

# 食品中磷国标检测方法的研究与改进

晏凯<sup>1\*</sup>, 刘晓彤<sup>2</sup>, 于磊<sup>1</sup>, 刘悦<sup>1</sup>, 马英伟<sup>1</sup>, 李凤娟<sup>1</sup>, 李培丹<sup>1</sup>

(1. 天津市南开区疾病预防控制中心, 天津 300112; 2. 南开大学化学学院, 天津 300071)

**摘要:** **目的** 建立简单、高效的微波消解-分光光度法测定食品中的磷, 有效减少有毒试剂的使用量, 缩短实验时长, 提高检测灵敏度。**方法** 取 0.1 g 样品, 加 8 mL 硝酸微波消解, 温度曲线为 0~15 min 匀速升温到 190 °C 并保持 15 min, 消解完毕后 160 °C 赶酸并用纯水定容至 50 mL, 取标准系列及 2 mL 样品于 25 mL 比色管, 与 2.5 mL 硫酸(5%)、2 mL 钼酸铵溶液(50 g/L)、1.0 mL 氯化亚锡-硫酸肼溶液显色 20 min 后, 在 660 nm 波长处用 1 cm 比色杯比色定量。**结果** 实验回收率为 98%, 加标样品相对标准偏差为 2.65%, 符合实验室质量控制规范的相关要求。**结论** 改善后的方法具有精密度高、检出限低、空白值低且操作步骤简单, 耗时较少的优点。

**关键词:** 食品; 磷; 分光光度法; 微波消解

## Research and improvement of national standard detection method for phosphorus in food

YAN Kai<sup>1\*</sup>, LIU Xiao-Tong<sup>2</sup>, YU Lei<sup>1</sup>, LIU Yue<sup>1</sup>, MA Ying-Wei<sup>1</sup>, LI Feng-Juan<sup>1</sup>, LI Pei-Dan<sup>1</sup>

(1. Disease Prevention and Control Center of Nankai District, Tianjin 300112, China;  
2. College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a simple and efficient microwave digestion-spectrophotometry method for the determination of phosphorus in food, which can effectively reduce the amount of toxic reagents, shorten the experimental time and improve the detection sensitivity. **Methods** 0.1 g sample was digested with 8 mL nitric acid under microwave, the temperature curve was 0-15 min, the temperature was raised to 190 °C at a constant speed and kept for 15 min. After digestion, the acid was removed at 160 °C and the volume was fixed to 50 mL with pure water. The standard series and 2 mL sample were taken into a 25 mL colorimetric tube, developed the color with 2.5 mL sulfuric acid (5%), 2 mL ammonium molybdate solution (50 g/L), and 1.0 mL stannous chloride-hydrazine sulfate solution for 20 min, and quantified with a 1 cm colorimetric cup at 660 nm wavelength. **Results** The experimental recovery rate was 98%, relative standard deviation of spiked samples was 2.65%, which met the relevant requirements of laboratory quality control standards. **Conclusion** The improved method has the advantages of high precision, low detection limit, low blank value, simple operation steps and less time consumption.

**KEY WORDS:** food; phosphorus; spectrophotometric method; microwave digestion

\*通讯作者: 晏凯, 理化检验技师, 主要研究方向为食品安全检验及职业卫生检验。E-mail: 782829127@qq.com

\*Corresponding author: YAN Kai, Physical and Chemical Inspection Technician, Disease Prevention and Control Center of Nankai District, No. 18, Yaan Street, Nankai District, Tianjin 300112, China. E-mail: 782829127@qq.com

## 1 引言

磷是人体内矿质元素之一,是人体必需的营养成分,主要以磷酸根的形式存在于所有细胞中。磷是维持骨骼和牙齿的重要物质,是核酸、细胞膜、磷蛋白以及能量物质三磷酸腺苷的组成成分,并以磷酸盐的形式参与体内酸碱平衡的调节,协助脂肪和淀粉的代谢<sup>[1]</sup>。而食物是人体对磷的主要摄取途径,成人每天需摄入 700~800 mg 的磷<sup>[2]</sup>。摄入过少会影响骨骼和牙齿发育,引起骨质疏松、软骨病、肌无力、佝偻病等症状;摄入过多则会引发多动症以及肾功能障碍等疾病,导致呕吐甚至致人死亡。由于磷对生命体不可估量的作用,以及不合理摄入导致的诸多不良反应,安全、准确的测定食品中磷的含量显得尤为重要。

食品经消解氧化,其中磷元素全部被氧化为正磷酸根,在酸性条件下,正磷酸根与钼酸铵反应生成磷钼酸铵。磷钼酸铵被还原剂还原生成蓝色化合物钼蓝,此物质在 660 nm 处与样品磷含量成正比。本研究在国标方法 GB 5009.87-2016《食品安全国家标准食品中磷的测定》<sup>[3]</sup>基础上修改了样品前处理及显色反应的还原条件,提高方法灵敏度,为食品中总磷的测定提供了更安全、准确的方案。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器设备

ML503T 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); SY-1230 恒温水浴锅(美国 Crysta 公司); UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津公司); MARS 6 微波消解仪(美国 CEM 公司)。

### 2.2 试剂与样品

无水亚硫酸钠、硫酸胼、氢氧化钠[优级纯,华北地区特种化学试剂开发中心(天津)]; 对苯二酚(分析纯,天津市光复精细化工研究所); 钼酸铵(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司); 氯化亚锡(分析纯,天津市化学试剂供销公司第二分公司); 偏钒酸铵(北京百灵威科技有限公司); 硫酸(优级纯,天津化学试剂五厂); 硝酸(MOS 级,天津市风船化学试剂科技有限公司); 2,4-二硝基酚(98%, 上

海思言生物科技有限公司); 总磷标准溶液(1000  $\mu\text{g/mL}$ , 国家有色金属及电子材料分析测试中心)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 样品前处理

使用微波消解仪消化食品样品,取样量为 0.1 g,消解液为 8 mL 硝酸,温度曲线为 0~15 min 匀速升温到 190  $^{\circ}\text{C}$  并保持 15 min,消解完毕后 160  $^{\circ}\text{C}$  赶酸并用纯水定容至 50 mL。

### 2.3.2 标准系列及样品的测定

室温条件下,准确吸取含 0、5.00、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0  $\mu\text{g}$  磷的标准溶液,2 mL 样品消解液及 2 mL 空白溶液(纯水)分别于 25 mL 比色管中,加纯水 10 mL、5%硫酸 2.5 mL、50 g/L 钼酸铵溶液 2 mL,摇匀后再加入 1.0 mL 氯化亚锡-硫酸胼溶液(0.1 g 氯化亚锡、0.2 g 硫酸胼用 3%硫酸定容 100 mL)还原,纯水定容 25 mL 后,室温显色 20 min,在 660 nm 波长处用 1 cm 比色杯比色定量。以测量吸光度对磷含量绘制标准曲线,并计算样品磷含量。

## 3 结果与分析

### 3.1 以氯化亚锡、硫酸胼为还原剂的钼蓝法的改进

以氯化亚锡、硫酸胼为还原剂的钼蓝分光光度法具有显色快速,方法灵敏度高(标准曲线斜率  $b$ )的特点。国标中加入 0.5 mL 还原剂未能将标准曲线高点还原,使高点产生拖尾现象,将还原剂加入量改为 1 mL 后改善明显,磷含量在 0~2.0 mg/L 范围内线性良好,结果如表 1 所示。

本组人员通过增加还原剂用量促使显色反应完全,但氯化亚锡溶液还原性强,在空气中易被氧化,使用时应现用现配,若需保存应加入锡粒存于棕色瓶保存在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱内。显色完成后褪色现象也较明显,因此该实验须严格按照时间要求比色。

### 3.2 改进后的氯化亚锡、硫酸胼钼蓝法与国标中其他 2 种分光光度法的对比分析

根据 GB 5009.87-2016《食品安全国家标准 食品中磷的测定》<sup>[3]</sup>,目前国标检测方法主要有分光光度法和电感耦合等离子体发射光谱法。分光光度法包括钼蓝分光光度法和钒钼黄分光光度法。

表 1 以氯化亚锡、硫酸胼为还原剂的钼蓝法测磷的标准曲线对比

Table 1 Comparison of standard curves for the determination of phosphorus by molybdenum blue method with stannous chloride and hydrazine sulfate as reducing agents

回归曲线	1	2	3	4	5	6	曲线方程	相关系数 $r$
国标法	0.163	0.271	0.439	0.581	0.606	0.615	-	-
改进后	0.158	0.304	0.606	0.898	1.176	1.464	$Y=0.7256X+0.0179$	0.9999

注: -表示无。

以亚硫酸钠、对苯二酚为还原剂的钼蓝法具有显色稳定的特点,但方法灵敏度较低。实验所用对苯二酚属于危险化学品范畴,成人误服 1 g 即可出现头痛、头晕、耳鸣、面色苍白等症状<sup>[4]</sup>。参考陈志娟等<sup>[5,6]</sup>的研究,本组人员取消添加对苯二酚,改为亚硫酸钠单还原剂并 60 °C 水浴 30 min 的方法,方法灵敏度可与使用对苯二酚还原剂保持一致。经多次试验,第 6 标准点在国标方法中吸光度为 0.223~0.226 之间。表 2 所列数据为亚硫酸钠单还原剂配合不同条件水浴在第 6 标准点上的吸光度值,综合考虑时间及灵敏度指标,本组人员得出通过 60 °C 水浴 30 min 的条件已可完全代替对苯二酚的还原性。

表 2 第 6 标准点在不同水浴条件下的吸光度值  
Table 2 Absorbance value of the sixth standard point under different water bath conditions

水浴条件	30 min	60 min
40 °C	0.198	0.214
60 °C	0.213	0.236

改进的亚硫酸钠钼蓝分光光度法操作步骤为在室温条件下,准确吸取含 0、5.00、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 μg 磷的标准溶液于 25 mL 比色管中,加纯水 10 mL、50 g/L 钼酸铵溶液 2 mL,摇匀后再被 1 mL 亚硫酸钠(200 g/L)还原,纯水定容 25 mL 后,60 °C 水浴 30 min,在 660 nm 波长处用 1 cm 比色杯比色定量。表 3 数据为以亚硫酸钠、对苯二酚为还原剂的钼蓝法改进前后数据对比,结果显示改进法在 0~2.0 mg/L 磷含量范围内线性良好,相关系数  $r$  为 0.9999。

钒钼黄分光光度法与钼蓝法略有不同,其原理为正

磷酸根在酸性条件下与偏钒酸和钼酸反应形成黄色三元杂多酸。在一定浓度范围(0~15.0 mg/L)内,该黄色溶液吸光度与样品中磷的含量成正比<sup>[7]</sup>。

表 4 所列数据为钒钼黄分光光度法绘制的标准曲线。其操作方法为在室温条件下,准确吸取含 0、125、250、375、500、750 μg 磷的标准溶液于 50 mL 容量瓶中,加入 10 mL 钒钼黄试剂,用水定容至刻度线,混匀,显色 15 min 后,在 440 nm 波长处用 1 cm 比色杯比色定量。

钒钼黄分光光度法具有试剂种类少,显色时间短,线性范围长(0~15.0 mg/L)的特点,但方法灵敏度低,且显色反应需要预先调节 pH,增加实验复杂度。使用的二硝基酚指示剂引入了新的系统误差,降低实验重复性。

经对比分析,改进后的以氯化亚锡、硫酸肼为还原剂的钼蓝分光光度法具有所用试剂安全,操作条件简单,方法灵敏度高的特点,优于其他 2 种比色法。

### 3.3 样品前处理方法的选择

样品消解一般有干灰化、湿消化及微波消解法。干法灰化时间长、回收低,而湿法消化试剂消耗大、空白高。因此,本组人员采用微波消解法消化样品,缩短前处理时间,减少元素挥发损失,并获得低空白值,提高工作效率,节省试剂的同时减少样品污染和酸雾污染<sup>[8-15]</sup>。

使用前述方法对某食品样品做 3 次平行测定,测定值为 599.1 mg/100 g,相对标准偏差为 0.99%。对此样品进行 3 次加标回收实验,结果见表 5。实验回收率为 96.97%~98.77%,加标样品相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.65%,其技术要求指标符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的相关要求<sup>[16]</sup>。

表 3 以亚硫酸钠为还原剂的钼蓝法测磷的标准曲线对比

Table 3 Comparison of standard curves for the determination of phosphorus by molybdenum blue method with sodium sulfite as reducing agent

回归曲线	1	2	3	4	5	6	曲线方程	相关系数 $r$
国标法	0.020	0.042	0.088	0.130	0.178	0.224	$Y=0.1131X-0.0032$	0.9998
改进后	0.021	0.044	0.086	0.127	0.170	0.213	$Y=0.1060X+0.0006$	0.9999

表 4 国标中钒钼黄分光光度法测定磷的标准曲线

Table 4 Standard curve for the determination of phosphorus by vanadium molybdenum yellow spectrophotometry in national standard

回归曲线	1	2	3	4	5	曲线方程	相关系数 $r$
国标法	0.088	0.173	0.255	0.339	0.506	$Y=0.03346X+0.00449$	0.9999

表5 加标回收实验数据(n=3)  
Table 5 Recovery of experimental data by adding standard (n=3)

	1号		2号		3号		磷含量均值 (mg/100 g)	磷含量 RSD/%	加标回收率 /%
	取样量 /g	磷含量 (mg/100 g)	取样量 /g	磷含量 (mg/100 g)	取样量 /g	磷含量 (mg/100 g)			
样品	0.108	593.9	0.097	605.6	0.102	597.8	599.1	0.99	96.97-98.77
加标	0.110	1040.7	0.106	1050.1	0.116	998.9	1029.9	2.65	

## 4 结论与讨论

经实验验证,使用微波消解仪消化样品,以氯化亚锡、硫酸肼为还原剂的钼蓝分光光度法测定食品中的磷,所获得的检测结果具有高精密度、高准确度、低检出限、低空白值的特点,且实验操作步骤简单,耗时较少。

同时,钼蓝法和钒钼黄法的反应会受还原剂种类及还原条件、环境温度等条件的影响,使用同一种试剂配以不同的反应条件也会造成巨大的差异。探究其它还原剂的使用、改善反应条件也会在后续的工作中逐步开展。此外,食品中的总磷含量并不能完全反映出磷对个体健康所产生的影响,分离检测食品中残留的有机磷农药的含量在当今社会更为重要。

## 参考文献

- [1] 李蓉,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. Spectrophotometric determination of phosphorus content in different foods and results analysis [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(7): 1706-1710.
- [2] 许秀成. 磷与国计民生息息相关[N]. 中国化工报, 2014-03-18(002).  
Xu XC. Phosphorus is closely related to national economy and people's livelihood [N]. Chin Chem News, 2014-03-18(002).
- [3] 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].
- [4] 张金鹏,张婧,雷芮,等. 食品中磷测定方法的改进[J]. 食品工程, 2014, (4): 37-38, 62.  
Zhang JP, Zhang J, Lei R, et al. Improvement of determination method of phosphorus in food [J]. Food Eng, 2014, (4): 37-38, 62.
- [5] 陈志娟,蔡梦华,高素虹. 食品中磷测定方法研究[J]. 预防医学论坛, 2009, 15(12): 1204-1205.  
Chen ZJ, Cai MH, Gao SH. Determination of phosphorus in food [J]. Prev Med Forum, 2009, 15(12): 1204-1205
- [6] Mckie VA, Mcclary BV. A novel and rapid colorimetric method for measuring total phosphorus and phytic acid in foods and animal feeds [J]. J AOAC Int, 2016, 99(3): 738-743.
- [7] 向晓黎,王静,王国红. 钒钼黄比色法测定食品中磷的研究[J]. 绿色科技, 2015, (4): 328-329.  
Xiang XL, Wang J, Wang GH. Determination of phosphorus in food by vanadium molybdenum yellow colorimetry [J]. J Green Sci Technol, 2015, (4): 328-329.
- [8] 顾卫东,吴晓霞,黄芳. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定食品中总磷含量[J]. 安徽科技学院学报, 2014, 28(6): 24-28.  
Gu WD, Wu XX, Huang F. Determination of total phosphorus in food by microwave digestion inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Anhui Sci Technol Univ, 2014, 28(6): 24-28.
- [9] 鲁琳,高燕红,胡曙光,等. 食品中磷含量检测方法探讨[J]. 华南预防医学, 2012, 38(3): 58-60.  
Lu L, Gao YH, Hu SG, et al. Determination of phosphorus in food [J]. South Chin Pre Med, 2012, 38(3): 58-60.
- [10] 孙丽萍. 微波消解-等离子体发射光谱法测定果汁及其饮料中的钾和磷[J]. 食品工程, 2011, (4): 54-56.  
Sun LP. Determination of potassium and phosphorus in fruit juice and its drinks by microwave digestion ICP-AES [J]. Food Eng, 2011, (4): 54-56.
- [11] 姚祖江. 微波消解测定食物中磷含量[J]. 现代农业科技, 2011, (13): 326-328.  
Yao ZJ. Determination of phosphorus in food by microwave digestion [J]. Mod Agric Sci Technol, 2011, (13): 326-328.
- [12] 田洪芸,田栋,任雪梅,等. 微波消解-分光光度法测定乳制品和特殊膳食食品中的磷[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(20): 91-94.  
Tian HY, Tian D, Ren XM, et al. Determination of phosphorus in dairy products and special dietary foods by microwave digestion spectrophotometry [J]. Anhui Agric Sci, 2017, 45(20): 91-94.
- [13] 吴晓玲,丁小段. 食品中磷测定方法的改进[J]. 科技创新与应用, 2016, (5): 56.  
Wu XL, Ding XD. Improvement of determination method of phosphorus in food [J]. Technol Innov Appl, 2016, (5): 56.
- [14] 宋爱英,魏琳琳,张林,等. 水和食品中总磷的分光光度测定法[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(11): 1005-1007.  
Song AY, Wei LL, Zhang L, et al. Spectrophotometric determination of total phosphorus in water and food [J]. J Environ Health, 2010, 27(11): 1005-1007.
- [15] 卫敏,刘钟栋. 食品中磷的检测方法[J]. 中国科学, 2010, 40(7): 914-921.

Wei M, Liu ZD. Determination method of phosphorus in food [J]. Chin Sci, 2010, 40(7): 914-921.

[16] GB/T27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].

GB/T 27404-2008 Standard for laboratory quality control-Food physical and chemical testing [S].

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



晏 凯, 理化检验技师, 主要研究方向为食品安全检验及职业卫生检验。  
E-mail: 782829127@qq.com