

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.87—2003
代替 GB/T 12393—1990, 部分代替 GB 13101—1991

食品中磷的测定

Determination of phosphorus in foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准对应于 ISO 3946《淀粉和淀粉制品中总磷的测定——分光光度法》(1982 年英文版)和 ISO 2962《乳和乳制品中总磷的测定——分子吸收光谱法》(1984 年英文版)。

本标准与 ISO 3946 和 ISO 2962 的一致性程度为非等效。

本标准代替 GB/T 12393—1990《食物中磷的测定方法》和 GB 13101—1991《西式蒸煮、烟熏火腿卫生标准》中 6.2 磷酸盐的测定。

本标准与 GB/T 12393—1990 相比主要修改如下：

——修改了标准的中文名称,标准中文名称改为《食品中磷的测定》;

——按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分:化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

——将 GB 13101—1991《西式蒸煮、烟熏火腿卫生标准》中 6.2 磷酸盐的测定纳入本标准,改为第三法 食品中磷酸盐的测定。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准第一法、第二法由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所、北京市卫生防疫站负责起草;第三法由上海市食品卫生监督检验所、山东省食品卫生监督检验所、浙江省食品卫生监督检验所负责起草。

本标准第一法、第二法主要起草人:王光亚、曲宁、涂晓明、门建华;第三法主要起草人:姜培珍、张理、浦惠莉、郑理、郑蕾霞。

原标准于 1990 年首次发布,本次为第一次修订。

食 品 中 磷 的 测 定

1 范围

本标准规定了用分光光度法测定食品中的磷含量。

本标准第一法、第二法适用于各类食品中总磷的测定,第三法适用于西式蒸煮、烟熏火腿中复合磷酸盐(以磷酸盐计)的测定。

本方法第一法、第二法检出限均为 $2 \mu\text{g}$,线性范围:第一法分光光度法为 $5 \mu\text{g} \sim 50 \mu\text{g}$,第二法分子吸收光谱法为 $2 \mu\text{g} \sim 10 \mu\text{g}$ 。

第一法 分光光度法

2 原理

食物中的有机物经酸氧化,使磷在酸性条件下与钼酸铵结合生成磷钼酸铵。此化合物被对苯二酚、亚硫酸钠还原成蓝色化合物——钼蓝。用分光光度计在波长 660 nm 处测定钼蓝的吸收光值,以定量分析磷含量。

3 试剂

3.1 硫酸:相对密度 1.84。

3.2 高氯酸-硝酸消化液:1+4 混合液。

3.3 15%硫酸溶液:取 15 mL 硫酸徐徐加入到 80 mL 水中混匀。冷却后用水稀释至 100 mL。

3.4 钼酸铵溶液:称取 0.5 g 钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 用 15%硫酸稀释至 100 mL。

3.5 对苯二酚溶液:称取 0.5 g 对苯二酚于 100 mL 水中,使其溶解,并加入一滴浓硫酸(减缓氧化作用)。

3.6 亚硫酸钠溶液:称取 20 g 无水亚硫酸钠于 100 mL 水中,使其溶解。此溶液需于实验前临时配制,否则可使钼蓝溶液发生混浊。

3.7 磷标准储备液($100 \mu\text{g}/\text{mL}$):精确称取在 105°C 下干燥的磷酸二氢钾(优级纯)0.439 4 g,置于 1 000 mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。此溶液每毫升含 $100 \mu\text{g}$ 磷。

3.8 磷标准使用液($10 \mu\text{g}/\text{mL}$):准确吸取 10 mL 磷标准储备液,置于 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,混匀。此溶液每毫升含磷 $10 \mu\text{g}$ 。

4 仪器

4.1 实验室常用设备。

4.2 分光光度计。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 称取各类食物的均匀干试样 $0.1 \text{ g} \sim 0.5 \text{ g}$ 或湿样 $2 \text{ g} \sim 5 \text{ g}$ 于 100 mL 凯氏烧瓶中,加入 3 mL 硫酸、3 mL 高氯酸-硝酸消化液,置于消化炉上。瓶中液体初为棕黑色,待溶液变成无色或微带黄色清亮液体时,即消化完全将溶液放冷,加 20 mL 水,赶酸。冷却,转移至 100 mL 容量瓶中,用水多次洗涤凯氏烧瓶,洗液合并倒入容量瓶内,加水至刻度,混匀。此溶液为试样测定液。

5.1.2 取与消化试样同量的硫酸、高氯酸-硝酸消化液,按同一方法做空白溶液。

5.2 磷标准曲线

准确吸取磷标准使用液 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL(相当于含磷量 0、5、10、20、30、40、50 μg),分别置于 20 mL 具塞试管中,依次加入 2 mL 钼酸溶液摇匀,静置几秒钟。加入 1 mL 亚硫酸钠溶液,1 mL 对苯二酚溶液,摇匀。加水至刻度,混匀。静置 0.5h 以后,在分光光度计 660 nm 波长处测定吸光度。以测出的吸光度对磷含量绘制标准曲线。

5.3 测定

准确吸取试样测定液 2 mL 及同量的空白溶液(5.1.2),分别置于 20 mL 具塞试管中,以下操作步骤同标准曲线(5.2)。以测出的吸光度在标准曲线上查得试样液中的磷含量。

5.4 结果计算

见式(1)。

$$X = \frac{m_1}{m} \times \frac{V_1}{V_2} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——试样中磷含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);
 - m_1 ——由标准曲线查得或回归方程算得试样测定液中磷的质量,单位为毫克(mg);
 - V_1 ——试样消化液定容总体积,单位为毫升(mL);
 - V_2 ——测定用试样消化液的体积,单位为毫升(mL);
 - m ——试样的质量,单位为克(g)。
- 计算结果保留两位有效数字。

6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

第二法 分子吸收光谱法

7 原理

食品中的有机物经酸破坏以后,磷在酸性条件下与钼酸铵结合生成磷钼酸铵。用氯化亚锡、硫酸肼还原磷钼酸铵成蓝色化合物——钼蓝。蓝色强度与磷含量成正比,可进行比色定量。

8 试剂

- 8.1 硝酸。
- 8.2 硫酸:相对密度 1.84。
- 8.3 高氯酸。
- 8.4 15%硫酸溶液:取 15 mL 硫酸,加入到 80 mL 水中,混匀。放冷以后用水稀释至 100 mL。
- 8.5 5%硫酸溶液:取 5 mL 硫酸,加入到 90 mL 水中,混匀。放冷以后用水稀释至 100 mL。
- 8.6 3%硫酸溶液:取 3 mL 硫酸,加入到 90 mL 水中,混匀。放冷以后用水稀释至 100 mL。
- 8.7 钼酸铵溶液:同 3.4。
- 8.8 氯化亚锡-硫酸肼混合液:称取 0.1 g 氯化亚锡($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),0.2 g 硫酸肼($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$),加 3%硫酸溶液并用其稀释至 100 mL。此溶液置棕色瓶中,贮冰箱至少可保存一个月。
- 8.9 磷标准储备液:精确称取在 105℃干燥至恒量的磷酸二氢钾(优级纯)0.439 4 g,用水溶解于 100 mL 容量瓶中,并加水至刻度,混匀。此溶液每毫升含 1 mg 磷。置聚乙烯瓶贮于冰箱中保存。
- 8.10 磷标准使用液:准确吸取磷标准储备液 1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀。

此溶液每毫升含 10 μg 磷。

9 仪器

分光光度计。

10 分析步骤

10.1 试样处理

称取各类食品的均匀干样 0.1 g~0.5 g, 湿样 5 g 左右于 100 mL 三角瓶中, 加硝酸 15 mL, 高氯酸 2 mL, 硫酸 2 mL, 混匀。于电热板或电炉上小火加热消化, 瓶中液体开始变棕黑色时, 不断沿瓶壁补加硝酸至有机质分解完全; 加大火力, 至消化液产生浓密的白烟, 溶液澄明或微带黄色。消化液放冷, 加水 20 mL。放冷以后转移至 100 mL 容量瓶中, 用水多次洗涤三角瓶, 合并洗液于容量瓶中, 加水至刻度, 混匀。作为试样测定溶液。

取与消化试样同量的硝酸、高氯酸、硫酸, 按同一方法做试剂空白溶液。

10.2 标准曲线绘制

取磷标准使用液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL (相当于磷 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μg), 分别置于 25 mL 比色管中, 各加水约 15 mL, 5% 硫酸溶液 2.5 mL, 钼酸铵溶液 2 mL, 氯化亚锡-硫酸胂混合液 0.5 mL, 各管均补加水至 25 mL, 混匀。在室温放置 20 min 以后, 用 2 cm 比色杯, 在 660 nm 波长处, 以零管作参比, 在分光光度计上分别测定其吸光度, 以吸光度对磷含量绘制标准曲线。

10.3 测定

准确吸取试样测定溶液 1 mL~2 mL 及同量的试剂空白液, 分别置于 25 mL 比色管中, 各加水约 15 mL, 5% 硫酸溶液 2.5 mL, 钼酸铵溶液 2 mL, 氯化亚锡-硫酸胂混合液 0.5 mL。各管均补加水至 25 mL, 混匀。在室温放置 20 min 以后, 用 2 cm 比色杯, 在 660 nm 波长处, 用水作参比, 在分光光度计上分别测定其吸光度。以测出的吸光度在标准曲线上查得试样液的磷含量。

11 结果计算

见式(2)。

$$X = \frac{(m_1 - m_0) \times V_1}{m \times V_2} \times \frac{100}{1000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X——试样中磷含量, 单位为毫克每百克(mg/100 g);

m_1 ——由标准曲线上查得试样测定溶液中磷的质量, 单位为微克(μg);

m_0 ——空白溶液中磷的质量, 单位为微克(μg);

m ——试样的质量, 单位为克(g);

V_1 ——试样消化的总体积, 单位为毫升(mL);

V_2 ——测定用试样消化液的体积, 单位为毫升(mL)。

计算结果保留两位有效数字。

12 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

第三法 食品中磷酸盐的测定

13 原理

试样中的磷酸盐与酸性钼酸铵作用, 生成淡黄色的磷钼酸盐, 此盐可经还原呈显蓝色, 一般称为钼

蓝。蓝色的深浅,与磷酸盐含量成正比。

14 试剂

14.1 稀盐酸(1+1)。

14.2 钼酸铵溶液(50 g/L):称取 25 g 钼酸铵溶于 300 mL 水中,再加 75%(体积分数)硫酸溶液(溶解 75 mL 浓硫酸于水中,再用水稀释至 100 mL)使成 500 mL。

14.3 对氢醌(对苯二酚)溶液(5 g/L):称取 0.5 g 对氢醌(对苯二酚),溶解于 100 mL 水中,加硫酸 1 滴以使氧化作用减慢。

14.4 亚硫酸钠溶液(200 g/L):称取 20 g 亚硫酸钠溶解于 100 mL 蒸馏水中。此溶液应每次试验前临时配制,否则可能会使钼蓝溶液发生混浊。

14.5 磷酸盐标准溶液:精确称取 0.716 5 g 磷酸二氢钾(KH₂PO₄)溶于水中,移入 1 000 mL 容量瓶中,并用水稀释至刻度。此溶液每毫升相当于 500 μg 磷酸盐。吸取 10.0 mL 此溶液,置于 500 mL 容量瓶中,加水至刻度,此溶液每毫升相当于 10 μg 磷酸盐(PO₄³⁻)。

15 分析步骤

15.1 标准曲线绘制

分别吸取磷酸盐标准溶液(每毫升相当于 10 μg 磷酸盐)0.0,0.2,0.4,0.6,0.8 和 1.0 mL,分别置于 25 mL 比色管中,再于每管中依次加入 2.0 mL 钼酸铵溶液,1 mL 200 g/L 亚硫酸钠溶液,1 mL 对氢醌(对苯二酚)溶液,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,静止 30 min 后,以零管溶液为空白,在分光光度计于 660 nm 处比色,测定各标准溶液的光密度,并绘制标准曲线。

15.2 测定

15.2.1 将瓷蒸发器在火上加热灼烧、冷却,准确称取均匀试样 2 g~5 g,在火上灼烧成炭分,再于 550℃下成灰分,直至灰分呈白色为止(必要时,可在加入浓硝酸湿润后再灰化,有促进试样灰化至白色的作用),加稀盐酸(1+1)10 mL 及硝酸 2 滴,在水浴上蒸干,再加稀盐酸(1+1)2 mL,用水分数次将残渣完全洗入 100 mL 容量瓶中,并用水稀释至刻度,摇匀,过滤(如无沉淀则不需过滤)。

15.2.2 取滤液 0.5 mL(视磷量多少定),置于 25 mL 比色管中,加入 2 mL 钼酸铵溶液,以下按 15.1 自“1 mL 200 g/L亚硫酸钠溶液,……”起依法操作。根据测得的光密度,从标准曲线上求得相应磷的含量。

16 结果计算

见式(3)。

$$X = \frac{m_1}{m} \times 1\,000 \quad \dots\dots\dots 3)$$

式中:

X——试样中磷酸盐含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

m₁——从标准曲线中查出的相当于磷酸盐(PO₄³⁻)的质量,单位为毫克(mg);

m——测定时所吸取试样溶液相当于试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

17 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。