

多波长光谱法测定红糖中总铁和亚铁的含量

李劲劲¹, 赵璧秋², 农立忠², 蔡碧云², 黄立新¹

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广州市华侨糖厂, 广东广州 510760)

摘要: 国家标准采用原子吸收光谱法测定食品中铁含量, 其前处理需要灰化等步骤, 操作繁琐, 耗时耗能, 测的为总铁的含量。本文建立了一种三波长邻菲罗啉显色法测定红糖总铁和亚铁含量的方法, 先将红糖直接溶解成一定浓度的红糖溶液, 然后按照邻菲罗啉显色法并基于 423、510 和 700 nm 波长处的吸光度测出总铁的含量, 并进行了红糖中总铁含量的回收率试验。红糖溶液在不添加还原剂的情况下按照相同方法测出亚铁的含量。该方法能够有效扣除了红糖中多种色素以及基线漂移对结果的影响, 结果发现试验的红糖样品, 其中总铁的含量为(13.65±0.29) mg/kg, 亚铁含量为(13.29±0.18) mg/kg, 以二价铁为主, 占总铁含量 98% 以上; 红糖中总铁含量的回收率约 103%。本方法避免了灰化前处理时的繁琐, 测定较简便, 结果准确, 适用于生产企业使用。

关键词: 红糖; 铁含量; 亚铁; 三波长可见光谱法

文章编号: 1673-9078(2017)3-274-278

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.041

Determination of Total Iron and Ferrous Contents in Brown Sugar by Triple-wavelength Spectrophotometry

LI Jin-jin¹, ZHAO Bi-qiu², NONG Li-zhong², CAI Bi-yun², HUANG Li-xin¹

(1.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Guangzhou Huaqiao Sugar Factory, Guangzhou 510760, China)

Abstract: Determination of the total iron content in foods by atomic absorption spectrometry (the national standard method used) requires ashing during pretreatment, which renders the entire operation tedious and time and energy consuming. Herein, a triple-wavelength spectrophotometric method was established for determining the iron content in brown sugar. Brown sugar solutions of known concentration were mixed with phenanthroline monohydrate and then measured by triple-wavelength spectrophotometry at wavelengths of 423, 510, and 700 nm. The total iron content was then calculated from the spectral data. Using this method, the recovery rate of total iron content in brown sugar was evaluated, as well as the content of ferrous iron in brown sugar solutions lacking the reducing agent. The results showed that this method can efficiently deduce the influence of the color agent and baseline drift. The content of total iron was (3.65±0.29) mg/kg, whereas that of ferrous iron was (13.29±0.18) mg/kg. The valence state of iron in brown sugar was mainly ferrous, accounting for more than 98%. The recovery rate of the total iron content was about 103%. This simple technique, which avoids the complicated processes of the traditionally used method, is suitable for industrial applications.

Key words: brown sugar; iron content; ferrous; triple-wavelength spectrophotometry

铁是人体内必需的微量元素, 为丰富的微量营养元素之一, 中医界称之为“人体命脉中核心元素”^[1]。在人体中, 铁参加人体中多种生理代谢活动, 包括: 氧的交换、运输和 DNA 的合成; 电子信号的传递, 并以多种形式保持身体的动态平衡^[2]。缺铁会引发缺

收稿日期: 2016-01-31

基金项目: 2012 年度国家自然科学基金重点项目 (31130042); 广州市精制糖与淀粉衍生物工程技术研究开发中心资助项目华南理工大学“学生研究计划”项目、“百步梯攀登计划”研究项目

作者简介: 李劲劲 (1992-), 男, 硕士研究生, 从事食品科学与工程研究

通讯作者: 黄立新 (1967-), 男, 博士, 副教授, 主要从事碳水化合物功能化研究

铁性贫血, 并可导致血红蛋白减少, 免疫力下降, 消化吸收功能减弱, 及伴有恶心、乏力, 头晕和眼花等症状^[3]。国际铁的膳食参考量为 8 mg/d, 上限为 45 mg/d^[4]。正常人体内铁的含量约为 4~5 g, 成年男子一天需铁量为 12 mg 左右, 而青年女子一天需铁量为 18 mg 左右^[5]。人体内铁元素的获取的主要途径是依靠膳食摄取。

红糖是一种非分蜜糖, 也称为黑糖, 黄糖, 是甘蔗汁经石灰法处理后, 直接煮成不经过分蜜的褐色或者红棕色的糖^[6]。红糖相较白砂糖, 不仅保留了一些天然色素如核黄素、胡萝卜素和叶绿素等, 还保留了一些天然的营养成分如微量元素、蛋白质、维生素和

酚类物质等。其中,红糖中铁的含量远远高于白砂糖。在中国,红糖不仅仅是一种甜味剂,还是一种保健品。

《本草纲目》有记载“红糖利脾缓肝、补血活血、通淤以及排毒露”。在国内南方诸多地方,如广东客家一直把红糖作为女子月经不调或坐月子时的补品。国外研究表明,红糖中的铁极易被人体吸收,可以增加血红蛋白的数量^[7]。总而言之,红糖经常作为补血化痰和益气养血的食品,特别适合贫血者、产妇以及来月经的女性食用。

食物中的铁通常以二价铁和三价铁的形式存在。二价铁通常可直接被小肠粘膜上皮细胞所吸收,然后与脱铁蛋白形成铁蛋白,从而转运到身体的其他部位而被利用。三价铁则须在肠道内被还原成二价铁,才能被人体所吸收利用,其吸收利用率明显比二价铁低很多^[8]。

目前,测定铁含量的方法主要有邻菲罗啉显色可见分光光度法、硫氰酸钾法、原子吸收光谱法和电感耦合等离子体原子发射光谱法等。国家食品标准中铁含量的测定方法是原子吸收光谱法^[9],此方法需要较昂贵的设备,操作繁琐且分析成本高。邻菲罗啉和亚铁离子反应生成稳定的橙红色的络合物,可用于比色法测定铁,具有成本低、操作简便和准确性高等优点,所以测定红糖中铁的含量可首选邻菲罗啉显色可见分光光度法。然而红糖中的多种(天然)色素在400~600 nm波长间均有吸收,会对邻菲罗啉-铁吸光光谱产生干扰。为解决这个矛盾,可将样品灰化,再酸溶,从而去除样品有色物的干扰。但该前处理的方法操作繁琐,耗时耗能,测的也为总铁的含量。本论文研究分析红糖等溶液样品的可见光吸收光谱特点,采用三波长可见光光谱法有效排除干扰物质和基线漂移的影响^[10],可测定红糖中的总铁和二价铁的含量,又避免了灰化前处理的繁琐,适于甘蔗制糖厂日常采用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红棉纯正一级红糖(广州市华侨糖厂)。

$\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 乙酸-乙酸钠缓冲溶液($\text{pH}=4.6$), 1.0%盐酸羟胺(现配), 0.1%邻菲罗啉(现配), 1.0 mol/L 盐酸溶液。所有的试剂皆为分析纯级。

UV Power 系列紫外可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司), PHSJ-4A 实验室 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 亚铁标准溶液(0.01 mg/mL)

准确称取 0.8634 g $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 置于烧杯中, 用 50 mL、1.0 mol/L 盐酸溶液溶解后转入 1000 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。从中吸取 50 mL 该溶液于 500 mL 容量瓶中, 加 50 mL、1 mol/L 盐酸溶液, 用水稀释至刻度, 摇匀备用。

1.2.2 测定步骤

1.2.2.1 吸收曲线

分别准确移取 0.01 mg/mL 标准亚铁溶液 2.0、4.0、5.0 和 6.0 mL 至 50 mL 容量瓶中, 先加 5 mL NaAc 溶液, 2.5 mL、1.0% 盐酸羟胺溶液, 再加入 5 mL、0.1% 邻菲罗啉溶液, 加蒸馏水定容至 50 mL, 摇匀。显色 15 min 后, 用紫外可见分光光度计进行扫描, 发现其最大吸收波长为 510 nm, 计算邻菲罗啉-铁络合物在 510 nm 和其它波长处的吸光系数, 取平均值。

1.2.2.2 标准曲线

分别向 6 个 50 mL 容量瓶中移取 0.0、2.0、4.0、6.0、8.0 和 10.0 mL 铁标准溶液(0.01 mg/mL), 按上述的方法进行显色, 选用 1 cm 的吸收池, 记录紫外可见分光光度计在 510 nm 处测出其对应的吸收值。以标准铁的含量浓度(mg/mL)为横坐标, 吸收值为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.2.3 红糖溶液

称取红棉纯正一级红糖 50 g 于烧杯中, 加入 500 mL 蒸馏水充分溶解。

1.2.2.4 总铁含量的测定

分别吸取上述配制好的红糖溶液 10 mL 于两个 50 mL 容量瓶中, #1 号瓶加入 5 mL NaAc 溶液, 2.5 mL 1.0% 盐酸羟胺溶液, 再加入 5 mL、0.1% 邻菲罗啉溶液, #2 号瓶不加入邻菲罗啉溶液, 其他条件与 #1 号瓶相同。然后进行定容, 显色 15 min, 用紫外分光光度计对 #1 和 #2 号瓶的溶液进行全波长扫描, 得到“样品”的光谱曲线 #1 和“样品空白”的光谱曲线 #2。

1.2.2.5 亚铁含量的测定

按照上述测定总铁含量的方法, 只是 #1 号和 #2 号都不添加还原剂盐酸羟胺, 其他条件不变。

1.2.3 加标样回收实验

取红糖溶液各 10 mL, 3 份, 其中一份为本底, 另两份分别添加 5×10^{-3} mg 和 10×10^{-3} mg 的微量铁, 然后按照 1.2.2.4 上述方法测定加标后的总铁含量, 进行回收率测定实验。

2 结果与讨论

2.1 可见光吸收光谱的特点

按 1.2.2.1 方法配制成的标准铁溶液, 1.2.2.3 和 1.2.2.4 的方法配制成的红糖样品溶液, 其吸收光谱如图 1 所示。

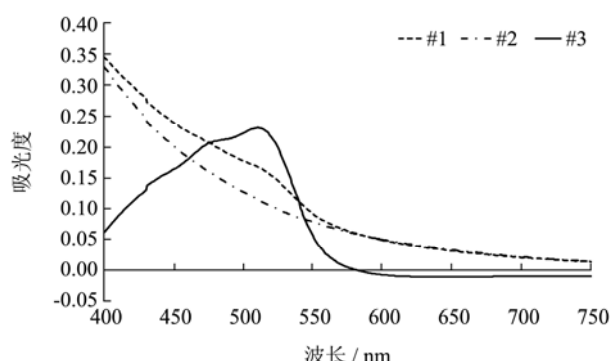


图 1 铁标准溶液吸收光谱和红糖溶液的吸收光谱

Fig.1 Spectra of the iron standard solution and brown sugar

其中“#1”为红糖溶液按邻菲罗啉显色法所得的“样品”溶液的吸收曲线, “#2”则为该红糖样品溶液在相同条件下没有添加邻菲罗啉试剂所得的“样品空白”溶液的吸收曲线, “#3”为 $[Fe^{2+}]$ 浓度为 1.2×10^{-3} mg/mL 的标准铁溶液的吸收曲线。由图可见, 受红糖中所含的各种色素物质的影响, “样品空白”在 400~750 nm 的波长范围内, 特别在 600 nm 以下有较大的吸收, 严重干扰了铁离子含量的测定 (510 nm)。“样品”的吸收光谱为“样品空白”和标准铁溶液吸收光谱的叠加。另外, 铁标准溶液吸收光谱曲线在 700 nm 处的吸光度为零, 而“样品空白”和“样品”在 700 nm 处的吸光度都大于零, 应为红糖中各种色素物质的吸收和细小颗粒物质的光散射所造成的现象。

鉴于红糖溶液样品中的各种色素物质和细小颗粒物质的光散射对铁含量的检测存在着上述干扰, 因此在建立红糖样品溶液中铁含量的三波长可见光光谱测定方法时, 必须将上述这些因素的影响都扣除, 才能够准确地测定出红糖样品中的铁含量。

2.2 三波长光谱法的建立

基于上述的讨论分析, 图 1 中“样品”在波长 510 nm

表 1 不同浓度的铁离子溶液的吸光系数

Table 1 Absorption coefficients in samples with different iron ion concentrations

吸光系数/(mL/mg)	铁离子浓度/(mg/mL)		铁离子浓度/(mg/mL)		吸光系数/(mL/mg)
	0.4×10 ⁻³	0.8×10 ⁻³	0.4×10 ⁻³	0.8×10 ⁻³	
ϵ_3	97.4	87.8	ϵ_3	97.4	87.8
ϵ_4	200	180	ϵ_4	200	180

1.2.2.1 的步骤方法, 发现不同浓度的邻菲罗啉-亚铁络合物的最大吸收波长都是 510 nm, 与参考文献资料相同。经三次平行测定计算, 结果见表 1, 得到不同浓度的邻菲罗啉-亚铁络合物在 423 nm 和 510 nm

处的吸光度是邻菲罗啉-亚铁络合物、红糖样品中的各种色素物质以及基线漂移的加和, 因此在 510 nm 处扣除红糖溶液中色素干扰物和基线漂移的影响, 便可准确计算出红糖样品中的铁含量。对图 1 中的标准亚铁溶液的吸收光谱曲线的分析可见, 邻菲罗啉-亚铁络合物在 423 nm 处的吸光系数 ϵ_3 是其在 510 nm 处的吸光系数 ϵ_4 的一半。由于紫外分光光度计的稳定性所引起的基线漂移的程度在不大的波长范围内是相差不大的, 故在 423 和 510 nm 波长处的吸光度均可减去 700 nm 波长处的吸光度, 从而扣除基线漂移对测定的影响。因此, 未加邻菲罗啉的红糖样品溶液在 423 和 510 nm 处的吸光度比值 K, 即:

$$K = \epsilon_1 / \epsilon_2 = (A_{423} - A_{700}) / (A_{510} - A_{700}) \quad (1)$$

就可用加邻菲罗啉显色后的样品在 423 nm 处的吸光度扣除原样品 510 nm 波长处对铁含量测定的干扰。其中, 式中 ϵ_1 和 ϵ_2 分别是红糖色素干扰物在 423 和 510 nm 处的吸光系数, 单位是 mL/mg。

根据色素干扰物与邻菲罗啉-铁络合物的吸光度和浓度的关系, 可知:

$$A_{423} - A_{700} = \epsilon_1 C_1 + \epsilon_3 C_2 \quad (2)$$

$$A_{510} - A_{700} = \epsilon_2 C_1 + \epsilon_4 C_2 \quad (3)$$

式中, C_1 是红糖色素干扰物的浓度, 单位是 mg/mL, C_2 是邻菲罗啉-铁络合物的浓度, 单位是 mg/mL, ϵ_3 和 ϵ_4 分别是邻菲罗啉-亚铁络合物在 423 和 510 nm 处的吸光系数, 单位是 mL/mg。

联立上述各个式子, 可得红糖样品中铁离子的浓度 (mg/mL):

$$C_2 = [K(A_{510} - A_{700}) - (A_{423} - A_{700})] / (K - 0.5) \epsilon_4 \quad (4)$$

试样的铁含量 w (mg/kg) 按下面的公式计算

$$w = 50C_2 / 1.0 \times 1000 \quad (5)$$

式中, 50 为容量瓶的体积, mL; 1.0 为 10 mL 红糖样品溶液中含有红糖的量, g。

综上所述为三波长光谱法测定铁含量的方法。

2.3 计算式中系数的确定

处的平均吸光系数, ϵ_3 为 92.6, ϵ_4 为 188.5。

经三次平行测定计算, 按照公式 (1) 计算所得的红糖样品的 K 值, 结果见表 2。从表 2 结果可见红糖 (总铁) 样品的 K 值十分接近, 平均值为 2.53, 相对

标准偏差为 2.30%。

表 2 红糖(总铁)样品的 K 值

K 值	测定次数		K 值	测定次数	
	1	2		1	2
红糖	2.60	2.50	红糖	2.60	

2.4 红糖总铁含量的测定

邻菲罗啉-亚铁络合物在 510 nm 处的吸光系数 ϵ_4 的平均值结果见表 1, 为 188.5, 红糖(总铁)样品的 K 值的平均值结果见表 2, 为 2.53。按 1.2.2.4 总铁含量的测定和 2.2 三波长光谱法的建立的方法, 将以上数据代入公式(4)中可得出总铁离子浓度的方程:

$$C_2 = [2.53(A_{510} - A_{700}) - (A_{423} - A_{700})] / 382.66 \quad (6)$$

经测定, 红糖(总铁)样品的吸光度均值为 $A_{423} = 0.293$, $A_{510} = 0.168$, $A_{700} = 0.018$, 根据以上数据和公式(6)可计算出红糖中总铁离子浓度 C_2 为 0.2731×10^{-3} mg/mL, 再则按公式(5)计算可得红糖样品中总铁的含量为: (13.65 ± 0.29) mg/kg。

2.5 红糖亚铁含量的测定

按照上述 1.2.2.4 总铁含量的测定, 只是#1 号和#2 号都不添加盐酸羟胺试剂, 其他条件不变。邻菲罗啉可与亚铁离子形成稳定的络合物, 添加具有还原性的盐酸羟胺试剂能够保证红糖溶液体系中的三价铁离子也转化成亚铁离子, 因此, 在不添加盐酸羟胺的情况下, 该邻菲罗啉显色可见分光光度法测定的主要是红糖溶液体系中存在的亚铁离子的含量。在不添加盐酸羟胺的情况下, 按照 2.2 三波长光谱法建立中的思路与方法, 可测得红糖(亚铁)样品的 K 值, 结果见

表 4 红糖中总铁回收率的测定结果

Table 4 Iron recovery from brown sugar

样品	本底值($\times 10^{-3}$ mg)	加入量($\times 10^{-3}$ mg)	测定值($\times 10^{-3}$ mg)	回收率/%
红糖	13.65	5	19.07	108.4
	13.65	10	23.40	97.5

3 结论

本文建立了一种三波长邻菲罗啉显色法测定红糖总铁和亚铁含量的方法, 先将红糖直接溶解成一定浓度的红糖溶液, 然后按照邻菲罗啉显色法并基于 423、510 和 700 nm 波长处的吸光度测出总铁的含量, 并进行了红糖中总铁含量的回收率试验。红糖溶液在不添加还原剂的情况下按照相同方法测出亚铁的含量。红糖中总铁的含量为 (13.65 ± 0.29) mg/kg, 亚铁的含量为 (13.29 ± 0.18) mg/kg, 可见红糖中铁的价态主要

表 3。从表 3 可知样品的 K 值十分接近, 平均值为 2.52, 相对标准偏差为 2.03%。按照 2.2 三波长光谱法的建立中的思路与方法可得出亚铁离子浓度的方程:

$$C_3 = [2.52(A_{510} - A_{700}) - (A_{423} - A_{700})] / 380.77 \quad (7)$$

表 3 红糖(亚铁)样品的 K 值

K 值	测定次数		K 值	测定次数	
	1	2		1	2
红糖	2.58	2.51	红糖	2.58	

经过测定, 红糖(亚铁)样品的吸光度均值为 $A_{423} = 0.261$, $A_{510} = 0.157$, $A_{700} = 0.022$, 根据以上数据和公式(7)可计算出红糖中亚铁离子浓度 C_3 为 0.2658×10^{-3} mg/mL, 按公式(5)计算可得红糖样品中亚铁的含量为 (13.29 ± 0.18) mg/kg。食物中的铁的价态通常以二价铁和三价铁的形式存在。二价铁离子通常可直接被小肠粘膜上皮细胞所吸收, 然后与脱铁蛋白形成铁蛋白, 从而转运到身体的其他部位而被利用。三价铁离子则须在肠道内被还原成二价铁, 才能被人体所吸收利用, 所以三价铁的吸收利用率明显比二价铁低很多。可见在本红糖样品之中, 亚铁占总铁含量的比例超过 98%, 其中的铁的形态以二价铁为主, 含有很少量的三价铁。

2.6 红糖中总铁回收率的测定

回收率计算结果见表 4, 其中本底值为红糖溶液 10mL 按照上述 2.4 总铁含量的测定方法测出的总铁含量, 另两份分别添加 5×10^{-3} mg 和 10×10^{-3} mg 的微量铁, 然后按照 1.2.2.4 上述方法测定加标后的总铁含量。可见红糖中总铁的回收率约 103%。

以二价铁为主, 含量比例超过 98%, 含有少量的三价铁; 其次, 红糖中总铁的回收率约为 103%。该方法克服了国家标准采用的原子吸收光谱法中灰化前处理的繁琐, 且可测定红糖样品的总铁和亚铁含量, 具有仪器成本低、操作简便及测定快速准确等优点, 适用于相关的生产企业和科研机构对红糖中总铁和亚铁含量的测定。

参考文献

- [1] 战春玲, 王庆宇, 李倩男. 中草药中铁含量的测定与药效分

- 析[J].广东微量元素科学,2007,14(8):25-27
- ZHAN Chun-ling, WANG Qing-yu, LI Qian-nan. Determination of iron content in Chinese herbal medicine and drug efficacy analysis [J]. Guangdong Trace Element Science, 2007, 14(8): 25-27
- [2] 刘志成.营养与食品卫生学[M].北京:人民出版社,1987
- LIU Zhi-cheng. Nutrition and food hygiene [M]. Beijing: People Press, 1987
- [3] Mannar V, Gallego E B. Iron fortification: country level experiences and lessons learned [J]. J. Nutr., 2002, 132(4 Suppl): 856S-858S
- [4] Kennedy E, Meyers L. Dietary Reference Intakes: development and uses for assessment of micronutrient status of women-a global perspective [J]. Am. J. Clin. Nutr., 2005, 81(5): 1194S-1197S
- [5] 张朝华,贾存英.富铁元素与人体健康[J].微量元素与健康研究,2002,19(3):41
- ZHANG Chao-hua. JIA Cun-ying. Iron rich elements and human health [J]. Study on Trace Elements and Health, 2002, 19(3): 41
- [6] GB/T 9289-2010,制糖工业术语[S]
- GB/T 9289-2010, Terminology in sugar industry [S]
- [7] Walter R J. Health effects of non-centrifugal sugar (NCS): A review [J]. Sugar Tech., 2012, 14(2): 87-94
- [8] 陈清,卢国呈.微量元素与健康[M].北京:北京大学出版社,1989
- CHEN Qing, LU Guo-cheng. Trace elements and health [M]. Beijing: Peking University press, 1989
- [9] GBT 5009.90-2003,食物中铁、镁、锰的测定[S]
- GBT 5009.90-2003, Determination of iron, magnesium and manganese in foods [S]
- [10] 陈海祥,胡会超,曾嘉欣,等.一种检测木质纤维素原料中铁含量的三波长可见光谱法[J].光谱学与光谱分析,2013,33(9):2566-2569
- CHEN Hai-xiang, HU Hui-chao, ZENG Jia-xin, et al. A triple-wavelength visible spectroscopic method for determination of iron content in lignocellulosic materials [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(9): 2566-2569