

# 方波伏安法检测酱油和食盐中乙二胺四乙酸铁钠

魏峰<sup>1</sup>, 霍军生<sup>2</sup>, 狄蕊<sup>1</sup>, 孙静<sup>2,\*</sup>, 黄建<sup>2</sup>

(1. 黄山学院现代教育技术中心, 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:** 采用方波伏安法建立乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)的检测方法。用 pH 值为 3.0 的磷酸缓冲溶液作为底液; 电化学条件为扫描增量 10mV、方波频率 2.5kHz、方波振幅 100mV, 可实现对 NaFeEDTA 的检测。试液中 NaFeEDTA 的质量浓度在 10~200mg/L 范围内, 标准曲线相关系数为 0.9997, 检出限为 4mg/L。对铁强化酱油和食盐中的 NaFeEDTA 检测的回收率为(93.5 ± 2.1)% 和(96.8 ± 2.8)%。

**关键词:** 乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA); 方波伏安法; 铁强化酱油; 铁强化食盐

## Determination of NaFeEDTA by Square Wave Voltammetry

WEI Feng<sup>1</sup>, HUO Jun-sheng<sup>2</sup>, DI Rui<sup>1</sup>, SUN Jing<sup>2,\*</sup>, HUANG Jian<sup>2</sup>

(1. Modern Educational Technology Center, Huangshan University, Huangshan 245041, China;

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

**Abstract:** Square wave voltammetry was established to determine sodium iron EDTA (NaFeEDTA). In the square wave voltammetry, the phosphate buffer solution (pH 3.0) was set as the base solution, scan increment was set for 10 mV, square wave frequency was set at 2.5 kHz, and square wave amplitude was set at 100 mV. The linear range for the determination of NaFeEDTA was 10–200 mg/L with the correlation coefficient of 0.9997. The limit of detection of NaFeEDTA was 4 mg/L. In iron fortified soy sauce and salt samples, the recoveries were (93.5 ± 2.1)% and (96.8 ± 2.8)%.

**Key words:** sodium iron EDTA (NaFeEDTA); square wave voltammetry; iron fortified soy sauce; iron fortified salt  
中图分类号: TS207.3; O657 .1 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2012)10-0274-04

乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)作为一种络合型铁营养强化剂具有生物利用率高, 食物感官影响小等特点<sup>[1]</sup>, 在我国食品行业应用已有十多年<sup>[2]</sup>。强化食品中 NaFeEDTA 的检测方法, 是生产质量控制和强化食品推广、应用和质量监督的必要手段。检测食品中铁元素总量的如原子吸收法、溶出伏安法等, 无法对 NaFeEDTA 和焦磷酸铁、硫酸亚铁等各种铁强化剂进行区分, 无法用于对食品中 NaFeEDTA 的直接检测。目前, 测定食品中 NaFeEDTA 含量的方法有直接紫外分光光度法<sup>[3-4]</sup>、可见分光光度法<sup>[5-7]</sup>、毛细管区带电泳法<sup>[7]</sup>、HPLC 法<sup>[9-11]</sup>等仪器分析方法。其中, 毛细管区带电泳法由于仪器较少而难以普及; HPLC 法相对准确, 但操作比较繁琐, 速度较慢; 而分光光度法容易受酱油等食品本底颜色的影响。

电化学分析法具有仪器装置简单、操作方便和选择

性好等特点。González<sup>[12]</sup>和 Kenichi<sup>[13]</sup>等通过电化学方法对 FeEDTA 络合物的电化学性质进行了研究。Ugo1 等<sup>[14]</sup>使用方波伏安法对在络合剂存在条件下的痕量铁进行了分析。李彦等<sup>[15]</sup>报道了用单扫示波极谱法测定酱油中 NaFeEDTA 的方法, 该方法回收率为 88.8%~112.0%, 但使用的滴汞电极对环境严重污染。方波伏安法的灵敏度和分辨率比线性扫描方法都有进一步的提高<sup>[16]</sup>, 可在较低的电解质浓度和反应物浓度条件下进行峰电位、峰电流测量。本实验对 NaFeEDTA 的电化学行为进行考察, 并以无污染的玻碳电极为检测电极, 通过对电化学条件、底液条件和样品处理方法的考察, 拟建立酱油、食盐等食品中 NaFeEDTA 的方波伏安检测方法。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

收稿日期: 2012-01-05

基金项目: 国家“863”计划项目(2010AA023004)

作者简介: 魏峰(1979—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为食品分析。E-mail: keania@126.com

\* 通信作者: 孙静(1963—), 女, 副研究员, 本科, 研究方向为食品营养。E-mail: jhuang@263.net

加碘食盐、酱油 市售。

NaFeEDTA·3H<sub>2</sub>O 标准物 美国 Sigma 公司；铁标准储备液(1000mg/L) 国家钢铁研究总院分析测试研究所；硝酸、高氯酸为优级纯；其他试剂均为分析纯。实验用水为超纯水(电阻率 18.2MΩ·cm)。

LK2006A 型电化学工作站及电极 天津市兰力化学电子公司；WFX-210 型原子吸收光谱仪 北京瑞利公司；TGL-16C 飞鸽牌离心机 上海安亭科学仪器厂；PHS-3C 精密酸度计 上海精密科学仪器公司；固相萃取装置及 3mL C<sub>18</sub> 固相萃取柱 美国 Waters 公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 标准溶液的配制

向 6 支 50mL 容量瓶中分别加入 0、0.5、1、2、5、10mL 的质量浓度为 1.00g/L 的 NaFeEDTA 标准储备溶液，再向容量瓶中分别加入 2mL pH3.0 的 0.5mol/L 磷酸缓冲溶液和 3mL 的 0.5mol/L 的氯化钠溶液，定容到刻度，制成标准系列，备用。

### 1.2.2 酱油样品试液的制备

在酱油中加入 NaFeEDTA，溶解，制成 NaFeEDTA 含量为 2.00g/kg(铁含量为 0.27g/kg)的铁强化酱油样品。将 2mL 上述铁强化酱油与 2mL pH3.0 0.5mol/L 磷酸缓冲溶液混合后，以 10000r/min 离心 10min。取上清液进固相萃取柱(事先用 3mL 甲醇进行活化，再以 5mL 水冲洗)，然后用 5mL 蒸馏水对萃取柱进行洗涤，将滤液与清洗液合并，移至 50mL 容量瓶，定容，摇匀备用。

### 1.2.3 食盐样品试液的制备

在加碘食盐中加入 NaFeEDTA 混匀，制成含 NaFeEDTA 7.54g/kg(铁含量为 1.00g/kg)的铁强化食盐样品<sup>[4]</sup>。对该样品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小于 2.0%( $n=6$ )。准确称取 0.5g 上述铁强化食盐样品，加入 50mL 容量瓶中，再向容量瓶中加入 2mL 的 pH 值为 3.0 的 0.5mol/L 磷酸缓冲溶液，定容到刻度，备用。

### 1.2.4 方波伏安法检测

用玻碳电极作为工作电极，铂柱电极作为辅助电极，甘汞电极作为参比电极的三电极系统，进行方波伏安法检测。为保证每次实验的重复性，玻碳电极在使用前应先使用 0.05 μm 氧化铝粉末打磨抛光，然后依次在丙酮、100g/L NaOH 溶液、1:1 的 HNO<sub>3</sub> 溶液超声清洗 3min，再用水超声清洗 5min。在电解池中，加入测试液，通氮气除氧，并保持氮气气氛，扫描电位为 0.4~-0.4V，扫描增量 10mV，方波频率 2.5kHz，方波振幅 100mV，进行扫描，根据峰电流计算试样中 NaFeEDTA 的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaFeEDTA 在玻碳电极上的电化学反应

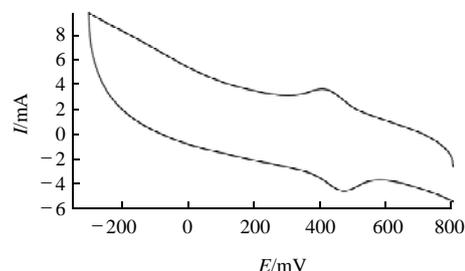


图1 NaFeEDTA 的循环伏安谱图  
Fig.1 Cyclic voltammogram of NaFeEDTA

图 1 为 200mg/L 的 NaFeEDTA 标准溶液的循环伏安图，扫描速度为 50mV/s。在 pH3 的溶液中，络合物主要以 FeEDTA<sup>-</sup>形式存在。可以看出循环伏安曲线中，上部的曲线是由 FeEDTA<sup>-</sup>反应生成 FeEDTA<sup>2-</sup>时的还原峰，下部的曲线为氧化峰，两者的峰高基本相等。还原峰的峰电位为 408mV，氧化峰的峰电位为 468mV，两者之差为 60mV。因此可以认为 FeEDTA<sup>-</sup>在该条件下的氧化还原反应为可逆反应。Kenichi 等<sup>[13]</sup>以 pH2.2 的氯乙酸缓冲溶液和 pH4.5 的乙酸缓冲溶液作为底液，进行循环伏安扫描，同样证实了此反应为可逆反应。

### 2.2 电化学检测条件的选择

方波伏安法电化学条件的频率和振幅均会影响方波峰电流的大小和形状。通过实验可以观察到，扫描过程施加的电压的方波频率对峰高影响明显。当其他条件不变时，改变方波频率分别为 1、2.5、5kHz 时，峰高分别为 6.2、7.3、8.3mA，但方波频率为 5kHz 时基线发生严重倾斜，不便于准确读数。因此本实验选择方波频率为 2.5kHz。

方波振幅是施加的方波电压的波动幅度，增大方波振幅时，峰的宽度和高度都变大。为提高检测灵敏度，本实验设置方波幅度为 100mV。此时 NaFeEDTA 的峰宽约为 400mV。

扫描增量所控制的是扫描过程中采样点的多少。扫描增量小，会使采样点增加，但所需的时间较长。如果设置较大的扫描增量，则采样点较少，曲线绘制不准确。本研究将其设置为 10mV，整个峰形有 40 个左右的数据点，扫描过程可以在 1min 内完成。

图 2 为方波频率 2.5kHz、方波幅度 100mV、扫描增量 10mV 时，100mg/L 的 NaFeEDTA 标准溶液的循环方波伏安曲线。可知还原峰和氧化峰的峰电压均在 20~

—20mV 范围内,且二者峰电流接近 1:1,峰形对称,且基线较平,在附近没有其他干扰。还原曲线的基线比较平缓,因此本研究采用还原峰的峰电流进行 NaFeEDTA 的定量分析。

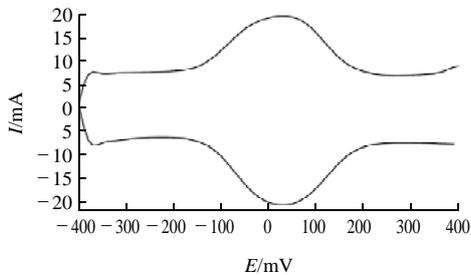


图2 NaFeEDTA 的循环方波伏安谱图

Fig.2 Cyclic square wave voltammogram of NaFeEDTA

## 2.3 底液条件的选择

### 2.3.1 pH 值的选择

表1 不同 pH 值溶液中的 NaFeEDTA 峰电流

Table 1  $I_p$  of NaFeEDTA in solutions with different pH values

pH	2.0	2.5	3.0	3.4	4.5	5.9
峰电流/mA	12.77	13.8	15.41	12.5	11.84	6.35

将不同 pH 值的 0.5mol/L 的磷酸缓冲溶液 2mL,加入 50mL 的容量瓶中再分别加入氯化钠溶液和 10mL 1g/L 的 NaFeEDTA 溶液,定容到 50mL,进行方波扫描,测出的峰电流结果见表 1。可以看出,当 pH 值为 3.0 时的峰电流最大。同时发现在不同 pH 值溶液中,峰电位均为 20mV 左右, pH 值对峰电位没有影响。故选择实验缓冲溶液的 pH 值为 3.0。

### 2.3.2 缓冲组分的选择

表2 不同缓冲溶液组分中 NaFeEDTA 的峰电流

Table 2  $I_p$  of NaFeEDTA in different buffers

缓冲液组分	冰醋酸	磷酸	酒石酸	三氯乙酸
峰电流/mA	10.53	15.29	13.23	12.20

分别取 pH 3.0 的 0.5mol/L 的酒石酸溶液、三氯乙酸溶液、冰醋酸溶液、磷酸溶液 2mL,加入 50mL 的容量瓶中再分别加入氯化钠溶液和 10mL 1g/L 的 NaFeEDTA 溶液,定容到 50mL。由表 2 可以看出,磷酸作为缓冲液组分时峰电流最大,故选择磷酸作为缓冲溶液。

### 2.3.3 缓冲液浓度的选择

表3 在不同浓度缓冲溶液中扫描 NaFeEDTA 的峰电流

Table 3  $I_p$  of NaFeEDTA in buffers with different concentrations

磷酸缓冲液浓度/(mol/L)	0.005	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14
峰电流/mA	14.67	14.64	15.54	14.19	12.88	11.74	10.21	9.90	9.81

由表 3 可以看出,当缓冲液浓度为 0.02mol/L 时测出的峰电流最高,因此选择此浓度为最佳的缓冲液浓度。

## 2.4 干扰实验

### 2.4.1 食品添加剂的影响

硫酸亚铁和三氯化铁为常用的铁强化剂,苯甲酸钠、山梨酸钾为食品中常用的防腐剂,柠檬酸为酱油中常见的有机酸,而亚铁氰化钾为食盐中使用的抗结剂。本研究在实验条件下对,这些物质对 NaFeEDTA 的检测产生干扰进行实验。200mg/L 的铁氰化钾、亚铁氰化钾、三氯化铁、硫酸亚铁、柠檬酸、苯甲酸钠、山梨酸钾和 NaFeEDTA 溶液,在实验条件下的方波伏安曲线见图 3。结果发现,铁氰化钾、亚铁氰化钾的伏安曲线峰电流比较明显,但峰电压与 NaFeEDTA 有 300mV 以上的差异,而其他添加剂没有明显的还原峰。因此使用方波伏安法可以对上述离子进行区分,对 NaFeEDTA 进行定性分析,食品中的其他添加剂不会产生干扰。

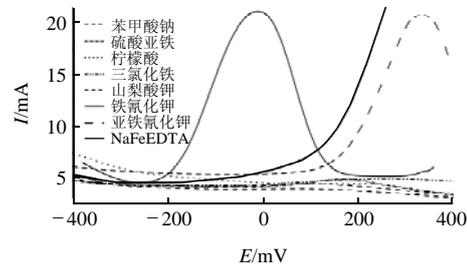


图3 NaFeEDTA 和其他食品添加剂的方波伏安谱图

Fig.3 Square wave voltammogram of NaFeEDTA and other food additives

### 2.4.2 氯化钠浓度的影响

实验发现试液中的氯化钠浓度对峰电流会产生较大影响,表 4 是在不同浓度的氯化钠溶液中,200mg/L 的 NaFeEDTA 溶液的峰电流值。由表 4 可以看出,试液中氯化钠浓度为 0.030mol/L 时峰电流最高,氯化钠浓度过大会使峰电流降低。酱油、食盐等食品中氯化钠含量较高因此对这类样品进行测定时,应采用标准加入法进行检测,以消除氯化钠浓度差异的影响。

表4 不同浓度氯化钠溶液中 NaFeEDTA 的峰电流

Table 4  $I_p$  of NaFeEDTA in sodium chloride solutions with different concentrations

氯化钠浓度/(mol/L)	0	0.015	0.030	0.060	0.090	0.120
峰电流/mA	11.11	11.96	12.04	9.90	9.85	9.65

### 2.5 标准曲线

在优化的实验条件下,质量浓度为10~200mg/L的NaFeEDTA标准系列溶液的方波扫描曲线见图4。峰电流( $I_{pc}$ )/mA与质量浓度( $C$ )/(mg/L)的线性关系良好,其线性回归方程为 $I_{pc} = 0.0769C - 0.3025$ ,相关系数 $r = 0.9997$ 。试液中NaFeEDTA的检出限为4mg/L( $R_{SN} = 3$ )。

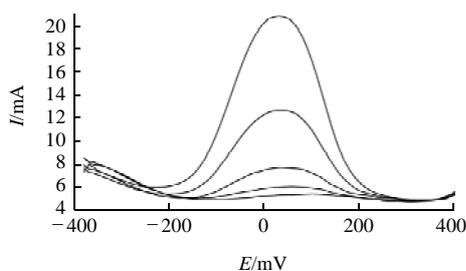


图4 NaFeEDTA标准系列溶液的方波伏安图

Fig.4 Square wave voltammograms of NaFeEDTA standard series

### 2.6 样品处理与检测

NaFeEDTA强化酱油为我国销售范围最广的含有NaFeEDTA的食品。酱油的成分十分复杂,其中的氨基酸、蛋白质、有机酸等干扰物较多。实验发现,如不经处理,直接将酱油样品加入底液中进行检测,则基线会产生很大波动无法准确定量,因此需要对酱油进行净化。固相萃取法为复杂样品净化的常用方法,而酱油先经过离心可去除蛋白质等大分子质量的杂质,这样可以避免固相萃取柱因吸附样品杂质过多而超载<sup>[7]</sup>。实验发现,酱油样品在酸性条件下离心,得到的沉淀量较大,因此本实验选择在pH3.0的磷酸溶液中进行离心。样品经离心后取上清液进萃取柱,样品中大分子和非极性物质均可被固相萃取柱吸附,而FeEDTA<sup>-</sup>则不被保留直接流出,再用5mL水对萃取柱进行冲洗将FeEDTA<sup>-</sup>完全冲出。根据GB 2760—1996《食品添加剂使用卫生标准》,NaFeEDTA在铁强化酱油中的添加量为1.75~2.10g/L。取2mL酱油样品经处理后,试液中NaFeEDTA溶液质量浓度为70~84mg/L,处于本方法的线性范围以内。

在实验条件下,对NaFeEDTA添加量为2.00g/L的铁强化酱油样品重复测定6次,其峰电流的相对标准偏差为2.1%,平均回收率为93.5%。食盐可不用进行预处理,将样品溶解于底液中直接测量,在实验条件下,对NaFeEDTA添加量7.54g/kg的铁强化食盐样品重复测定6次,其峰电流的相对标准偏差为2.8%,平均回收率为96.8%。

NaFeEDTA在奶粉中的允许添加量为460~760mg/kg<sup>[6]</sup>,在面粉中的允许添加量为180~360mg/kg<sup>[11]</sup>,含量要比在酱油和食盐中小,而干扰成分众多。直接用该方法检测奶粉和面粉,灵敏度较低而干扰太严重,

因此对于上述两种食品的电化学检测方法还需要进一步的研究。

### 3 结论

在pH值为3的磷酸溶液中,通过循环伏安曲线,可判断FeEDTA<sup>-</sup>在该条件下的氧化还原反应为可逆反应。利用方波伏安法可实现对NaFeEDTA的准确检测。铁强化酱油经离心、固相萃取过滤后即可进行测定,铁强化食盐可溶解后直接测量。本方法具有操作简便、选择性强的特点,可用于酱油和食盐中NaFeEDTA的测定。

### 参考文献:

- [1] 王波,詹思延,夏愔愔,等.乙二胺四乙酸铁钠与硫酸亚铁改善铁缺乏的效果比较:对照试验的系统评价[J].现代预防医学,2011,38(7):1240-1243.
- [2] 刘鲁林,许中敏,常欣,等.乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)在改善铁营养状况和预防铁缺乏性贫血方面的研究[J].中国食品添加剂,2010(2):119-123.
- [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] 魏峰,霍军生,孙静,等.两种铁强化食盐中乙二胺四乙酸铁钠的检测方法研究[J].中国调味品,2009,34(4):94-96;105.
- [5] 苏文斌,兰瑞家.铁强化酱油中NaFeEDTA含量的测定[J].食品科学,2008,29(6):308-311.
- [6] 魏峰,霍军生,狄蕊,等.奶粉中乙二胺四乙酸铁钠的检测方法及其稳定性研究[J].食品工业科技,2011(4):379-382.
- [7] JENNIFER S K, ANDREW C Y, ANA I G, et al. A rapid method for iron determination in fortified foods[J]. Food Chemistry, 2001, 75(3): 371-376.
- [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] KARI F G, HILGER S U, CANONICA S. Determination of the reaction quantum yield for the photochemical degradation of Fe-(III) EDTA: implications for the environmental fate of EDTA in surface waters[J]. Environ Sci Technol, 1995, 29(4): 1008-1017.
- [10] LUCENA J J, BARAK P, HERNANDEZ A L. Isocratic ion-pair high-performance liquid chromatographic method for the determination of various iron(III) chelates[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 727(2): 253-264.
- [11] 魏峰,狄蕊,李文仙,等.面粉中NaFeEDTA的HPLC检测方法[J].粮油食品科技,2007,15(4):56-57.
- [12] GONZÁLEZ I, IBÁÑEZ J G, CÁRDENAS M A, et al. The electrochemical behavior of the Fe(II)-Fe(III) system in the presence of EDTA at pH = 4.3[J]. Electrochim Acta, 1990, 35(9): 1325-1329.
- [13] KENICHI S, RYAN H, MARK D E, et al. Cyclic voltammetric and aqueous equilibria model study of the pH dependant iron(II/III) ethylenediaminetetraacetate complex reduction potential[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2007, 603(1): 44-50.
- [14] UGO P, MORETTO L M, RUDELLO D, et al. Trace iron determination by cyclic and multiple square-wave voltammetry at nafion coated electrodes. application to pore-water analysis[J]. Electroanalysis, 2001, 13(8/9): 661-668.
- [15] 李彦,张文德.单扫极谱法测定强化酱油中NaFeEDTA含量与标准方法的比较[J].中国卫生检验杂志,2008,18(6):1067-1068;1090.
- [16] GONZÁLEZ J, SOTO C M, MOLINA A. Square wave voltammetry and volt coulometry applied to electrocatalytic reactions. oxidation of ferrocyanide at a ferrocene modified gold electrode[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2009, 634(2): 90-97.
- [17] 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(14):58-61.