

# 反相高效液相色谱法测定罐头食品中 乙二胺四乙酸的残留量

施旭霞, 陈笑梅

(浙江进出口商品检验局, 浙江 杭州 310012)

**摘要** 将罐头食品捣碎后用水稀释, 加氯化铜溶液和抗坏血酸, 用水定容, 过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜后立即供液相色谱分析, 在 254 nm 波长处测定。色谱柱: Hypersil ODS (125 mm  $\times$  4 mm i. d., 5  $\mu\text{m}$ ) 流动相: 水-甲醇 (体积比为 80:20), 含有 20 mmol/L 四丁基溴化铵, 0.03 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH 4), 流速 0.8 mL/min, 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。EDTA 在 10 mg/L ~ 400 mg/L 范围内呈线性。方法回收率为 95.5% ~ 98.9%, 其 RSD 为 0.82% ~ 1.32%。

**关键词** 高效液相色谱法; 乙二胺四乙酸; 罐头食品

中图分类号: O658; O657.7; TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2000)05-0445-03

## 1 前言

乙二胺四乙酸 (简称 EDTA) 是一种强络合剂。食品中金属离子的存在会促使某些食品形成褐点。EDTA 加入后会与金属离子络合, 形成稳定的络合物, 可防止食品褐变。但 EDTA 对人体有害, 国外对 EDTA 在食品中的残留量有限量规定。日本规定罐头食品中 EDTA 的残留 (以乙二胺四乙酸二钠钙计) 不得超过 250 mg/kg, 饮料中不得超过 35 mg/kg。我国每年有大量的出口到日本的板栗罐头需要进行 EDTA 的残留量检验。测定不同介质中 EDTA 的方法有比色法、滴定法和高效液相色谱法<sup>[1~3]</sup>。滴定法和比色法很难将 EDTA 络合物和其他络物区分, 测定结果不能令人满意。高效液相色谱法一般通过检测 EDTA 的金属络合物 EDTA-Fe 或 EDTA-Cu 对 EDTA 进行测定。本文通过检测 EDTA-Cu 进行测定, 又利用 EDTA-Fe 络合物的稳定系数高于 EDTA-Cu 络合物而加入三价 Fe, 使 EDTA-Cu 络合物分解形成 EDTA-Fe 络合物, 从而确证 EDTA 的存在。方法简便、快速、灵敏, 适合出口食品中 EDTA 检验的需要。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器和试剂

HP1100 高效液相色谱仪 (配有紫外检测器)

除另有规定外, 试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

**CuCl<sub>2</sub> 溶液** 将 110 mg CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 溶于 30 mL 冰醋酸中, 用水稀释至 100 mL; **FeCl<sub>3</sub> 溶液** 将 173 mg FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 溶于 30 mL 冰醋酸中, 用水稀释至 100 mL; **乙二胺四乙酸标准溶液**: 准确称取适量的乙二胺四乙酸二钠, 用水配成质量浓度为 10 g/L (以乙二胺四乙酸二钠钙计) 的标准储备液, 用前以水稀释至适当浓度作为标准工作液; **淋洗液**: 甲醇。

### 2.2 样品处理

称取捣碎的试样约 2 g (精确至 0.01 g) 或饮料 10 mL (精确至 0.1 mL) 置于 25 mL 容量瓶中, 加水至近 20 mL, 用超声波提取 5 min, 加氯化铜溶液 2.5 mL 和抗坏血酸 20 mg, 用水定容, 混匀后过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 清液立即供液相色谱测定。

### 2.3 色谱分析

**2.3.1 色谱条件** 色谱柱: Hypersil ODS 5  $\mu\text{m}$ , 125 mm  $\times$  4 mm i. d. 流动相: 水-甲醇 (体积比为 80:20), 含有 20 mmol/L 四丁基溴化铵, 0.03 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH 4), 流速 0.8 mL/min, 检测波长 254 nm, 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

**2.3.2 色谱测定** 根据样液中乙二胺四乙酸含量的情况选定峰面积相近的标准工作溶液。标准溶液和样液中 EDTA 的响应值均应在仪器检测的线性范围内。标准溶液和样液等体积穿插进样测定。在上述色谱条件下, EDTA 的保留时间约为 8.3 min。

收稿日期: 1999-08-16; 修回日期: 1999-11-18

作者简介: 施旭霞 (1963-) 女, 工程师。

通讯联系人: 陈笑梅 (1965-) 女, 高级工程师, 电话 (0571) 8381111-62004。

### 3 结果和讨论

#### 3.1 色谱条件的确定

文献报道的高效液相色谱条件有的需要色谱柱适应的 pH 值的范围宽,有的要求柱温在 50 ℃。我们摸索了流动相的条件,利用普通的 ODS 柱在室温条件下进行检测。试验表明,EDTA-Cu 络合物在 240 nm~260 nm 时有较大吸收,故确定 254 nm 为检测波长。

#### 3.2 提取效率试验

将标样添加到糖水板栗中,添加质量浓度为 400 mg/L,混匀,放置 24 h 后进行超声波提取。超声 5 min 后,进行净化处理及高效液相色谱测定,回收率达到 96.6%。

#### 3.3 净化条件的确定

因 EDTA 及其络合物系水溶性,因此可用水来提取。将提取液过滤膜,滤液中加入还原剂使 EDTA 与铜形成络合物,便可作高效液相色谱分析。

#### 3.4 EDTA 的确认试验

根据 EDTA-Cu(II)和 EDTA-Fe(III)稳定系数的差异,可确证是否存在 EDTA。若存在 EDTA,按照测定方法可检测到 EDTA-Cu 络合物的色谱峰(见图 1)。但在供 HPLC 分析的试液中加入 FeCl<sub>3</sub> 溶液,EDTA-Cu 络合物将分解,形成更稳定的 EDTA-Fe(III)络合物,在色谱图上,EDTA-Cu 络合物的色谱峰将消失,出现 EDTA-Fe(III)络合物的色谱峰(见图 2)。用此方法可确证 EDTA 的存在。

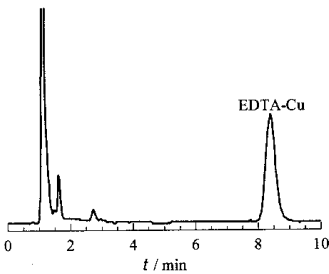


图 1 EDTA-Cu 络合物的色谱图  
Fig.1 Chromatogram of EDTA-Cu complex

#### 3.5 线性关系

在本方法所确定的条件下,EDTA 在 10 mg/L~400 mg/L 范围内进行色谱测定,并绘制标准曲线,得峰面积(Y)与质量浓度(X,mg/L)的线性方程为  $Y =$

$1.13 \times 10^{-1} X + 2.64 \times 10^{-4}$ ,  $r = 0.999$  ( $n = 6$ )。试验结果表明,本方法所选的 3 个添加水平均在方法的线性范围内。

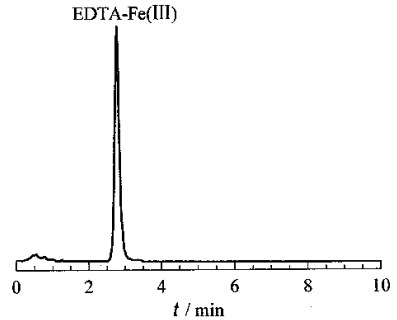


图 2 EDTA-Fe(III)络合物的色谱图  
Fig.2 Chromatogram of EDTA-Fe(III) complex

#### 3.6 测定低限

本方法对罐头食品和饮料的测定低限分别为 100 mg/kg(见图 3)和 15 mg/kg(见图 4)。

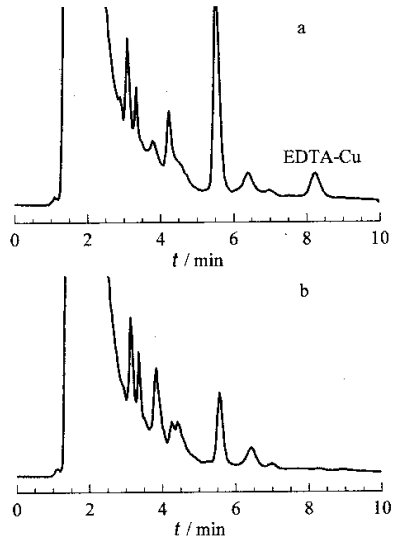


图 3 糖水板栗的色谱图  
Fig.3 Chromatograms of sugared chestnut  
a. 添加 100 mg/kg 的 EDTA(spiked with 100 mg/kg EDTA); b. 空白样品(blank sample)

#### 3.7 回收率及精密度试验

采用添加法测定回收率及精密度。在 2 g 糖水板栗中分别添加 100 mg/kg、250 mg/kg 和 400 mg/kg 的 EDTA,平均回收率分别为:98.9%、95.5% 和 95.8% ( $n = 3$ ),RSD 分别为:1.32%、1.11% 和 0.82% ( $n = 10$ )。在 10 g 苹果汁中分别添加 15

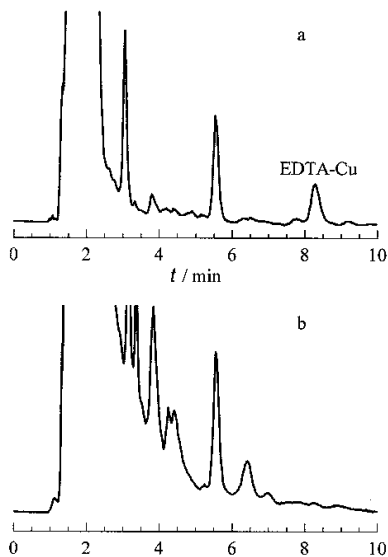


图 4 苹果汁的色谱图

Fig.4 Chromatograms of apple juice

a. 添加 15 mg/kg EDTA( spiked with 15 mg/kg EDTA ) b. 空白样品( blank sample )

mg/kg ,35 mg/kg和 70 mg/kg的 EDTA ,平均回收率分别为 96.5% ,96.6%和 95.9%( n = 10 ) ,RSD 分别为 : 1.30% ,1.09%和 1.14%( n = 10 )

### 3.8 实验室间协同试验

分别在糖水板栗样品和苹果汁中添加乙二胺四乙酸标准品 ,添加水平分别为 100 mg/kg ,250 mg/kg ,400 mg/kg 和 15 mg/kg , 35 mg/kg , 70 mg/kg。将上述样品分别送达 5 个实验室 ,经有关

技术人员对该测定方法进行评定 ,认为其操作简便 ,易掌握 ,重现性好 ,灵敏度高。测试结果见表 1。

表 1 回收率协同试验结果\*

Table 1 Collaboratory test results\*

实验室 Lab No.	糖水板栗 Sugared chestnut			苹果汁 Apple juice		
	A	B	C	D	E	F
1	99.5	93.1	95.0	98.5	95.8	94.1
	97.2	95.4	95.9	97.6	97.4	95.2
	99.4	96.4	94.4	99.1	96.9	95.7
2	99.6	94.8	96.7	97.3	96.7	94.7
	97.9	96.7	93.9	98.1	94.8	93.9
3	100.2	93.5	96.8	95.1	95.2	95.4
	96.2	96.2	96.3	97.9	94.7	95.0
	95.1	93.8	94.8	96.6	96.5	93.8
4	98.8	94.1	94.5	98.8	96.8	95.8
	94.5	99.0	92.3	98.2	93.9	93.0
5	98.1	99.6	100.6	99.7	99.7	98.7
	97.5	96.2	95.5	98.4	97.0	96.0
	96.0	96.6	94.7	94.4	94.6	93.7

\* 添加水平( spiked level X mg/kg ):A. 100 ; B. 250 ; C. 400 ; D. 15 ; E. 35 ; F. 70。

### 参考文献 :

- [ 1 ] De Jong J ,Van Polanen A ,Driessen J J M. J Chromatogr , 1991 ,553 :243-248
- [ 2 ] Stållberg Olle ,Arvidsson Torbjörn. J Chromatogr A ,1994 , 684 :213-219
- [ 3 ] Mika Sillanpää ,Raimo Kokkonen ,Marja-Liisa Sihvonen. Analytica Chimica Acta , 1995 ,303 :187-192

## Determination of EDTA Residue in Canned Food Products by RP-HPLC

SHI Xu-xia , CHEN Xiao-mei

( Zhejiang Imp & Exp Commodity Inspection Bureau , Hangzhou 310012 , China )

**Abstract :** The homogenized sample is diluted with water. After adding copper( II ) chloride solution and 20 mg of ascorbic acid , dilute the sample to the volume with water. After thorough mixing and microfiltration over a 0.45 μm filter , the filtrate is ready for injection into the HPLC system and detected at 254 nm. The 125 mm × 4 mm i. d. chromatographic column is packed with Hypersil ODS 5 μm , eluted with a mobile phase of water-methanol ( 80 : 20 , V/V ) containing 20 mmol/L tetrabutyl ammonium bromide , 0.03 mol/L sodium acetate buffer ( pH 4 ) at a flow rate of 0.8 mL/min. The injection volume is 20 μL. The response value was linear between 10 mg/L-400 mg/L. The recovery was 95.5%-98.9% . The RSD was 0.82%-1.32% .

**Key words :** high performance liquid chromatography ; ethylenediaminetetra-acetic acid( EDTA ) ; canned food