

## 铁强化酱油中 NaFeEDTA 的快速测定

张文德<sup>1</sup> 王竹天<sup>2</sup> 刘玉欣<sup>3</sup>

(1. 唐山市疾病预防控制中心,河北 唐山 063000; 2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021; 3. 河北省疾病预防控制中心,河北 保定 071000)

**摘要:**为建立直接测定铁强化酱油中 NaFeEDTA 含量的简易方法,在酸性(pH 0.5)条件下,NaFeEDTA 中的铁完全解离成游离的  $Fe^{3+}$ ,以 TritonX-100 作增溶剂,在胶束条件下, $Fe^{3+}$  与硫氰酸钾反应生成红色配合物,最大吸收波长为  $\lambda_{max} = 490 \text{ nm}$ 。酱油中 NaFeEDTA 浓度在 20.0 ~ 200.0  $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$  范围与吸光度之间呈线性关系,相关系数为 0.999 8;检出限为 2.0  $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$ ,测得该配合物的表观摩尔吸光系数( $\epsilon_{NaFeEDTA}$ )为  $1.7 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。试样中的非强化的铁及颜色背景的干扰采用差减法校正扣除,试样加标回收率为 98.5% ~ 107.9%,相对标准偏差(RSD)为 1.4% ~ 5.1%。该法适用于实验室和现场测定,全部操作过程时间仅需 2 ~ 5 min,实测结果与卫生部推荐方法对比相一致。

**关键词:** NaFeEDTA;食品,强化;分光光度法;调味品;铁

### Quick Method for Determination of NaFeEDTA in Iron Fortified Soy Sauce

ZHANG Wen-de, WANG Zhu-tian, LIU Yu-xin

(Tangshan Municipal Center for Disease Prevention and Control, Hebei Tangshan 063000, China)

**Abstract:** To determine the content of NaFeEDTA in iron fortified soy sauce, a simple and direct methods was established. NaFeEDTA as a chelating compound can be totally disassembled to produce  $Fe^{3+}$  under acid condition (pH 0.5). Using Triton X-100 as the solubilizing agent,  $Fe^{3+}$  reacts with potassium thiocyanate and forms a red color complex at the presence of micelle media. This red color complex has a maximum special absorption at 490 nm. The linearity was shown in the range of 20 ~ 200  $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$  of NaFeEDTA. The correlation coefficient was 0.999 8. The detection limit was 2.0  $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$ . The apparent molar absorptivity was  $1.7 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ . The effects of non-NaFeEDTA unfortified iron in soy sauce samples and background color were eliminated by subtracting the resultant value obtained under neutral condition from the value obtained under acid condition. The rate of recovery was 98.5% ~ 107.9%, with relative standard deviation (RSD) 1.4% ~ 5.1%. This method is simple, quick and accurate, and the result consists with that obtained by the method recommended by the Ministry of Health.

**Key word:** NaFeEDTA; Food Fortified; Spectrophotometry; Condiments; Iron

铁强化酱油中 NaFeEDTA 的测定,报道的方法有原子吸收法<sup>[1]</sup>、直接紫外分光光度法<sup>[2]</sup>、硫氰酸铵分光光度法<sup>[3]</sup>、毛细管区带电泳法<sup>[4]</sup>。其中硫氰酸铵分光光度法已作为卫生部 2004 年国家健康相关产品抽检推荐方法。这些方法分析过程较长,有的耗材太多,成本较高,不适合现场快速测定。卫生部推荐的方法样品需要前处理,样品校正时需加入氧化剂,操作比较繁琐。原子吸收法只测定总铁;直接紫外分光光度法,背景干扰较大。为了配合铁强化酱油项目的推广及实施,本文建立了样品不用处理,也不用氧化剂,以硫氰酸钾作显色剂,胶束增溶分光光度法直接测定铁强化酱油中 NaFeEDTA 含量的快速简易方法。

基金项目:河北省科学技术研究与发展计划项目(05276101D-6)

作者简介:张文德 男 主任技师

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要仪器及试剂

分光光度计 7550紫外-可见分光光度计(上海分析仪器厂)。

显色剂 称取 75 g 硫氰酸钾(AR)加约 300 ml 水溶解,搅拌下加入 100 ml TritonX-100(TX-100)溶解后,用水定容至 500 ml。

NaFeEDTA 标准溶液 准确称取 NaFeEDTA(含量 98.0%) (北京化工厂) 100 mg 于 100 ml 棕色容量瓶内,加水溶解并定容至刻度,混匀(含 NaFeEDTA 1.0 mg/ml)。

NaFeEDTA 标准使用溶液 取 NaFeEDTA 标准溶液 10.0 ml 于 100 ml 棕色容量瓶内,用 75% 甲醇定容至刻度,混匀(含 NaFeEDTA 0.10 mg/ml)。

甲醇溶液 75% (体积分数);稀盐酸溶液 1 + 1;试验用水为重蒸水;所用玻璃器皿均用稀盐酸溶

液浸泡过夜,水冲净晾干。

## 1.2 方法

1.2.1 NaFeEDTA 校正曲线的制备 准确吸取 NaFeEDTA 标准使用溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 ml (分别含 NaFeEDTA 0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0、150.0、200.0  $\mu\text{g}$ ) 于 10 ml 具塞比色管内,加 75% 甲醇至 2.5 ml。加 1.0 ml 稀盐酸(1+1)、3.0 ml 显色剂,水稀释至刻度,混匀。移入 1 cm 比色杯内,以试剂空白为参比,波长 490 nm 处测定吸光度。绘制 NaFeEDTA 校正曲线。

1.2.2 样品测定 准确吸取酱油 1.0 ml 于 50 ml 容量瓶内,加水至刻度,混匀。分别吸取 1.0 ml 于两支 10 ml 具塞比色管内,标记为 A、B 管,加 2.5 ml 75% 甲醇。A 管加 1 ml 稀盐酸(1+1),B 管加 1 ml 水。然后各加 3.0 ml 显色剂,水稀释至刻度,混匀。移入 1 cm 比色杯内,以水为参比,于波长 490 nm 处测定 A、B 管吸光度。以 A - B 管吸光度的差值,根据校正曲线计算样品中 NaFeEDTA 的浓度。

## 1.3 计算

$$X = \frac{m_1 \times V_1}{V \times V_2} \times \frac{100}{1000}$$

X — 试样中 NaFeEDTA 含量(mg/100 ml);  $m_1$  — 由校正曲线上查得试样测定溶液中 NaFeEDTA 的质量( $\mu\text{g}$ ); V — 试样体积(ml);  $V_1$  — 试样稀释的总体积(ml);  $V_2$  — 测定用试样稀释的体积(ml)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吸收波长

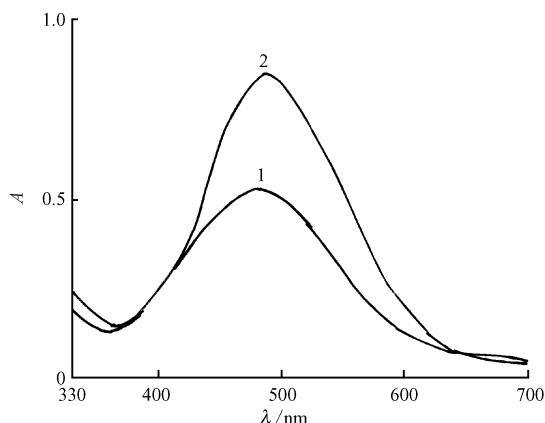
图 1 显示出本显色反应在胶束条件下形成红色配合物的吸收光谱。可见在无 TX-100 条件下,其最大吸收波长( $\lambda_{\text{max}}$ )为(490  $\pm$  2) nm。测得表观摩尔吸光系数  $\epsilon_{\text{NaFeEDTA}}$  仅为  $1.4 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (曲线 1)。当加入 TX-100 后,显色产物  $\lambda_{\text{max}}$  不变,吸光度却显著增高,  $\epsilon_{\text{NaFeEDTA}}$  为  $1.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (曲线 2)。

### 2.2 盐酸浓度和水解速度的影响

取铁强化酱油 1.0 ml 依方法操作,改变盐酸浓度,结果见表 1。可见盐酸浓度在 0.48 ~ 0.90 mol/L (即 0.8 ~ 1.5 ml) 区间,测得吸光度为最大且恒定。故选盐酸(1+1) 1.0 ml (0.6 mol/L)。

表 1 盐酸浓度对显色的影响

| 盐酸(ml) | 0.2   | 0.4   | 0.6   | 0.8   | 1.0   | 1.5   |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度 A  | 0.181 | 0.186 | 0.189 | 0.192 | 0.196 | 0.196 |
| 吸光度 B  | 0.048 | 0.049 | 0.050 | 0.048 | 0.051 | 0.051 |
| A - B  | 0.133 | 0.137 | 0.139 | 0.144 | 0.145 | 0.145 |



1. 200  $\mu\text{g}$  NaFeEDTA; 2. 1 + TX - 100

图 1 吸收光谱

取铁强化酱油 1.0 ml 和 NaFeEDTA 标准品 100  $\mu\text{g}$  依方法操作,固定盐酸(1+1)浓度为 1.0 ml,测定不同时间内盐酸对铁强化酱油和 NaFeEDTA 水解速度的影响,结果见表 2,可见,加入盐酸后,水解在 0.5 ~ 30 min 范围测得吸光度是一致的。说明在 0.5 min 时,铁强化酱油及 NaFeEDTA 标准中的铁已完全水解,并游离出  $\text{Fe}^{3+}$  离子生成红色配合物。

表 2 盐酸对酱油中 NaFeEDTA 水解速度的影响

| 时间(min)                      | 0.5   | 1     | 3     | 5     | 10    | 20    | 30    |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 样品吸光度 A                      | 0.310 | 0.310 | 0.311 | 0.310 | 0.309 | 0.310 | 0.309 |
| 样品吸光度 B                      | 0.075 | 0.075 | 0.076 | 0.077 | 0.077 | 0.077 | 0.077 |
| NaFeEDTA(100 $\mu\text{g}$ ) | 0.398 | 0.400 | 0.399 | 0.400 | 0.400 | 0.400 | 0.396 |

### 2.3 显色剂用量

固定硫氰酸钾浓度 150 g/L,变化用量 1.0 ~ 4.0 ml,结果,随 KSCN 浓度的增加而吸光度逐渐增高。当用量达到 2.5 ml 以上时,吸光度增高趋于缓慢,本文选 3.0 ml。

### 2.4 TX-100 用量选择

依方法操作,固定 TX-100 浓度为 20%,改变其加入量 1.0 ~ 4.0 ml,观察了 TX-100 浓度对显色的影响。结果,随 TX-100 浓度的增加而吸光度逐渐增高,当用量达 3.0 ml 以上时,吸光度为最大且恒定。选 20% TX-100 溶液 3.0 ml。为了操作便利,将 TX-100 与显色剂进行混配,浓度不变。

### 2.5 甲醇浓度对测定的影响

以铁强化酱油为例,依方法操作,改变甲醇(75%)用量,其它条件不变,结果见表 3。可见,75% 甲醇用量在 1.5 ~ 3.0 ml 范围,测得的 NaFeEDTA 含量是一致的,故选 75% 甲醇 2.5 ml。

### 2.6 取样量对回收率的影响

依方法操作,做了取样量对回收率的影响试验,结果见表 4。可见,稀释后取样控制在 0.6 ~ 1.2 ml 范围均有很好的回收率,取样过少导致回收率偏高,

表3 甲醇浓度对显色的影响

| 75%甲醇(ml)             | 0     | 0.5   | 1.0   | 1.5   | 2.0   | 2.5   | 3.0   |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度 <sub>A</sub>      | 浑浊    | 浑浊    | 微浊    | 0.187 | 0.188 | 0.192 | 0.192 |
| 吸光度 <sub>B</sub>      | 0.048 | 0.049 | 0.049 | 0.047 | 0.048 | 0.048 | 0.048 |
| NaFeEDTA含量(mg/100 ml) |       |       |       | 222.7 | 222.7 | 229.4 | 229.4 |

表4 取样量对回收率的影响

| 取样量<br>(ml) | 酱油1                    |            | 酱油2                    |            | 酱油3                    |            | 酱油4                    |            |
|-------------|------------------------|------------|------------------------|------------|------------------------|------------|------------------------|------------|
|             | 测得量/已知量<br>(mg/100 ml) | 回收率<br>(%) | 测得量/已知量<br>(mg/100 ml) | 回收率<br>(%) | 测得量/已知量<br>(mg/100 ml) | 回收率<br>(%) | 测得量/已知量<br>(mg/100 ml) | 回收率<br>(%) |
| 0.2         | 242.8/213.2            | 118.6      | 275.8/194.1            | 142.0      | 270.6/232.2            | 116.5      | 192.2/160.5            | 119.8      |
| 0.4         | 236.8/213.2            | 110.0      | 268.8/194.1            | 138.4      | 255.4/232.2            | 110.0      | 162.1/160.5            | 101.0      |
| 0.6         | 218.5/213.2            | 102.5      | 232.5/194.1            | 119.8      | 239.2/232.2            | 103.0      | 165.9/160.5            | 103.3      |
| 0.8         | 217.7/213.2            | 102.1      | 201.0/194.1            | 103.5      | 226.0/232.2            | 97.3       | 156.4/160.5            | 97.4       |
| 1.0         | 213.9/213.2            | 100.3      | 190.0/194.1            | 97.9       | 222.2/232.2            | 95.7       | 157.9/160.5            | 98.3       |
| 1.2         | 196.2/213.2            | 92.0       | 186.4/194.1            | 96.0       | 210.8/232.2            | 90.8       | 158.2/160.5            | 98.6       |

本法取样量 1.0 ml。

## 2.7 反应速度和稳定时间

试验表明,本反应在室温下可瞬时完成,吸光度值在 20 min 内是稳定的。

## 2.8 线性关系和检出限

表5为本法测得校正曲线的试验参数。可见,NaFeEDTA浓度在 20.0~200.0 μg/10 ml 范围与吸光度呈良好的线性关系,其回归方程为:  $A = 0.0036C(C_{\text{NaFeEDTA}} = \mu\text{g}/10 \text{ ml}) + 0.0327$ ,相关系数( $R$ )为 0.9996。

表5 NaFeEDTA 校正曲线的参数

| NaFeEDTA(μg/10 ml) | 20    | 40    | 60    | 80    | 100   | 150   | 200   |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度(A)/试剂          | 0.104 | 0.181 | 0.241 | 0.332 | 0.398 | 0.568 | 0.761 |

检出限 按分光光度法规定,扣除空白值后的吸光度为 0.01 相对应的浓度值作为检出限,本法为 2.0 μg/10 ml。

以 NaFeEDTA·3H<sub>2</sub>O(分子量:421.10)计算,本法测得该配合物的表观摩尔吸光系数( $\epsilon_{\text{NaFeEDTA}}$ )为  $1.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ;而卫生部推荐方法( $\epsilon_{\text{NaFeEDTA}}$ )为  $1.4 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

## 2.9 样品分析与其他方法比较

采用本法和卫生部推荐方法<sup>[3]</sup>对不同厂家酱油同时进行测定,结果见表6、表7。可见,本法精密度和回收率较好,且与对照法的结果基本相一致。

本法突出特点是省略了样品处理步骤,不用氧化剂,在胶束体系下直接测定,操作简便、快速、灵敏、准确度高。

表6 样品分析结果

| 样品  | 本法(n=5)   |        | 对照方法<br>(n=2) |
|-----|-----------|--------|---------------|
|     | 测得值       | RSD(%) | 测得值           |
|     | mg/100 ml |        |               |
| 酱油1 | 220.3     | 5.1    | 213.2         |
| 酱油2 | 213.9     | 4.2    | 227.7         |
| 酱油3 | 232.2     | 3.5    | 240.0         |
| 酱油4 | 65.9      | 1.4    | 63.2          |
| 酱油5 | 28.5      | 3.3    | 29.5          |
| 酱油6 | 202.6     | 3.8    | 194.1         |
| 酱油7 | 210.2     | 3.2    | 214.6         |

表7 回收率试验结果<sup>a</sup>

| 样品 | 加标量   | 本法(n=2)   |        | 对照法(n=2) |        |
|----|-------|-----------|--------|----------|--------|
|    |       | 测得值       | 回收率(%) | 测得值      | 回收率(%) |
|    |       | mg/100 ml |        |          |        |
| 1  | 160.5 | 163.8     | 102.0  | 152.6    | 95.0   |
| 2  | 170.9 | 180.9     | 105.9  | 162.1    | 94.9   |
| 3  | 221.2 | 238.6     | 107.9  | 223.7    | 101.1  |
| 4  | 163.8 | 164.4     | 107.9  | 158.6    | 96.8   |
| 5  | 180.5 | 182.9     | 101.3  | 175.8    | 97.3   |
| 6  | 265.5 | 261.5     | 98.5   | 267.4    | 100.7  |

注:a:结果均扣除样品的含量。

## 参考文献

- [1] 蒋瑾华,刘江晖,陈斌,等. 强化酱油中铁含量的快速测定[J]. 食品科学,2003,24(4):124-125.
- [2] 苗虹,于波,霍军生,等. 食品添加剂 NaFeEDTA 测定方法研究[J]. 食品科学,2000,21(8):48-50.
- [3] 黄建,霍军生. 铁强化酱油中 NaFeEDTA 含量测定[J]. 卫生研究,2003,32(增刊):60-63.
- [4] 魏峰,霍军生,黄建,等. 毛细管区带电泳法分离测定铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠[J]. 卫生研究,2006,35(1):103-106.

[收稿日期:2006-08-01]

中图分类号:R15;O657.32 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2006)06-0535-03