

光谱滴定法在蜂蜜酸度测量中的应用评价

关朝亮¹, 吕萍萍¹, 汪海波¹, 宋喜臣¹, 王宗莹¹, 何浩¹, 桑琳¹, 张玥¹, 王飞^{2*}

(1.绥芬河海关综合技术中心, 黑龙江 牡丹江 157399; 2.秦皇岛海关技术中心, 河北 秦皇岛 066000)

摘要: 可见光光谱滴定技术 (VSTT) 是由我国学者首次提出的滴定分析理论, 测量可见光全谱同步吸收变化, 用光谱滴定曲线的凸变峰标示滴定终点的突跃, 实现了有色滴定分析的自动化、数字化, 是滴定分析领域的新突破。目前, 光谱滴定法的应用研究还处于空白状态, 本文首次利用光谱滴定法测定蜂蜜中酸度, 通过精密度、准确性、检出限等指标验证了方法的可行性, 证明了光谱滴定可代替感官滴定的可操作性, 为 VSTT 的应用研究提供了有价值的参考, 进一步发展 VSTT 或将成为解决化学研究、检验检测等行业问题的新的技术手段。

关键词: 光谱滴定法; 蜂蜜酸度

1 引言

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露, 与自身分泌物混合后, 经充分酿造而成的天然甜物质。它有很好的保健效果及药用价值, 具有抗菌、抗氧化、调节血糖、预防龋齿、促进酒精代谢、缓解感冒症状、润肠通便、调节血压等诸多功效^[1]。现在市场上蜂蜜种类繁多, 品质优劣不等, 而酸度是衡量蜂蜜及其制品是否变质的重要指标之一^[2]。

目前对蜂蜜中酸度的测定主要有两种方法, 分别为电位滴定法^[3]和酸碱指示剂滴定法^[4]。电位滴定法是用酸度计测定终点, 有较高的准确度和精密度, 避免溶液颜色干扰, 但低浓度溶液测量准确性不好。酸碱指示剂滴定法属人工感官滴定, 一般用酚酞作为指示剂, 要用人眼对颜色变化进行判断滴定终点, 存在难以统一变色评价条件、个人对终点变色的文字描述理解不同、无法量值溯源终点颜色等问题, 会给结果判定带来诸多问题, 所以也对检测人员的技术和经验有着较高要求, 容易产生误差。

可见光光谱滴定技术 (Visible Spectral Titration Technology, VSTT) 是新发明技术, 有效实现了滴定过程中的颜色数值化、图形化技术, 通过化学反应过程中发生的光谱变化进行物质结构表征, 同时对滴定参数同步记录, 实现滴定终点的量值溯源, 避免颜色变化不明显、不同人员检测等因素所产生的颜色判断误差, 给出更低的检出限^[6]。VSTT 在蜂蜜中酸度的测定应用尚未见报道, 本文对蜂蜜中酸度含量进行了研究。

2 实验部分

2.1 测试样品

俄罗斯进口椴树蜜及向日葵蜜。

2.2 仪器与试剂

SX-Z-3.3 光谱测定仪（秦皇岛水熊科技有限公司）；XP205 电子天平（瑞士梅特勒公司）；水浴锅（北京盈盛恒泰科技有限责任公司）；德国宾德恒温干燥箱 M53；25mL 碱式滴定管等。

氢氧化钠（优级纯，天津科密欧化学试剂有限公司），邻苯二甲酸氢钾基准试剂（99.95%-100.05%，天津市光复科技发展有限公司），酚酞（99.3%，伟业计量）。

2.3 试验方法

2.3.1 样品的制备

未结晶的样品搅拌均匀。有结晶析出的样品，将样品瓶盖塞紧后，置于不超过60℃的水浴中温热，待样品全部溶化后，搅匀，迅速冷却至室温以备检验用。

2.3.2 溶液的制备

0.01 mol/L 氢氧化钠标准溶液，按照 GB/T 601 配制 0.1 mol/L 并标定，临用时，用无二氧化碳的水稀释至 0.01 mol/L。0.01 mol/L^[5]。

酚酞指示剂（1%乙醇溶液）：称取 1 g 酚酞用 95% 乙醇定容至 100 ml，混合均匀^[4]。

2.3.3 酸度的光谱滴定原理

滴定过程中的不同离子成分的改变引起被测物结构的改变，同步使吸收光谱发生变化（颜色变化），该变化点为国标的滴定终点。VSTT^[6] 用色变曲线参数同步描述颜色变化轨迹，用数字化、图形化的曲线标识颜色变化过程，曲线上的突变峰与吸收光谱有对应关系。

2.3.4 光谱测定仪条件

光谱范围 380 nm~780 nm， $\Delta\lambda$ 5 nm，测量周期 100 ms，积分时间 100 ms，光程 10.0 mm，滴定速率 0.167 ml/min，搅拌速度 300 转/min，靴型反应器 180 mL。

2.3.5 光谱滴定方法^[4]

在反应器中依次加入 75 ml 经煮沸后冷却的水、试样 10g（精确至 0.001g），溶解后加入 2 滴~3 滴酚酞指示剂，用氢氧化钠标准溶液滴定至终点。按式（1）计算式样的酸度：

$$X = \frac{V \times c}{m} \times 1000 \quad \dots \quad (1)$$

式中：X—试样的酸度，单位为毫升每千克（ml/kg）（消耗 1mol/L 氢氧化钠）V—依据图谱确认的滴定终点时所耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为毫升（ml）；c—氢氧化钠标准溶液的摩尔浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；m—试样的质量，单位为克（g）。

2.3.6 感官滴定方法^[4]

在烧杯中加入试样10 g，以75 ml经煮沸后冷却的水溶解后，加入2滴~3滴酚酞指示剂，用氯化钠标准溶液滴定至溶液呈粉红色，在10秒内不褪色为终点。代入公式（1）计算。

2.4 统计学处理

运用 SPSS 22.0 软件对两种方法的测定结果进行配对样本 t 检验分析，推论出差异发生的概率 P 值（即 sig 值），比较两种方法有无差异，验证所得结论的统计学意义。

3 结果

3.1 蜂蜜酸度的光谱滴定终点确认

酸度的光谱滴定过程中，CIE1976($L^*a^*b^*$)均匀彩色空间参数值的明度指数 L^* 值、红-绿色品指数 a^* 值、黄-蓝色品指数 b^* 值，均发生了相应改变，滴定终点时各数值变化明显减小，变化轨迹如下图所示：

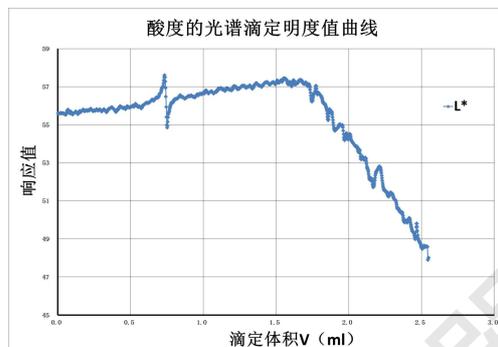


图1 酸度的光谱滴定 CIE1976($L^*a^*b^*$)曲线 V- L^*

Figure.1 Spectral titration of acidity

CIE1976 ($L^*a^*b^*$) curve V- L^*

V- a^*b^*

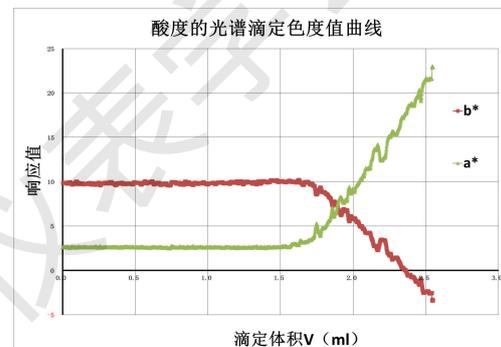


图2 酸度的光谱滴定 CIE1976($L^*a^*b^*$)曲线

Figure.2 Spectral titration of acidity

CIE1976 ($L^*a^*b^*$) curve V- a^*b^*

图1-图3表明， L^* 值在 x 轴上方，在滴定体积约 1.7ml 后开始下降，说明溶液明度在降低； L^* 值曲线整体看不平滑，有个别干扰峰，可能是在滴定过程中溶液波动从而影响了透光度。 a^* 值在滴定体积约 1.6ml 后明显增大，一直处于 x 轴上方，说明溶液颜色由无色向红色转变，并越来越深。 b^* 值在滴定体积约 1.6ml 后开始下降，在约 2.3ml 由 x 轴上方下降至 x 轴下方，说明溶液颜色由很淡的黄色渐变为很淡的蓝色。试验溶液变化为混合色，即溶液由带着很淡的黄色至几近于无色转变红色。光谱滴定颜色的测定数据与传统感官滴定人工判断颜色的变化相符。

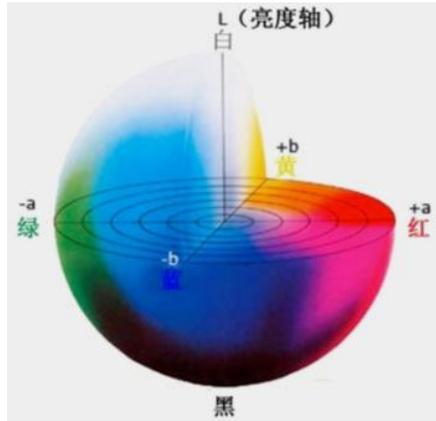


图3 CIE 1976(L*a*b*)彩色均匀空间示意图[7]

Fig. 3 Diagram of CIE 1976 (L*a*b*) color uniform space

本文采用 VSTT 的参数 G 峰值做为滴定终点[6]，更接近 a*值和 b*值的共同变色终点。以加入的滴定剂的体积 (V) 作为横坐标，以 VSTT 终点参数 G 作为纵坐标，绘制 G-V 滴定曲线，曲线上的最大峰值即为滴定终点，如图 4 所示。

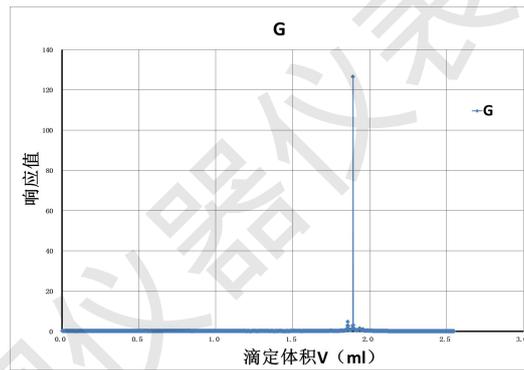


图4 光谱滴定 CIE1976(L*a*b*)曲线 G-V

Figure.4 Spectral titration of acidity CIE1976 (L*a*b*) curve G-V

3.2 光谱滴定法测定酸度的检出限

本次重复测定 10 次空白试验[7]，结果按公式 (1) 计算为样品中的酸度含量，结果见表 1，并按公式 (2) 计算方法检出限。

$$MDL = t(n-1, 0.99) \times S \dots \dots (2)$$

式中：MDL—方法检出限；n—样品的平行测定次数；t—自由度为 n-1，置信度为 99% 时的 t 分布值（单侧）；S—n 次平行测定的标准偏差[7]。

本次测定 t(10, 0.99)值为 2.821，以此计算本方法的检出限为 0.10 ml/kg，最大差异值为 0.12，在允许的差异范围 0.18±0.05 之内，符合 HJ 168—2020 标准中“检出限可允许的差异范围应在‘空白试验测定值的均值估计检出限的 1/2’以内”的要求[7]。此检出限的测定，弥

补了感官滴定法没有检出限的缺陷。

表 1 光谱滴定法测定酸度含量的检出限 (n=10)

Table 1 The detection limit of acidity in honey determined by spectrometric titration (n=10)

10 次空白测定结果 (ml/kg) results of 11 blank test (ml/kg)	平均值(ml/kg) average value (ml/kg)	标准偏差 (ml/kg) standard deviation (ml/kg)
0.22, 0.18, 0.20, 0.18, 0.10, 0.16, 0.20, 0.17, 0.20, 0.13,	0.18	0.036

3.3 样品的测定结果比对

在相同的前处理条件下, 利用感官滴定法和光谱滴定法测定样品的酸度, 同时进行样品加标回收率试验, 验证两种方法的可靠性, 具体数据见表2、表3。

表 2 样品中酸度的测定结果及 t 检验

Table 2 Determination results and t-test of acidity in honey

样品名 称 sample name	滴定方法 titration method	测定结果 (mL/kg) determination results	平均值 (mL /kg) average value (mL /kg)	RSD (%)	双尾概率 <i>P</i> (sig.) double tail probability <i>P</i> (sig.)
椴树蜜	感官滴定法	17.32,16.85,16.93,17.15,17.13,17.24	17.11	1.048	0.114
	光谱滴定法	17.58,17.50,16.88,17.70,17.15,17.23	17.34	1.784	
向日葵 蜜	感官滴定法	29.18,30.55,28.48,29.04,29.84,30.33	29.57	2.714	0.147
	光谱滴定法	28.83,30.03,31.39,30.30,31.36,30.90	30.47	3.189	

表 3 回收率的测定结果

Table 3 Determination results of recovery rate

样品 名称 sample	样品质量 (g) sample quality (G)	冰醋酸加标量 (ml) CH ₃ COOH	滴定方法 titration method	测定值 (ml/kg) determination value(ml/kg)	回收率 (%) rate of recovery(%)
--------------------	-----------------------------------	--	-----------------------------	--	-----------------------------------

name	standard addition				
	amount(ml)				
椴树	10.0251, 10.0363, 10.0520	0.01	感官滴定法	32.70,32.17,32.32	96.3, 94.8,95.3
蜜	10.0356, 10.0571, 10.0209		光谱滴定法	32.78,33.54,33.13	94.3, 96.6,95.2
向日	10.0373, 10.0286, 10.0573	0.01	感官滴定法	44.70,45.53,44.91	96.1,98.1, 97.0
葵蜜	10.0137, 10.0441, 10.0318		光谱滴定法	46.04,46.97,46.48	96.1, 97.9, 96.7

由表2、表3可知,两种方法测定样品中酸度结果的精密度均符合SN/T 0852-2012要求(平行试验结果的允许误差为0.1) [4];两种方法测定样品中酸度结果均无显著差异($P>0.05$);感官滴定法的加标回收率为 94.8%~98.1%,光谱滴定法的加标回收率为94.3%~97.9%,符合GB/T 27404-2008中技术要求(被测组分含量1~100 mg/kg时,回收率范围90%~110%) [8],表明两种方法均准确、可靠。

参考文献:

- [1] 郝彬秀,应剑,刘婷,王春玲. 蜂蜜活性和功效的研究进展[J]. 食品研究与开发. 2015, 36(1): 148~152.
- [2] 李谦,彭佼,杨杰,白雪. 电位滴定法测定蜂蜜及其制品的酸度[J]. 贵州医药. 2008, 32(11): 1047~1048.
- [3] 北京百花蜂业科技发展股份公司,中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局.蜂蜜及其制品酸度的测定 电位滴定法 GH/T 1141-2017[S]. 北京:中国标准出版社,2018: 1~4.
- [4] 中华人民共和国浙江出入境检验检疫局,中华人民共和国上海浦江出入境检验检疫局.进出口蜂蜜检验规程 SN/T 0852-2012[S]. 北京:中国标准出版社,2013: 11.
- [5] 化学试剂 标准滴定溶液的制备 GB/T 601-2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016: 2~3.
- [6] 王飞.化学光谱滴定技术. [M]. 北京:中国标准出版社,2019: 18,25~27,55~71.
- [7] 生态环境部. 环境监测分析方法标准制订技术导则 HJ 168—2020[S]. 北京:中国标准出版社,2021: 18.