

电感耦合等离子体发射光谱法测定深圳市母乳中钙和磷

姜杰,张慧敏,李胜浓,蒋友胜,周健,林凯,丘红梅,张建清

深圳市疾病预防控制中心, 深圳 518055

摘要:目的: 建立电感耦合等离子体发射光谱测定母乳中钙磷含量的方法, 并对深圳市当地母乳钙、磷两种元素的含量进行测定。**方法:** 于 2011~2013 年收集深圳市产后 1~2 个月产妇的母乳样品共 221 例, 样品冻干保存, 经硝酸高压消解后采用电感耦合等离子体发射光谱法 (ICP-OES) 测定母乳中钙和磷的含量。**结果:** 钙检出限 0.09mg/kg, 磷检出限 0.03mg/kg; 各元素线性良好, 相关系数 $R>0.9999$; 钙测定精密度 1.3%~2.5%, 磷测定精密度 1.6%~2.1%; 国家标准参考物质的分析结果在证书值范围内; 深圳市母乳中钙含量 187.6mg/kg~ 449.6mg/kg, 平均值为 294.5mg/kg, 磷含量 84.9mg/kg~230.7mg/kg, 平均值为 157.7mg/kg, 钙磷比 1.1~3.7, 平均值为 1.9。**结论:** 该方法灵敏、准确可靠, 可用于母乳中钙磷元素的同时检测。深圳市母乳中钙元素的平均含量在 WHO 提供的参考值范围内, 磷元素的平均含量略高于 WHO 提供的参考值范围。

关键词:母乳;钙;磷;电感耦合等离子体光谱法 (ICP-OES)

The Determination of Cadmium and Phosphorus of Human Milk in Shenzhen by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer

JIANG Jie, ZHANG Huimin, LI Shengnong, et al.

Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518055, China

Abstract: Objective To develop a method for determination Cadmium (Ca) and Phosphorus (P) in human Milk, and to investigate the contents of Ca and P in human milk in Shenzhen. **Methods** 221 human milk (1~2 months postpartum) samples were collected and preserved after lyophilization in Shenzhen during the year of 2011 to 2013. After high-pressure digestion by HNO_3 in closed-vessel, the elements of Ca and P were simultaneously determined by ICP-OES. **Results** The detection limits of Ca and P were 0.088mg/kg and 0.024mg/kg respectively. The average correlation coefficients were all ≥ 0.9999 with good linearity, the relative standard deviation of Ca and P ranged from 1.3% to 2.5% and from 1.6% to 2.1% respectively, the results of analyzing standard materials were all in the certificate values. The level of Ca in human milk from Shenzhen ranged from 187.6mg/kg to 449.6mg/kg and the average concentration was 294.5mg/kg, the level of P ranged from 84.9mg/kg to 230.7mg/kg and the average concentration was 157.7mg/kg, the ratio of Ca and P ranged from 1.1 to 3.7 and the average value was 1.9. **Conclusions** The method has high accuracy and good reproducibility, which could be used to determinate the elements of Ca and P in human milk. The average content of Ca in the human milk from Shenzhen was within the reference ranges provided by the World Health Organization (WHO), the average content of P exceeded slightly the reference ranges provided by the World Health Organization (WHO).

Key words: Human milk, Cadmium, Phosphorus, ICP-OES

对于纯母乳喂养儿来说, 母乳是 0~6 月婴儿的唯一食物来源, 因此母乳中的营养成分能否满足婴儿的生长发育就显得尤为重要。钙是骨骼和牙齿的重要组成成分, 婴儿处于迅速生长阶段, 供给充足的钙有利于骨骼, 牙齿的生长和硬化, 如果长时间缺钙, 则会导致婴幼儿时期的常见病-佝偻病^[1]。钙质对骨骼发育很重要, 但是钙需要有磷的参与才能让

基金项目: 国家科技部 863 项目 (2011AA060605); 深圳市科技计划重点项目 (201101016); 深圳市科创委项目 (JCYJ20130329103949643)

作者简介: 姜杰, 男, 硕士, 主任技师, 主要从事卫生理化分析研究和应用工作, 电子信箱 1071455735@qq.com

通信作者: 张建清, 女, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: zhjianqing95@gmail.com

Corresponding author: ZHANG Jianqing, E-mail: zhjianqing95@gmail.com

骨骼适当地矿物化。钙磷比例适宜，母乳中的钙才容易被婴儿吸收，因此定量研究母乳中的钙磷含量对指导母乳喂养，防止佝偻病的发生具有重要意义。

母乳中钙磷的检测方法多采用原子吸收光谱法、分光光度法等^[1-2]，这些方法操作步骤繁琐，耗时费力，测定速度慢，不能两个元素同时测定。电感耦合等离子体发射光谱技术具有灵敏、准确、可靠的优点，并具有多元素同时分析的能力，是一种高通量检测方法，可将检测时间大为缩短。本研究采用电感耦合等离子体光谱法对深圳市母乳中的钙磷同时进行检测，并对钙磷含量及比例进行分析，为指导乳母和婴儿合理补钙，预防佝偻病提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器及器皿

ICAP6300 电感耦合等离子体发射光谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); FED115 型电子烘箱(德国 Binder 公司); Milli-Q Element 超纯水装置(美国 Millipore 公司), 聚四氟乙烯消化内罐及不锈钢外罐(北京实华科技发展有限公司机械制造厂); Freeze Dry Systems 冻干机(美国 LABCONCO 公司)。

1.2 试剂及标准溶液

实验用水为超纯水; 硝酸(GR); 1000 $\mu\text{g/mL}$ 钙标准溶液(GSB 04-1720-2004), 1000 $\mu\text{g/mL}$ 磷标准溶液(GSB04-1741-2004), 均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心, 临用前用5%硝酸溶液稀释至标准应用液, 钙的浓度分别为0mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、100mg/L, 磷的浓度分别为0mg/L、5mg/L、10mg/L、25mg/L、50mg/L; 载气: 99.999%高纯氩气。

1.3 样品采集

2011年~2013年在深圳市按知情原则募集了221名产妇, 乳母为单胎产妇, 健康无疾病史, 无职业暴露。乳母签订知情同意后, 在专业人员指导下, 采用手挤法收集母乳, 直接收集于干净的采样瓶内, 采集好的样品尽快放入-20℃冰箱冻存。采用冻干机对采集的母乳样品进行冷冻干燥, 然后均一化成粉末密闭保存在-20℃冰箱待测, 并记录水分含量。

1.3 仪器条件

波长: Ca315.887nm, P214.914 nm; 功率 1150W; 辅助气流量 0.5L/min; 雾化气流量 0.5L/min; 蠕动泵转速 50 rpm; 观测方式: 垂直观测。

1.4 样品前处理

称取 0.5g 左右的冻干母乳试样于聚四氟乙烯压力消解内罐中, 加入 5 mL 硝酸, 盖上内盖, 旋紧外罐置于恒温干燥箱中消解, 80℃保持 2h, 120℃保持 2 小时, 160℃保持 4 小时。消解完毕待冷却后取出内罐, 于电热板上(110℃左右)赶酸, 将消化液转移至 50 mL 聚丙烯离心管中, 并用少量水多次洗涤消解内罐, 合并洗涤液定容至刻度, 混匀备用, 同时做空白试验。

2 结果

2.1 线性范围及检出限

ICP-OES的线性较宽, 钙浓度0 mg/L ~100 mg/L, 磷浓度0mg/L -50mg/L, 相关系数大于0.9999, 呈良好线性关系。根据国际纯粹和应用化学联合会(IUPAC) 对检出限作出的规定, 制备21份消化空白, 上机测定, 根据检出限(LOD)及定量限(LOQ)计算方法 $\text{LOD}=3\text{sd}/b$ 和 $\text{LOQ}=10\text{sd}/b$ (b 为工作曲线斜率), 以仪器响应值的3倍和10倍标准偏差除以工作曲线斜率, 再以0.5g取样量定容至25mL, 母乳中水分86.8%计, 计算方法检出限和定量限, 见表1。

表1 标准曲线和方法检出限

元素	工作方程	相关系数	方法检出限(mg/kg)	方法定量限(mg/kg)
Ca	$Y=1443.3X+3.11$	0.9999	0.09	0.29
P	$Y=664.2X-4.76$	0.9999	0.03	0.08

2.2 精密度和准确度

通过多次测定国家标准参考物质来考察方法的精密度和准确度, 本实验选取与母乳样品基质类似的奶粉(GBW10017)和脱脂奶粉(GBW08509a)两个标准参考物质, 测定结果见表2。2个标准参考物质的测定结果均在标准参考值范围内, Ca的方法精密度(RSD)在1.3%~2.5%之间, P的方法精密度(RSD)在1.6%~2.1%之间。

表2 国家标准参考物质测定结果(n=7)

样品名称	标准物质编号	Ca			P		
		平均测定值(%)	标准参考值(%)	RSD(%)	平均测定值(%)	标准参考值(%)	RSD(%)
奶粉	GBW10017	0.91	0.94±0.03	2.5	0.74	0.76±0.03	2.1
脱脂奶粉	GBW08509a	1.29	1.28±0.03	1.3	1.03	1.04±0.03	1.6

2.3 母乳中钙、磷两种元素的含量及比例

对221份母乳进行钙和磷的分析测定, 采用较权威的世界卫生组织(WHO) 1989年的一份报告中所定义的人乳中微量元素浓度范围作为参考[3]。结果见表3。

表3 深圳市母乳钙磷含量水平

元素	$\bar{x} \pm s$	中位数	最小值	最大值	WHO 参考值
Ca (mg/kg)	294.5±46.4	294.6	187.6	449.6	220-300
P(mg/kg)	157.7±25.3	157.0	84.9	230.7	135-155
Ca/P	1.9±0.4	1.9	1.1	3.7	/

钙磷含量及钙磷比在不同个体中差异较大, 母乳样品钙平均含量为294.5 mg/kg, 范围分布在187.6~449.6 mg/kg之间, 均值在WHO提供的参考范围内; 母乳样品磷平均含量为157.7mg/kg, 范围分布在84.9~230.7mg/kg之间, 均值略高于WHO提供的参考范围; 母乳中钙磷比为1.9±0.4, 范围分布在1.1~3.7之间, 平均值及中位数均为1.9, 与文献[4]中钙磷比平均值为1.97的报道相似。

2.4 不同地区母乳中钙磷含量

将本研究母乳中钙磷含量与中国其它城市及其他国家的含量进行对比, 结果见表4。本研究钙含量与上海地区、唐山地区、北京地区及瑞典地区的研究结果相似, 其中印度地区的钙含量明显偏低。磷含量与上海地区、唐山地区及印度地区的研究结果相似, 其中北京地区磷含量明显偏低, 而瑞典地区母乳中磷含量明显偏高。

表4 不同地区钙磷含量比较

地区	钙含量 (mg/kg)	磷含量 (mg/kg)
----	-------------	-------------

深圳地区	294.5±46.4	157.7±25.3
唐山地区 ^[4]	288.4±48.6	150.5±29.6
上海地区 ^[5]	283.0±23.9	152.9±21.3
北京地区 ^[6]	296.0±51.0	133.8±27.7
瑞典地区 ^[7]	305±45	172±23
印度地区 ^[8]	234±24	159±25

3 讨论

3.1 光谱干扰

待测元素之间会产生光谱干扰, 由于等离子光源激发能量很高, 有大量发射谱线, 事实上几乎每种元素的分析线均受到不同程度的干扰。在选择分析线时, 既要保证所选的分析线具有足够高的灵敏度, 又要尽量避免其他谱线直接或间接重叠干扰。本试验中通过查阅操作软件中的谱线干扰信息, 并考虑样品中干扰元素含量, 选择适宜的波长, 并通过测定国家标准参考物质来确定所选波长是否合适。如测磷时波长178.29nm的干扰最小, 但由于处于紫外区, 仪器操作条件要求苛刻, 不好操作。铜对磷214.914 nm有一定的干扰, 但由于母乳中铜含量很低, 不会对磷的测定造成较大干扰, 所以选择214.914nm作为分析波长。另外通过分析国家标准参考物质, 结果表明本实验所选的波长可以得到较为准确的结果。

3.2 样品冻干处理

本研究首先对采集的样品进行冷冻干燥, 除去水分, 变成干粉, 一是有利于样品的长久保存, 二是奶粉的基质更加均匀, 有利于结果的准确可靠。另外通过测定其中的水分含量, 在82.5%~89.6%之间, 平均值为86.8%, 这表明通过冻干相当于使样品浓缩了7.6倍, 方法检出限降低。

3.3 母乳结果分析

钙和磷是人体内含量最多的矿物元素, 它们在机体内主要以盐的形式构成骨骼和牙齿, 使骨骼具有特殊的硬度和强度, 骨骼中钙磷含量的比例为2:1^[3]。人体对钙的吸收利用, 受诸多因素的影响。如食物中钙磷比例不平衡, 钙或磷的含量过多或过少, 都可能相互影响其吸收率, 最终影响骨骼生长发育, 所以食物中的钙磷比例应适当。母乳中钙磷的比例为2:1, 易于吸收, 对防治佝偻病有一定作用。

整体来看, 深圳母乳中钙平均水平符合WHO标准, 磷平均水平接近WHO标准的上限, 总体状况良好。但在研究中也发现, 221例志愿者的乳汁中, 钙磷的水平差别较大, 钙最大值是最小值的2.4倍, 磷最大值是最小值的2.7倍, 钙磷比的最大值是最小值的3.4倍。这说明有些乳母乳汁中的钙含量不足, 钙磷比也不适宜, 在哺乳期若仅仅给婴儿喂哺母乳, 可能造成婴儿的钙摄入量不够, 需要通过别的方式补充钙的摄入。对乳母而言, 应采用更合理的膳食结构, 适量摄入钙磷, 使母乳中钙磷含量和比例更趋合理, 更有利于婴儿的生长发育。

参考文献:

- [1] 王朝瑾, 李云峰, 刘振华, 等. 母乳与婴儿乳粉中所含矿物质元素的分析[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 286-288.
- [2] 王学生. 正常母乳中钙、磷、硒含量以及GPX活性比较[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(8): 991.
- [3] WHO, IAEA. Minor and trace elements in breast milk : report of a joint WHO/IAEA collaborative study[M]. EHGLAND: Geneva : World Health Organization, 1989: 119P.
- [4] 王学生, 王成刚. 正常母乳中钙、磷、硒含量以及GPX活性比较[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(8): 991.

- [5] 钱继红, 吴圣楣, 张伟利, 等. 上海地区母乳成分调查[J]. 上海医学, 2002, 25(7): 396-398.
- [6] 殷泰安, 李丽祥, 王文广, 等. 中国营养学会首届微量元素专题讨论会论文摘要汇编, 28-29.
- [7] Bjorklund K L, Vahter M, Palm B, et al. Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study[J]. Environ Health, 2012, 11: 92.
- [8] Rajalakshmi K, Srikantia S G. Copper,zinc and magnesium content of breast milk of Indian women[J].Am J Clin Nutr,1980,33(3):664-669.