

光谱滴定法在食品钙分析中的应用研究

吕萍萍¹, 汪海波¹, 关朝亮¹, 何浩¹, 宋喜臣¹, 宋清超¹, 张玥¹, 桑琳¹, 王飞^{2*}
(1. 绥芬河海关综合技术中心, 黑龙江 绥芬河 157399; 2. 秦皇岛海关技术中心, 河北 秦皇岛 066000)

摘要: 研究光谱滴定法代替感官滴定法测定钙的可行性, 解决因其滴定终点颜色突变不明显而导致的测定结果误判。不同人员利用光谱滴定法和感官滴定法进行钙的滴定度和食品中钙含量的测定, 测定结果进行统计学分析, 并比较其结果的准确性、精密度、检出限等指标。结果表明, 光谱滴定法测定钙的滴定度 (T) 更接近理论值, 该方法测定食品中钙含量结果与感官滴定法测定结果无显著差异 ($P > 0.05$), 且其准确性、精密度均符合标准要求。光谱滴定法测定食品中钙的含量可行, 可杜绝感官滴定中所产生的颜色判断误差, 进一步研究可替代人工感官滴定。

关键词: 光谱滴定; 感官滴定; 滴定度; 钙含量

Study on the Application of Spectral Titration in the Analysis of Calcium in Food

Lv Pingping¹, Wang Haibo¹, Guan Chaoliang¹, He Hao¹, Song Xichen¹, Song Qingchao¹, Zhang Yue¹, Sang Lin¹, Wang Fei^{2*}

(1. Comprehensive Technology Center of Suifenhe Customs, Suifenhe 157399, China;

2. Technology Center of Qinhuangdao Customs, Qinhuangdao 066000, China)

Abstract: To study the feasibility of spectral titration instead of sensory titration in the determination of calcium, and to solve the misjudgment of determination results caused by the inconspicuous color mutation of titration end point. Different personnel use spectral titration and sensory titration to determine the calcium titration and the content of calcium in food. The measurement results were analyzed statistically, and the results were compared for accuracy, precision, detection limit and other indicators. The result shows the titer (T) of calcium determined by spectrometric titration was closer to the theoretical value. The results of the determination of calcium content in food by this method were not significantly different from the results of sensory titration ($P > 0.05$), and its accuracy and precision meet the requirements of the standard. The

spectrometric titration method was feasible to determine the content of calcium in food, and it can eliminate the colour judgment error generated in the sensory titration, and further research can replace the artificial sensory titration.

Keywords: Spectral titration; Sensory titration; Titration degree; Calcium content

1 引言

钙是人体必需的元素，是构成骨骼和牙齿的重要成分^[1]，人体对钙的摄入主要通过食物和水，因此食品中钙含量的测定十分重要。目前对食品中钙测定的方法有很多，主要分为化学法和仪器法，常见方法有 EDTA 滴定法^[2,3]、高锰酸钾滴定法^[4]、分光光度法^[5,6]、电感耦合等离子体质谱法^[2,3]、离子色谱法^[3]、火焰原子吸收法^[2,3]、X 射线荧光光谱法^[3]、电感耦合等离子体发射光谱法^[2,3]、离子选择性电极浓度直读法^[3]等，其中 EDTA 滴定法因其技术成熟、成本低廉被广泛应用。

EDTA 滴定法属人工感官滴定，滴定终点需要用人眼对颜色变化进行主观判断，存在颜色评价条件难以统一、对终点颜色的文字描述难以理解为感觉的颜色、终点颜色无法量值溯源等问题，给结果判定带来诸多困扰。而且，在实际滴定过程中，滴定终点的颜色突变并不明显，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 2018 年面市的原创技术，实现了滴定过程中的颜色数值化、滴定终点图形化，通过化学反应过程中发生的光谱变化进行物质结构表征^[7]，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。VSTT 在食品钙分析中应用尚未见报道，本文对食品中钙含量的光谱滴定方法的应用进行了验证，效果满意，可以替代感官滴定。

2 材料与方法

2.1 材料

市售胡萝卜、葡萄。

2.2 仪器与试剂

SX-Z-3.3 光谱滴定仪（秦皇岛水熊科技有限公司）；XP205 电子天平（瑞士梅特勒公司）；HT300 电热板（中国广州分析测试中心）；德国宾德恒温干燥箱M53，25mL 滴定管等。

碳酸钙（99.99%，上海麦克林生化科技有限公司）；盐酸（优级纯，国药集团化学试剂有限公司）；硝酸（优级纯，德国默克公司）；高氯酸（优级纯，德国默克公司）；氧化镧（优级纯，天津市大茂化学试剂厂）；氢氧化钾（≥85%，美国阿法埃莎化学试剂）；硫化钠（分析纯，天津市光复精细化工研究所）；乙二酸四乙酸二钠（分析纯，天津市科密欧化学试剂有限公司）；柠檬酸钠（分析纯，天津市光复科技发展有限公司）；钙羧酸指示剂（优级纯，上海阿拉丁生化科技股份有限公司）。

2.3 方法

2.3.1 钙的光谱滴定原理

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^[7]用色变曲线参数同步描述颜色变化轨迹，用数字化、图形化的色变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。

2.3.2 光谱滴定仪条件

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。

2.3.3 光谱滴定方法

滴定度(T)的测定：于靴型反应器中依次加入3.00 mL钙标准储备液、约80mL去离子水、1滴浓度为10 g/L的硫化钠溶液、0.1 mL浓度为0.05 mol/L的柠檬酸钠溶液、5mL浓度为3.75 mol/L的氢氧化钾溶液、3滴浓度为1g/L的钙羧酸指示剂，以约0.001mol/L的 EDTA 溶液滴定。当选定的色变曲线出现峰值时，对应的加入试剂的体积为滴定终点值。计算每毫升 EDTA 溶液相当于钙的毫克数，即滴定度 (T)^[2]。公式 (1)：

$$T(\text{mg/ml}) = \frac{C_{\text{ca}} \times V_{\text{ca}}}{V_{\text{EDTA}}} \dots \quad (1)$$

式中： C_{ca} —钙标准储备液浓度； V_{ca} —钙标准储备液使用体积； V_{EDTA} —滴定钙消耗的 EDTA 体积。

样品的测定^[2]：样品消解后定容至25 ml，分别吸取1.00mL试样消化液及空白液于靴型反应器中，以下同滴定度 (T) 的测定。公式 (2)：

$$X(\text{mg/kg}) = \frac{T \times (V_1 - V_0) \times V_2}{M \times V_3} \dots \quad (2)$$

式中： X —样品中钙的含量； T —EDTA对钙的滴定度； V_1 —滴定样品消耗的EDTA体积； V_0 —滴定空白消耗的EDTA体积； V_2 —样品定容体积； V_3 —滴定取样体积。

2.3.4 感官滴定方法^[2]

滴定度 (T) 的测定: 取0.50 mL钙标准储备液于10 mL试管中, 依次加入1滴10g/L硫化钠溶液、0.1mL 0.05mol/L柠檬酸钠溶液、1.5mL 1.25mol/L氢氧化钾溶液和3滴1g/L羧酸指示剂, 立即以约0.001 mol/L的EDTA溶液滴定, 目视至溶液由紫红色变蓝色为滴定终点, 记录所消耗的 EDTA 溶液的体积^[2]。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 钙的光谱滴定终点确认

钙的光谱滴定过程中, 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:

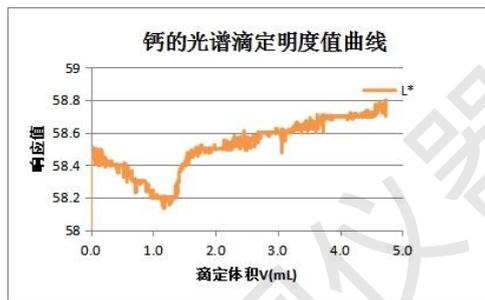


图1 钙的 CIE1976 ($L^*a^*b^*$) 曲线 V- L^*

Figure.1 CIE1976 ($L^*a^*b^*$) curve V- L^* of calcium

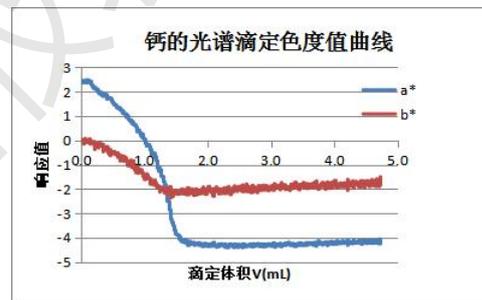


图2 钙的 CIE1976 ($L^*a^*b^*$) 曲线 V- a^*b^*

Figure.2 CIE1976 ($L^*a^*b^*$) curve V- a^*b^* of calcium

图 1-图 3 表明, L^* 值变化不大, 在 x 轴上方, 说明溶液明暗度无明显变化; L^* 值曲线不平滑, 有干扰峰, 可能在滴定过程中产生少量沉淀, 影响了透光度。 a^* 值明显减小, 由 x 轴上方下降至 x 轴下方, 说明溶液颜色由红色向蓝绿色转变; 在接近终点时变化趋于平缓, 曲线平滑, 无干扰峰。 b^* 值由 x 轴附近下降至 x 轴下方, 说明溶液颜色由淡蓝色变为蓝色; 在接近终点时变化趋于平缓, 曲线平滑, 无干扰峰。 试验溶液变化为混合色, 即溶液由红色和淡蓝色的混合色紫红色转变为蓝绿色和蓝色的混合色蓝色。 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。

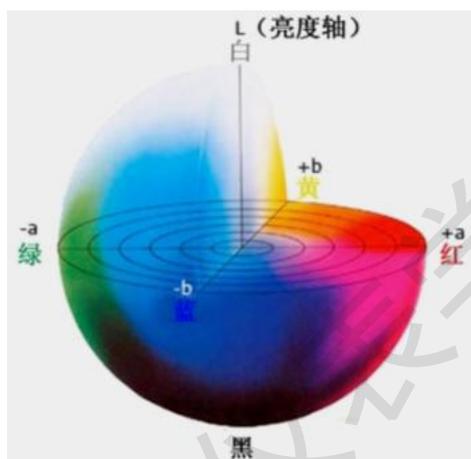


图 3 CIE 1976 ($L^*a^*b^*$) 彩色均匀空间示意图^[7]

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

本文采用 VSTT 的参数 $\Delta a^3/\Delta V^3$ 峰值做为滴定终点^[7], 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, 以光谱滴定参数 $\Delta a^3/\Delta V^3$ 作为纵坐标, 绘制 $\Delta a^3/\Delta V^3$ - V 色变滴定曲线, 曲线上的最大峰值即为滴定终点, 如图 3 所示。

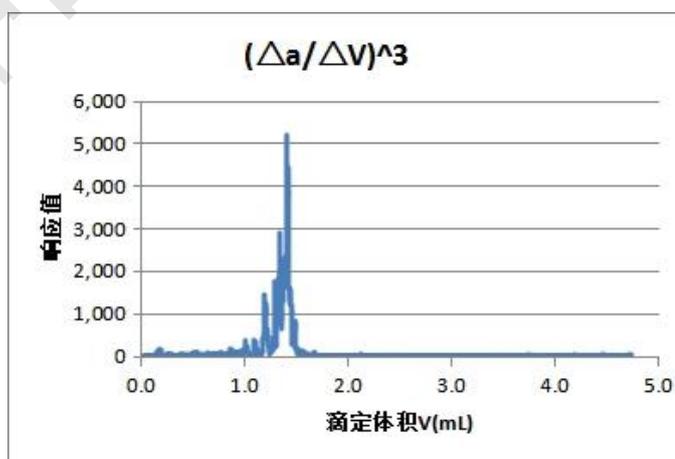


图 4 钙的光谱滴定 CIE1976 ($L^*a^*b^*$) 曲线 $\Delta a^3/\Delta V^3$ - V

Figure.4 Spectral titration of calcium CIE1976 ($L^*a^*b^*$) curve $\Delta a^3/\Delta V^3$ - V

3.2 滴定度 (T) 的测定结果比对

化学反应方程式EDTA与钙发生化学反应的摩尔配比为1:1, 也就是说理论上滴定1 mol 钙需消耗1 mol EDTA。本试验配制的钙标准储备液浓度为103.04 mg/L (钙的摩尔浓度为40.08 g/mol), 相当于0.002580 mol/L, 滴定用EDTA标定浓度为0.001068 mol/L, 理论上滴定0.50 mL钙需要消耗1.21 mL EDTA溶液可到达定终点, 滴定3.00 mL钙则需要消耗7.25 mL EDTA溶液可到达定终点, 理论滴定度 (T) 为0.0426 mg/mL。

本研究在相同条件下, 两人分别利用感官滴定法和光谱滴定法测定EDTA对钙的滴定度, 两种方法测定数据比对如表1所示:

表1 钙的滴定度 (T) 测定结果

Table 1 Determination results of calcium titer (T)

序号 sequence number	感官滴定I		光谱滴定I		感官滴定II		光谱滴定II	
	sensory titration I		spectral titration I		sensory titration II		spectral titration II	
	V_{EDTA} (mL)	T (mg/mL)	V_{EDTA} (mL)	T (mg/mL)	V_{EDTA} (mL)	T (mg/mL)	V_{EDTA} (mL)	T (mg/mL)
1	1.15	0.0448	7.321	0.0422	1.20	0.0429	7.442	0.0415
2	1.10	0.0468	7.348	0.0421	1.15	0.0448	7.319	0.0422
3	1.12	0.0460	7.287	0.0424	1.13	0.0456	7.292	0.0424
4	1.11	0.0464	7.448	0.0415	1.08	0.0477	7.408	0.0417
5	1.12	0.0460	7.279	0.0425	1.10	0.0468	7.337	0.0421
6	1.10	0.0468	7.585	0.0408	1.18	0.0437	7.435	0.0416
均值		0.0461		0.0419		0.0453		0.0419
RSD (%)		1.64		1.58		4.04		0.87

注: 1. 感官滴定法测定钙的滴定度 (T) 试剂空白为 0 mL, 光谱滴定法测定钙的滴定度 (T) 试剂空白值为 0.15 mL, 表 1 中数据为扣除空白的值; 2. 表中I代表人员 1, II代表人员 2。

由表1数据比较可知:

(1) 两人用感官滴定测定钙的滴定度 (T) 结果均值分别为0.0461、0.0453, 存在差异; 两人用光谱滴定法测定钙的滴定度 (T) 结果均值均为0.0419, 无差异。(2) 与感官滴定法

比较，光谱滴定法测定钙的滴定度（ T ）值为0.0421更接近理论值0.0426。（3）与感官滴定法比较，光谱滴定法精密度更好。

对两人员分别利用感官滴定法和光谱滴定法检测的结果进行配对样本 t 检验，如表2。

表2 钙的滴定度 t 检验

Table 2 T-test of titration degree of calcium

滴定方法 titration method	平均值 average value	标准偏差 standard deviation	t	双尾概率 $P(\text{sig.})$ double tail probabilit y $P(\text{sig.})$	95 % 差异数的置信区间 confidence interval of 95 % difference	
					上限 Upper limit	下限 Lower limit
感官I	0.0461	0.00074	8.497	0.000	0.00549	0.00294
光谱I	0.0419	0.00065				
感官II	0.0453	0.00183	4.747	0.005	0.00514	0.00153
光谱II	0.0419	0.00037				
感官I	0.0461	0.00074	1.248	0.267	0.00270	-0.00094
感官II	0.0453	0.00183				
光谱I	0.0419	0.00065	0.000	1.000	0.00054	-0.00054
光谱II	0.0419	0.00037				

注：N=6；自由度 $df=5$ 。

t 检验结果显示，同一人员用不同方法测定时结果均具有显著性差异（ $P<0.05$ ），不同人员用相同方法测定时结果均无显著性差异（ $P>0.05$ ），但不同人员用光谱滴定法测定结果的差异性小于感官滴定法（ $P_{1.000}>P_{0.267}$ ）。

以上数据说明，在测定钙的滴定度（ T ）时，光谱滴定法测定结果优于感官滴定法，感官滴定法操作对结果值影响更大，这是由于感官滴定依赖人眼主观判断，人眼对颜色的感应是不一致的。光谱滴定法对颜色的判断依据客观的参数计算，判定条件更稳定。光谱滴定法优势明显，由此法代替人工滴定法测定钙的滴定度是可行的。

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中钙的含量，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3、表4。

表3 样品中钙含量的测定结果及 t 检验

Table 3 Determination results and t-test of calcium content in samples

样品名 称 sample name	滴定方法 titration method	测定结果 (mg/kg) determination results	平均值	RSD (%)	双尾概率
			(mg/kg)		<i>P</i> (sig.) double tail probability
胡萝卜	感官滴定法	332,339,324,335,317,315	327	3.02	0.524
	光谱滴定法	325,318,331,331,312,326	324	2.33	
葡萄	感官滴定法	245,228,242,239,240,225	236	3.45	0.445
	光谱滴定法	235,241,225,225,238,231	232	2.88	

表4 回收率的测定结果

Table 4 Determination results of recovery rate

样品名 称 sample name	样品质量(g) sample quality (G)	加标量	滴定方法 titration method	测定值 (mg/kg) determination value(mg/kg)	回收率 (%) rate of recovery(%)
		(mg) standard addition amount(mg)			
胡萝卜	3.9984	1.0	感官滴定法	571,569,586	97.4, 95.0, 103.9
	3.9318				
	4.0123		光谱滴定法	555,567,564	
葡萄	4.1329	0.4	感官滴定法	337,325,346	104.3, 96.7, 105.1
	4.3587				
	3.8265		光谱滴定法	327,320,337	

由表3、表4可知，两种方法测定样品中钙含量结果的精密度均符合GB 5009.92-2016要求 ($\leq 10\%$) [2]；两种方法测定样品中钙的含量结果均无显著差异 ($P>0.05$)；感官滴定法

的加标回收率为 96.7%~105.1%，光谱滴定法的加标回收率为92.6%~99.7%，基本符合 GB/T 27404-2008中技术要求（被测组分含量>100 mg/kg时，回收率范围95%~105%）^[8]，表明两种方法均准确、可靠。

3.4 光谱滴定法测定钙的检出限

本次测定重复 11 次空白试验^[9]，测定结果按公式（2）计算为样品中的钙含量，结果见表 5，并按公式（3）计算方法检出限。

$$MDL = t_{(n-1, 0.99)} \times S \dots \dots \quad (3)$$

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^[9]。

本次测定 $t_{(10,0.99)}$ 值为 2.764，以此计算本方法的检出限为 25.3 mg/kg，最大差异值为 28.8，在允许的差异范围 40.7±12.7 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^[9,10]。光谱滴定法测定食品中钙的检出限（25.3 mg/kg）小于国标 GB 5009.92 中 EDTA 滴定法的检出限（100 mg/kg）。

表 5 光谱滴定法测定钙含量的检出限（n=11）

Table 5 The detection limit of calcium content determined by spectrometric titration (n=11)

11 次空白测定结果 (mg/kg) results of 11 blank test (mg/kg)	平均值 (mg/kg) average value (mg/kg)	标准偏差 (mg/kg) standard deviation (mg/kg)
41.9, 41.9, 55.0, 34.0, 47.1, 26.2, 39.3, 49.8, 31.4, 31.4, 49.8	40.7	9.17

4 结论

可见光光谱滴定技术（VSTT）是由我国学者于 2018 年首次提出的滴定分析理论，实现了有色滴定分析的数字化、图形化和自动化，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食品中钙，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。

参考文献:

- [1] 侯超,张玉柱,裴炜.钙类食品添加剂滴定检测方法研究进展[J].食品安全质量检测学报.2019(21): 7121-7125.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中钙的测定 GB 5009.92-2016[S].北京: 中国标准出版社,2017:4-6.
- [3] 苏丹丹.食品中钙的测定方法研究进展[D].山西师范大学学报(自然科学版)研究生论文专刊.2015(29):32-34.
- [4] 加建斌.高锰酸钾滴定法测定补钙制品中的钙含量[J].安徽农业科学.2007, 35(23): 7076-7077.
- [5] 李景梅, 王媛, 王巍, 等.三溴偶氮胂分光光度法测定钙[J].冶金分析, 2004,24(5): 53-55.
- [6] 李琼芳, 钟智竑, 张穗娟, 等.二溴对甲基偶氮甲磺分光光度法测定调味品中的钙[J].中国酿造,2007,174(9):58-60.
- [7] 王飞.化学光谱滴定技术.[M].北京: 中国标准出版社,2019.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督和检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.实验室质量控制规范 食品理化检测 GB/T 27404-008[S].北京: 中国标准出版社, 2008:26.
- [9] 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, 2021:8.
- [10] 秦晓娟, 李锦, 付志斌,等.自动电位滴定法测定保健食品中钙检出限的确定[J].食品安全质量检测学报,2021,12(5):1711-1714.