

钒钼黄分光光度法检测液态特殊食品中磷含量的优化

王文特^{1,2}, 张海红^{1,2}, 田洪芸^{1,2}, 王 骏^{1,2*}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;
2. 山东省特殊医学用途配方食品质量控制工程技术研究中心, 济南 250101)

摘 要: **目的** 建立钒钼黄分光光度法检测低磷含量液态婴幼儿配方食品、液态特殊医学用途配方食品等特殊食品中磷含量的分析方法。**方法** 试样经消解, 磷在酸性条件下与钒钼酸铵生成黄色络合物钒钼黄, 于 440 nm 测定试样溶液中钒钼黄的吸光度值, 并与标准系列比较定量。对 3 种基质液态特殊食品的磷含量进行测定。**结果** 增大称样量能满足方法准确度和精密度要求; 称样量为 4 g 时, 回收率范围为 92.4%~107.0%, 相对标准偏差为 0.8%~3.7%; 方法定量限为 30 mg/100 g。**结论** 该方法能够准确测定液态配方食品中较低含量的磷, 适合液态婴幼儿配方食品、液态特殊医学用途配方食品等特殊食品中磷含量的测定。

关键词: 磷含量; 分光光度法; 液态特殊食品; 定量限

Optimization of determination of phosphorus content in special liquid food by vanadium molybdenum yellow spectrophotometry

WANG Wen-Te^{1,2}, ZHANG Hai-Hong^{1,2}, TIAN Hong-Yun^{1,2}, WANG Jun^{1,2*}

(1. Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shandong Quality Control Engineering Technology Research Center of Foods for Special Medical Purpose, Jinan 250101, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of low phosphorus content in liquid infant formula food and liquid formula food with special medical use by vanadium molybdenum yellow spectrophotometric method. **Methods** After sample digested, the phosphorus reacted with ammonium vanadate molybdate to form yellow complex vanadium-molybdenum yellow in the medium of acid, and the absorbance value of vanadium-molybdenum yellow in sample solution was determined at 440 nm, and quantitated by a series of phosphorus standard solution. The phosphorus content of 3 kinds of special liquid foods was determined. **Results** The accuracy and precision of the method were satisfactory by increasing sample quality. When the sample quality was 4 g, the recoveries ranged from 92.4% to 107.0%, and the relative standard deviations were 0.8%~3.7%. The limit of quantitation of the method was 30 mg/100 g. **Conclusion** This method can accurately determine the low phosphorus content in liquid formula food, which is suitable for the determination of phosphorus content in liquid infant formula food, liquid formula food with special medical use and other special liquid foods.

KEY WORDS: phosphorus content; spectrophotometry; liquid special food; limit of quantitation

*通讯作者: 王骏, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测与风险预警。E-mail: sdzjywj@163.com

*Corresponding author: WANG Jun, Professor, School of Food Science and Technology, State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China. E-mail: sdzjywj@163.com

1 引言

磷是生命体重要元素, 几乎参与了所有生理上的化学反应, 是维持骨骼和牙齿的必要物质, 但磷的摄入量过多会引起多动症、肾功能障碍等疾病; 尤其是对于婴幼儿及特殊疾病状态下人群, 适量磷的摄入对于维持其正常的生理状况具有重要意义^[1-4]。我国制定的相关食品安全国家标准中也对磷含量作了规定^[5-8], 因此磷含量检测非常重要^[9]。

液态配方食品特别是液态婴幼儿配方食品, 在国外比较流行。我国目前正处在一个刚开始发展的阶段, 消费者认知度不高, 且价格偏贵, 但由于其易消化吸收、食用方便, 有很大的发展前景^[10]。有市场研究表明, 今后液态婴幼儿配方食品将呈爆发式增长^[11]。国外对液态食品中磷的测定方法有原子吸收光谱法^[12]、流动注射分析法^[13,14]、钼蓝分光光度法^[15]等, 我国现行婴幼儿配方食品中磷的测定标准为 GB 5009.87-2016《食品安全国家标准 食品中磷的测定》^[16], 该标准涉及 3 个检测方法, 分别为钼蓝分光光度法、钒钼黄分光光度法和电感耦合等离子体发射光谱法, 其中钼蓝分光光度法稳定性不好^[17], 电感耦合等离子体发射光谱法的准确性不及分光光度法^[2]。但标准中分光光度法的定量限不能满足低磷含量的液态配方食品中磷含量的测定。

通过对 100 余批次市售特殊食品标签调研发现, 固态产品磷的含量多分布在 150~450 mg/100 g 之间, 而液态产品磷的含量多为 30~80 mg/100 g; 国际标准中钼蓝分光光度法的检测限为 50 mg/100 g^[15], 我国标准方法中分光光度法的定量限为 60 mg/100 g^[12], 液态产品磷的含量通常低于标准方法规定的定量限(60 mg/100 g), 标准方法的定量限不能满足液态产品磷含量的检测需求。

本研究采用钒钼黄分光光度法, 通过增大称样量、改进试样的前处理等方式, 降低方法的定量限, 采用钒钼黄分光光度法测定, 解决现行国标分光光度法不能准确测定液态特殊食品低磷含量的问题。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

UV-2700 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

磷酸二氢钾基准物质(纯度 $\geq 99.5\%$, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

高氯酸(优级纯)、钼酸铵、氢氧化钠、2, 4-二硝基酚(分析纯, 国药集团); 硝酸、硫酸(优级纯)、偏钒酸铵(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 实验室用水为 GB/T 6682^[18]规定的三级水。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配制

磷标准溶液配制(50.00 mg/L): 准确称取在 105 °C 下干燥至恒重的磷酸二氢钾 0.2197 g, 溶于 400 mL 水中, 定容至 1 L。置聚乙烯瓶于 4 °C 保存。

加标用磷标准溶液配制(1000 mg/L): 准确称取在 105 °C 下干燥至恒重的磷酸二氢钾 0.4394 g, 溶于 40 mL 水中, 定容至 100 mL。置聚乙烯瓶于 4 °C 保存。

钒钼酸铵试剂: A 液: 称取 25 g 钼酸铵, 溶于 400 mL 水中; B 液: 称取 1.25 g 偏钒酸铵溶于 300 mL 沸水中, 冷却后加 250 mL 硝酸; 将 A 液缓慢加至 B 液中, 不断搅匀, 并用水稀释至 1 L, 混匀, 贮于棕色瓶中。

氢氧化钠溶液(6 mol/L): 称取 240 g 氢氧化钠, 溶于 1000 mL 水中, 混匀。

氢氧化钠溶液(0.1 mol/L): 称取 4 g 氢氧化钠, 溶于 1000 mL 水中, 混匀。

硝酸溶液(0.2 mol/L): 吸取 12.5 mL 硝酸, 用水稀释至 1000 mL, 混匀。

二硝基酚指示剂(2 g/L): 称取 0.2 g 2, 4-二硝基酚溶于 100 mL 水中, 混匀。

2.2.2 试样前处理

①试样制备

将试样充分摇匀, 备用。

②试样消化

称取 0.5~10 g 混匀的试样于 50 mL 广口三角瓶中, 置于沸水浴中蒸至近干。加入 10 mL 硝酸、1 mL 高氯酸、2 mL 硫酸、2 粒玻璃珠, 置可调式电热板上消解(消解条件: 150 °C 0.5 h, 180 °C 2~4 h, 升温至 220 °C)。称样量较大的试样在消解过程中消化液会呈棕褐色, 此时取下稍做冷却, 再加硝酸, 直到消解至冒白烟, 消化液呈无色透明或略带黄色。放冷后将试样消化液全部转移至 100 mL 容量瓶中。同时做试剂空白实验。

2.2.3 试样测定

①标准曲线的制作

准确吸取磷标准溶液 0、2.5、5.0、7.5、10.0、15.0 mL 于 50 mL 容量瓶中(质量浓度分别为 0、2.50、5.00、7.50、10.0、15.0 mg/L), 加入 10 mL 钒钼酸铵试剂, 用水定容至刻度。在常温下显色 15 min。用 1 cm 比色杯, 以零管作参比, 于 440 nm 测定吸光度值。以吸光度值为纵坐标, 磷的质量浓度为横坐标, 制作标准曲线。

②试样测定

准确吸取试样溶液 10 mL 及等量的空白溶液于 50 mL 容量瓶中, 加少量水后, 加 2 滴二硝基酚指示剂, 先用氢氧化钠溶液(6 mol/L)调至黄色, 再用硝酸溶液(0.2 mol/L)调至无色, 最后用氢氧化钠溶液(0.1 mol/L)调至微黄色。加入 10 mL 钒钼酸铵试剂, 用水定容至刻度。于 440 nm 测定其吸光度值, 与标准系列比较定量。

3 结果与分析

3.1 试样称样量优化

选取婴儿配方奶、较大婴儿配方奶和全营养配方液 3 种基质的试样进行试验,称样量分别为 0.5、2、4、8、10 g,分别做 6 次平行试验,磷含量的检测结果及相对标准偏差见表 1。

由表 1 可知,称样量在 0.5 g 时,磷含量结果的相对标准偏差为 18.3%~22.4%,称样量在 2 g 时,磷含量结果的相对标准偏差为 4.0%~6.2%,精密度均不好;称样量在 4~10 g 范围试样磷含量结果的相对标准偏差为 0.6%~2.5%,精密度较好,符合实验室质量控制要求^[19]。

3.2 试样消化条件优化

选取婴儿配方奶、较大婴儿配方奶和全营养配方液 3 种基质的试样,称样量分别为 8 g,分别采用直接消化和预先蒸至近干再消化 2 种方式,总耗用时间和硝酸用量见表 2。

由表 2 可知,预先蒸至近干再进行消化,避免了大量液体试样对酸的稀释作用,减少了硝酸用量,节约了时间。

3.3 方法的线性范围及定量限

3.3.1 方法的线性范围

测定磷含量 2.50~15.0 mg/L 的标准溶液吸光度,制作标准曲线见图 1。线性方程为 $Y=0.0341X-0.0005$,相关系数 $r^2=0.9999$ 。磷含量在 2.50~15.0 mg/L 之间有良好的线性。

3.3.2 定量限

考虑到特殊食品基质的复杂性,选择一种未强化磷的非全营养配方液,称样量分别为 2、4、8、10 g 时,检测结果均为未检出(试样溶液吸光度均低于空白溶液)。在此空白基质中添加 10、20、30、40 mg/100 g 4 个水平的磷加标,平行测定 6 次,结果的相对标准偏差和回收率范围见表 3。

由表 3 可知,当称样量为 4~10 g,且加标水平为 30~40 mg/100 g 时,结果的相对标准偏差为 1.6%~3.0%,回收率为 95.1%~102.3%,符合实验室质量控制要求^[19],即当称样量为 4~10 g,定容至 100 mL 时,定量限为 30 mg/100 g。

表 1 不同称样量的磷含量检测结果
Table 1 Results of the phosphorus content of different sample weight

序号	试样基质	结果	0.5 g	2 g	4 g	8 g	10 g
1	婴儿配方奶	磷含量结果范围/(mg/100 g)	ND*	31.6~36.9	33.4~34.8	34.7~35.7	35.0~36.3
		相对标准偏差/%	/	5.6	1.6	1.2	1.2
2	较大婴儿配方奶	磷含量结果范围/(mg/100 g)	30.9~49.5	60.0~66.7	65.5~66.6	66.0~67.5	65.8~67.9
		相对标准偏差/%	18.3	4.0	0.6	1.0	1.2
3	全营养配方液	磷含量结果范围/(mg/100 g)	25.8~46.1	56.8~62.5	59.8~63.1	62.6~64.4	64.8~67.7
		相对标准偏差/%	22.4	6.2	2.5	1.1	1.7

注: *试样溶液吸光度低于空白溶液。

表 2 不同处理方式总耗用时间和硝酸用量
Table 2 Total consumption time and nitric acid consumption in different treatments

序号	试样基质	总耗用时间/h	硝酸用量/mL
1	婴儿配方奶	直接消化	40
		预先蒸至近干再消化	30
2	较大婴儿配方奶	直接消化	45
		预先蒸至近干再消化	30
3	全营养配方液	直接消化	50
		预先蒸至近干再消化	35

注: *包括预先蒸至近干的时间。

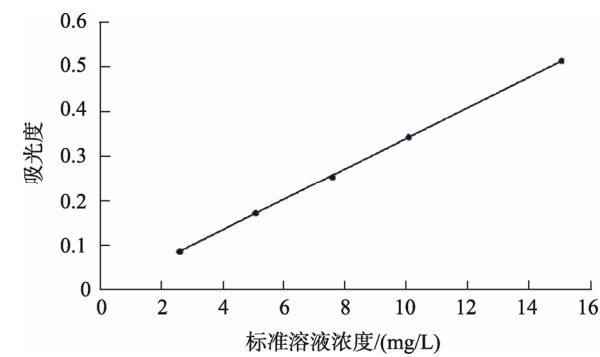


图 1 磷的标准曲线
Fig.1 Standard curve of phosphorus

3.4 回收率实验

以婴儿配方奶、较大婴儿配方奶和全营养配方液 3 种基质为试样, 称样量为 4 g, 在 20、30、40 mg/100 g 3 个水平下进行加标回收实验, 平行测定 6 次, 回收率的平均值为 92.4%~107.0%, 相对标准偏差为 0.8%~3.7%, 符合实验室质量控制要求^[19], 结果见表 4。

3.5 实际样品测定

用本方法对某品牌的婴儿配方奶和全营养配方液进行检测, 称样量为 4 g, 平行测定 6 次, 结果相对标准偏差为 1.1%~1.2%(见表 5)。

表 3 空白基质及加标检测结果
Table 3 Test results of blank matrix and standard addition

称样量/g	项目/结果	加标水平/(mg/100 g)			
		10	20	30	40
2	相对标准偏差/%	/	14.3	10.7	3.4
	回收率/%	ND*	33.0~47.2	68.1~89.0	89.8~99.1
4	相对标准偏差/%	16.8	8	3.0	1.6
	回收率/%	37.3~58.7	61.5~72.7	95.1~102.3	96.0~99.8
8	相对标准偏差/%	6.5	7.2	2.2	1.9
	回收率/%	66.2~78.0	78.4~87.1	95.3~101.1	98.5~101.8
10	相对标准偏差/%	5.1	2.6	2.6	1.8
	回收率/%	81.4~92.6	90.5~96.5	95.3~102.2	95.8~100.5

注: *试样溶液吸光度低于空白溶液。

表 4 回收率实验结果
Table 4 Results of recovery test

序号	基质	试样检测值 /(mg/100 g)	加标水平 /(mg/100 g)	回收率/%						相对标准 偏差/%	
				平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6		平均值
1	婴儿配方奶	34.0	20	101.5	105.6	104.8	109.6	107.8	112.7	107.0	3.7
			30	97.5	99.2	101.4	98.6	99.2	99.8	99.3	1.3
			40	95.4	94.2	95.1	95.1	96.6	95.2	95.3	0.8
2	较大婴儿 配方奶	66.0	20	90.6	93.3	93.1	90.1	94.5	92.6	92.4	1.8
			30	94.9	96.5	95.8	99.5	95.9	96.7	96.6	1.6
			40	95.7	101.6	98.3	96.3	95.9	98.5	97.7	2.3
3	全营养 配方液	61.5	20	98.9	103.1	105.9	104.4	104.0	99.4	102.6	2.8
			30	98.3	97.1	99.5	98.3	96.6	98.8	98.1	1.1
			40	97.8	99.1	99.7	98.3	98.1	96.6	98.3	1.1

表 5 样品测定结果
Table 5 Determination results of samples

序号	样品	结果/(mg/100 g)							相对标准偏差/%
		平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	
1	婴儿配方奶	37.5	37.1	38.1	37.5	36.7	37.4	37.4	1.2
2	全营养配方液	58.9	57.6	58.1	57.9	57.0	58.4	58.0	1.1

4 结 论

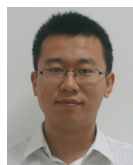
本研究通过增大称样量,使试样处理液中的磷浓度增加,提高了吸光度响应值,从而提高了测定时的精密度和准确度,且有较好的回收率。通过将试样预先蒸至近干再消化的操作,提高了酸的利用效率,缩短了时间,但称取的试样过多会导致消化时间很长,不利于测定大批量样品,且称样量为4 g时已经可以将标准中规定的定量限(60 mg/100 g)降至30 mg/100 g,能够满足现有的低磷含量的配方食品检测需求,故将液态配方食品的称样量增加至4 g,可以准确定量测定磷含量水平在30 mg/100 g以上试样的磷含量。

参考文献

- [1] 王波,李美桃,葛冬梅,等. 婴幼儿配方乳粉中磷含量的测定[J]. 乳业科学与技术, 2013, 36(2): 24–26.
- Wang B, Li MT, Ge DM, *et al.* Determination of phosphorus content in formula milk powder for infants and young children [J]. J Dair Sci Technol, 2013, 36(2): 24–26.
- [2] 程银棋,柳迪,朱影,等. 婴幼儿米粉中磷含量测定方法的探讨[J]. 食品工业, 2018, 39(2): 191–194.
- Cheng YQ, Liu D, Zhu Y, *et al.* Determination of phosphorus in foods for infants young children [J]. Food Ind, 2018, 39(2): 191–194.
- [3] 李荣,曹向卉,杨伟,等. 分光光度法测定不同食品中磷含量及结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 1706–1710.
- Li R, Cao XH, Yang W, *et al.* Determination of phosphorus in different kinds of food by spectrophotometry and analysis of experiment results [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(7): 1706–1710.
- [4] 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.
- Wei M, Liu ZD. Determination of phosphorus in food [J]. Sci Sin Chim, 2010, 40(7): 914–921.
- [5] GB 10765-2010 食品安全国家标准 婴儿配方食品[S].
- GB 10765-2010 National food safety standard-Infant formula [S].
- [6] GB 10767-2010 食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品[S].
- GB 10767-2010 National food safety standard-Older infants and young children formula [S].
- [7] 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[S].
- GB 25596-2010 National food safety standard-General rules for infant formula for special medical purposes [S].
- [8] GB 29922-2013 食品安全国家标准 特殊医学用途配方食品通则[S].
- GB 29922-2013 National food safety standard-General principles for formulated foods for special medical purposes [S].
- [9] 于敏艳. 婴幼儿配方奶粉中原辅料的质量控制[J]. 中国乳业, 2012, (2): 71–72.
- Yu MY. Quality control of raw materials and accessories in infant formula milk powder [J]. China Dair, 2012, (2): 71–72.
- [10] 戴智勇,张岩春,莫红卫,等. 婴儿液态配方奶在我国的发展现状调查及分析[J]. 中国乳业, 2012, (127): 20–23.
- Dai ZY, Zhang YC, Mo HW, *et al.* Investigation and analysis on the development of infant liquid formula milk in China [J]. China Dairy, 2012, (127): 20–23.
- [11] 雷永军. 配方婴幼儿液态奶能否成为市场宠儿[J]. 中国乳业, 2017, (191): 30–31.
- Lei YJ. Can formula infant liquid milk become the market darling [J]. China Dair, 2017, (191): 30–31.
- [12] López-García I, Viñas P, Romero-Romero R, *et al.* Fast determination of phosphorus in honey, milk and infant formulas by electrothermal atomic absorption spectrometry using a slurry sampling procedure [J]. Spectrochim Acta B, 2007, 62(1): 48–55.
- [13] Lima MJR, Fernandes SMV, Rangel AOSS. Colorimetric determination of phosphorus in milk by flow injection analysis using a thermal/UV induced digestion [J]. Ital J Food Sci, 2002, 14(1): 9–16.
- [14] Dimitrakopoulos T, Farrell JR, Iles PJ. Simultaneous determination of total calcium and phosphorus in milk using flow-injection analysis [J]. Lab Robot Autom, 1998, 10(4): 235–238.
- [15] AOAC Official Method 995.11 Phosphorus (total) in foods colorimetric method first action 1995 [S].
- [16] GB 5009.87-2016 食品安全国家标准 食品中磷的测定[S].
- GB 5009.87-2016 National food safety standard-Determination of phosphorus in food [S].
- [17] 赵平娟,张丙春,王磊,等. 钒钼黄比色法测定食品中的磷含量[J]. 山东能农业科学, 2009, (2): 97–98.
- Zhao PJ, Zhang BC, Wang L, *et al.* Determination of phosphorus content in foods by vanadium molybdate yellow colorimetric method [J]. Shandong Agric Sci, 2009, (2): 97–98.
- [18] GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法[S].
- GB/T 6682-2008 Water specifications and test methods for analytical laboratories [S].
- [19] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].
- GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-Chemical testing of food [S].

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



王文特, 工程师。主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 329787507@qq.com



王 骏, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测与风险预警。
E-mail: sdzjywj@163.com