

# 强化面粉和食盐中乙二胺四乙酸铁钠检测的分光光度方法研究

魏峰<sup>1</sup>, 霍军生<sup>2</sup>, 孙静<sup>2</sup>, 张娜<sup>1</sup>, 狄蕊<sup>1</sup>, 朱人和<sup>1</sup>

1(黄山学院化学系, 安徽 黄山, 245041) 2(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京, 100050)

**摘要** 在碱性介质中, NaFeEDTA(乙二胺四乙酸铁钠)与  $\text{H}_2\text{O}_2$  可形成稳定的紫红色络合物。在该显色体系中, NaFeEDTA 浓度在  $(0.4 \sim 2) \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  范围内符合朗伯-比尔定律, 显色产物在 515 nm 下的表现摩尔吸光系数为  $0.51 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。应用该方法对强化面粉和食盐中的 NaFeEDTA 检测的平均回收率  $> 94\%$ 。该方法具有简单、快速、选择性强的特点, 可以用于强化面粉和食盐中的 NaFeEDTA 的鉴别和检测。

**关键词** 乙二胺四乙酸铁钠, 过氧化氢, 分光光度法

乙二胺四乙酸铁钠作为一种新型络合型铁营养强化剂近年来得到了广泛的应用<sup>[1, 2]</sup>。对其常用的分光光度检测方法大多使用硫氰酸盐、磺基水杨酸等显色剂对铁离子进行测定<sup>[3]</sup>, 目前还没有直接检测铁强化食品中 NaFeEDTA 络合物的分光光度检测方法。在碱性溶液中  $[\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA} \cdot \text{H}_2\text{O}]^-$  与  $\text{H}_2\text{O}_2$  进行反应可形成紫红色的超过氧化物中间体  $[\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA} \cdot \text{OOH}]^{2-}$ <sup>[4]</sup>, 该物质在波长为 515 nm 处有最大吸收。该显色反应具有简单、快速的特点, 因此本实验利用该显色原理, 对检测强化面粉和食盐中 NaFeEDTA 含量的方法进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

722N 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司), pH-3C 精密酸度计(上海天达仪器有限公司), WFX-210 型原子吸收光谱仪(北京瑞利公司), TDL-80-2B 离心机(上海安亭科学仪器厂)。本实验所有操作均在避光条件下进行。

NaFeEDTA 标准物(三水物)从美国 Sigma 公司购买; 硝酸、高氯酸等为优级纯, 铁粉标准品纯度  $> 99.9\%$ , 过氧化氢、氨水、NaCl、KCl、正四丁基溴化铵等表面活性剂和  $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、硫酸铜氯化锌、硫化钠等试剂均为分析纯; 氯化铵为特制试剂。实验用水均为超纯水( $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ), 面粉和加碘食盐等从当地市场购买。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 溶液的制备

NaFeEDTA 标准溶液:  $0.01 \text{ mol/L}$  水溶液。

$\text{H}_2\text{O}_2$  溶液: 体积分数  $7.5\%$  水溶液, 现用现配。

不同 pH 值的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液用 HCl 和 NaOH 调节 pH 值得。

#### 1.2.2 吸光度的测定

吸取一定量的 NaFeEDTA 标准溶液于 25 mL 容量瓶中, 按顺序加入 5.0 mL pH = 10 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液和 5.0 mL 的体积分数  $7.5\% \text{H}_2\text{O}_2$  溶液(每加 1 种溶液均需摇动), 用水定容, 放置 5 min, 以蒸馏水为参比, 用 1 cm 比色皿, 在 722 型分光光度计上, 于 515 nm 波长处测定吸光度, 进行条件选择试验和建立标准曲线。

#### 1.2.3 铁强化面粉样品的制备和测定

按照国标 GB14880 的规定 NaFeEDTA 在面粉和谷物中的添加量为  $180 \sim 360 \text{ mg/kg}$ <sup>[5]</sup>, 因此本实验在普通面粉中加入 NaFeEDTA 混匀后, 制成 NaFeEDTA 含量为  $300 \text{ mg/kg}$  的铁强化面粉样品。对该铁强化面粉进行原子吸收实验测定总铁含量, 显示其混合均匀度的变异系数  $< 3.1\%$  ( $n=12$ )。称取 15.0 g 上述铁强化面粉样品于 100 mL 烧杯中, 加入 35 mL 水, 用玻璃棒充分搅拌 10 min, 使溶液中没有面粉结块, 将溶液于  $4000 \text{ r/min}$  离心 10 min。取上清液 10 mL 加入  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液 1 mL 和体积分数  $30\%$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  1 mL, 放置 5 min, 于 515 nm 波长处测定吸光度; 再取上清液 10 mL 加入 2 mL 水摇匀作为空白, 进行测定。

#### 1.2.4 铁强化食盐样品的制备和测定

根据国标 GB14880 的规定: 强化食盐中铁含量

第一作者: 硕士, 讲师。

收稿日期: 2008-08-04, 改回日期: 2008-11-03

为 0.6~1.2 g/kg,<sup>[5]</sup>因此本实验在 1 kg 市售普通加碘食盐中加入 7.55 g NaFeEDTA 混匀后,制成铁含量为 1.00 g/kg 的铁强化食盐样品。对该铁强化食盐进行原子吸收实验测定总铁含量,显示其混合均匀度的变异系数 $<2.0\%$ ( $n=12$ )。称取 1.00 g 上述铁强化食盐样品置于 25 mL 容量瓶中,加入少量水使之溶解,再加入  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液 5 mL 和 7.5% 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 5 mL,用水定容,放置 5 min,于 515 nm 波长处测定吸光度;再称取 1.00 g 铁强化食盐样品置于 25 mL 容量瓶中用蒸馏水作为空白,进行测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吸收曲线

按实验方法,吸取 2.5 mL NaFeEDTA 标准溶液于 25 mL 容量瓶中加入显色试剂定容后,在不同波长下测定吸光度值并绘制其吸收曲线(见图 1)。由图 1 可知,显色产物在 510~520 nm 处有最大吸收,与 Ariane 等人<sup>[4]</sup>的报道相近(520 nm),本实验最终选择 515 nm 作为检测波长。

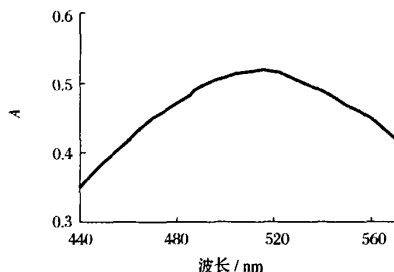


图 1 吸收光谱

### 2.2 酸度对显色反应的影响

Ariane 等人的研究表明,在 pH 值 $>7.5$ 的溶液中该显色反应才能产生紫色络合物。pH 值过低时, $\text{H}_2\text{O}_2$  将进一步氧化 EDTA 而减少中间体的浓度,而 pH 值过高会影响 EDTA 对铁离子的络合能力<sup>[4]</sup>。本实验通过加入不同 pH 值的缓冲溶液考查酸度对显色的影响,发现在 pH 值为 10 时溶液的吸光度最大(见图 2)。因此选用 pH 值为 10 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液调节酸度。

### 2.3 显色剂用量对显色反应的影响

按实验方法改变显色剂  $\text{H}_2\text{O}_2$  的用量,发现加入 7.5%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 2.0 mL 以上时即可得到稳定的紫色络合物,加入 5.0 mL 时吸光度最大(见图 3)。因此本实验确定 7.5%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液的加入量为 5 mL。

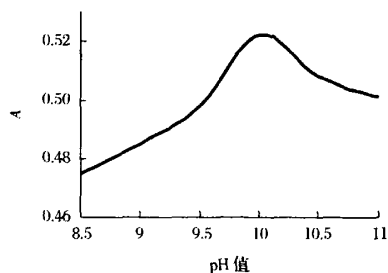


图 2 酸度对吸光度的影响

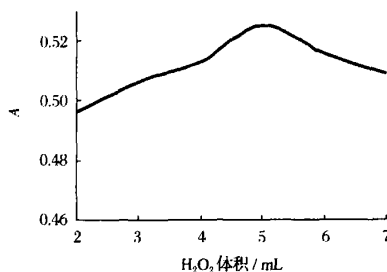


图 3  $\text{H}_2\text{O}_2$  用量对显色反应的影响

### 2.4 反应时间和稳定性

在实验条件下,加入显色剂后对溶液进行振荡,反应进行 3~5 min 后,吸光度即达到最大值,且在避光条件下可以稳定 2 h,2~3 h 后溶液逐渐变为浅黄色并产生沉淀。

### 2.5 离子强度对显色反应体系的影响

本实验使用 NaCl 溶液和 KCl 溶液调节溶液的离子强度发现,在 10~50 g/L 的 NaCl 和 KCl 溶液中显色产物的吸光度并没有显著变化,这说明离子强度对该显色反应的速度和显色产物没有影响。

### 2.6 表面活性剂对显色反应的影响

本实验对不同浓度的正四丁基溴化铵、十二烷基三甲基溴化铵、氯化十六烷基吡啶、十二烷基硫酸钠、十二烷基苯磺酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、吐温-80 等表面活性剂对显色反应的影响进行了考察。如果在 NaFeEDTA 溶液中先加  $\text{H}_2\text{O}_2$  再加缓冲溶液, $\text{H}_2\text{O}_2$  会氧化 EDTA,而使溶液中的  $\text{Fe}^{3+}$  转变为  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  沉淀,但如果在溶液中加入表面活性剂后,再加  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,就不会出现上述情况。这可能是因为表面活性剂形成的胶束对  $[\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA} \cdot \text{H}_2\text{O}]^-$  具有一定的保护作用从而避免了  $\text{H}_2\text{O}_2$  的氧化。同样加入某些表面活性剂也会使显色产物的稳定性增加,如在实验中加入 0.5 g/L 的吐温-80 溶液 4 mL 或加入 0.1 g/L 的十二烷基三甲基溴化铵溶液 10.0 mL 都会使显色产物的稳定时间提高到 5 h 以上。

加入 0.5 g/L 正四丁基溴化铵溶液 5 mL 以及 0.5 g/L 的十二烷基硫酸钠溶液 8.0 mL 会增加溶液的吸光度值,但增加幅度较小,一般在 5% 以内,且没有红移现象;而加入氯化十六烷基吡啶会使吸光度略有下降;其他表面活性剂对吸光度的影响不明显。由于在本实验中表面活性剂的增敏作用不明显且在比色过程中还会产生大量气泡,所以在本实验操作中不加入表面活性剂。

2.7 共存金属离子对显色反应的影响

按实验方法,当试液中的 NaFeEDTA 的含量为  $1 \times 10^{-3}$  mol/L,测定误差为  $\pm 5\%$  时,食品中常见的共存金属离子的允许量为  $\text{Cu}^{2+} 2 \times 10^{-5}$  mol/L、 $\text{Zn}^{2+} 2 \times 10^{-3}$  mol/L、 $\text{Mg}^{2+} 6 \times 10^{-4}$  mol/L、 $\text{Ca}^{2+} 1 \times 10^{-3}$  mol/L。如果样品中干扰其他离子过多,可加入氟化铵来掩蔽  $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$ ;加入  $\text{Na}_2\text{S}$  可以与  $\text{Cu}^{2+}$  和重金属离子形成沉淀而消除其影响。

2.8 工作曲线

分别移取 0.01 mol/L 的 NaFeEDTA 标准溶液 0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 按实验方法测定吸光度,求得工作曲线的回归方程为  $A = 504.7 \times C + 0.0106$  (浓度单位为 mol/L) 相关系数为 0.999 1,NaFeEDTA 的浓度在  $0.2 \times 10^{-3} \sim 2.0 \times 10^{-3}$  mol/L 符合比耳定律,表观摩尔吸光系数为  $0.51 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

2.9 铁强化面粉样品的测定

本实验应用上述显色体系对铁强化面粉样品中的 NaFeEDTA 含量进行了测定。对于面粉中的 NaFeEDTA 常用水进行提取<sup>[6]</sup>。面粉样品中的 NaFeEDTA 含量为一般为  $0.5 \times 10^{-3} \sim 0.8 \times 10^{-3}$  mol/L,与工作曲线浓度范围相当,为避免较繁琐的浓缩步骤,应尽量减少提取 NaFeEDTA 的用水量。在提取的同时还要使面粉和水充分接触,以增加提取效率,因此本实验在提取时使用玻璃棒进行搅拌。实验发现提取时间和提取用水量都会对提取效率产生影响,在不同提取用水量和提取时间下样品中 NaFeEDTA 回收率见图 4。由图 4 可知,对于 15 g 面粉使用 35 mL 水提取 10 min 回收率可达 94%,如加水过多会影响检测的灵敏度。因此本实验选择使用 35 mL 水提取 10 min。样品经提取后在 4 000 r/min 离心 10 min 取上清液可进行检测。面粉中 NaFeEDTA 添加量为 300 mg/kg 时,试液的吸光度约为 0.1 左右。除标准曲线法外,也可使用单点校准法,即同时称取 2 份样品,提取前在其中一份中加入

NaFeEDTA 标准溶液,再进行样品处理操作。用当地市场上的 3 种面粉样品加入 NaFeEDTA (添加量为 300 mg/kg),使用标准曲线法检测的结果见表 1。

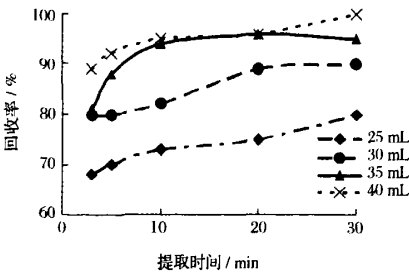


图 4 提取时间和用水量对 NaFeEDTA 回收率的影响

表 1 面粉中 NaFeEDTA 的检测结果

测量次数	1	2	3	平均回收率/%
样品				
面粉样品 1 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	298.3	282.6	271.2	$94.7 \pm 4.8$
面粉样品 2 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	264.5	288.6	293	$94.0 \pm 5.4$
面粉样品 3 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	301.5	295.3	276.8	$97.1 \pm 4.4$

2.10 铁强化食盐样品的测定

由于 NaFeEDTA 良好的稳定性,使其成为在铁强化食盐中应用的理想铁源<sup>[7]</sup>。由于 NaFeEDTA 在铁强化食盐中的含量较高,且溶液清澈,因此直接将称量后的食盐样品用水溶解后加入显色剂进行比色即可。用当地市场上的 3 种加碘食盐加入 NaFeEDTA,添加量为 7.55 g/kg 时,使用本方法对其进行测定的回收率结果见表 2。

表 2 食盐中 NaFeEDTA 的检测结果

测量次数	1	2	3	平均回收率/%
样品				
食盐样品 1 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	7.56	7.69	7.89	$102.2 \pm 2.2$
食盐样品 2 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	7.32	7.35	7.61	$98.4 \pm 2.1$
食盐样品 3 测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	7.66	7.42	7.61	$1.002 \pm 1.7$

由表 1 和表 2 可以看出,本方法对 3 种面粉和食盐中 NaFeEDTA 检测的平均回收率均为 94% 以上。由于本方法显色产物的摩尔吸光系数较低,当试液中 NaFeEDTA 的浓度低于 40 mg/L 时,无法定量检测。因此对于果汁饮料等含量较低的样品需要浓缩后方可进行检测。对于市场上常见的 NaFeEDTA 强化酱油,因其含有的焦糖色在 515 nm 处有较强的吸收会掩盖掉显色产物的颜色,需要在前处理过程中进行脱色以除去干扰。

## 3 结 论

本文利用分光光度法对  $\text{H}_2\text{O}_2$ -NaFeEDTA 显色体系进行了考察。反应在 pH 值为 10 时吸光度最大,表面活性剂及离子强度对反应无显著影响。实验条件下 NaFeEDTA 的浓度在  $0.2 \times 10^{-3} \sim 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  服从比耳定律,在 515 nm 处,表观摩尔吸光系数为  $0.51 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。铁强化面粉经提取、离心后即可进行测定,铁强化食盐可溶解后直接测定。本方法具有简单、快速、选择性强等特点,可用于强化面粉和食盐中 NaFeEDTA 的鉴别及含量测定。

## 参 考 文 献

- 1 Thomas H, Bothwell A, Macphail P. The Potential role of NaFeEDTA as an iron fortificant[J]. Int J Vitam Nutr Res, 2004, 74(6):421~434
- 2 孙 静,霍军生,于 波,等. 乙二胺四乙酸铁钠强化酱油改善贫血效果观察[J]. 卫生研究, 2003, 32 (增刊): 25~28
- 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 Ariane Brausam, Rudi van Eldik. Further mechanistic information on the reaction between  $\text{FeIII}(\text{edta})$  and hydrogen peroxide: bserveation of a second reaction of astep and importance of pH[J]. Inorg Chem, 2004, 43(17): 5 351~5 359
- 5 GB14880-1994. 食品营养强化剂使用卫生标准[S]
- 6 魏 峰,李文仙,黄 建,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
- 7 李卫平,王俊骥. 铁强化食盐的铁源筛选及稳定性研究[J]. 海湖盐与化工, 2003, 32(3): 28~30

## Determination of NaFeEDTA in Fortified Wheat Flour and Salt by Spectrophotometric

Wei Feng<sup>1</sup>, Huo Junsheng<sup>2</sup>, Sun Jing<sup>2</sup>, Zhang Na<sup>1</sup>,  
Di Rui<sup>1</sup>, Zhu Renhe<sup>1</sup>

1(Department of Chemistry, Huangshan University, Huangshan 245041, China)

2(Institute of Nutrition and food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT** In the alkaline medium, NaFeEDTA(sodium iron (Ⅲ) ethylenediaminetetraacetate) forms a stable purple-red complex with  $\text{H}_2\text{O}_2$ . In this reaction, the content of NaFeEDTA in the range of  $0.4 \times 10^{-3} \sim 2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  obeys the Lambert-Beer's law. The apparent molar absorptivity of color substance is 515  $\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  at 515 nm. With this method the recoveries of NaFeEDTA in fortified wheat flour and salt was above 94%. This simple, rapid and high selective method can be used for identification and determination of NaFeEDTA in fortified wheat flour.

**Key words** NaFeEDTA, hydrogen peroxide, spectrophotometry

会  
讯

### 2009 年德国纽伦堡国际有机食品展览会

2009 年德国纽伦堡国际有机食品展览会将于 2009 年 2 月 19~22 日在德国纽伦堡举行。一年一度的德国纽伦堡国际有机食品博览会为全球规模最大和最集中的有机产品展示会。据组委会统计 2008 年有来自世界 116 个国家和地区的供应商、采购商和有机产品认证机构等共 2 764 家企业参展,有 46 484 名参观者参观此次展会。巴西、西班牙、法国、意大利、加拿大等国都以整体国家形象出展,展区占地面积巨大,展出面积超过 70 000 $\text{m}^2$ 。展位布置色彩亮丽、别致新颖,展品丰富多彩、琳琅满目,给人以强烈的视觉冲击。据有机食品组织统计,有机食品营业额每年以 50 亿美元的速度增长。相信此次展会是一次中国有机食品进入国际市场的良好平台和机会。

展品范围包括有机产品:有机食品、健康食品、原材料和原料、有机水果、蔬菜、调味品、天然护理、产品原料和添加剂、方便食品、肉类、肉肠、鱼类、牛奶、奶制品、鸡蛋、冷冻、食品、烘烤食品、甜品、饮料等;天然产品:玩具、礼品、艺术品、天然织物等;有机农业:农业供给产品;市场营销:市场营销类产品。