

邻菲罗啉分光光度法测定肉制品中铁的含量

江苏农学院 王秉栋 季明 蒋原

肉与肉制品中铁的测定,除有营养学意义,还有卫生学意义。例如,对于鉴别罐头食品中铁质污染程度,可了解由于过多铁存在引起食品中脂肪的氧化,并含金属气味和使维生素分解。

本文着重介绍邻菲罗林分光光度比色法测定肉与肉制品中的铁,其方法简易、灵敏,并适合于各类型的实验室。经试验该法的精密度与准确度均为满意,其方法的平均回收率为99.75%($n=10$),标准偏差为 ± 0.936 ,变异系数为5.85%。本法与AOAC公定的原子吸收分光光度法作了比较试验,结果两者无显著性差异($P>0.05$)。

一、原理 肉样经强酸消化后,其溶液中的低价铁离子能与邻菲罗林发生络合反应,生成桔红色络合物,其颜色深浅和低价铁离子含量成正比,在一定范围内符合朗伯一比耳定律。同时,样品中高价铁离子通过加入盐酸羟胺使其还原为低价铁离子,故所测结果为肉样总铁的含量。

二、仪器与试剂

1. 72—1型或72型分光光度计(上海第二分析仪器厂)。

2. 定量瓶: 25、100、250、1000 毫升。

3. 凯氏定氮烧瓶: 100毫升。

4. 移液管: 5、10毫升。

5. 称量瓶、烧杯等。

6. 亚铁离子标准贮存液(1000 毫克/升): 精确称取 5.4965 克 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 溶于 5 毫升浓硫酸中, 然后转移至 1000 毫升定量瓶中, 用去离子水定容到刻度, 贮于聚乙烯塑料瓶中。

7. 亚铁离子标准应用液(50 毫克/升): 精确吸取 5 毫升标准贮存液于 100 毫升定量瓶中, 用去离子水定容至刻度。

8. 邻菲罗林显色液: 称取 0.36 克邻菲罗林(1,10-phenanthroline)溶于 2 毫升浓盐酸中, 再转移至 250 毫升定量瓶中, 用去离子水定容至刻度。

9. pH4.5 缓冲液: 称取 68 克醋酸钠溶于约 500 毫升去离子水中, 加入冰乙酸 28.8 毫升, 混匀后, 转移至 1000 毫升定量瓶中, 再以去离子水定容至刻度。

10. 20% 盐酸羟胺溶液: 称取 20 克盐酸羟胺溶于 100 毫升去离子水中。

11. 20% 柠檬酸三钠溶液: 称取 20 克柠檬酸三钠溶于 100 毫升去离子水中。

12. 10N 氢氧化钠溶液。

13. 2N 硫酸溶液。

14. 0.1% 对硝基苯酚指示剂: 称取 0.1 克对硝基苯酚溶于 100 毫升去离子水中。

15. 浓硫酸(A.R.)

16. 浓硝酸(A.R.)

17. 72% 高氯酸(A.R.)

三、测定方法

1. 样品处理: 准确称取肉样 5 克于凯氏烧瓶中, 加入 10 毫升浓硝酸, 5 毫升浓硫酸在电炉上加热煮解, 当硝酸即将耗尽, 样液将要炭化时, 滴加 72% 高氯酸 2~3 滴, 继续煮解, 直到样品消化完全, 再加入 20 毫升去离子水煮解驱酸, 最后冷却, 转移到 25 毫升定量瓶中, 用去离子水定容至刻度, 定容液待测。

2. 测定程序: 吸取 10 毫升样液于 25 毫升定量瓶中, 加入 20% 盐酸羟胺溶液 2 毫升、20% 柠檬酸三钠溶液 1 毫升, 滴加 2 滴 0.1% 对硝基苯酚指示剂, 混匀后, 用 10N 氢氧化钠溶液调 pH, 使样液呈淡黄色(如深黄色, 须用 2N 硫酸调回), 再加入 2.5 毫升 pH4.5 缓冲液、邻菲罗林显色液 2.5 毫升, 最后用去离子水定容到 25 毫

升，显色30分钟，于72-1型分光光度计，波长510毫微米，杯径1厘米，以空白试剂调零(同时做空白试剂试验)，比色读取吸光度，查标准曲线计算其铁含量。

3. 标准曲线制作：准确吸取铁标准应用液(50ppm)，0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0毫升于25毫升定量瓶中，分别加入2N硫酸溶液5毫升，以下操作步骤均按样品测定程序加试剂直至显色，经同样条件比色，最后记录标准系列的吸光度。以标准系列的吸光度为纵座标，标准铁应用液浓度为横座标，在数学坐标纸上绘制工作曲线。

四、计算

肉样铁含量 = $C' \times 25 \times 5 / 5$ (ppm)
 也可换算成：肉样铁含量 = $C' \times 25 \times 5 / 5 \times 10$ (mg/100g)

式中：C'为样液吸光度查工作曲线，其对应的含铁浓度(ppm)；乘25为定容体积；乘5为稀释倍数；除5为取样量。

五、小结与讨论

1. 试验证明用邻菲罗林显色测定肉中铁的方法简捷快速，其精密度与准确度均不低于AOAC公定的原子吸收分光光度法。其中重复性试验见表1，回收率试验见表2，显色的稳

表1 比色法重复性试验 (ppm)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	C.V %
测定值 (n=10)	17.00	17.13	15.25	14.87	15.25	15.25	16.75	14.87	16.75	16.75	16.10 ± 0.936	5.85

表2 比色法回收率试验 (ppm)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均回收率 (%)
肉样铁含量	33.5	33.5	34.0	34.5	34.5	37.5	37.5	37.0	34.0	35.0	
加入标准铁含量	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	
实际测得铁含量	73.0	73.0	73.0	74.5	74.5	79.5	76.75	76.75	73.0	76.5	
实际回收铁量	39.5	39.5	39.0	40.0	40.0	42.0	39.0	39.5	39.0	41.5	
回收率 (%)	98.75	98.75	97.50	100.00	100.00	105.00	97.50	98.75	97.50	103.76	99.75

表3 比色法与原子吸收法比较试验 (ppm)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
比色法肉样测定值	15.25	15.50	14.87	14.50	15.50	17.13	17.75	15.25	15.25	15.88
原子吸收肉样测定值	15.37	15.37	14.50	14.50	15.37	17.38	17.28	15.37	15.37	17.38
t 检验	① $Sd = \sqrt{\frac{\sum(d-d)^2}{n(n-1)}} = 0.2057$ ② $t = \frac{d}{sd} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{sd} = -0.11424$ ③ $df = 9$ 查 t 值表 $t_{0.05} = 2.262$, $t_{0.01} = 3.250$ $t < t_{0.01}$ 即 $p > 0.05$ 不显著									

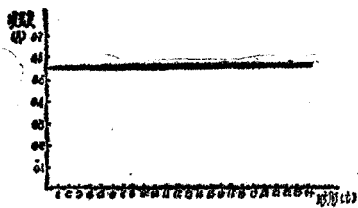


图1 显色稳定时间示意图

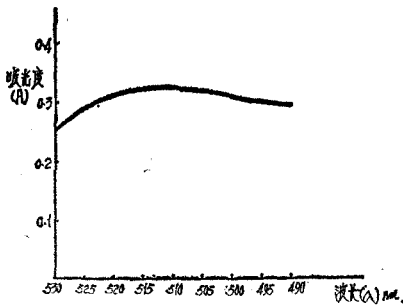


图2 最佳吸收波长的选择示意图

定性见图1，最佳吸收波长见图2，本法的线性见图3，本法与原子吸收分光光度法比较见表3。

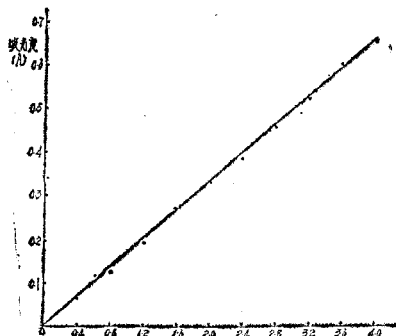


图3 比色法线性范围示意图

2. 邻菲罗啉显色反应通常在醋酸盐缓冲液中完成，加入柠檬酸三钠是为了防止某些弱酸

介质中水解的阳离子(Ti、Al和Bi)沉淀。

3. 该法显色的最佳pH范围为3~9，本法中加入pH4.5缓冲液，将反应的pH范围固定在pH4.5，并选用了pH指示剂对硝基苯酚，当pH4.5时应为无色，故于比色无影响。

4. 为了使样液中的高价铁还原为低价铁，最好在缓冲液加入前，先加入盐酸羟胺，如顺序颠倒，可使还原反应变慢。

5. 在消化过程中，当硝酸快消耗尽时，应及时添加过氯酸，一次2~3滴为宜，当过氯酸快消耗完时，重新滴入，不必一次加的太多。

参考资料

上海商品检验局主编：《食品化学分析》上海科学技术出版社1979。

用于蛋类保鲜的被膜及其制法

本发明提出用糖化率25以下的淀粉水解产物、酪朊钠(或天然糊料)、乳化剂和油脂的组成物，复盖在食品表面形成被膜，具有在食品表面密封性良好、不发粘的性能，且不会向食品内部渗透和扩散，对食品保鲜极为有效。

本发明的食品被膜组成物有二种：一是乳状液，一是粉末。乳状液长期稳定，容易在食品表面涂布，经简单风干即形成被膜。粉末便于运输和贮存，长期保存完全不变质，使用时将其分散在水中形成稳定的乳状液，同样具有优良的被膜保鲜性能。

本发明的乳状液涂布于蛋类表面，形成干燥的被膜，可防止蛋内二氧化碳散逸，防止蛋内容物pH值上升，防止浓厚蛋白水化，防止蛋内气室增大和蛋内容物水分损失。另外，被膜增强了蛋壳的强度，使蛋类在运输过程中显著降低蛋壳的损伤率。

本发明的被膜不向蛋壳内部渗透和扩散，这和液体石蜡完全不同。若将本发明的乳液、

液体石蜡、椰子油分别加入油溶性桔黄色素后，在蛋壳上进行涂布染色，干燥后再将蛋切开，结果发现：用液体石蜡和椰子油作染色被膜时蛋壳内部均已着色，而用本发明的乳液作染色被膜则蛋壳内部完全不着色。

本发明所用的糖化率在25以下的淀粉水解产物，是将各种淀粉用适宜的酸或酶(或二者同时)进行水解来制备。所用的淀粉如：甘薯、土豆、玉米、木薯、小麦、大米等的淀粉。所用的酸和酶如盐酸、草酸和 α -淀粉酶。水解淀粉的代表性制法，如20~40%的原料淀粉，最好是在30~38%的淀粉悬浮液中加入酸和酶，在高压釜中连续水解，得到所希望的糖化率的淀粉水解产物。上述水解反应首先用酸反应，在达到所要求的糖化率之前要一度停止反应，用碳酸钙将水解液中和到pH值为5~7，然后加入 α -淀粉酶进行酶的水解反应。由于反应中途要进行加压蒸煮，故 α -淀粉酶会失去活性因而需继续加入新的 α -淀粉酶来进行酶