

Afdeling Anorganische Contaminanten

RAPPORT 85.48

1985-05-06

Pr.nr. 505.0500

Onderwerp: De bepaling van calcium en
fosfor in melk met behulp van
ICP-AES.

Bijlagen: 1.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, sektorchef, afdeling ACON (4x),
medewerkers, projektleider, projektbeheer, bibliotheek (2x),
circulatie.

RAPPORT 85.48

Pr.nr. 505.0500

Project: Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van diverse zware metalen en spoorelementen.

Onderwerp: De bepaling van calcium en fosfor in melk met behulp van ICP-AES.

Bijlagen: 1.

Doel:

Het ontwikkelen van een snelle en betrouwbare methode voor de bepaling van Ca en P in melk met behulp van ICP-AES.

Samenvatting:

Een methode, gebaseerd op een monstervoorbewerking met trichloorazijnzuur en meting met behulp van ICP-AES, werd uitgetest voor de bepaling van Ca en P in melk. De resultaten van deze methode werden vergeleken met de resultaten, welke door de afdeling Algemene Chemie met behulp van fotometrische technieken werden verkregen.

Conclusie:

Behandeling met trichloorazijnzuur is een snelle en betrouwbare monstervoorbewerkingsmethode voor de bepaling van calcium en fosfor in melk met behulp van ICP-AES.

Verantwoordelijk : dr G. Vos

Medewerkers/samenstellers:A.M.G. van Betteray-Kortekaas, H.J. Keukens,
J.J.M.H. Teeuwen, C.G.M. Onstenk (AC),
J.C. Schouten (AC), dr G. Vos

Projectleider : W. van Delft 

I. Inleiding

In het kader van een samenwerkingsproject tussen RIKILT en het Proefstation voor de rundveehouderij, schapenhouderij en paardenhouderij te Lelystad werden bij het RIKILT monsters aangeboden ter analyse op calcium en fosfor. Calcium en fosfor zijn de belangrijkste mineralen voor de beenontwikkeling. Doel van dit onderzoek is o.a. het nagaan van het verloop van de samenstelling van de merriemelk gedurende de lactatie. Voor de bepaling van diverse componenten in melk wordt als destructie door de afdeling Anorganische Contaminanten in het algemeen een droge verassingsprocedure toegepast. Een methode, die betrouwbare resultaten oplevert, maar tamelijk tijdrovend is. In verband met het aanbod van een groot aantal paardenmelkmonsters (ca. 400) in het kader van bovengenoemd project werd gezocht naar een snellere voorbereidingsmethode. In principe is directe verstuiving van de melkmonsters in het ICP-AES systeem mogelijk, maar deze methode kan snel tot verstopping van de verstuiver leiden. In de literatuur (1) is een methode beschreven voor de bepaling van Ca, Mg, K, Na en Cu in melk met behulp van atomaire absorptiespectrometrie, waarbij de monsters voorbereid worden met trichloorazijnzuur (TCA). Door toevoeging van TCA slaan de proteïnes in de melk neer en wordt na filtratie een heldere oplossing verkregen. Een analoge methode is uitgetest voor de bepaling van Ca en P in paardenmelk. De resultaten werden vergeleken met een door de afdeling Algemene Chemie toegepaste analysemethode.

II. Experimentele gegevens

Monstervoorbereiding:

Aan 0,5 ml melk wordt 5 ml trichloorazijnzuuroplossing (24% w/v) toegevoegd. Deze oplossing wordt met water (bidest) aangevuld tot 25 ml. De oplossing wordt gedurende een half uur elke 5 minuten omgeschud en vervolgens gefiltreerd over een papierfilter (Machery-Nagel 640 m). De verkregen heldere oplossing wordt gemeten met behulp van ICP-AES, met toepassing van de ijklijnmethode.

ICP-AES meting:

Voor de ICP-AES metingen werd gebruik gemaakt van een Perkin Elmer 6000 systeem. De instelling van de apparatuur was als volgt:

Golflengte Ca : 396,847 nm
golflengte P : 213,618 nm
plasma flow : 15 l/min
nebulizerdruk : 22 psi
auxillary flow : 0,5 l/min
Rf power : 1,25 kW
reflected power : < 5 W
waarnemingshoogte: 14 mm
pompsnelheid
slangenpomp : 1 ml/min.

Ca en P bepaling door de afdeling Algemene Chemie:

Ca werd, na verdunnen van de monsters en toevoeging van EDTA, direkt gemeten met behulp van vlamfotometrie.

P werd, na destructie met zwavelzuur en waterstofperoxide, fotometrisch bepaald met behulp van de molybdeenblauw methode.

III. Resultaten en discussie

De golflengten, welke worden toegepast voor de bepaling van Ca en P met behulp van ICP-AES, respectievelijk 396,847 nm en 213,618 nm, zijn tamelijk ongevoelig voor storingen.

De Ca-lijn valt samen met een zwakke Fe-lijn. Het effect hiervan blijkt in de praktijk verwaarloosbaar (2). De P-emissielijn bij 214,914 nm, welke iets minder gevoelig is, is eveneens geschikt voor de bepaling van P in voorbehandelde melkmonsters. Voor de meting van Ca en P worden met behulp van een ijklijn- en een standaardadditie-procedure vergelijkbare resultaten verkregen. Voor routinematige metingen en voor het in dit rapport beschreven onderzoek werd dan ook de ijklijnmethode toegepast.

De resultaten van de ICP-AES methode werden vergeleken met de gehalten, welke door de afdeling Algemene Chemie met behulp van de in HS.II beschreven methoden werden verkregen.

De analyseresultaten van 21 verschillende paardenmelkmonsters zijn weergegeven in tabel 1. De correlatie tussen de verschillende analysemethodieken is tevens grafisch weergegeven in de figuren 1 en 2.

Voor zowel Ca als P bleek de overeenkomst tussen de resultaten verkregen met behulp van de verschillende methodieken bevredigend.

Voor Ca varieerde het verschil tussen de TCA/ICP-AES en de vlamfotometrie resultaten van 0,9% tot 10,3% (relatief), met een gemiddelde afwijking van 4,5%. Voor de 21 onderzochte monsters werd met behulp van de TCA/ICP-AES methode een gemiddeld Ca-gehalte van 0,106% gevonden, terwijl voor de vlamfotometrische methode het gemiddelde gehalte 0,103% bedroeg. In eerste instantie werden met behulp van de TCA/ICP-AES methode aanzienlijk hogere Ca-gehalten gevonden. Dit bleek veroorzaakt te worden door gebruik van papieren vouwfilters (Schleicher en Schüll), waaruit aanzienlijke hoeveelheden Ca werden vrijgemaakt. Na overschakeling op "Ca-vrij" filterpapier (Machery-Nagel) was de overeenkomst tussen beide methodieken bevredigend.

Het verschil tussen de P-gehalten, verkregen met behulp van de TCA/ICP-AES en de molybdeenblauw methode varieerde van 1,4 tot 26,6%, met een gemiddelde van 12,5%. Deze afwijking lijkt aanzienlijk, maar wordt in belangrijke mate bepaald door de toepassing van verschillende afrondingsfactoren voor beide technieken. Voor de 21 paardenmelkmonsters werd met behulp van de TCA/ICP-AES en de molybdeenblauw methode een gemiddeld P-gehalte gevonden van respectievelijk 0,068% en 0,07%. De herhaalbaarheid is voor de TCA/ICP-AES methode zeer bevredigend. Voor de 10-voudige analyse van een melkmonster, met Ca- en P-gehalten van respectievelijk 1119 mg/l en 578 mg/l bedroeg de variatiecoëfficiënt respectievelijk 1,8% en 1,3%. Voor recovery-experimenten (n=6) werden voor Ca en P gemiddelde recoveries van respectievelijk 97% (v.c. = 4,4%) en 101% (v.c. = 3,2%) verkregen.

IV. Conclusie

Behandeling met trichloorazijnzuur is een snelle en betrouwbare monstervoorbewerkingsmethode voor de bepaling van calcium en fosfor in melk met behulp van ICP-AES. Toepassing van de ICP-AES techniek heeft als voordeel, dat beide elementen in 1 analysecyclus kunnen worden gemeten.

V. Literatuur

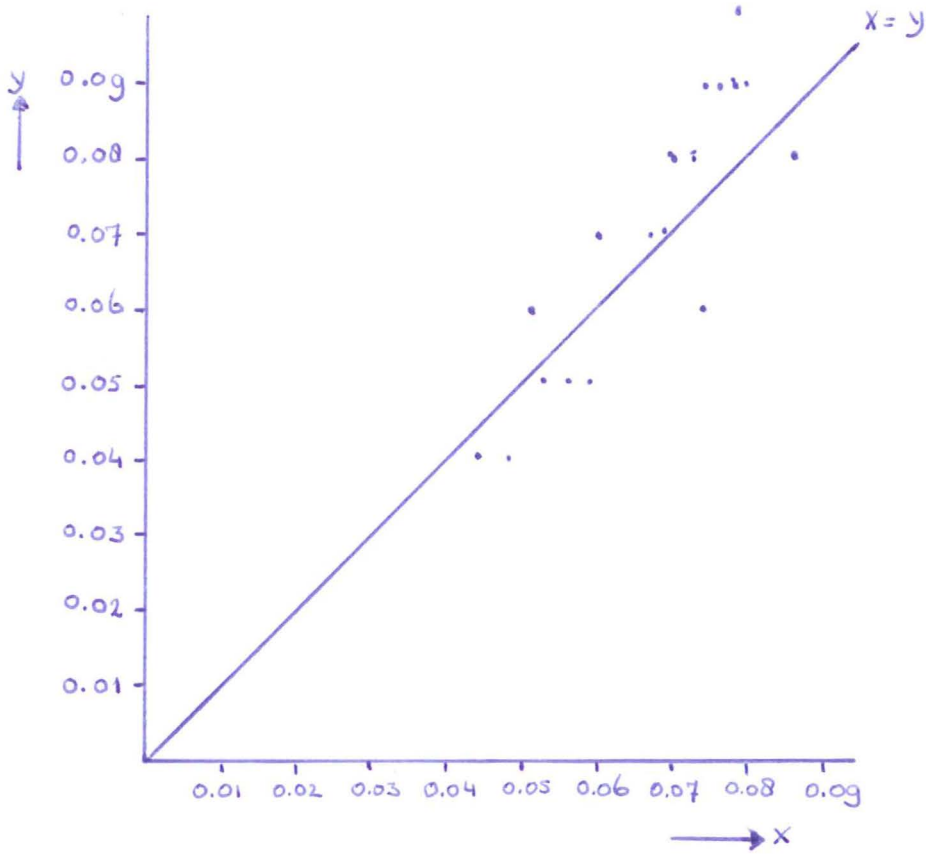
1. I.B. Brooks, G.A. Luster en D.B. Easterby: A procedure for the rapid determination of the major cations in milk by atomic absorption spectrophotometry
At Absorpt. Newsl. 9, 93 (1970).

2. H.J. Keukens: Basisgegevens welke nodig zijn als aanzet voor toepassing van inductief gekoppeld plasma-atomaire emissie spectrometrie bij de analyse van monsters van landbouwkundige oorsprong op diverse elementen
RIKILT-rapport 85.9.

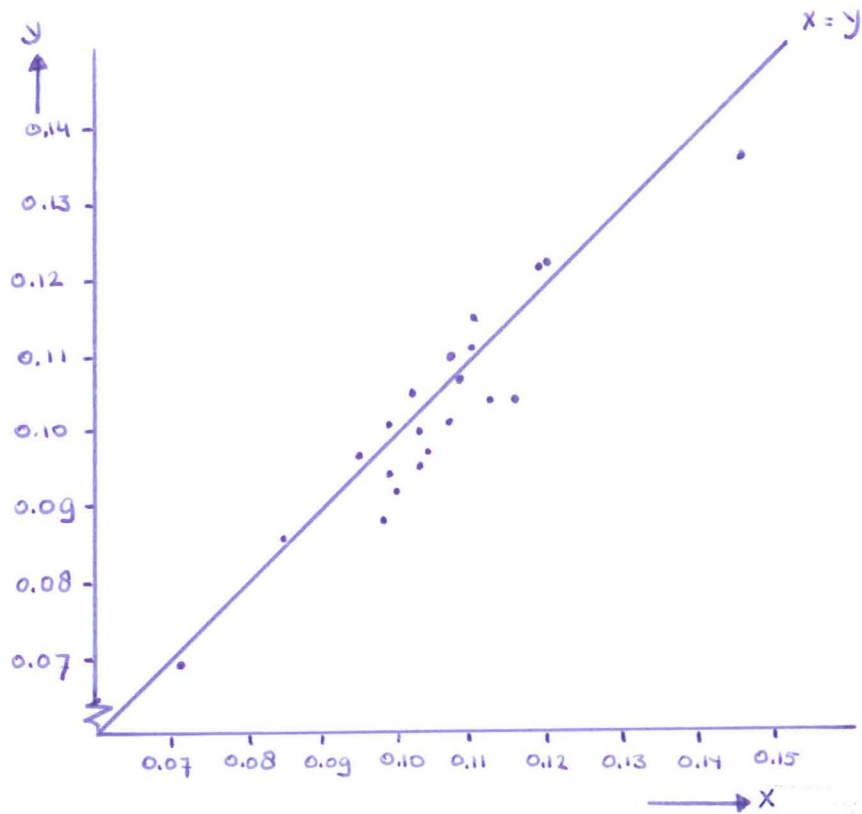
Tabel I. De Ca- en P-gehalten in paardenmelk, bepaald met behulp van verschillende methoden. De Ca- en P-gehalten zijn uitgedrukt in %.

Monster	Ca			P		
	TCA/ ICP-AES	Vlam- fotom.	1)	TCA/ ICP-AES	Molybd. blauw	1)
1	0,100	0,092	8,0	0,079	0,09	13,9
2	0,116	0,104	10,3	0,079	0,10	26,6
3	0,099	0,101	2,0	0,051	0,06	17,6
4	0,110	0,111	0,9	0,053	0,05	5,7
5	0,098	0,088	10,2	0,056	0,05	10,7
6	0,146	0,136	6,8	0,073	0,08	9,6
7	0,107	0,101	5,6	0,073	0,08	9,6
8	0,120	0,122	1,7	0,070	0,08	14,3
9	0,110	0,115	4,5	0,086	0,08	7,0
10	0,071	0,069	2,8	0,078	0,09	15,4
11	0,102	0,100	2,0	0,076	0,09	18,4
12	0,119	0,122	2,5	0,074	0,09	21,6
13	0,112	0,104	7,1	0,059	0,05	15,3
14	0,104	0,097	6,7	0,048	0,04	16,7
15	0,085	0,086	1,2	0,044	0,04	9,1
16	0,099	0,094	5,1	0,069	0,07	1,4
17	0,095	0,097	2,1	0,070	0,08	14,3
18	0,112	0,115	2,7	0,060	0,07	16,7
19	0,107	0,110	2,8	0,074	0,06	8,1
20	0,108	0,107	0,9	0,080	0,09	12,5
21	0,103	0,095	7,8	0,067	0,07	4,5
Gemidd.	0,106	0,103	4,5	0,068	0,07	12,5

1) Verschil tussen beide methoden in relatieve %



Figuur 2. Correlatie tussen de P-gehalten gevonden m.b.v. de TCA/ICP-AES methode (x) en een molybdeenblauw-fotometrische methode (y)
De gehalten zijn uitgedrukt in %.



Figuur 1. Correlatie tussen de Ca-gehalten, gevonden m.b.v. de TCA/ICP-AES methode (x) en m.b.v. vlamfotometrie (y) De gehalten zijn uitgedrukt in %.

AFDELING ANORGANISCHE CONTAMINANTEN ACON 15

INTERNE ANALYSEVOORSCHRIFT NR. A 412

1e oplage (1985-06-06)

MELK - BEPALING VAN HET TOTAAL CALCIUM- EN FOSFORGEHALTE - INDUCTIEF
GEKOPPELD PLASMA - ATOMAIRE EMISSIE SPECTROMETRIE

Verzendlijst: bibliotheek (5x), sektorhoofd, afdeling ACON (7x).

INTERNE ANALYSEVOORSCHRIFT NR. A 412

1e oplage (1985-06-06)

Melk - Bepaling van het totaal calcium- en fosforgehalte - Inductief gekoppeld plasma - Atomaire emissie spectrometrie

1. Onderwerp en toepassingsgebied

Dit voorschrift beschrijft een methode voor de bepaling van het totaalgehalte aan calcium en fosfor in melk met behulp van inductief gekoppeld plasma - atomaire emissie spectrometrie (ICP-AES).

2. Definitie

Onder het calcium- en fosforgehalte wordt verstaan het gehalte, bepaald volgens de beschreven methode. Het gehalte wordt uitgedrukt in mg/l analysemonster.

3. Beginsel

Van het analysemonster wordt een gedeelte behandeld met trichloorazijnzuur voor het precipiteren van de proteïnes. Na filtratie worden calcium en fosfor gemeten met behulp van ICP-AES.

4. Reagentia en hulpstoffen

Tenzij anders is vermeld moeten alle reagentia en oplosmiddelen van analysekwaliteit zijn.

Gebruik, tenzij anders is aangegeven, water dat twee keer gedestilleerd is of water van overeenkomstige kwaliteit (b.v. Millipore).

4.1 Trichloorazijnzuuroplossing 24% (w/v).

Los 120 g trichloorazijnzuur (Merck, zur analyse) op in 500 ml water.

4.2 Geconcentreerde oplossing calciumnitraat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), 1 mg Ca/ml, b.v. BDH art. no. 14136.

4.3 Geconcentreerde oplossing kaliumdiwaterstoffosfaat (KH_2PO_4), 1 mg P/ml.

Droog een hoeveelheid kaliumdiwaterstoffosfaat (zur analyse) gedurende tenminste 48 uur in een exsiccator boven geconcentreerd zwavelzuur of een ander geschikt droogmiddel. Los 4,394 g ervan op in water, vul aan tot 1 l en meng.

4.4 IJKoplossing calcium (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en fosfor (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Breng in een maatkolf van 100 ml 2 ml calciumnitraatoplossing (4.2) en 1 ml kaliumdiwaterstoffosfaatoplossing (4.3). Voeg 20 ml trichloorazijnzuuroplossing (4.1) toe, vul aan met water en meng.

4.5 IJKoplossing calcium (40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en fosfor (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Breng in een maatkolf van 100 ml 4 ml calciumnitraatoplossing (4.2) en 2 ml kaliumdiwaterstoffosfaatoplossing (4.3). Voeg 20 ml trichloorazijnzuuroplossing (4.1) toe, vul aan met water en meng.

Opmerking

De ICP-AES techniek heeft een zeer groot lineair bereik. Bij hoge Ca- of P-concentraties in de monsters verdient het aanbeveling de ijkoplossingen aan te passen in plaats van de monsteroplossingen te verdunnen.

4.6 Blanko ijkoplossing.

Breng in een maatkolf van 100 ml 20 ml trichloorazijnzuuroplossing (4.1). Vul aan met water en meng.

5. Toestellen, glaswerk en hulpmiddelen

5.1 Inductief gekoppeld plasma - atomaire emissie spectrofotometer, b.v. Perkin Elmer ICP-AES 6000 systeem, met cilinder met argon.

5.2 Gebruikelijke laboratoriumglaswerk zoals maatkolven van 25 ml en 100 ml en trechters.

5.3 "Calcium-vrij"-filtreerpapier (b.v. Machery-Nagel 640 M).

Opmerking

Bij gebruik van papieren vouwfilters van Schleicher en Schüll treden onaanvaardbaar hoge Ca-blanko's op.

6. Werkwijze

6.1 Monstervoorbewerking.

Breng in een maatkolf van 25 ml 0,5 ml monster en 5 ml trichloorazijnzuuroplossing (4.1). Vul aan met water en meng. Schud de oplossing gedurende een half uur iedere 5 minuten om. Filtreer over "calcium-vrij" filtreerpapier (5.3).

6.2 Controlemonsters.

Neem bij elke serie monsters een blankobepaling, een recovery en, indien mogelijk, een referentiemonster mee, die de in 6.1 beschreven behandelingen doorlopen.

6.3 Instelling apparatuur.

Volg bij het gebruik van de analyse-apparatuur de handleiding voor de bediening van het Perkin Elmer ICP-AES 6000 systeem (A 398).

De verschillende parameters dienen als volgt ingesteld te worden:

golflengte Ca	: 396,847 nm
golflengte P	: 213,618 nm
plasma flow	: 15 l/min
nebulizer druk	: 22 psi
auxillary flow	: 0,5 l/min
Rf power	: 1,25 kW
reflected power	: < 5 W
waarnemingshoogte	: 14 mm
pompsnelheid slangenpomp	: 1 ml/min.

6.4 Meting calcium en fosfor.


Raadpleeg voor de meting met behulp van het ICP-AES systeem en het gebruik van de AS-50 monsterwisselaar Intern Analysevoorschrift nr. A 398. De ijklijnmethode wordt toegepast.

7. Berekening

Indien bij de opgave van de concentraties van de standaardoplossingen rekening wordt gehouden met de verdunningsfaktor (50), welke de monsters bij de monstervoorbewerking ondergaan, dan worden de calcium- en fosforgehalten in de oorspronkelijke monsters direkt uitgerekend door het datastation. Zijn de concentraties van de calciumstandaard b.v. 40 en 20 $\mu\text{g/ml}$ en bedraagt de verdunningsfaktor bij de voorbewerking 50, dan wordt in de elementfile respektievelijk 2000 en 1000 $\mu\text{g/ml}$ ingevoerd als concentratie voor de standaarden. De gehalten worden uitgedrukt in mg/l .

8. Herhaalbaarheid

Meervoudige ($n=10$) analyse van een melkmonster, met een gemiddeld calcium- en fosforgehalte van respektievelijk 111 g mg/l en 578 mg/l gaf een variatiecoëfficiënt van respektievelijk 1,8% en 1,3%.

Verantwoordelijk: dr G. Vos 

Samenstellers : A.M.G. van Betteray-Kortekaas, H.J. Keukens,
J.J.M.H. Teeuwen, dr G. Vos