

离子色谱-电导检测法快速测定乳与乳制品中 硫氰酸根含量的研究

其布勒哈斯*, 李红, 王佳, 马文丽, 宋晓东
(内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司, 呼和浩特 011500)

摘要: **目的** 建立一种离子色谱-电导检测法快速测定乳与乳制品中硫氰酸根含量的方法。**方法** 样品经水和甲醇震荡提取、离心后上清液用滤膜过滤后, AS16 分离柱分离, 由 35 mmol/L 氢氧化钾溶液等度洗脱, 用电导检测器检测, 外标法定量。**结果** 方法的线性范围为 0.02~20 $\mu\text{g/mL}$, $R=0.9990$, 检出限为 0.1 mg/kg, 相对标准偏差为 0.89%~3.31%, 回收率范围为 96%~105%。**结论** 该离子色谱法快速、准确、精密度高, 适用于乳与乳制品中硫氰酸根的批量检测。

关键词: 离子色谱-电导检测法; 硫氰酸根; 测定

Study on determination of thiocyanate ion in milk and dairy products by ion chromatography-conductivity detection

QI Bu-Le-Ha-Si*, LI Hong, WANG Jia, MA Wen-Li, SONG Xiao-Dong
(Inner Mongolia Mengniu Dairy(Group)Company Limited, Hohhot 011500, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid method for the determination of thiocyanate ion in milk and dairy products by ion chromatography (IC) method. **Methods** The samples were extracted by water and methanol, then centrifuged, supernatant fluid were filtered by filter membrane. The samples were analyzed using AS16 column, and elution with the mobile phase of 35 mmol/L potassium hydroxide, and detected by conductivity detector, the external standard was used for quantitative. **Results** The linearity of the method was 0.02~20 $\mu\text{g/mL}$ ($R=0.9990$), the limit of detection was 0.1 mg/kg, and the relative standard deviations were 0.89%~3.31%, the average recoveries were 96%~105%. **Conclusion** This method is a rapid, accurate, and of high precision method, and is suitable for the requirements of the thiocyanate ion analysis.

KEY WORDS: ion chromatography-conductivity test; thiocyanate ion; determination

1 引言

硫氰酸钠是上个世纪 80 年代在乳制品行业中普遍使用的食品添加剂, 主要起防腐保鲜作用。其保鲜原理是硫氰酸根(SCN^-)同乳过氧化酶作用, 当加入硫氰酸根和一定的过氧化物后, 可阻断细

菌的代谢, 从而达到抑菌的作用。研究表明, 硫氰酸根的急性毒性主要是在体内释放出高毒性的氰根离子(CN^-)引起。而氰根离子在人体内会迅速与细胞色素氧化酶中的三价铁离子结合, 从而使该氧化酶失去活性, 使组织不能利用氧, 最终导致人体组织缺氧^[1]。因此, 我国于 2007 年公布的 GB

*通讯作者: 其布勒哈斯, 中级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: qibullehasi@163.com

*Corresponding author: QI Bu-Le-Ha-Si, Intermediate Engineer, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Company Limited, Shengle Economic Zone, Helingeer, Hohhot 011500, China. E-mail: qibullehasi@163.com

2760-2007《食品添加剂卫生标准》也取消了硫氰酸钠的保鲜用途,2008年12月12日卫生部又公布了《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单(第一批)》,明确规定乳及乳制品中硫氰酸钠属于违法添加物质。

目前,国内外关于硫氰酸根的检测方法主要有显色分光光度法^[6]、离子色谱法^[4]、液相色谱法^[2]、毛细管电泳法^[3]、气相色谱法和气相色谱质谱分析法^[5]和离子色谱-质谱分析法^[7]等。但分光光度法灵敏度和准确度低等缺点;液相色谱法和毛细管电泳法用SPE柱净化,采用离子对试剂形成对离子后检测;气相色谱法和气质联用法需要衍生,前处理复杂;大多数文献报道的硫氰酸根检测方法是离子色谱法。目前已报道的离子色谱法用梯度淋洗法,前处理用乙腈或丙酮等溶剂处理,用SPE小柱净化,整个过程比较复杂。本文对离子色谱-电导检测器测定乳与乳制品中硫氰酸根含量的前处理方法、淋洗液浓度和色谱柱的选择进行了研究,建立了全新的、快速、准确的检测乳与乳制品中硫氰酸根含量的检测方法。

2 材料与方法

2.1 主要仪器与试剂

离子色谱仪(美国戴安公司 ICS-2000),离心机,保护柱 Ion Pac AG16,规格为5 μm ,4.0 mm \times 50 mm;分析柱 Ion Pac AS16,5 μm ,4.0 mm \times 250 mm。ASRS-300型阴离子抑制器,4 mm;抑制器抑制模式:外接水模式;硫氰酸钾含量>99%,Alfa Aesar公司生产。超纯水(电阻率为18.2 M Ω .cm),甲醇为色谱纯,其他均为分析纯试剂。

2.2 标准溶液的配制

硫氰酸根标准储备液的配制(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$):将硫氰酸钾固体药品于80 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱内烘干2 h后放置干燥器里,准确称取干燥后的硫氰化钾0.16732 g于100 mL容量瓶中,用超纯水定容,混匀。该溶液在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱密封保存,有效期为12个月。

硫氰酸根标准中间液的配制(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确吸取1 mL后硫氰酸根标准储备液转移到100 mL容量瓶中,用超纯水定容,混匀。

硫氰酸根标准曲线的绘制:分别吸取硫氰酸根标准储备液0.25、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL于100

mL容量瓶中,用超纯水溶解并定容。此标准系列工作液浓度为0.025、0.05、0.1、0.2、0.5和1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

将硫氰酸根的标准工作液注入离子色谱仪中,得到峰面积。以峰面积为纵坐标,以标准系列工作液浓度为横坐标,绘制成标准曲线。

2.3 样品前处理方法

试验采用甲醇、乙腈和丙酮为提取溶剂,分别准确称取混合均匀的液体样品5 g或固体样品1.5 g于50 mL离心管中,固体样品先加6 mL超纯水溶解,再分别加入甲醇、乙腈和丙酮定容到25 mL,剧烈振荡提取1 min后以4500 r/min离心5 min,上清液过0.22 μm 有机系滤膜过滤后上机测定。

2.4 淋洗液浓度

在抑制型电导检测器检测无机阴离子时,淋洗液浓度对分离效果和保留时间有影响。本文分别以25、30、35、40、50、60 mmol/L氢氧化钾溶液为淋洗液进行等度洗脱试验。

2.5 仪器分析条件

流速:1.0 mL/min,柱温:30 $^{\circ}\text{C}$,检测池温度:35 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱AS16柱,进样量:100 μL 。

3 结果与讨论

3.1 前处理方法的优化

前处理方法优化试验结果表明,部分液体奶和乳粉样品用乙腈沉淀蛋白时有固体物漂浮在上面,离心后不澄清,滤膜过滤很难。丙酮提取上机测定后回收率低,提取不完全。甲醇沉淀效果较好,而且能降低硫氰酸根在色谱柱上的吸附作用,改善峰形。

3.2 淋洗液浓度的选择

淋洗液浓度的优化试验结果表明,随着氢氧化钾溶液浓度的增大,硫氰酸根保留时间变小;当氢氧化钾溶液浓度大于40 mmol/L时,保留时间缩短,目标峰附近有很多杂峰,分离度达不到要求。当淋洗液浓度25 mmol/L时保留时间太长,洗脱能力弱,目标峰的峰面积变小。当淋洗液浓度30 mmol/L-35 mmol/L范围内时目标峰和杂峰完全分开。

3.3 色谱柱的选择

化合物结构分析显示,硫氰酸根属于易极化的无机阴离子,其在阴离子交换固定相的亲合力较强。

与常规阴离子相比, 硫氰酸根在同样的色谱条件下具有较长的保留时间, 峰型不对称, 容易拖尾等现象。本文选择柱容量中等的亲水性色谱柱 AS16 柱进行分析检测。这样能改善色谱峰的峰形, 提高检测灵敏度。

3.4 方法的线性范围、回收率及精密度实验

将硫氰酸根的标准工作液注入液相色谱仪中, 得到的标准曲线和系列标液的色谱图如下图 1 所示, 硫氰酸根的系列标液浓度和对应的峰面积如下表 1 所示, 硫氰酸根在 0.02~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内, 相关性良好。回归方程为 $Y=0.5234X$, 相关系数: $r=0.9980$, 本方法最低检出限为 0.1 mg/kg 。

本研究选择内蒙古蒙牛乳业生产的纯牛奶为试验样品, 采用优化的方法进行前处理后平行测定。在试样中进行 0.1 mg/kg 、0.2 mg/kg 和 0.5 mg/kg 3 个浓度水平的加标回收试验, 每个添加水平重复测定 6 次, 回收率和精密度见表 2 所示。从测定结果可看出, 硫氰酸根回收率范围为 96.0%~105%之间; 相对标准偏

差小于 3.31%。表明本方法测定结果稳定可靠。

3.5 实际样品的测定

本文选择内蒙古蒙牛乳业生产的液体奶、全脂乳粉、奶酪、脱脂乳粉和北京海淀区产品质量监督检验所提供的质控乳粉(目标值为 21.3 mg/kg)为试验样品, 采用本文中优化的方法处理后测定的样品检测结果如表 3 所示; 为了保证本方法的分析质量, 每批检测样品时带一个质控乳粉, 不同时间测定 20 次质控样品的结果绘制的质控图如图 4 所示。从质控图可看出, 本文建立的方法质控样品的检测结果在 20.5~22.3 mg/kg 之间, 下警戒线为 20.276 mg/kg , 上警戒线为 22.324 mg/kg 。

表 1 硫氰酸根标准工作液浓度及峰面积

Table 1 Concentrations of standard solution and peak area

标液浓度	0.025	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0
峰面积	0.0122	0.0218	0.0556	0.0994	0.2486	0.5322

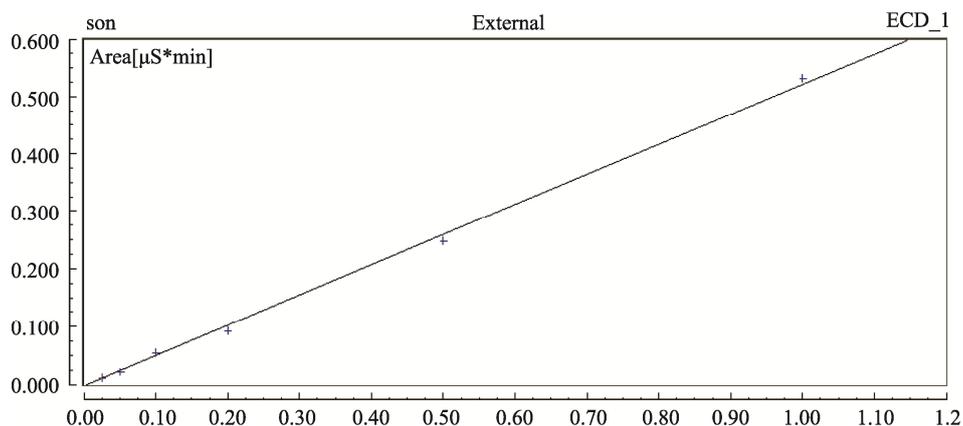


图 1 硫氰酸根标准曲线图

Fig. 1 Standard curve of thiocyanide

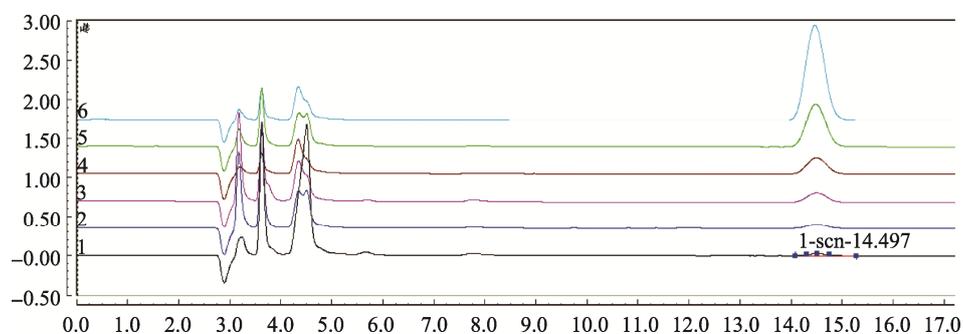


图 2 硫氰酸根标准溶液色谱图

Fig. 2 Chromatogram of thiocyanide standard solution

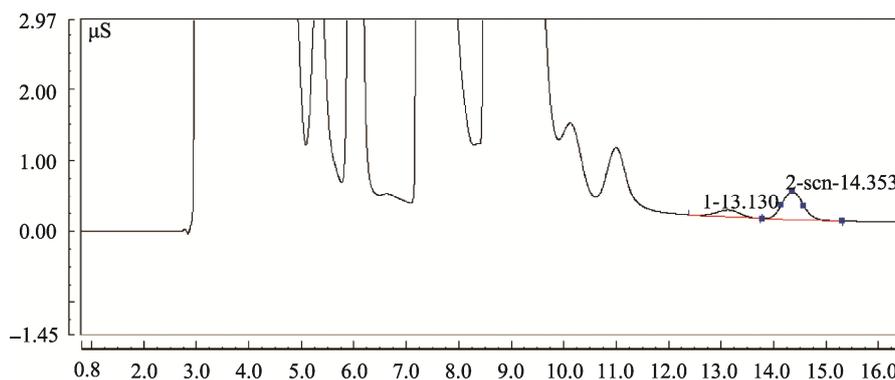


图3 牛奶样品色谱图

Fig. 3 Chromatogram of pure milk

表2 回收率和精密度试验结果(n=6)

Table 2 Results of tests for recovery and precision(n=6)

加标量 mg/kg	试样本底 mg/kg	测定值 mg/kg	回收率 (%)	RSD (%)
0.1	0.143	0.248	105	3.31
0.1	0.143	0.241	98	3.31
0.1	0.143	0.245	102	3.31
0.1	0.143	0.239	96	3.31
0.1	0.143	0.245	102	3.31
0.1	0.143	0.246	103	3.31
0.2	0.143	0.345	101	1.71
0.2	0.143	0.346	102	1.71
0.2	0.143	0.345	101	1.71
0.2	0.143	0.339	98	1.71
0.2	0.143	0.349	103	1.71
0.2	0.143	0.342	100	1.71
0.5	0.143	0.645	100	0.89
0.5	0.143	0.643	100	0.89
0.5	0.143	0.649	101	0.89
0.5	0.143	0.637	99	0.89
0.5	0.143	0.638	99	0.89
0.5	0.143	0.647	101	0.89

表3 实际样品检测结果

Table 3 The results of samples

样品编号	样品名称	检测结果 mg/kg
1	原奶	4.52
2	原奶	3.22
3	原奶	5.98
4	原奶	2.31
5	原奶	2.24
6	原奶	1.21
7	纯牛奶	3.32
8	纯牛奶	1.42
9	纯牛奶	2.05
10	特仑苏	1.71
11	特仑苏	1.9
12	未来星	2.64
13	未来星	0.94
14	核桃奶	1.78
15	核桃奶	1.23
16	婴儿奶粉	8.23
17	婴儿奶粉	9.55
18	女士奶粉	21.1
19	女士奶粉	20.5
20	奶茶粉	17.5
21	奶茶粉	16.8
22	奶酪	3.54
23	奶酪	3.99
24	奶片	5.66
25	奶片	6.21
26	脱脂粉	19.8

4 结论

本研究建立了甲醇为提取溶剂, AS16 柱为分析柱, 35 mmol/L 氢氧化钾溶液为淋洗液、等度洗脱的快速检测乳与乳制品中硫氰酸根含量的离子色谱方法。本方法相比于已报到的文献方法^[8-14], 前处理简

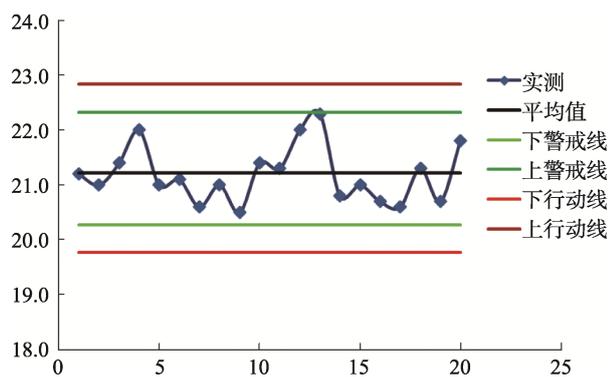


图4 质控图

Fig. 4 Quality control chart

单, 简化步骤, 提高了检测灵敏度、回收率和精密度。本文采用了氢氧根体系淋洗液比碳酸根体系淋洗液提高了检测灵敏度, 这跟已报道的文献结果一致^[15-18]。另外, 样品不经过 SPE 小柱净化, 目标峰和杂峰能很好地分开。该方法检出限低、准确度高、重现性好、易于操作, 成本低, 适用于乳及制品中硫氰酸根含量的批量检测。

参考文献

- [1] 顾欣, 黄土新, 李丹妮, 等. 乳中硫氰酸盐对人类健康的风险评估[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(9): 45-49.
Gu X, Huang TX, Li DN, *et al.* Human health risk assessment of thiocyanate in milk [J]. Chin J Vet Drug, 2010, 44(9): 45-49.
- [2] 李滢倩. 离子色谱和高效液相色谱测定牛乳中硫氰酸盐含量的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2010.
Li YQ. Study on determination of thiocyanate in milk by IC and HPLC [D]. Changchun: Jilin University, 2010.
- [3] 吴剑平. 牛乳中硫氰酸钠含量检测—高效液相色谱法与毛细管电泳法的建立[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
Wu JP. Establishment of high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for detection of thiocyanate sodium in milk [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [4] 林立, 王海波, 韩春霞. 离子色谱法测定液态奶中的硫氰酸根[J]. 粮油加工, 2010, (9): 158-160.
Lin L, Wang HB, Han CX. Determination of thiocyanate in liquid milk by ion chromatography [J]. Cereals Oils Process, 2010, (9): 158-160.
- [5] 周正香. 气相色谱-质谱法测定乳制品中的硫氰酸根[J]. 食品科学, 2012, (4): 160-163.
Zhou ZX. Determination of thiocyanate in milk and milk powder by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Sci, 2012, (4): 160-163.
- [6] 王丹慧, 高娃, 李梅. 原料乳中硫氰酸钠掺假定性检测方法[J]. 中国乳品工业, 2008, 6 (7): 57-58. Wang DH, Gao W, Li M. Adulteration qualitative detection method of sodium thiocyanate in raw milk [J]. China Dairy Ind, 2008, 6 (7): 57-58.
- [7] Dyke Jv, Kirk A B, *et al.* Sample processing method for the determination of perchlorate in milk [J]. Anal Chim Acta, 2006, 567(1): 73-78.
- [8] 李辉, 徐秀玲, 穆阿丽. 离子色谱法检测生鲜乳中硫氰酸根改进初探 [J]. 山东畜牧兽医, 2014, (3): 13-14.
Li H, Xu XL, Mu AL. The improvement for the determination of thiocyanate in milk by ion chromatography [J]. Shandong Anim Husbandry Veterinary, 2014, (3): 13-14.
- [9] 原料乳与乳制品中硫氰酸根的检测-离子色谱法[标准草案].
Determination of thiocyanate ion in raw milk and dairy products-ion chromatography [draft standard]
- [10] 李静, 王雨, 梁立娜. 混合模式色谱柱离子色谱法同时测定奶粉中的碘离子和硫氰酸根[J]. 色谱, 2010, 28(4): 422-425.
Li J, Wang L, Liang LN. Simultaneous determination of iodide and thiocyanate in power milk using ion chromatogram with mixed-mode column [J]. Chin J Chromatography, 2010, 28(4): 422-425.
- [11] 焦霞, 鲁联合, 盖学武. 离子色谱紫外检测器联用技术同时分离测定乳制品中的碘离子和硫氰酸根[J]. 化学分析计量, 2010, (1): 36-38.
Jiao X, Lu LH, Gai XW. Simultaneous separation and determination of iodide and thiocyanate in milk products by ion chromatogram with UV detector [J]. Chem Anal Meterage, 2010, (1): 36-38.
- [12] 刘玉珍, 于泓, 张仁庆. 离子液体的阴离子三氟乙酸根、硫氰酸根、四氟硼酸根和三氟甲磺酸根的离子对色谱-直接电导检测法分析[J]. 色谱, 2012, 30(4): 384-390.
Liu YZ, Yu H, Zhang QR. Determination of ionic liquid anions of trifluoroacetate, thiocyanate, tetrafluoroborate and trifluoromethanesulfonate by ion-pair chromatography with direct conductivity detection [J]. Chin J Chromatography, 2012, 30(4): 384-390.
- [13] 宋洁, 傅英文, 杜利君, 等. 顶空进样-气相色谱法检测乳制品中硫氰酸盐的含量[J]. 色谱, 2012, 30(7): 743-746.
Song J, Fu YW, Du LJ, *et al.* Determination of thiocyanate in dairy products by headspace gas chromatography [J]. Chin J Chromatography, 2012, 30(7): 743-746.

- [14] 李滢倩, 王潇, 王岩. 离子色谱法测定液体乳中硫氰酸根[J]. 轻工科技, 2014, (1): 7-8.
Li YQ, Wang X, Wang Y. IC determination of thiocyanate in liquid dairy [J]. Light Ind Sci Technol, 2014, (1): 7-8.
- [15] 武婷, 郝志伟. 离子色谱法测定鲜奶中的硫氰酸根[J]. 分析实验室, 2009, (02): 43-46.
Wu T, Hao ZW. Determination of thiocyanate in milk by ion chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 2009, (02): 43-46.
- [16] 张宝, 刘晓玲, 李东刚, 等. 离子色谱法测定液体乳制品中硫氰酸盐[J]. 理化检验, 2011, (2): 89-90.
Zhang B, Liu XL, Li DG, *et al.* IC determination of thiocyanate in liquid dairy products [J]. Phy Test Chem Anal, 2011, (2): 89-90.
- [17] 郭爱华, 王伟. 牛奶与奶粉中硫氰酸根的离子色谱法测定法中不同淋洗液体系测定的结果[J]. 职业与健康, 2013, 29(23): 64-67.
Guo AH, Wang W. Determination results of thiocyanate in milk and powder milk by different eluents of ion chromatography [J]. Occup Health, 2013, 29(23): 64-67.
- [18] 王云霞, 杜晓华, 孙丽华, 等. 离子色谱法检测乳制品中硫氰酸根离子[J]. 乳业科学与技术, 2014, (6): 34-37.
Wang YX, Du XH, Sun LH, *et al.* Determination of thiocyanate in dairy products by ion chromatography [J]. J Dairy Sci Tenchol, 2014, (6): 34-37.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



其布勒哈斯, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: qibullehasi@163.com