

微波消解 - 火焰原子吸收光谱法测定 牛奶中钙含量

孙琦, 刘鹭, 张书文, 梁霄, 吕加平*

(中国农业科学院农产品加工研究所, 农业部农产品加工与质量控制重点开放实验室, 北京 100193)

摘要: 利用微波消解处理牛奶, 通过火焰原子吸收光谱法测定钙的质量浓度, 探讨微波消解制样技术在乳及乳制品中的应用。对微波消解过程中的硝酸体积、过氧化氢体积及消解时间分别进行单因素试验, 在此基础上进行正交试验确定微波消解制样的最佳工艺参数, 并对方法的准确度和回收率进行验证。结果表明: 最佳消解条件为过氧化氢 0.9mL、硝酸 4.0mL, 微波消解 28min, 在此条件下, 经火焰原子吸收光谱法所测得钙的回收率在 96.0%~98.1% 之间, 相对标准偏差为 0.50%。微波消解处理牛奶样品耗时短, 消解完全彻底, 适合大规模样品的快速处理, 并且提高了分析结果的精密度。

关键词: 微波消解; 火焰原子吸收; 牛奶; 钙

Determination of Calcium in Milk by Microwave Digestion and Flame Atomic Spectrometry

SUN Qi, LIU Lu, ZHANG Shu-wen, LIANG Xiao, LÜ Jia-ping*

(Key Laboratory of Agro-Food Processing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Microwave digestion technique was used in the determination of calcium in milk by flame atomic spectrometry and the application of this technique in dairy products was optimized by one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods. The optimal digestion conditions were 0.9 mL of nitric acid, 4.0 mL of hydrogen peroxide and 28 min of digestion time. The recovery rate was in range of 96.0%—98.1% for calcium in milk with RSD of 0.50%. Our study shows that microwave digestion allows rapid and large-scale sample pretreatment is helpful to increase the accuracy of determination for calcium because of less time consumption and complete digestion.

Key words: microwave digestion; flame atomic spectrometry; milk; calcium

中图分类号: TS252.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)14-0162-04

牛奶中含钙量丰富, 其含有的乳糖能够促进人体肠壁对钙的吸收, 从而调节体内钙的代谢, 满足人体生长对钙的需要, 是人类最好的钙源之一^[1]。除此之外, 钙对维持牛奶的盐类平衡, 保持牛奶体系的稳定性也发挥着至关重要的作用^[2-4]。因此钙是评价牛奶品质的重要指标之一。

目前, 金属元素的测定方法有质谱法^[5]、发射光谱法^[6]、分光光度法^[7]、电极法^[8]等, 其中火焰原子吸收分光光度法因其具有灵敏度高、重复性好等特点而广泛

应用于各类样品中微量金属元素的测定^[9]。与此同时, 传统的干法灰化和湿法消化因对设备要求较低而广泛应用于样品的前处理, 但这两种方法共同的缺点是耗时, 费力, 且易造成样品污染和损失^[10-11]。微波消解制样是近年来产生的一种新兴而高效的样品预处理技术, 并越来越多的应用于分析领域^[12]。

本研究根据相关国家标准^[13-14]中推荐的火焰原子吸收分光光度法对牛奶中的钙进行测定, 对微波消解过程中的硝酸和过氧化氢体积及消解时间等条件分别进行优

收稿日期: 2011-06-02

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(200903043)

作者简介: 孙琦(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品微生物与发酵工程。E-mail: caassq618@163.com

* 通信作者: 吕加平(1963—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为食品微生物与发酵和乳品科学。E-mail: lvjp586@vip.sina.com

化, 确定微波消解 - 火焰原子吸收测定牛奶中钙的最佳工艺参数, 同时进行精密度和回收率实验, 为利用现代仪器快速、准确分析乳制品中的钙含量的测定提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

某品牌高钙牛奶 市售。

硝酸(优级纯)、高氯酸(优级纯)、30% 过氧化氢(分析纯)、盐酸(优级纯) 北京市北化精细化学品有限公司; 氧化镧(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 钙标准溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

AA-6300 原子吸收分光光度计(配有钙空心阴极灯) 日本岛津公司; MDS-6 型密闭微波消解仪(配有聚四氟乙烯溶样杯和六联体消解罐) 上海市新仪微波化学科技有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱 上海市精宏实验设备有限公司; Lindberg/Blue M 马弗炉 美国赛默飞世尔科技公司; 电子调温电炉 金坛市荣华仪器制造有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 微波消解

硝酸不仅具有强氧化性, 并且在微波能量激发下能够使有机质消解更完全, 而过氧化氢的氧化性较强, 且在消解完成后易分解除去, 同时反应较为温和, 能够避免使用高氯酸而引起爆炸的危险, 故常常选用硝酸和过氧化氢作为微波消解试剂^[15-16]。

准确量取 1mL 牛奶于聚四氟乙烯溶样杯内, 加入一定量的硝酸和过氧化氢, 将六联体消解罐置于微波消解仪中, 按事先设定好的程序进行微波消解, 见表 1。同时做空白对照。消解结束后, 待样品冷却至室温后将溶样杯内液体转移至容量瓶中, 用 2g/100mL 氧化镧溶液定容至 100mL。

表 1 微波消解程序

Table 1 Conditions for microwave digestion of samples

步骤	压力/MPa	时间/min	功率/W
1	0.3	4	800
2	0.6	2	1000
3	1.0	2	1000
4	1.5	待定	800

1.3.2 干法灰化

精确称取牛奶 10~15g 于坩埚中, 在电炉上微火炭化至不再冒烟, 移入马弗炉中灰化至质量恒定, 同时

做空白实验。将灰化后的样品加体积分数为 20% 的盐酸和浓硝酸数滴, 在电炉上加热使灰烬充分溶解, 冷却至室温后定容于 100mL。

1.3.3 湿法消解

精确称取 5~10g 牛奶于锥形瓶中, 加混合酸(硝酸:高氯酸 = 4:1)消化液 20~30mL, 置于电炉上加热消化, 直至无色透明为止, 冷却至室温后用 2g/100mL 氧化镧溶液定容于 100mL。取与消化试样相同量的混合酸消化液做空白对照实验。

1.3.4 火焰原子吸收测定条件

对钙元素进行火焰原子吸收分光光度法测定过程中, 检测波长为 422.7nm, 灯电流 10mA, 光谱通带 0.7nm, 燃烧器高度为 7mm, 燃气类型为空气 - 乙炔, 燃气流量为 2L/min。

1.3.5 钙标准曲线的绘制

准确量取 2.50mL 钙标准溶液于容量瓶中, 用 2g/100mL 氧化镧溶液定容至 50mL, 制得质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的钙标准储备液。由储备液制得钙标准系列溶液, 测定后得线性回归方程为 $y = 0.065x - 0.006$, 相关系数(r)为 0.9997。

2 结果与分析

2.1 微波消解条件的选择

2.1.1 过氧化氢用量对微波消解效果的影响

固定硝酸用量为 6mL, 微波消解程序中第 4 步时间为 20min, 改变微波消解中过氧化氢的体积(0、0.3、0.6、0.9、1.2mL), 分别进行微波消解和火焰原子吸收测定, 测得钙的质量浓度与过氧化氢体积的关系如图 1 所示。

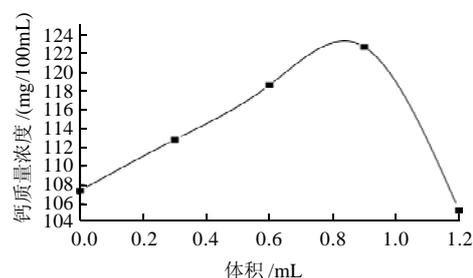


图 1 过氧化氢体积与牛奶中钙质量浓度的关系

Fig.1 Effect of H_2O_2 amount on the determination of calcium in milk

由图 1 可知, 当其他影响因素固定不变时, 随着过氧化氢体积的增加, 测得的钙元素质量浓度逐渐上升, 当过氧化氢为 0.9mL 时测得的钙质量浓度最高, 达到了 122.7mg/100mL, 说明此时消解效果最好, 随着过氧化氢体积的增加, 测得的钙质量浓度又逐渐开始下降。

2.1.2 硝酸用量对微波消解效果的影响

固定过氧化氢用量为 1mL, 微波消解程序中第 4 步时间为 20min, 改变硝酸体积(4.0、6.0、8.0、10.0、12.0mL)对牛奶进行微波消解, 测得钙的质量浓度与硝酸体积的关系如图 2 所示。

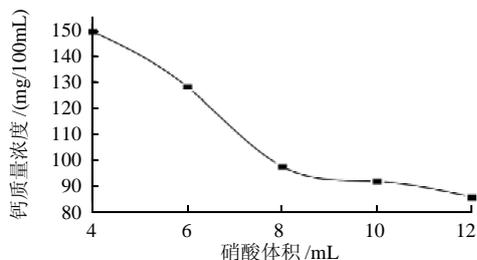


图 2 硝酸体积与牛奶中钙质量浓度的关系

Fig.2 Effect of HNO₃ volume on the determination of calcium in milk

由图 2 可知, 随着硝酸体积的不断增大, 测得的牛奶中钙的质量浓度在不断下降, 这可能是由于硝酸体积太大, 消解完毕后剩余酸较多, 从而影响或干扰钙元素的测定。因此选择 4.0mL 硝酸处理样品最为理想, 此时测得牛奶中钙的质量浓度为 149.3mg/100mL。

2.1.3 消解时间对微波消解效果的影响

微波消解过程中, 固定硝酸用量为 6mL 和过氧化氢用量为 1mL, 改变微波消解程序中第 4 步的时间(18、19、20、21、22min), 所得钙的质量浓度与微波消解时间的关系如图 3 所示。

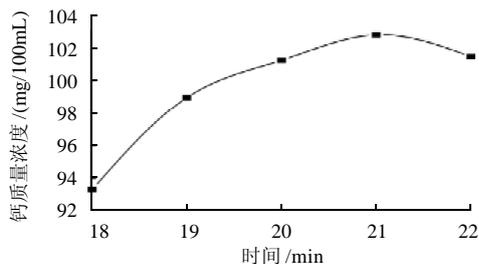


图 3 消解时间与牛奶中钙质量浓度的关系

Fig.3 Effect of digestion time on the determination of calcium in milk

由图 3 可见, 其他因素固定不变时, 当微波消解程序中第 4 步的消解时间为 21min, 消解效果最为满意, 此时测得牛奶中钙的质量浓度为 102.8mg/100mL。微波消解过程中, 消解时间对消解效果的影响很关键, 其过长或过短都会对测定结果造成影响。若时间过长会使罐内压力过大, 造成安全装置自动放气、减压, 从而使微量元素损失; 若时间过短, 则会使样品消化不彻底^[17]。

2.2 微波消解条件的优化试验

2.2.1 微波消解条件正交试验

根据单因素试验结果, 采用 L₉(3⁴) 正交设计, 因素水平见表 2。

表 2 微波消解正交试验因素与水平
Table 2 Factors and levels used in orthogonal array design

水平	因素		
	A 过氧化氢体积/mL	B 硝酸体积/mL	C 消解时间/min
1	0.6	4.0	22
2	0.9	6.0	20
3	1.2	5.0	21

2.2.2 正交试验结果及分析

表 3 微波消解正交试验及直观分析结果
Table 3 Orthogonal array design and experimental results

试验号	因素				钙质量浓度/(mg/100mL)
	A	B	C	D(空列)	
1	1	1	1	1	145.06
2	1	2	2	2	122.18
3	1	3	3	3	138.97
4	2	1	2	3	150.45
5	2	2	3	1	117.52
6	2	3	1	2	140.88
7	3	1	3	2	147.09
8	3	2	1	3	108.56
9	3	3	2	1	147.21
K ₁	406.21	442.60	394.50	409.79	
K ₂	408.85	348.26	419.84	410.15	
K ₃	402.86	427.06	403.58	397.98	
k ₁	135.40	147.53	131.50	136.60	
k ₂	136.28	116.09	139.95	136.72	
k ₃	134.29	142.35	134.53	132.66	
R	1.99	31.44	8.45	4.06	
因素主次顺序	B > C > A				
较优水平	A ₂	B ₁	C ₂		

通过对正交试验结果(表 3)的直观分析, 试验因素主次顺序依次为 B > C > A。最适组合为 A₂B₁C₂, 即过氧化氢体积为 0.9mL, 硝酸体积为 4.0mL, 微波消解程序中第 4 步时间为 20min, 此时获得的消解效果最为满意, 经火焰原子吸收测得牛奶中钙的质量浓度为 150.45mg/100mL。

2.2.3 方法精密度及回收率实验

为了验证该方法的精密度和回收率, 准确量取 1mL 牛奶样品, 按优选出的消解条件进行微波消解后经火焰原子吸收测定, 结果分别见表 4、5。

表 4、5 结果表明, 本方法平行实验所测得的牛奶中钙质量浓度的相对标准偏差为 0.50%, 加标回收率在 96.0%~98.1% 之间, 其平均回收率为 96.9%, 说明该方法有较好的精密度和重现性, 符合分析方法要求。

2.3 不同消解方法对比实验

将国家标准中的消解方法与微波消解的测定结果进行对比, 结果如表 6 所示。通过比较可以发现, 微波

表4 精密度实验(n=8)
Table 4 Accuracy and precision of this method (n=8)

元素	1	2	3	4	5	6	7	8	平均值	RSD/%
Ca	150.31	150.53	150.43	149.16	151.02	148.73	150.20	150.11	150.06	0.50

表6 国标消解法与本法消解测定结果比较
Table 6 Comparison of different digestion methods for calcium determination

消解方法	参考依据	消解时间/h	测定结果/(mg/100mL)
干法消解	GB 5413.21—2010《婴幼儿配方食品和乳粉中钙铁锌钠钾镁铜锰的测定》	约5	142.88 ± 2.06 ^a
湿法消解	GB/T 5009.92—2003《食品中钙的测定》	约2	148.81 ± 4.39 ^b
微波消解	本方法	约0.5	149.84 ± 1.07 ^b

注：相同字母表示差异不显著(P > 0.05)；不同字母表示差异显著(P < 0.05)。

表5 回收率实验
Table 5 Average spike recovery rates of calcium from high-calcium milk

样品	本底值/(mg/mL)	加标量/mg	3次平行测量值/(mg/mL)	回收率/%	RSD/%
高钙奶	1.50	1.1	2.52、2.59、2.59	96.5	3.9
		1.5	2.94、3.01、2.98	98.1	2.2
		1.8	3.29、3.20、3.20	96.0	3.0

消解后的测定结果高于传统消解方法所得结果，并且与干法消解相比结果差异显著，同时消解时间大为缩短，这主要是由于密闭微波制样技术结合了高压消解和微波快速加热两方面的性能，从而适合大规模样品的快速消解处理。另外，传统消解方法操作较繁琐，处理样品少，且需要一定的操作经验以保证结果的准确。因此在先进测试仪器不断应用于分析化学领域的背景下，微波消解制样技术取代陈旧、落后的传统加热处理样品，不仅提升了现代分析仪器的先进性，同时也提高了分析结果的精密度、准确度和效率^[18]。

3 结论

通过正交试验对微波消解处理牛奶样品条件进行优化，确定最佳消解条件为1mL牛奶+0.9mL过氧化氢+4.0mL硝酸，消解最高压力为1.5MPa，最大消解功率为1000W。与国家标准中推荐的干法和湿法消解相比，微波消解可以在28min内对6个样品同时进行处理，并且可以减少因人为操作所造成的试验误差。在此条件下，经火焰原子吸收测得市售高钙奶中钙质量浓度的平均值为150.06mg/100mL，相对标准偏差为0.50%，回收率在96.0%~98.1%之间。因此微波消解具有耗时短，消解完全彻底，回收率高，劳动强度低等突出优点，适合大规模样品的快速处理，并且提高了分析结果的精密度，同时也为进一步深入研究和探讨牛奶中的微量元素提供了方法学依据。

参考文献：

[1] 李嘉铭, 陈丛聪, 陆红, 等. 鲜牛奶重要指标的生化试验: 鲜牛奶的性价比分析[J]. 实验室研究与探索, 2009, 28(8): 30-32.

[2] CANABADY-ROCHELLE L S, SANCHEZ C, MELLEMA M, et al. Influence of calcium salt supplementation on calcium equilibrium in skim milk during pH cycle[J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(5): 2155-2162.

[3] UDABAGE P, MCKINNON I R. Mineral and casein equilibria in milk: effects of added salts and calcium-chelating agents[J]. Journal of Dairy Research, 2000, 67(3): 361-370.

[4] POULIOT Y, OULET M, PAQUIN P. Experiments on the heat-induced salt balance changes in cow's milk[J]. Journal of Dairy Research, 1989, 56(3): 513-519.

[5] DJINGOVA R, HEIDENREICH H, KOVACHEVA P, et al. On the determination of platinum group elements in environmental materials by inductively coupled plasma mass spectrometry and microwave digestion [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 489(2): 245-251.

[6] 李秀萍, 李丽华, 张金生. MPT-AES 测定乳胶手套中的铁、镍、镁、钙、锌[J]. 分析测试学报, 2007, 26(5): 754-756.

[7] 樊明德, 谢巧勤, 陈天虎. 化学计量学方法用于多组分的光度分析-合成样品中钡锶钙的同时测定[J]. 分析测试学报, 2006(6): 39-42.

[8] 高向阳, 朱玲, 孙灵霞. 离子选择性电极浓度直读法快速测定火棘果中的微量钙[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 305-308.

[9] 区红, 贾薇, 舒永红, 等. 微量进样火焰原子吸收光谱法对牛奶中钙的直接测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(12): 1355-1358.

[10] PANTUZZO F, CIMINELLI V S, SILVA J. A fast and accurate microwave-assisted digestion method for arsenic determination in complex mining residues by flame atomic absorption spectrometry[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 168(2/3): 1636-1638.

[11] NEMATI K, SOBHANZADEH E, LOW K H, et al. Comparative study on open ststem digestion and microwave assisted digestion methods for metal determination in shrimp sludge compost[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 182(1/3): 453-459.

[12] 张霖琳, 邢小茹, 吴国平, 等. 微波消解-ICP-MS 测定人体血浆中30种痕量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(4): 1115-1118.

[13] 食品安全国家标准审评委员会. GB 5413.21—2010 婴幼儿配方食品和乳粉中钙、铁、锌、钠、钾、镁、铜、和锰的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[14] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.92—2003 食品中钙的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

[15] 姜波, 姜国斌, 刘长建, 等. 微波消解-AAS 法分析银杏叶中金属元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(3): 812-815.

[16] 张玉玲, 王松君, 王璞珺, 等. 微波消解植物灰分与环境土壤中微量元素ICP-AES方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(8): 2240-2243.

[17] 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.

[18] NNA-MVONDO D, MARTIN-REDONDO M, MARTINEZ-FRIAS J. New application of microwave digestion-inductively coupled plasma-mass spectrometry for multi-element analysis in komatiites[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 628(2): 133-142.