

毛细管区带电泳法测定强化铁酱油中 NaFeEDTA 的含量

唐美华¹, 陈国松², 于文涛³

(1. 南京工业大学国家生化工程技术研究中心, 江苏 南京 210009; 2. 南京工业大学理学院, 江苏 南京 210009 3. 南京工业大学制药与生命科学学院, 江苏 南京 210009)

摘 要: 应用毛细管区带电泳法测定了强化铁酱油中 NaFeEDTA 的含量。选择的分离和测定条件为: 采用 pH=9.0 20mmol/L 硼酸盐缓冲体系, 加入聚乙二醇 2.0mmol/L, 检测波长 254nm, 分离电压 20kV, 分离温度 25℃, 压力进样时间 5s。该法线性范围为 0.02~1.4mg/ml, 回收率 95.6%~104.8%。无需对样品进行预处理, 简便、快速、准确。测定了市售加铁酱油中 NaFeEDTA 的含量, 结果令人满意。

关键词: 毛细管电泳; NaFeEDTA; 酱油

Determination of NaFeEDTA Enrichment in Soy Sauce by Using of Capillary Zone Electrophoresis

TANG Mei-hua¹, CHEN Guo-song², YU Wen-tao³

(1. National Research Centre of Biology Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China 2. School of Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China 3. College of Life Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract The content of NaFeEDTA in soy was determined by using capillary zone electrophoresis. The buffer solution used in the method was 20mmol/L sodium borate solution at pH9.0, including 2.0mol/L polyethylene glycol. The detection wavelength was 254 nm. The separating voltage was 20kV, and temperature was 25℃. The sample injection lasted 5s. The calibration curve showed good linearity over the range of 0.02~1.4mg/ml. The recovery was 95.60%~104.8%. It was a simple, quick and accurate method without any pretreatment for the sample. Satisfactory results were got in the determination of NaFeEDTA in the marketing soy sauce.

Key words capillary zone electrophoresis; NaFeEDTA; soy sauced

图分类号 0614.112

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0194-03

毛细管电泳(CZE)是近年来发展很快的一种分离分析技术, 具有高效、快速、样品用量少等特点, 在复杂试样的分离分析中具有广阔的应用前景^[1], 在食品科学方面的应用也日趋广泛。

铁是人体需要量最大的微量元素, 是红细胞内血红蛋白、肌肉内肌红蛋白、各种细胞内的氧化酶所不可缺少的组成成分。人体缺铁会导致多种疾病。食用铁强化酱油是补铁的最有效途径之一。乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)作为铁强化剂具有吸收率高、对食物载体感官性状和内在品质影响小的特点, 被认为是目前最具前景的铁营养补充剂^[2]。许多省市已开始着手“补铁”

工程, 市场上也出现了铁强化酱油。

目前, 测定酱油中 NaFeEDTA 含量的方法有火焰原子吸收光谱法^[3]、可见分光光度法^[4]和直接紫外分光光度法^[5]。原子吸收光谱法只能测定总铁的含量; 可见分光光度法需将酱油用甲醇进行醇沉脱色; 而直接紫外吸收分光光度法由于酱油中的防腐剂、氨基酸等物质在紫外光谱区也有较强的吸收, 因而会对测定结果产生影响, 并且需要有铁强化以前的同批次酱油做空白, 而市场监测时又不可能获得铁强化以前的酱油, 因此该法实用性不强。本文应用毛细管区带电泳, 通过对电泳条件进行优化, 使酱油中 NaFeEDTA 峰与其它组份峰分离, 直

收稿日期: 2004-10-26

作者简介: 唐美华(1967-), 女, 工程师, 主要从事生物和化学品的分析研究工作。

接测定酱油中NaFeEDTA的含量。无需对样品进行预处理,简便、快速、准确,对铁强化酱油的质量控制和市场监测有着重要的意义。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

BECKMAN5000型高效毛细管电泳仪 美国; 57cm × 75 μ m(i.d.)非涂渍石英毛细管。

硼砂 分析纯; NaFeEDTA对照品 Sigma公司; 聚乙二醇 分析纯; 强化铁酱油 市售家乐牌和海天牌; 去离子水 经石英亚沸双蒸水制备装置蒸馏后制得。

1.2 实验方法

1.2.1 电泳条件

检测波长254nm; 分离电压20kV; 自动压力进样5s; 电泳时间15min; 分离温度25℃; 运行缓冲液为20mmol/L硼砂缓冲溶液,加2.0mmol/L聚乙二醇,用硼酸调节pH=9.0。

冲洗程序: 1mol/L NaOH溶液冲洗3min,去离子水冲洗3min,运行缓冲液冲洗1min。溶液进样前用0.45 μ m的聚醋酸纤维酯滤膜过滤。

1.2.2 溶液的配制

1.2.2.1 对照品溶液的配制: 准确称取适量NaFeEDTA对照品,用水稀释配制成10mg/ml。

1.2.2.2 样品溶液的配制: 准确吸取5.00ml样品置于50ml容量瓶中,用水稀释至刻度,再经0.45 μ m的滤膜过滤。

2 结果与讨论

2.1 最佳分离条件的选择

2.1.1 缓冲体系的选择 缓冲溶液的选择直接影响组份的迁移和分离。分别考察了硼砂、磷酸二氢钠、醋酸钠等缓冲体系。经比较,硼砂缓冲体系分离效果较好。

2.1.2 最佳pH值的选择 固定硼砂缓冲溶液浓度为20mmol/L,用硼酸调节pH至4~11,考察不同pH对分离效果的影响。pH 8~10之间,酱油中组份峰与NaFeEDTA峰有较好的分离。随着pH的升高,出峰时间缩短,但NaFeEDTA峰有所展宽。在低pH值时,NaFeEDTA峰有前延和拖尾,这是毛细管管壁对样品产生吸附的缘故。本文确定最佳pH为9.0。

2.1.3 缓冲液浓度的选择 考察了5种浓度的硼砂缓冲液(15、20、25、30、40mmol/L)对迁移时间和分离效果的影响。实验发现: 随着缓冲溶液浓度的升高,迁

移时间延长,峰的拖尾现象有所改善。这可能是由于随着溶液浓度的提高,离子强度增大,减少了样品和管壁间的相互作用。但同时焦耳热也增加,峰形展宽。本文确定缓冲液的浓度为20mmol/L。

2.1.4 电压的选择 考察了在10~30kV范围内分离电压对迁移时间和分离效果的影响。随着电压的增加,迁移时间缩短,但电场强度的增加将导致焦耳热增加,从而使柱效和分离度下降。本文选择分离电压为20kV。

2.1.5 温度的选择 考察了15~40℃范围内温度对迁移时间和分离效果的影响。随着温度的提高,迁移时间缩短。主要是随着柱温的增加,电解液粘度降低,电渗流增加。但柱温升高会使焦耳热增加,峰形展宽。本文选择分离温度为25℃。

2.1.6 有机添加剂的影响 在运行缓冲溶液中加入少量聚乙二醇,有利于消除管壁对样品的吸附,从而消除峰的拖尾现象。随着聚乙二醇量的增加,迁移时间延长,峰形变好,分离度增加。兼顾迁移时间和分离度,本文选择聚乙二醇的浓度为2.00mmol/L。

2.1.7 选定条件下的电泳图 在选定的分离条件下,加铁酱油、加铁酱油加入对照品后的电泳图如图1和图2所示。NaFeEDTA的保留时间为11.70min。

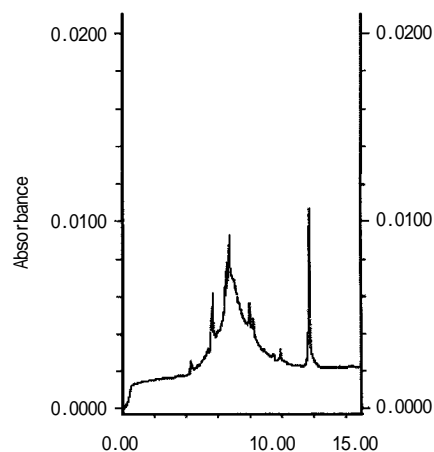


图1 加铁酱油电泳图

Fig.1 Capillary electropherograms of soy

2.2 工作曲线

准确移取0.10、0.50、1.00、3.00、5.00、7.00ml对照品溶液分别置于6个50ml容量瓶中,用去离子水定容。按选定的分离条件分别进行CZE分析,每一溶液重复测定3次,取其平均值。NaFeEDTA的浓度在0.02~1.40mg/ml范围内与其峰面积呈线性关系(见图3)。线性回归方程为 $A = 4.54c + 0.097$,相关系数 $r = 0.9991$ 。

2.3 精密度实验

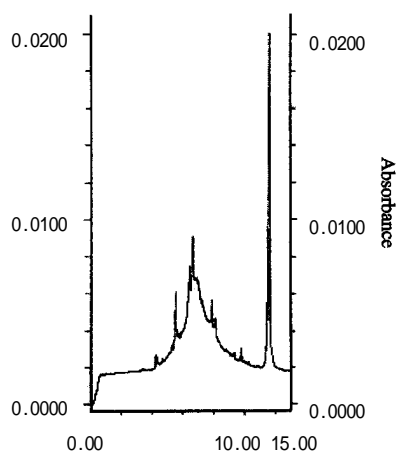


图2 加铁酱油+NaFeEDTA对照品电泳图

Fig.2 Capillary electropherograms of soy and standard sample

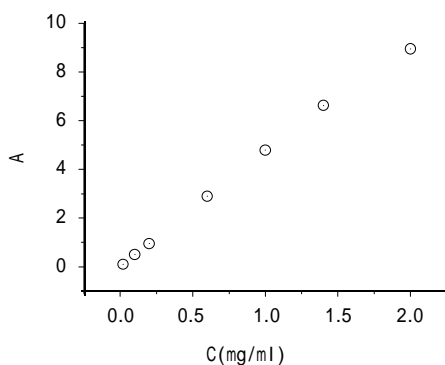


图3 工作曲线

Fig.3 Calibration curve

准确移取酱油5.00ml至50ml容量瓶中,加入1.00ml对照品溶液,用水定容。按选定的分离条件重复测定10次,每测定一次,都按冲洗程序冲洗,保留时间的相对标准偏差(RSD)为0.87%,峰面积的RSD为4.27%。

2.4 回收率实验

用已测得含量的样品进行加标试验。准确移取5.00ml酱油样品,分别加入对照品溶液2.00ml,以水定容至50ml,按选定的条件进行测定,结果见表1。平

表1 NaFeEDTA加标回收试验结果

Table 1 Results of recovery experiments of NaFeEDTA in soy

样号	1	2	3	4	5
原含量(mg/5ml)	8.89	8.60	8.79	9.25	8.50
加标量(mg)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
测出值(mg/5ml)	29.2	28.5	27.9	30.2	28.1
回收率(%)	101.6	99.5	95.6	104.8	98.0

均回收率为99.90%,RSD为3.51%(n=5)。

2.5 酱油样品的测定

准确吸取5.00ml酱油试样置于50ml容量瓶中,用水稀释至刻度,按选定条件进行测定。结果见表2。

表2 酱油样品测定结果

Table 2 Determination results of soy

品牌	标示值(mg/L)	实测值(mg/L)	测出率(%)
家乐	1.80×10^3	1.76×10^3	97.8
海天	2.00×10^3	1.95×10^3	97.5

3 结 论

应用毛细管区带电泳法测定了不同品牌的市售酱油中NaFeEDTA的含量,试样无需进行预处理就可直接进行测定,方法快速,操作简便,结果准确,完全可以满足调味品行业生产控制的要求和商业部门检测鉴定的要求。

参考文献:

- [1] Monning CA, Kennedy RT. Capillary electrophoresis[J]. Anal Chem, 1994, 66: 280-314.
- [2] Richard F. Hurrell. Preventing iron deficiency through food fortification[J]. Nutrition Reviews, 1997, 55(6): 210.
- [3] 蒋瑾华,等. 强化酱油中铁含量的快速测定[J]. 食品科学, 2003, 24(4): 124-125.
- [4] 王建,等. 铁强化酱油中NaFeEDTA含量测定[J]. 卫生研究, 2003, 32(7): 60-63.
- [5] 苗虹,等. 食品添加剂NaFeEDTA测定方法研究[J]. 食品科学, 2000, 21(8): 48-50.

信 息

我国研制成功“绿色环保粮食储藏新技术”

陕西秦鹏科技股份公司与国家粮食局所属专业科研机构合作,经6年攻关,成功开发出在国内外处于领先地位的粮食干燥系统和绿色无公害仓储设备系统,其两大核心技术“臭氧气调仓储技术”和“粮堆立体均匀通风技术”均为国家“十五”科技攻关最新技术成果,并已通过鉴定验收。专家表示,“秦鹏科技”用于粮食储藏的干燥技术和臭氧局部处理机,不但可起到储粮杀虫灭菌效果,还可以降解有机磷杀虫药剂,去除、降解某些真菌毒素,是一种理想的绿色储粮技术。