

实验技术与方法

单扫示波极谱法测定强化酱油中 NaFeEDTA 含量

李彦 张文德

(唐山市疾病预防控制中心,河北 唐山 063000)

摘要:目的 研究用单扫示波极谱快速测定强化酱油中 NaFeEDTA 含量的分析方法。方法 在 0.01 mol/L 酒石酸钾钠-乙二醇底液中,NaFeEDTA 在峰电位 $E_p - 1.67 \text{ V (vs. SCE)}$ 处产生灵敏的二阶导数极谱还原波,波高 $H(ip/\mu\text{A})$ 与 NaFeEDTA 的浓度呈正比。结果 检出限为 0.1 mg/L,NaFeEDTA 的线性范围为 0.1 ~ 5.0 mg/L,样品加标回收率为 88.8% ~ 112.0%,相对标准偏差为 1.5% ~ 4.0%,与国标方法(硫氰酸铵分光光度法)比较结果是一致的 ($P > 0.05$)。结论 本法操作简便、灵敏、准确度高,酱油本身的颜色及共存物质无干扰,每个样品测定仅需 3 ~ 5 min。适用于强化酱油中 NaFeEDTA 含量的快速测定。

关键词:大豆食品;调味品;食品,强化;NaFeEDTA;极谱法

Determination of NaFeEDTA in Iron Fortified Soy Sauce by Oscilloscopic Polarography

LI Yan, ZHANG Wen-de

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

Abstract: **Objective** To determine NaFeEDTA in iron fortified soy sauce by oscilloscopic polarography. **Method** In a mixed medium of 0.01 mol/L potassium sodium tartrate-ethylenediamine, the polarographic behavior of NaFeEDTA on drop mercury electrode produced the sensitive second order polarographic reduction wave at the point of $-1.67 \text{ V (vs. SCE)}$. The height of the reduction wave ($ip/\mu\text{A}$) was in direct proportion to the content of NaFeEDTA. **Results** The detection limit was 0.1 mg/L, and the linear range of NaFeEDTA content was from 0.1 mg/L to 5.0 mg/L. The recovery of NaFeEDTA in soy sauce samples was 88.8% ~ 112.0%, and the relative standard deviation (RSD) was 1.5% ~ 4.0%. Compared with standard method, the

参考文献

- [1] GB 18186—2000. 酿造酱油[S].
- [2] SB 10336—2000. 配制酱油[S].
- [3] LIOE H N, WADA K, AOKI T, et al. Chemical and sensory characteristics of low molecular weight fractions obtained from three types of Japanese soy sauce (shoyu)- Koikuchi, tamari and shiro shoyu [J]. Food Chemistry, 2007, 100(4):1669-1677.
- [4] CHOU C C, LING M Y. Biochemical changes in soy sauce prepared with extruded and traditional raw materials [J]. Food Research International, 1998, 31(6-7):487-492.
- [5] SOGA T, ROSS G A. Simultaneous determination of inorganic anions, organic acids, amino acids and carbohydrates by capillary electrophoresis[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 837(1-2):231-239.
- [6] 杨月欣. 中国食物成分表 2002[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2002:276-279.
- [7] BARKHOLT V, JENSEN A L. Amino acid analysis: determination of cysteine plus half-cystine in proteins after hydrochloric acid hydrolysis with a disulfide compound as additive[J]. Anal. Biochem, 1989, 177:318-322.
- [8] 韩可勤, 杨静化, 刘晓东. 药学应用概率统计[M]. 南京:东南大学出版社, 2000:108-113.
- [9] International Conference on Harmonization (ICH), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, ICH Q2(R1), 2005.
- [10] 傅亮, 倪冬姣, 张水华. 氨基酸高效液相色谱分析[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1994, 7(2):76-82.
- [11] CAMPANELLA L, CRESCENTINI G, AVINO P. Simultaneous determination of cysteine, cystine and 18 other amino acids in various matrices by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1999, 833:137-145.
- [12] 杨箫, 孙黎光, 白秀珍, 等. 异硫氰酸苯酯柱前衍生化反相高效液相色谱法同时测定 18 种氨基酸[J]. 色谱, 2002, 20(4):369-371.
- [13] 金凤明, 冯学伟, 李桂贞. 珍珠角壳蛋白中氨基酸的高效液相色谱分析[J]. 华东理工大学学报, 2001, 27(1):103-105.
- [14] 马养民. Pico-Tag 方法测定油松花粉中的氨基酸含量[J]. 色谱, 1994, 12(1):63-64.

[收稿日期:2007-12-18]

中图分类号:R15;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2008)04-0304-05

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:李彦女 主管技师

通讯作者:张文德 男 主任技师

improved method showed no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The improved method could be simple, rapid, sensitive and accurate. It will take only 3 ~ 5 min per sample for analysis. The background color in soy sauce samples and the coexistence substances had no effect on the drop mercury electrode reaction. The method could be applied to the rapid determination of NaFeEDTA in iron fortified soy sauce.

Key word: Soy Foods; Condiments; Food, Fortified; NaFeEDTA; Polarography

NaFeEDTA 作为强化酱油中铁的食品添加剂,规定的最大使用量为 175 ~ 210 mg/100 ml^[1]。现已报道的测定方法有原子吸收法^[2]、直接紫外分光光度法^[3]、硫氰酸铵分光光度法^[4](被纳入标准方法^[5])、胶束增溶分光光度法^[6,7]、毛细管区带电泳法^[8]和 HPLC 法^[9],方法优劣各异。本文探讨了 NaFeEDTA 在碱性酒石酸钾钠 - 乙二胺底液中的极谱反应行为,提出了用单扫示波极谱法快速测定铁强化酱油中 NaFeEDTA 的简易分析方法,实际测定结果与标准方法相一致。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器及试剂

MP-2 型溶出分析仪(山东电讯七厂),滴汞电极、甘汞电极和铂电极;T6 新世纪分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

0.01 mol/L 酒石酸钾钠 - 乙二胺底液 称取 5.64 g 酒石酸钾钠 $4H_2O$ 于水中溶解,加 20 ml 无水乙二胺,用水稀释至 100 ml。

NaFeEDTA 标准溶液 准确称取化学纯 NaFeEDTA (北京化工厂) 100 mg 于 100 ml 棕色容量瓶内,加水溶解至刻度,混匀(含 NaFeEDTA 1.0 mg/ml)。

试验用水为重蒸馏水。

1.2 方 法

1.2.1 NaFeEDTA 校正曲线的制备 准确吸取 0.0、5.0、10.0、15.0、20.0、30.0、40.0、50.0 μg NaFeEDTA 于 10 ml 具塞比色管内,加 0.5 ml 酒石酸钾钠 - 乙二胺底液,水稀释至刻度,混匀,放置 4 min。移入极谱池内,于起始电位 - 1.30 V ~ - 1.90 V 区间进行线性扫描,记录电位 (E_p) - 1.67 V(vs -SCE) 处二阶导数的波高 $H(ip/\mu\text{A})$,扣除试剂空白波高 H 后,绘制 NaFeEDTA 校正曲线或计算其回归方程。

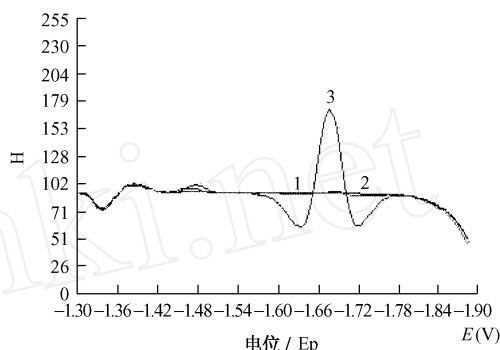
1.2.2 样品测定 准确吸取酱油 1.0 ml 于 10 ml 量瓶内,加水稀释至刻度,混匀。用微量进样器取 50 ~ 100 μl ,按以上校正曲线的步骤测量试样的波高 ($ip/\mu\text{A}$),并根据校正曲线或回归方程计算样品中 NaFeEDTA 含量。

2 结果与讨论

2.1 极谱还原波

由图 1 可见, Na_2EDTA 在 0.01 mol/L 酒石酸钾

钠 - 乙二胺底液中不起波(曲线 2),与底液波形(曲线 1)几乎完全相同;当加入 NaFeEDTA 后,在 $E_p - 1.76\text{ V}$ 处产生一个十分灵敏的二阶导数还原波(曲线 3)。其波高与 NaFeEDTA 的浓度增加呈正比,表明该还原波是由 NaFeEDTA 中的 Fe 产生的,由此成为 NaFeEDTA 定量的依据。



实验参数:起始电位 = - 1.30 伏;终止电位 = - 1.90 伏;灵敏度 = 12.8 微安;微分 = 2.0 次;扫描次数 = 1 次;零点电位 = 6 伏;敲击延时 = 4 秒

曲线 1. 0.01 mol/L 酒石酸钾钠 - 乙二胺底液;曲线 2. 1 + 40 mg/L Na_2EDTA ;曲线 3. 1 + 40 mg/L NaFeEDTA

图 1 NaFeEDTA 的二阶导数极谱波

2.2 底液浓度

实验表明,酒石酸钾钠 - 乙二胺底液加入量在 0.2 ~ 1.0 ml 范围,测得的 NaFeEDTA 波高为最大且恒定。故选底液 0.5 ml(即浓度为 0.01 mol/L)。

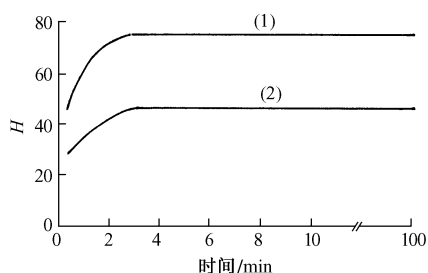
2.3 反应速度和稳定时间

图 2 可以看出,酱油中 NaFeEDTA(曲线 2)与 NaFeEDTA 标准品(曲线 1)在酒石酸钾钠 - 乙二胺底液中均有一个水解过程,随着放置时间的延长,还原波不断增大,当室温下放置 4 min 时,NaFeEDTA 中 Fe 被完全水解,还原波达最大恒定值,并稳定 1 h 以上。

2.4 线性范围和检出限

NaFeEDTA 浓度在 0.1 ~ 5.0 mg/L 范围内与波高 H 呈良好的线性关系,校正曲线的回归方程为: $C(\text{mg/L}) = 0.2971 H (H = ip/\mu\text{A}) + 0.0479$, $r = 0.9997$ 。检出限 ($3 \cdot S/N$) 为 0.1 mg/L。若取 1.0 ml 酱油稀释 10 倍,取 50 μl 测定,本法最低检出浓度为 0.2 mg/L。

2.5 共存物质的影响



曲线(1) 2.3 mg/L NaFeEDTA; 曲线(2) 珍极铁强化酱油

图2 反应速度和稳定时间

用 10 μg NaFeEDTA 做干扰试验。当波高相对误差 < 5 % 时, 下列共存物质允许量 (mg) 为: 甜蜜素 2.0, Cl⁻、SO₄²⁻、HCOO⁻、葡萄糖、山梨酸钾、苯甲酸钠、糖精钠、琥珀酸 1.0, PO₄³⁻、乙酰磺胺酸钾 0.5, NO₃⁻、Ba²⁺、天冬糖、柠檬酸 0.2, F⁻、I⁻、草酸盐 0.1。酱油本身的颜色对波高无影响。Fe³⁺ 或 Fe²⁺ 在同一电位下有正干扰。

2.6 酱油背景干扰与方法的选择性

对于酱油背景的影响, 文献[10]以不同品牌的非铁强化酱油进行实验, 详细考察了标准方法消除颜色背景及铁离子的干扰能力, 指出了标准方法存在的不足。试验结果证明了酱油的颜色背景和呈游离状态的 Fe³⁺ 或 Fe²⁺ 可以通过试样空白扣除, 但酱油中大多数铁呈结合型的有机铁, 这些有机铁多是以氨基酸、有机酸及糖类络合形式存在, 性质相对稳定, 结合比较牢固, 但经过盐酸水解-氧化, 可以

生成游离的 Fe³⁺, 游离的 Fe³⁺ 与显色剂反应同样对测定产生正干扰。标准方法操作过程中虽然增加了扣除试样空白这一步骤, 但扣除的只是酱油颜色背景及水解前微量的游离铁离子, 而真正来自与酱油中氨基酸及有机酸等络合形式所结合的铁的干扰是无法扣除的, 也就是说标准法的测定结果, 其中就包括了酱油本底水解之后所产生的 1.6 ~ 4.2 mg/100 ml 范围结合型铁的正误差。这一研究结果基本上与食物营养成分表中给出的酱油本底值范围是一致的^[11], 因此可以说, 无论是示波极谱法还是标准方法(分光光度法)或原子吸收分光光度法^[2], 测定结果都可以视为添加的 NaFeEDTA + 本底中铁的总和。目前这些技术及方法在扣除酱油本底中的铁的方面均存在这种问题, 解决这一问题较好的办法, 就是找到同一品牌和本底一致的非强化酱油作试样空白, 但又很难。

2.7 试样测定与方法比对

从超市随机抽取 9 种不同品牌的铁强化酱油, 重复测定 5 次, 并做试样加标回收率试验, 结果与标准方法^[4]进行比对, 考察方法的准确度和精密性。两法测定值经作配对 *t* 检验, *t*₈ = 1.328, *t*_(0.05, 8) = 2.306, 即 *t*₈ < *t*_(0.05, 8), 结果见表 1。可见, 本法与标准方法差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。用单扫示波极谱法实现了铁强化酱油中 NaFeEDTA 的快速测定, 由于试样背景颜色无干扰, 试样无需前处理直接测定, 所以具有操作简便、灵敏、准确的特点。

表 1 样品测定结果的比较

铁强化酱油	本法均值 (n=5)	RSD (%)	样品含量 (μg)	加入量/回收量 (μg)	回收率 (%)	标准方法
1	242.8	1.5	9.8	5.0/14.8, 20.0/27.9, 40.0/45.3	100.0, 90.5, 88.8	253.8
2	223.7	4.0	11.2	5.0/16.5, 20.0/31.0, 40.0/48.0	106.0, 99.0, 92.0	218.3
3	226.3	3.4	11.3	5.0/16.2, 20.0/30.2, 40.0/48.4	98.0, 94.5, 92.7	201.6
4	222.1	3.9	11.1	5.0/15.6, 20.0/30.8, 40.0/49.0	92.0, 98.5, 94.8	214.2
5	221.7	2.3	11.1	5.0/16.7, 20.0/30.7, 40.0/48.1	112.0, 98.0, 92.5	217.3
6	217.4	2.9	10.9	5.0/16.4, 20.0/30.9, 40.0/49.1	110.0, 100.0, 95.5	204.1
7	220.5	2.0	11.0	5.0/16.2, 20.0/31.4, 40.0/48.2	104.0, 102.0, 93.0	209.7
8	118.6	1.5	9.0	5.0/13.7, 20.0/27.8, 40.0/44.6	94.0, 94.0, 89.0	118.6
9	225.5	3.6	11.3	5.0/16.0, 20.0/29.8, 40.0/47.3	94.0, 92.5, 90.0	236.0

参考文献

[1] GB 2760—1996. 食品添加剂使用卫生标准(2002年增补品种)[S].
 [2] 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.
 [3] 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.
 [4] 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.
 [5] GB/T 21234—2007. 铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠的测定[S].
 [6] 张文德, 王竹天, 刘玉欣. 铁强化酱油中 NaFeEDTA 的快速测定[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(6): 535-537.
 [7] 张文德, 王竹天, 刘玉欣. 铁强化酱油中 NaFeEDTA 含量的分光光度检验方法研究[J]. 卫生研究, 2007, 36(2): 166-168.
 [8] 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.
 [9] 魏峰, 李文仙, 黄健, 等. 反相离子对高效液相色谱法测定铁强化酱油中的乙二胺四乙酸铁钠[J]. 色谱, 2006, 24(1): 58-61.
 [10] 李彦, 张文德. 光度法测定强化酱油中 NaFeEDTA 含量两种方法的比较[J]. 中国调味品, 2008(待发表).
 [11] 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. 食物成分表[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 126.

[收稿日期: 2007-11-18]