

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>, 那炜<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

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 5 g,液态奶样品各 10 g,用乙腈-水混合提取液定容到 50 mL 比色管中,振荡、混匀,超声提取 15 min,静置,取上清液,用 14 000 r/min 离心机离心 10 min. 用针筒式过滤器 0.22 μm 微孔滤膜过滤,滤液置于 2 mL 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 10 μL,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 218 nm,故本实验以 218 nm 作为检测波长. 图 1 为硫氰酸钾的紫外光谱.

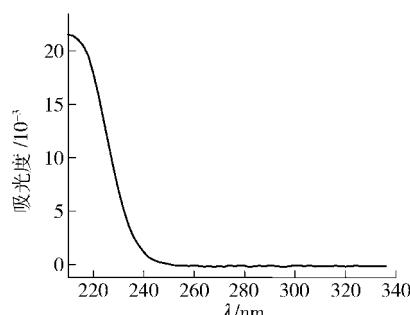


图 1 硫氰酸钾的紫外光谱

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,

10.0 mL 于 100 mL 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, 100 μg/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.

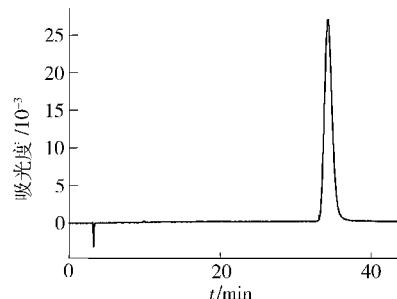


图 2 标样色谱

Fig. 2 Chromatograms of standard samples

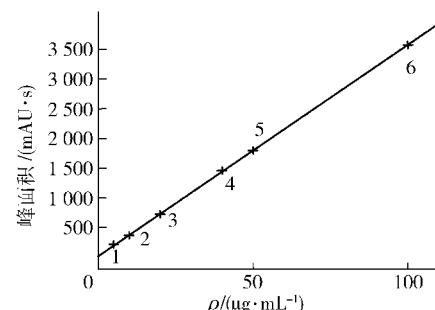


图 3 硫氰酸盐标准曲线

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 0.5 μg/mL, 线性范围 5 ~ 100 μg/mL.

### 2.3 精密度实验结果

取 50 μg/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	1 972.9	1 933.7	1 932.6	1 932.8	1 943.4	1 902.8	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-吡唑啉酮分光光度法[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, 铢小平. 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 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 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)