

微波消解 - 分光光度法测定乳制品和特殊膳食食品中的磷

田洪芸¹, 田 栋², 任雪梅¹, 张海红¹ (1. 山东省食品药品检验研究院, 山东济南 250101; 2. 中国人民公安大学, 北京 102623)

摘要 [目的]探索测定乳制品和特殊膳食食品中磷含量的方法。[方法]建立了微波消解前处理 - 分光光度法测定特殊膳食食品和乳制品中磷的方法,并将检验结果与标准规定的湿法消解处理方式进行比对。[结果]使用该方法所获得的检验结果具有检出限低、精密度好、安全快捷、有机酸消耗量少的优势。经验证,该方法准确度符合国家相关标准的要求。[结论]该试验建立的方法对设备要求简单,且操作简便可行,可以在检验机构中推广应用。

关键词 特殊膳食食品;乳制品;微波消解;精密度;准确度
中图分类号 TS207 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)20-0091-04

Determination of Phosphorus in Dairy Products and Special Dietary Foods by Microwave Digestion Spectrophotometry
TIAN Hong-yun¹, TIAN Dong², REN Xue-mei¹ et al (1. The Provincial Food and Drug Inspection Institute of Shandong, Jinan, Shandong 250101; 2. China People's Public Security University, Beijing 102623)

Abstract [Objective]To explore a method for determination of phosphorus content in dairy products and special dietary food. [Method]A method was developed for the determination of phosphorus in special dietary foods and dairy products by microwave digestion before treatment. The results were compared with the standard method of wet digestion. [Result] The test results obtained by this method had the advantages of low detection limit, good precision, safe and fast and less consumption of organic acids. It has been proved that the accuracy of this method meets the requirements of relevant national standards. [Conclusion]The method had the advantages of using simple equipments, operating conveniently, and can be popularized and applied in inspection institutions.
Key words Special dietary food; Dairy products; Microwave digestion; Accuracy; Precision

磷是人体骨骼和牙齿的重要组成成分,此外还参与核酸、细胞膜、磷蛋白及某些辅酶的组成,在人体代谢、维持酸碱平衡、维持肾脏正常机能和传达神经刺激中具有重要作用。由于磷具有上述重要生理功能^[1-6], GB 10765—2010《食品安全国家标准 婴儿配方食品》、GB 10767—2010《食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品》、GB 25596—2010《食品安全国家标准 特殊医学用途婴儿配方食品通则》、GB 29922—2013《食品安全国家标准 特殊医学用途配方食品通则》、GB 10769—2010《食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品》等特殊膳食食品产品标准中均对磷作出了相应的限量规定^[7-11]。

目前,特殊膳食食品和乳制品中磷的测定方法标准为 GB 5413.22—2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中磷的测定》^[12],该方法采用湿法消解前处理 - 分光光度法测定。消解过程中要使用浓硝酸、高氯酸等有机酸至少 20 mL,由于样品中蛋白质、脂肪、糖类等有机物含量高,长时间加热样品具有安全隐患,且湿法消解空白值高,影响检验结果的准确性^[13]。笔者采用微波消解代替湿法消解前处理,具有检测周期短、前处理简单、空白值低、试剂消耗量少的优点,能大大提高工作效率^[14-17]。

1 材料与方法

1.1 材料 Millipore 超纯水制备装置; Mars 5 微波消解系统,美国 CEM 公司;紫外 - 可见分光光度计,美国热电公司;电子分析天平,梅特勒公司。浓硝酸;高氯酸;钼酸铵;偏钒酸铵;2,6-二硝基酚;30%优级纯过氧化氢;婴儿配方乳粉;较大婴儿配方乳粉;特殊医学用途婴儿配方乳粉;调制乳粉;婴幼儿配方谷粉;全脂乳粉。

1.2 微波消解条件 准确称取 0.5 g(精确至 0.000 1 g)样品于聚四氟乙酸微波消解内罐中,加入 6 mL 浓硝酸,2 mL 过氧化氢于微波消解仪中消解,室温放置 10 min,盖上内盖,旋紧外盖,具体消解程序见表 1。样品消解完全后冷却,将消解液转移至试管中并于 140 ℃赶酸,将消解液转移至 25 mL 容量瓶中,定容、摇匀得到样品溶液,同时做空白试验。

表 1 微波消解程序
Table 1 Microwave digestion procedure

步骤 Step	升温时间 Heating up time//min	控制温度 Control temp- erature//℃	持续时间 Duration min
1	3	120	5
2	5	180	6
3	5	240	8

1.3 分光光度法测定样品中的磷 样品中磷的测定步骤参照 GB 5413.22—2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中磷的测定》。

2 结果与分析

2.1 前处理条件的选择 磷属于易挥发元素,特殊膳食食品和乳制品基质蛋白质、脂肪和糖类等有机化合物含量高,使用湿法消解前处理,有机酸消耗量大、检测周期长、安全隐患多且空白值高,影响检测结果的准确性。使用密闭的微波消解罐消解,有机酸消耗量小、安全高效且空白值低。通过程序控制前处理条件,可大大提高工作效率^[18-19]。

2.2 线性关系及样品的检出限、定量限 在波长 660 nm 处测定钼蓝的吸光度值对磷浓度绘制标准曲线(图 1),磷浓度在 0~2.4 μg/mL 范围呈良好的一次线性关系,相关系数 *r* 为 0.999 8,样品检测限(LOD)为 20 mg/kg,样品定量限(LOQ)为 60 mg/kg。

作者简介 田洪芸(1986—),女,山东泰安人,工程师,硕士,从事食品安全检测与研究。
收稿日期 2017-05-02

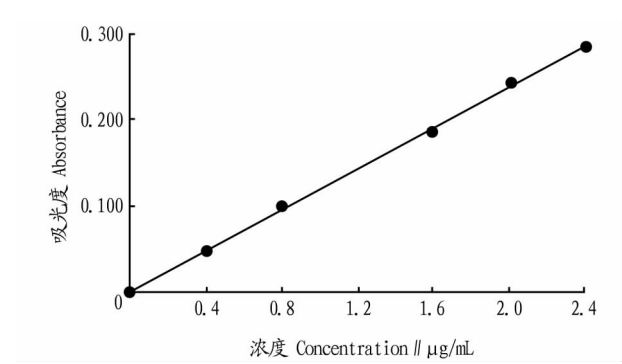


图1 磷标准曲线

Fig.1 Phosphorus standard curve

2.3 精密度试验 采用该方法测定婴儿配方乳粉、较大婴儿配方乳粉、婴幼儿配方谷粉、特殊医学用途婴儿配方乳粉、调制乳粉、液体乳样品 6 份,计算磷元素含量的相对标准偏差(RSD),RSD 范围在 0.004% ~0.320% ,均小于 5% ,说明该方法精密度较高,结果详见表 2。

由表 2 可知,精密度试验样品的回收率符合 GB/T27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中对精密度试验的要求^[20]。

2.4 加标回收试验 在已知本底含量的考核样品中,分别加入磷标准 1 000 μg,按照“1.2”处理加标样品,结果见表 3。

表 2 考核样品精密度试验				
Table 2 Precision test of sample				
样品类型 Sample type	称样量 Weigh sample g	结果 Result mg/g	平均值 Average value mg/g	RSD %
婴儿配方乳粉 Infant formula milk powder	0.445 4	3.297 0	3.304 0	0.240
	0.452 9	3.312 0		
	0.451 2	3.301 0		
	0.458 8	3.315 0		
	0.461 5	3.296 0		
	0.451 0	3.303 0		
较大婴儿配方乳粉 Larger infant formula milk powder	0.468 3	4.551 0	4.556 0	0.210
	0.472 0	4.560 0		
	0.459 7	4.568 0		
	0.462 3	4.542 0		
	0.454 2	4.553 0		
	0.469 4	4.563 0		
特殊医学用途婴儿配方乳粉 Infant formula milk powder for special medical use	0.458 1	2.884 0	2.8920	0.320
	0.466 4	2.900 0		
	0.462 1	2.882 0		
	0.453 7	2.889 0		
	0.458 3	2.906 0		
	0.463 9	2.893 0		
婴幼儿配方谷粉 Infant formula cereal	0.452 7	1.432 4	1.422 1	0.010
	0.462 4	1.421 5		
	0.453 9	1.430 9		
	0.468 9	1.408 9		
	0.457 8	1.428 9		
	0.462 3	1.410 3		
调制乳粉 Modified milk powder	0.489 7	1.832 6	1.844 0	0.011
	0.472 6	1.839 8		
	0.465 2	1.845 2		
	0.451 7	1.865 4		
	0.461 2	1.840 8		
	0.462 3	1.840 2		
液体乳 Liquid milk	0.446 9	1.210 2	1.207 2	0.004
	0.451 3	1.208 7		
	0.445 2	1.211 8		
	0.453 6	1.206 2		
	0.452 1	1.208 0		
	0.462 5	1.198 4		

表 3 样品加标回收结果
Table 3 Sample scale recovery result

样品编号 Sample number	称样量 Weigh sample g	本底值 Background value mg/g	加标量 Adding standard matter amount//μg	测定值 Measured value mg/g	平均回收率 Average recovery %
CNCA10B 03 – 005	0.463 2	3.304	1 000	5.452	100.1
	0.483 9		1 000	5.385	
CNCA10B 03 – 131	0.461 8	4.556	1 000	6.743	100.7
	0.433 5		1 000	6.872	
CNCA10B 03 – 148	0.491 7	2.892	1 000	4.942	100.4
	0.472 4		1 000	5.009	

由表 3 可知,加标回收试验样品的回收率符合 GB/T27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中对回收率试验的要求。

2.5 方法间比对结果 采用湿法消解和微波消解分别处理乳制品、特殊膳食食品和国家标准物质,利用分光光度法测定样品中磷含量,结果见表 4、5。

表 4 2 种前处理方法磷含量测定结果
Table 4 Results of phosphorus content in two pretreatment methods

样品分类 Sample category	样品名称 Sample name	湿法消解 Wet digestion mg/kg	微波消解 Microwave digestion mg/kg	相对偏差 Relative deviation//%
乳制品 Dairy products	全脂奶粉	7 510	7 230	3.80
	甜奶粉	5 020	5 090	1.38
	中老年奶粉	7 610	7 720	1.44
	儿童成长奶粉	7 670	7 570	1.31
	草原原味奶片	3 280	3 330	1.51
	草原原味奶酥	2 380	2 290	3.85
	新西兰牛油	1 870	1 810	3.26
特殊膳食食品 Special dietary foods	五谷杂粮营养米粉	5 070	5 100	0.59
	强化铁钙锌营养米粉	4 450	4 550	2.22
	淮山薏米营养米粉	3 720	3 920	5.24
	牛奶谷物磨牙棒	1 860	1 880	1.07
	营养磨牙棒(胡萝卜味)	1 280	1 240	3.17
	乳蛋白深度水解婴儿配方奶粉	5 860	5 920	1.02
	氨基酸婴幼儿配方乳粉	6 120	6 030	1.48
	无乳糖婴儿配方乳粉	6 230	6 120	1.78
	母乳营养补充品	5 860	5 802	0.68
	婴儿配方奶粉	6 320	6 250	1.11
	较大婴儿配方奶粉	5 890	5 840	0.85
	幼儿配方奶粉	6 670	6 790	1.78

由表 4 可知,将湿法消解和微波消解前处理获得消解液使用分光光度法进行样品中磷的测定,所得结果的相对偏差

符合 GB/T27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中的要求。

表 5 国家标准物质磷含量的测定结果
Table 5 Determination of phosphorus content in national standard materials

标准物质名称 Standard material	标准值 Standard value	湿法消解 Wet digestion	微波消解 Microwave digestion	相对偏差 Relative deviation %
液体乳 Liquid milk	0.154 ± 0.007	0.149	0.158	5.86
调制乳粉 Modified milk powder	0.36 ± 0.02	0.347	0.357	2.84
婴儿配方乳粉 Infant formula milk powder	0.813 ± 0.031	0.800	0.812	1.49
乳蛋白深度水解婴儿配方乳粉 Milk protein deep hydrolyzed infant formula milk powder	0.66 ± 0.03	0.651	0.668	2.58

由表 5 可知,使用 2 种前处理方法对特殊膳食食品和乳制品质控样品中的磷进行测定,2 种方法所得数据的相对偏差符合 GB/T27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中的要求。

3 结论

该试验探索建立微波消解—分光光度法测定乳制品和特殊膳食食品中磷的方法,并将检验结果与标准规定的湿法消解处理方式进行比对。结果表明,使用微波消解前处理—

分光光度法测定所获得的检验结果具有检出限低、精密度好、安全快捷、有机酸消耗量少的优势。该方法适用于蛋白质、脂肪、糖类物质含量高的样品的测定,既能克服传统湿热消解有毒试剂消耗量大、安全隐患高、效率低的缺点,又可防止消解过程中磷的挥发损失,具有环保、安全、准确、高效的优点,同时可以降低空白值,保证结果准确^[21-23]。

参考文献

- [1] LIY H, ZHANG L W, WANG W J, et al. Differences in particle characteristics and oxidized flavor as affected by heat-related processes of milk powder[J]. Journal of dairy science, 2013, 96(8): 4784-4793.
- [2] WANG X Y, GUO H Y, ZHANG W, et al. Effect of iron saturation level of lactoferrin on osteogenic activity *in vitro* and *in vivo* [J]. Journal of dairy science, 2013, 96(1): 33-39.
- [3] 于景华. 我国奶粉的质量安全问题与控制现状[J]. 食品科学技术学报, 2015, 33(6): 7-10.
- [4] 邓杰. 早产与低出生体重儿配方奶粉的研制[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [5] 柏丹丹. 母乳营养成分含量的测定[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [6] CHEN S M. Sham or shame: Rethinking the China's milk powder scandal from a legal perspective[J]. Journal of risk research, 2009, 12(6): 725-747.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 婴幼儿食品和乳品中磷的测定: GB 5413. 22—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 婴儿配方食品: GB 10765—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 较大婴儿和幼儿配方食品: GB 10767—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 特殊医学用途婴儿配方食品通则: GB 25596—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 婴幼儿谷类辅助食品: GB 10769—2010[S].

(上接第 90 页)

2.2.4 样品处理步骤引入的不确定度。样品制备过程引入的不确定度,以 2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 为三甲胺质量浓度,进行 6 次空白样品添加回收率试验,回收率结果分别为 86.17%、92.35%、88.22%、84.53%、90.97%、93.26%,平均回收率 $\bar{f}_{\text{回}}$ 为 89.25%,标准偏差 $s = 3.50$, $u_{\text{rel}(\bar{x})} = \frac{3}{\sqrt{n}} \times \frac{1}{\bar{f}_{\text{回}}} = 1.60 \times 10^{-2}$,式中 $n = 6$ 。

2.3 计算合成不确定度 该试验得出 HS-GC 测定肉制品中三甲胺含量的合成标准不确定度为 $u_{\text{rel}(x)} = \sqrt{u_{\text{rel}(c)}^2 + u_{\text{rel}(v)}^2 + u_{\text{rel}(m)}^2 + u_{\text{rel}(\bar{x})}^2} = 3.02 \times 10^{-2}$ 。

2.4 扩展不确定度及结果 取扩展因子 $K = 2$,在 95% 置信水平下,相对扩展不确定度为 $U_{\text{rel}(x)} = K u_{\text{rel}(x)} = 6.04 \times 10^{-2}$ 。试验数据中,样品三甲胺含量为 9.20 mg/kg,则其扩展不确定度为 $U = 0.56 \text{ mg/kg}$,三甲胺的测定结果为 $(9.20 \pm 0.56) \text{ mg/kg}$ 。

3 讨论

通过对不确定度的计算评定,了解试验过程中不确定度的来源,并进行分析和量化,从而判断出可对哪些不确定度分量采取措施,以降低总不确定度。该试验中,HS-GC 测定肉产品中三甲胺含量,测定结果为 $(9.20 \pm 0.56) \text{ mg/kg}$ ($K = 2, P = 95\%$)。通过比较,发现三甲胺标准溶液引入的不确定度和样品处理步骤引入的不确定度对测定结果不确定度的

北京:中国标准出版社,2010.

- [12] 国家卫生和计划生育委员会. 特殊医学用途配方食品通则: GB 29922—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [13] 李巧玲,陈则华. 微波消解光度法测定奶粉中的磷[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 302-305.
- [14] 卫敏,刘钟栋. 食品中磷的检测方法[J]. 中国科学:化学, 2010, 40(7): 914-921.
- [15] VAN DALEN G. Determination of the phosphorus and sulphur content in edible oils and fats by wavelength-dispersive x-ray fluorescence spectrometry[J]. X-Ray Spectrometry, 1998, 27(1): 26-30.
- [16] JASTRZEBSKA A, HOL A, SZLYK E. Simultaneous and rapid determination of added phosphorus(V) compounds in meat samples by capillary isotachopheresis[J]. LWT-Food science and technology, 2008, 41(10): 2097-2103.
- [17] 郭丽萍,唐娟. 微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定茶叶中的微量元素[J]. 食品科技, 2013, 38(5): 303-307.
- [18] 徐艳秋,陈国娟,董浩,等. 微波消解-电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)测定茶叶中多种微量元素[J]. 饮料工业, 2011, 14(8): 46-48.
- [19] 陈新坤. 原子发射光谱分析原理[M]. 天津:天津科学技术出版社, 1991.
- [20] 中国国家标准委员会. 实验室质量控制规范 食品理化检测: GB/T 27404—2008[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [21] ZHAO X Y, LIU Y H, XU Y Z, et al. ICP-OES determination of inorganic elements in *Panax quinquefolium* L. and its processed products[J]. Medicinal plant, 2012(12): 14-18.
- [22] 王艳泽,王英锋,施燕支,等. 微波消解 ICP-MS 法测定根和根茎类生药中 11 种微量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(12): 2326-2329.
- [23] D'LLIO S, IOLANTE N, MAJORANI C, et al. Dynamic reaction cell ICP-MS for determination of total As, Cr, Se and V in complex matrices: Still a challenge? A review[J]. Analytica chimica acta, 2011, 698(1/2): 6-13.

贡献较大,样品称量与定容对三甲胺测定结果影响较小。在今后实际检测工作中,应尽可能规范试验操作,提高检测结果的准确性。

参考文献

- [1] 田映,巴尔. 气相色谱法测定猪肉中三甲胺[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(1): 227.
- [2] 邓后勤,夏延斌,邓友光,等. 三甲胺测定方法的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(12): 84-88.
- [3] 陈锦文,崔燕芒,赵燕. 三甲胺、二甲胺及氧化三甲胺含量测定方法的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(2): 216-219.
- [4] 王伟占,田凤石. 氧化三甲胺与动脉粥样硬化关系研究进展[J]. 天津医药, 2015, 43(4): 443-445.
- [5] 周妍,闻陆,毛燕妮,等. 顶空气相色谱-质谱法测定动物源性食品中三甲胺[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(16): 2683-2685.
- [6] 唐森,李军生,吴明凯,等. 应用三甲胺/氧化三甲胺摩尔比值评价食用鱼粉的新鲜程度[J]. 黑龙江畜牧兽医(科技版), 2015(12): 151-154.
- [7] 浙江省东阳市卫生防疫站. 火腿中三甲胺氮的测定: GB/T 5009.179—2003[S]. 北京:中国标准出版社, 2004.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品中三甲胺的测定: GB 5009.179—2016[S]. 北京:中国标准出版社, 2017.
- [9] 江苏省计量科学研究院,中国计量科学研究院,北京理工大学,等. 测量不确定度评定与表示: JJF 1059.1—2012[S]. 北京:中国标准出版社, 2013.
- [10] 河南省计量科学研究院. 常用玻璃量器检定规程: JJG 196—2006[S]. 北京:中国计量出版社, 2007.
- [11] 俞慧红. 气相色谱法测定大米中马拉硫磷的不确定度评定[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(35): 148-150.
- [12] 全国统计方法应用标准化技术委员会. 利用重复性、再现性和正确度的估计值评估测量不确定度的指南: GB/Z 22553—2010[S]. 北京:中国标准出版社, 2010.