

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 21234—2007

铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠的测定

Determination of sodium iron(Ⅲ)ethylenediaminetetraacetate, trihydrate
(NaFeEDTA · 3H₂O) in iron fortified soy sauce

2007-10-29 发布

2008-04-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会



前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中国疾病预防控制中心营养与食品安全所、佛山市海天调味食品有限公司负责起草。

本标准主要起草人：霍军生、黄建、魏峰、黄文彪、于波、孙静。

铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠的测定

1 范围

本标准规定了铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)的测定方法。

本标准适用于铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠的测定。

本标准第一法的检出限为 $0.030\ \mu\text{g/mL}$,当取样为 $2.5\ \text{mL}$ 时,最低检出浓度为 $6.0\ \mu\text{g/mL}$,最佳线性范围为 $0.2\ \mu\text{g/mL}\sim 20\ \mu\text{g/mL}$ 。第二法的最低检出限为 $0.24\ \mu\text{g/mL}$,当取样为 $3.0\ \text{mL}$ 时,最低检出浓度为 $40\ \mu\text{g/mL}$,最佳线性范围为 $4.0\ \mu\text{g/mL}\sim 24\ \mu\text{g/mL}$ 。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

铁强化酱油试样,经甲醇沉淀后,过滤,稀释,用反相离子对高效液相色谱法将乙二胺四乙酸铁钠中的 FeEDTA^- 与试样中的杂质分离,经紫外检测器 $254\ \text{nm}$ 波长处检测,根据色谱峰保留时间定性,标准曲线法峰面积定量。

3 试剂

本方法中所用试剂,除另有规定外,均为分析纯试剂,水为蒸馏水或同等纯度水。

3.1 甲醇:色谱纯。

3.2 40%四丁基氢氧化铵水溶液(TBAOH)。

3.3 甲酸稀溶液:将88%甲酸用水稀释10倍进行配制。

3.4 乙二胺四乙酸铁钠标准物:纯度(以 $\text{NaFeEDTA}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 计) $\geq 99.0\%$ 。

3.5 75%甲醇溶液:将体积为 $750\ \text{mL}$ 的甲醇加到体积为 $250\ \text{mL}$ 的水中,混匀。

3.6 乙二胺四乙酸铁钠标准储备溶液:准确称取乙二胺四乙酸铁钠标准物 $0.1\ \text{g}$,置入 $50\ \text{mL}$ 棕色容量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,此溶液浓度为 $2\ 000\ \mu\text{g/mL}$ 。于冰箱中避光保存,推荐15日内使用。

3.7 乙二胺四乙酸铁钠标准中间溶液:准确吸取乙二胺四乙酸铁钠标准储备溶液 $2.50\ \text{mL}$,置于 $50\ \text{mL}$ 棕色容量瓶中,用75%甲醇溶液定容,摇匀,此溶液浓度为 $100\ \mu\text{g/mL}$ 。于冰箱中避光保存,推荐15日内使用。

3.8 乙二胺四乙酸铁钠标准使用溶液:分别吸取乙二胺四乙酸铁钠标准中间溶液 $1.0\ \text{mL}$ 、 $2.0\ \text{mL}$ 、 $4.0\ \text{mL}$ 、 $6.0\ \text{mL}$ 、 $8.0\ \text{mL}$ 、 $10.0\ \text{mL}$ 于 $50\ \text{mL}$ 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀后,即得到乙二胺四乙酸铁钠标准系列,分别含 $\text{NaFeEDTA}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 为 $2.0\ \mu\text{g/mL}$ 、 $4.0\ \mu\text{g/mL}$ 、 $8.0\ \mu\text{g/mL}$ 、 $12.0\ \mu\text{g/mL}$ 、 $16.0\ \mu\text{g/mL}$ 、 $20.0\ \mu\text{g/mL}$ 。临用时配制。

4 设备与仪器

4.1 实验室常用设备。

4.2 高效液相色谱仪:具有紫外检测器。

4.3 酸度计。

5 分析步骤

5.1 试样处理

吸取铁强化酱油试样 2.50 mL,置于 50 mL 棕色容量瓶中,加 75% 甲醇溶液定容,摇匀。于避光处静置 50 min 后,滤纸过滤。吸取滤液 5.00 mL,置于 50 mL 棕色容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,即得试样液,供仪器测定用。

5.2 高效液相色谱分析

5.2.1 色谱条件(参考条件)

5.2.1.1 分析柱:Zorbax C₈ 柱 4.6 mm×150 mm,5 μm。

5.2.1.2 流动相:吸取 40% 四丁基氢氧化铵水溶液 3.25 mL,置于烧杯中,加水 130 mL,再用甲酸稀溶液将 pH 调至 3.30,将此溶液转移至 1 000 mL 容量瓶中,加 125 mL 甲醇,用水稀释至刻度,摇匀,脱气后使用。

5.2.1.3 紫外检测器检测波长:254 nm。

5.2.1.4 进样量:20 μL。

5.2.1.5 流速:1.0 mL/min。

5.2.2 标准曲线的制备

分别用 3.8 中的标准使用溶液 20 μL 进行 HPLC 分析,以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线,或计算回归方程。

5.2.3 试样分析

取试样液 20 μL 进行 HPLC 分析。

5.2.3.1 定性:与标准品色谱峰的保留时间比较定性。

5.2.3.2 定量:在实验条件下,对试样液进行测定。取其峰面积平均值从标准曲线上查得或根据回归方程计算其含量。

6 结果计算

试样中乙二胺四乙酸铁钠含量按式(1)计算:

$$X = \frac{X_1 \cdot V_1}{V} \times \frac{50}{5 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中乙二胺四乙酸铁钠的含量,单位为毫克每毫升(mg/mL);

X₁——由标准曲线上查到的乙二胺四乙酸铁钠含量,单位为微克每毫升(μg/mL);

V₁——试样液定容体积,单位为毫升(mL);

V——试样的体积,单位为毫升(mL);

计算结果保留三位有效数字。

7 精密度

在重复条件下获得的两次重复测定结果的相对差值不得超过算术平均值的 10%。

8 分离色谱图

铁强化酱油试样液中的分离色谱图见图 1。

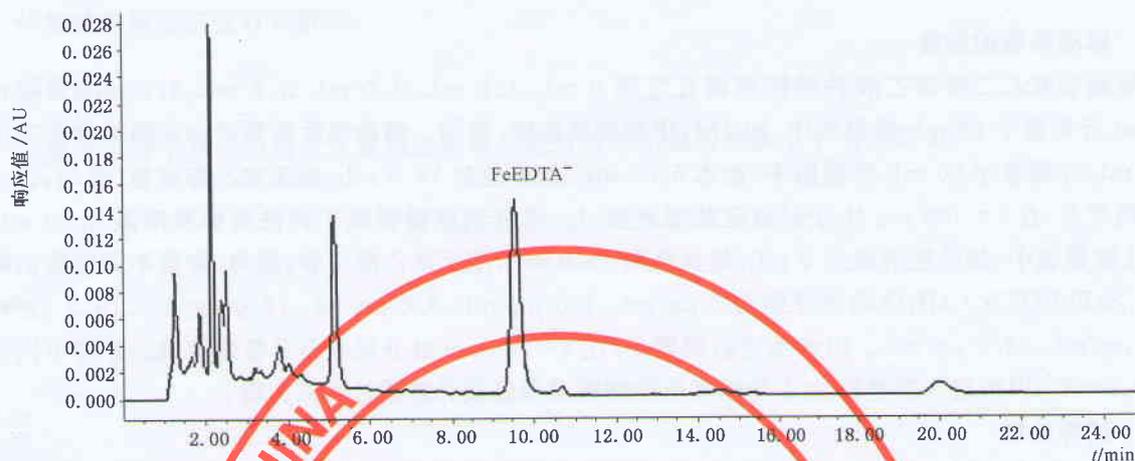


图1 铁强化酱油试样液中的分离色谱图

第二法 比色法

9 原理

乙二胺四乙酸铁钠在酸性溶液中($\text{pH} \leq 0.5$)中完全解离,游离的 Fe^{3+} 与显色剂硫氰酸铵 (NH_4SCN) 反应生成红色络合物,该络合物在含有乙醇或丙酮的有机溶液中较为稳定,于波长 480 nm 处有最大吸收,且吸光度与浓度成线性关系。利用可见分光光度法,通过与未酸化处理的试液做空白对比,计算乙二胺四乙酸铁钠含量。而其他铁营养强化剂, Fe^{3+} 与显色剂 NH_4SCN 生成无色络合物, Fe^{3+} 与显色剂 NH_4SCN 在酸化或未酸化溶液中都同样生成红色络合物,可对比扣除。

10 试剂

本方法中所用试剂,除另有规定外,均为分析纯试剂,水为蒸馏水或同等纯度水。

- 10.1 乙二胺四乙酸铁钠标准物:纯度(以 $\text{NaFeEDTA} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 计) $\geq 99.0\%$ 。
- 10.2 75%甲醇溶液:将体积为 750 mL 的甲醇加到体积为 250 mL 的水中,混匀。
- 10.3 过硫酸铵。
- 10.4 无水乙醇。
- 10.5 盐酸溶液:量取盐酸 500 mL,加水稀释至 1 000 mL,摇匀。
- 10.6 15%硫氰酸铵显色剂:称取硫氰酸铵 75 g,置 500 mL 容量瓶中,加水 250 mL,溶解后加丙酮 75 mL,用水稀释至刻度,摇匀。
- 10.7 丙酮-水溶液:于 500 mL 容量瓶中,加 75 mL 丙酮,用水稀释至刻度,摇匀。
- 10.8 乙二胺四乙酸铁钠标准储备溶液:准确称取乙二胺四乙酸铁钠标准物 0.1 g,置入 50 mL 棕色容量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,此溶液浓度为 $2\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 。于冰箱中避光保存,推荐 15 日内使用。

11 仪器

- 11.1 实验室常用设备。
- 11.2 可见分光光度计。

12 分析步骤

12.1 标准曲线的制备

准确吸取乙二胺四乙酸铁钠标准储备溶液 0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、6.0 mL 分别置于 50 mL 容量瓶中,加 75% 甲醇溶液定容,摇匀。精确吸取稀释后的不同浓度标准溶液 5.00 mL 分别置于 50 mL 容量瓶中,加水 5.00 mL,加显色剂 15.0 mL,用无水乙醇定容,摇匀,以水为空白调零点,在 $\lambda=480\text{ nm}$ 处分别测定其吸光度 A_0 ;再分别精确吸取不同浓度标准溶液 5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中,加盐酸溶液 5.0 mL,加显色剂 15.0 mL,用无水乙醇定容,摇匀,即得不同浓度的标准溶液,NaFeEDTA·3H₂O 浓度分别为 0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 、12.0 $\mu\text{g/mL}$ 、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 、24.0 $\mu\text{g/mL}$ 。以水为空白调零点,在 $\lambda=480\text{ nm}$ 处分别测定其吸光度 A 。计算不同浓度 $\Delta A=A-A_0$,以浓度为横坐标、 ΔA 为纵坐标绘制标准曲线或计算线性回归方程。

12.2 试样处理

精密吸取铁强化酱油试样 3 mL,置于 50 mL 容量瓶中,加 75% 甲醇溶液稀释并定容,于避光处静置 30 min 后,滤纸过滤,取滤液 5.00 mL 四份,分别置于四个 50 mL 的棕色容量瓶中。

试样液 1 配制:在其中一个容量瓶中加水 5.00 mL,过硫酸铵 0.100 g,15% 硫氰酸铵显色剂 15.0 mL,加无水乙醇定容,摇匀。

试样液 2 配制:于另一个容量瓶中加盐酸溶液 5.00 mL,过硫酸铵 0.100 g,15% 硫氰酸铵显色剂 15.0 mL,加无水乙醇定容,摇匀。

试样液 3 配制:于另一个容量瓶中加水 5.00 mL,过硫酸铵 0.100 g,加 15.0 mL 丙酮-水溶液,再用无水乙醇定容,摇匀。

试样液 4 配制:于另一个容量瓶中加盐酸溶液 5.00 mL,过硫酸铵 0.100 g,加 15.0 mL 丙酮-水溶液,再用无水乙醇定容,摇匀。

12.3 测定

于 $\lambda=480\text{ nm}$ 处测定试样液 1、2、3、4 的吸光度,分别为 $A'_{\text{样}}$ 、 $A_{\text{样}}$ 、 A'_{H^+} 、 A_{H^+} 。

注:由于 Fe³⁺ 与硫氰酸铵生成的红色络合物对光、热不稳定,试验应在 30℃ 以下并避光操作。

13 结果计算

试样中乙二胺四乙酸铁钠的吸光度值按式(2)计算。

$$\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{样}} - A'_{\text{样}} - (A_{\text{H}^+} - A'_{\text{H}^+}) \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- $A_{\text{样}}$ ——试样液 2 的吸光度值;
- $A'_{\text{样}}$ ——试样液 1 的吸光度值;
- A_{H^+} ——试样液 4 的吸光度值;
- A'_{H^+} ——试样液 3 的吸光度值。

根据 $\Delta A_{\text{样}}$ 值,从标准曲线上得到测定试样液中乙二胺四乙酸铁钠含量 $X_2(\mu\text{g/mL})$,供计算试样中乙二胺四乙酸铁钠含量用。

试样中乙二胺四乙酸铁钠的含量按式(3)计算。

$$X = \frac{X_2 \cdot V_1}{V} \times \frac{50}{5 \times 1\,000} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- X ——试样中乙二胺四乙酸铁钠的含量,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- X_2 ——由式(2)计算后从标准曲线上得到的乙二胺四乙酸铁钠含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V_1 ——试样液定容体积,单位为毫升(mL);

V ——试样的体积,单位为毫升(mL);

计算结果保留三位有效数字。

14 精密度

在重复条件下获得的两次重复测定结果的相对差值不得超过算术平均值的 10%。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
铁强化酱油中乙二胺四乙酸铁钠的测定
GB/T 21234—2007

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字
2008年3月第一版 2008年3月第一次印刷

*

书号:155066·1-30905 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 21234-2007