

文章编号:2095-6002(2013)01-0043-03

引用格式:赵文荣,李滢倩,李刚,等. 牛奶中硫氰酸盐高效液相色谱测定方法. 食品科学技术学报,2013,31(1):43-45.

ZHAO Wen-rong, LI Ying-qian, LI Gang, et al. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Thiocyanate in Milk. Journal of Food Science and Technology, 2013, 31(1):43-45.

# 牛奶中硫氰酸盐高效液相色谱测定方法

赵文荣<sup>1</sup>, 李滢倩<sup>2</sup>, 李刚<sup>1,2</sup>, 郇炜<sup>1,2,\*</sup>

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118;

2. 吉林省产品质量监督检验院, 吉林 长春 130022)

**摘要:**建立了高效液相色谱法分析牛乳中硫氰酸盐的方法. 以戴安 IonPac AS19 (4 mm × 250 mm) 阴离子色谱柱进行分离. 二极管阵列检测器测定, 流动相为 0.05 mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液 (pH 值约为 9.3), 流速为 0.8 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长 218 nm. 结果表明, 牛奶中硫氰酸盐线性范围为 5 ~ 100 μg/mL, 加标回收率为 67.1% ~ 101.8%, 相对标准偏差 ( $n=3$ ) 小于 4.4%, 最低检出限为 0.5 μg/mL.

**关键词:** 硫氰酸盐; 阴离子色谱柱; 液相色谱

**中图分类号:** TS252.1; TS207.3

**文献标志码:** A

硫氰酸盐是一种用于制药、印染、橡胶处理, 黑色镀镍等多种行业的化学分析试剂, 属于有毒有害物质, 为白色结晶或粉末<sup>[1]</sup>. 硫氰酸盐一般以硫氰酸钠的形式添加, 它易溶于水, 口服易被吸收. 加入微量的硫氰酸盐和过氧化氢, 会在牛奶中获得最好的应用抗菌的乳过氧化物酶 (LP) 体系活动<sup>[2]</sup>, 硫氰酸盐可能被非法添加到乳及乳制品中, 当作生鲜乳保鲜剂使用. 少量摄取这种牛奶可妨碍机体对碘的利用, 引起甲状腺疾病, 尤其对胎儿和婴儿的智力和神经系统发育存在较大的风险<sup>[3-4]</sup>. 自 2008 年 12 月 12 日起, 中国政府禁止将硫氰酸盐作为牛奶或其他食品的添加剂<sup>[5]</sup>. 牛乳中硫氰酸盐的检测方法有 3 种, 即目视比色法、分光光度法<sup>[6]</sup> 和离子色谱法<sup>[7]</sup>. 本研究用高效液相色谱-阴离子交换法测牛奶中的硫氰酸盐.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

市售奶粉样品 3 种, 液体奶样品 3 种, 均由超市购买. 具塞塑料离心管 1.5 mL, 江苏姜堰市新健医疗器械有限公司; 针筒式微孔过滤膜 0.22 μm.

硫氰酸钾, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公

司; 磷酸氢二钠, 分析纯, 北京化工厂; 乙腈, 分析纯, 北京化工厂; 超纯水, 自制.

### 1.2 仪器与设备

Agilent 1100 型液相色谱仪 (配自动进样器、色谱工作站、二元泵, VWD 型可见波长紫外检测器、DAD 型二极管阵列紫外检测器和柱温箱), 美国安捷伦公司; 电子分析天平 (感量 0.0001 g), 瑞士梅特勒-托利多仪器上海有限公司; 电子分析天平 (感量 0.00001 g), 德国赛多利斯科学仪器有限公司; 微量台式离心机 (转速 14 000 r/min), 美国贝克曼公司; 超纯水机, 北京湘顺源科技有限公司; 恒温鼓风干燥箱 (0 ~ 300 °C).

### 1.3 色谱条件

色谱柱为戴安 IonPac AS19 (4 mm × 250 mm) 型阴离子色谱柱, 带保护柱 IonPac AG19 (4 mm × 50 mm); 流速 0.8 mL/min, 进样量 10 μL; 柱温 30 °C; 检测波长 218 nm, 流动相为 0.05 mol/L 磷酸氢二钠, pH 值约为 9.3.

### 1.4 硫氰酸盐标准储备液配制

称取在 80 °C 下烘 2 h 的硫氰酸钾 1.674 g 于 1 000 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 混匀, 即得质量浓度为 1 000 μg/mL 的硫氰酸盐标准储备液. 将

收稿日期: 2012-08-27

作者简介: 赵文荣, 女, 硕士研究生, 研究方向为食品检测技术;

\* 郇炜, 女, 研究员, 主要从事食品检测技术方面的研究. 通讯作者.

该标准溶液于4℃保存,有效期为3个月<sup>[8]</sup>。

### 1.5 样品前处理

取奶粉样品各5g,液态奶样品各10g,用乙腈-水混合提取液定容到50mL比色管中,振荡、混匀,超声提取15min,静置,取上清液,用14000r/min离心机离心10min。用针筒式过滤器0.22μm微孔滤膜过滤,滤液置于2mL样品瓶中,待测<sup>[9-10]</sup>。

### 1.6 样品质量浓度计算

取样品和硫氰酸盐标准溶液,分别进样10μL,以标准溶液质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标作图,按外标法,在此标准曲线上查得待测试液质量浓度,计算试样中硫氰酸盐质量浓度,或在仪器数据处理工作站上直接得出试样质量浓度。

$$C_s = \frac{C_c \times S_s}{S_c} \quad (1)$$

式(1)中, $C_c$ 为标样的质量浓度(mg/mL), $S_c$ 为标样的峰面积, $S_s$ 为被测样品的峰面积<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 检测波长的确定

取配制好的硫氰酸钾标准溶液适量,分别进样。用二极管阵列紫外检测器记录色谱图和光谱图,发现在此色谱条件下的硫氰酸钾最大吸收均在218nm,故本实验以218nm作为检测波长。图1为硫氰酸钾的紫外光谱。

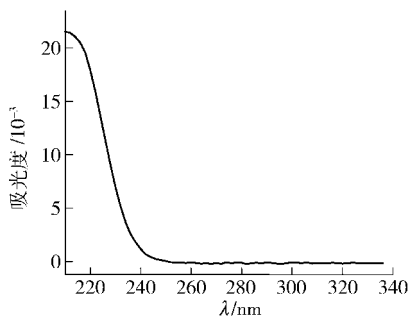


图1 硫氰酸钾的紫外光谱

Fig.1 UV spectra of potassium rhodanide

### 2.2 线性范围、回归方程和最低检出限结果

用硫氰酸盐标准中间液配制标准工作液。精密吸取硫氰酸盐标准储备液0.5,1.0,2.0,4.0,5.0,

10.0mL于100mL棕色容量瓶中,用水稀释并定容至刻度,得质量浓度为5,10,20,40,50,100μg/mL的硫氰酸盐标准溶液。标准样品硫氰酸盐色谱图如图2。分别对6种不同质量浓度的标准系列工作液进样,以峰面积 $y$ 与溶液质量浓度 $x$ (μg/mL)进行线性回归分析,标准曲线如图3。

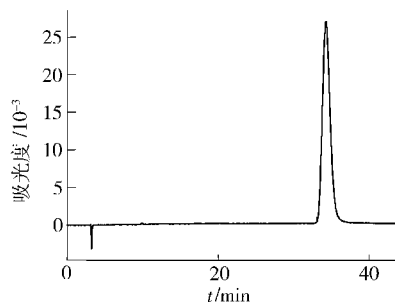


图2 标样色谱

Fig.2 Chromatograms of standard samples

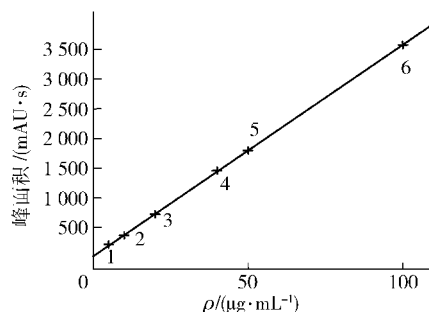


图3 硫氰酸盐标准曲线

Fig.3 Standard curve of thiocyanate

硫氰酸盐标准曲线回归方程为 $Y = 35.5x + 17.71$ , $R^2 = 0.9999$ 。根据信噪比 $R_{SN} = 3$ ,测得硫氰酸盐的最低检出限为0.5μg/mL,线性范围5~100μg/mL。

### 2.3 精密度实验结果

取50μg/mL硫氰酸盐标准溶液,依法重复进样6次,记录色谱峰面积,并求出相对标准偏差,结果见表1。

### 2.4 回收率实验结果

准确称取已知含量的样品,分别加入一定量的对照品溶液,计算回收率,结果见表2。

表1 精密度实验结果

Tab.1 Results of precision tests

硫氰酸盐标准溶液(50 μg/mL)	1	2	3	4	5	6	RSD/%
峰面积	1972.9	1933.7	1932.6	1932.8	1943.4	1902.8	1.17

表2 加标回收率实验结果

Tab. 2 Results of recovery

样品	添加量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	实测值/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
10 g 液态奶	10	9.91	99.1		
	10	9.44	94.4	98.4	3.8
	10	10.18	101.8		
5 g 奶粉	10	6.71	67.1		
	10	6.93	69.3	69.9	4.4
	10	7.32	73.2		

### 3 结 论

建立了测定牛奶中硫氰酸盐的高效液相色谱法。使用戴安 IonPac AS19 (4 mm × 250 mm) 离子色谱柱、IonPac AG19 (4 mm × 50 mm) 带保护柱作为分析色谱柱。检测波长 218 nm, 流动相为 0.05 mol/L 磷酸氢二钠, pH 值约为 9.3。该方法对硫氰酸盐分离的效果较好、保留性良好, 线性范围为 5 ~ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 加标回收率为 67.1 ~ 101.8%, 相对标准偏差 ( $n=3$ ) 小于 4.4%, 最低检出限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。精密度和回收率达到要求<sup>[12]</sup>。

#### 参考文献:

[1] 顾欣, 黄士新. 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.

[2] 国家环境保护局. GB/T 13897—92 水质 硫氰酸盐的测定 异盐酸-吡啶啉酮分光光度法[S]. 1992.

[3] 赵秀娟, 吴坤. 高效液相色谱法测定蔬菜中异硫氰酸盐含量[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(1): 103.

[4] 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.

[5] Saussereau E, Gouille J P, Lacroix C. Determination of thiocyanate in plasma by ion chromatography and ultraviolet detect ion[J]. J Anal Toxicol, 2007, 31(7): 383-387.

[6] Chen Meilan, Ye Mingli. Determination of sulfur anions by ion chromatography-postcolumn derivation and UV detection [J]. Chinese Chemical Letters, 2009(20): 1241-1244.

[7] 孟利. 高效阴离子交换色谱法测定生鲜乳中硫氰酸盐的含量[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 227-229.

[8] 姚敬, 朱杰民. 在线渗析-离子色谱法测定牛奶中硫氰酸盐[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(4): 824-826.

[9] 张宝, 刘晓玲. 离子色谱法测定液体乳制品中硫氰酸盐[J]. 理化检验-化学分册, 2011, 47(2): 211-215.

[10] 赵秀娟, 吴坤. 高效液相色谱法测定蔬菜中异硫氰酸盐含量[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(1): 103.

[11] 刘胜辉, 臧小平. 高效液相色谱法测定水果中的抗坏血酸[J]. 生命科学仪器, 2005, 3(4): 38-40.

[12] 许牡丹. 食品安全性与分析检测[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 40-41.

## High Performance Liquid Chromatographic Determination of Thiocyanate in Milk

ZHAO Wen-rong<sup>1</sup>, LI Ying-qian<sup>2</sup>, LI Gang<sup>1,2</sup>, BING Wei<sup>1,2,\*</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Jilin Province Product Quality Supervision Test Institute, Changchun 130022, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for determining thiocyanate in milk. HPLC analysis was performed on a Dionex IonPac AS19 (4 mm × 250 mm) anionic chromatography column with DAD detector, 0.05 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  solution was used as mobile phase (pH 9.3) at a flow rate of 0.8 mL/min, sample loading amount was 10  $\mu\text{L}$ , and detection wavelength was 218 nm. The method exhibited a limit of detection of 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and a linear range of 5 - 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Spike recoveries of thiocyanate in milk powder and liquid milk at two levels ranged from 67.1% - 101.8%, with RSDs ( $n=3$ ) less than 4.4%.

**Key words:** thiocyanate; Anionic chromatography column; high performance liquid chromatography

(责任编辑:叶红波)