取过程中对提取液回流量的控制,提取液固含量会产生一定程度的波动,可能会对提取液固含量计算法得到提取率的稳定性产生一定影响。

表 7 不同提取率检测方法在实际生产中的应用比较

Table 7 The application comparison in productive process with different extraction rates of detection methods

方法 Method	取样难度 Sampling difficulty	准确性 Accuracy	快捷性 Rapidness
残渣称重法 Residue weighting method	难	不准确	快捷
极限提取法 Limit extraction method	较易	准确	较繁琐
提取液固含量计算法 Algorithm for solid content of extracts	较易	较准确	快捷

### 3 结论

该研究得出,提取液固含量计算法测定的萃取率与残渣

(上接第 101 页)

比色皿架及比色皿在使用中要正确到位,若操作不当造成偶然误差,会严重影响分析结果。应保证比色皿不倾斜放置,否则会使参比样品与待测样品的吸收光径长度不一致,还可能使入射光不能全部通过样品池,导致测试比准确度不符合要求。其次,应保证每次测试时,比色皿架推拉到位。若不到位,将影响到测试值的重复性或准确度。还应保证比色皿的清洁度,不至影响透光度。

### 3 结论与讨论

该试验用磷标准溶液研究了测试波长、显色酸度、显色温度和时间等条件,确定最佳测试条件为波长 420 nm,溶液酸度 0.5 ~ 1.0 mol/L,显色温度和时间为 15 °C 以上 20 ~ 30 min。同时进行了回收率试验,并与国标法比较,测定了不同种类的饲料级磷酸盐样品中总磷含量,结果回收率 97.5% ~ 100.1%,平行测定结果绝对差值 0.04% ~ 0.10%,小于 0.20%,均满足标准要求。

分光光度法用于测定饲料级磷酸盐中磷的含量,通过控

称重法和极限提取法测定的萃取率之间差异不显著;残渣称重法不适用于生产线在线检测,极限提取法和提取液固含量计算法都适用于生产线在线检测,两者相比较之下,极限提取法检测过程繁琐,提取液固含量计算法操作简单快捷。

提取液固含量计算法操作简单快捷,检测结果重现性好,适用于造纸法再造烟叶生产线提取率在线检测,因此具有良好的应用前景。

### 参考文献

- [1] 杨彦明,唐自文,付宇,等.造纸法再造烟叶浸取工艺研究[J].应用化工,2009,38(3):425-428.
- [2] 林强.提取和搓丝工艺对造纸法再造烟叶品质的影响及其改进[J].企业技术开发(学术版),2013,32(4):54-56.
- [3] 常纪恒,朱聪阳,张彩云,等.造纸法烟草薄片萃取技术初探[J].烟草科技,2002,46(1):14-17.
- [4] 施建在.造纸法再造烟叶生产线萃取率的计算方法[J].江西农业学报,2011,23(8):83-84.
- [5] 黄申元.造纸法再造烟叶生产线萃取率的检测与计算方法[J].烟草科技,2005,49(6):20.
- [6] 轻工部造纸工业科学研究所.造纸原料水抽出物含量的测定:GB/T 2677.4-1993[S].北京:中国标准出版社,1993.

制测试溶液酸度、显色温度和时间等测试条件,可以满足标准要求的准确度和精密度,方法简便、快速。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.饲料级磷酸氢钙:GB/T 22549-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.饲料级磷酸二氢钙:GB/T 22548-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [3] 中华人民共和国国家发展和改革委员会.饲料级磷酸一、二钙:HG/T 3776-2005[S].北京:中国标准出版社,2005.
- [4] 中华人民共和国工业和信息化部.饲料级磷酸二氢钾:HG/T 2860-2011[S].北京:中国标准出版社,2011.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.饲料中总磷的测定:GB/T 6437-2002分光光度法[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [6] 武英利,李海龙,闫超,等.分光光度法测定磷酸氢钙中磷含量[J].中国饲料,2002(15):25-26.
- [7] 高大威,朱晶,朱桂燕.磷酸氢钙中磷含量的两种检测方法之比较[J].黑龙江粮食,2002(5):46,23.
- [8] 郭萍.快速测定饲料级磷酸氢钙、磷酸二氢钙中钙、总磷含量[J].中国饲料添加剂,2005,31(1):36-37.
- [9] 李冲,廖正福,魏永春,等.分光光度法测定磷酸二氢钙中磷含量[J].化工技术与开发,2009,38(1):39-41.
- [10] 李光明,万荣,李霞,等.饲料磷酸盐中磷含量的三种检测方法比较分析[J].饲料广角,2014(6):19-21.