

# 气相色谱-质谱法测定乳制品中的硫氰酸根

周正香

(北京市丰台区产品质量监督检验所, 北京 100071)

**摘要:** 利用气相色谱-质谱联用仪对乳制品(主要指液体乳及乳粉)中硫氰酸根残留量进行测定。根据硫氰酸根能与 $\alpha$ -溴-2,3,4,5,6-五氟甲苯(PFB.Br)上的活泼溴发生取代反应的原理, 试样采用振荡提取后进行衍生, 高速冷冻离心, 衍生产物采用选择离子监测质谱扫描, 用化合物的保留时间以及质谱碎片的丰度比定性, 外标法定量。结果表明: 在定量检测范围为0.02~50.0mg/kg范围之内, 回收率、灵敏度高, 准确性与重现性良好。该方法前处理简单、易操作、成本低、分析周期短, 可作为液体乳与乳粉中硫氰酸钠的快速检测方法。

**关键词:** 硫氰酸根; 衍生; 气相色谱-质谱法; 乳制品

## Determination of Thiocyanate in Milk and Milk Powder by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHOU Zheng-xiang

(Beijing Fengtai District Products Quality Supervision and Inspection Institute, Beijing 100071, China)

**Abstract:** Gas chromatography-mass spectrometry was used to determine thiocyanate residues in dairy products (mainly liquid milk and milk powder). Samples were extracted by shaking before derivatization based on the replacement reaction of pentafluorobenzyl bromide with thiocyanate. The derivatization products were separated using a high-speed refrigerated centrifuge and scanned in the selected ion monitoring mode. Thiocyanate was qualified based on retention time and ion abundance ratio and quantified by external standard method. High recovery, sensitivity, accuracy and reproducibility were found in the quantitative range of 0.02—50.0 mg/kg. The method was characterized by simple pretreatment, easy operation, low cost and time saving, and applicable for the rapid determination of thiocyanate residues in dairy products.

**Key words:** thiocyanate; derivatization; gas chromatography-spectrometry (GC-MS); dairy products

中图分类号: TS252.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0153-04

硫氰酸钠是一种白色斜方晶系结晶或粉末, 属于高环境风险产品, 其主要用途是工业原料<sup>[1]</sup>, 在食品中不允许添加。硫氰酸根(SCN<sup>-</sup>)能抑制人体内碘的转移而引起地方性甲状腺肿<sup>[2]</sup>, 其毒性主要是通过硫氰酸氧化酶转化为氰根离子(CN<sup>-</sup>)<sup>[3]</sup>来呈现。长期接触硫氰酸钠会抑制甲状腺功能, 引起女性经期延长、血量增加。由于硫氰酸钠在生鲜乳的保鲜中能够起到一定的作用, 因此国内外都有很多关于硫氰酸钠用于生鲜乳保鲜的研究。其作用机制是以乳过氧化物酶作为催化剂, 通过过氧化氢氧化硫氰酸根, 生成具有抗菌活性的物质——次硫氰酸根离子。反应生成的次硫氰酸根可氧化细菌蛋白质的硫氢基, 使其转变为硫氧基衍生物, 并进一步水解产生次磺酸阻碍了细菌的新陈代谢, 从而达到抑制细菌生长繁殖的目的。联合国粮农组织/世界卫生组织联合食品

添加剂委员会官方文件中, 也对其用于牛奶保鲜的有效性和安全性进行了评价, 认为这种方法可以有效地延长生鲜乳的保鲜期, 但硫氰酸钠是毒害品, 过量的食入会对人体造成极大伤害。基于其有效的抑菌、保鲜作用, 硫氰酸钠成为不法奶农向原料乳或奶粉中不正当添加的物质之一。2008年12月12日卫生部发布的《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)》中明确规定乳及乳制品中硫氰酸钠属于违法添加物质。研究快速有效地检测乳制品中硫氰酸根的方法, 防范奶农或者奶站违法添加此类物质是质检部门亟待考虑的问题。

当前, 针对硫氰酸根的检测方法较多, 包括分光光度法<sup>[4]</sup>、气相色谱法<sup>[5-6]</sup>、荧光法<sup>[7-8]</sup>和离子色谱法<sup>[9-11]</sup>, 此外还有用于快速定性检测的显色法<sup>[12]</sup>等。据报道乳制品

收稿日期: 2011-02-24

作者简介: 周正香(1976—), 女, 工程师, 学士, 研究方向为食品分析与检测。E-mail: zifei725@126.com

中硫氰酸根检测主要集中在离子色谱法, 该检测方法灵敏度较低。目前, 缺乏一种能同时对乳粉与液态奶中的硫氰酸根进行定性与准确定量的检测方法, 鉴于此, 本实验拟建立液体乳与乳粉中硫氰酸根的气相色谱-质谱检测方法, 该方法根据硫氰酸根能与 $\alpha$ -溴-2,3,4,5,6-五氟甲苯(PFB.Br)上的活泼溴发生取代反应的原理<sup>[13]</sup>, 对乳制品中的硫氰酸根进行定量检测, 方法准确度和灵敏度高, 能完全满足企业及质监部门的实验要求。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

除另有说明外, 所用试剂纯度均为分析纯或以上规格。水为 GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》规定的一级水; 二氯甲烷(色谱纯);  $\alpha$ -溴-2,3,4,5,6-五氟甲苯( $C_7H_2BrF_5$ )溶液: 用二氯甲烷(色谱纯)配制成 4mL/L 溶液(PFB.Br- $CH_2Cl_2$ ), 储存于 4℃冰箱, 有效期为 1 个月; 十六烷基三甲基溴化铵( $C_{19}H_{42}NBr$ )溶液: 称取 3.644g  $C_{19}H_{42}NBr$ , 加适量水溶解, 定容至 100mL, 配制成 0.1mol/L 溶液, 使用前 30℃水浴放置至溶液澄清; KOH 溶液, 称取 56.0mg KOH, 加水溶解, 定容至 1000mL, 配制成 1mmol/L 溶液。

### 1.2 仪器与设备

GCMS-QP2010 气相色谱-质谱仪[配有电子轰击离子源(electron impact, EI)] 日本岛津公司; 分析天平(感量 0.0001g 和 0.01g) 瑞士梅特勒-托利多公司; 水浴装置(精确调节至 30.0℃并保持恒温); 高速冷冻离心机(最高转速可达 8000r/min 或以上); 离心管(15.0mL 具塞刻度离心管)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 色谱和质谱条件

色谱条件: 色谱柱: RTX-5MS 石英毛细管柱(30m  $\times$  0.25mm, 0.25  $\mu$ m); 升温程序: 120℃保持 1min, 以 4℃/min 升至 150℃, 保持 1min, 以 30℃/min 升至 220℃, 保持 1min; 载气(He)流速: 1.2mL/min; 进样量: 1  $\mu$ L; 分流进样, 分流比 1:10; 进样口温度: 250℃。

质谱条件: EI 离子源; 电离能量 70eV; 传输线温度 230℃; 离子源温度 250℃; 电离方式: 电子轰击电离; 扫描模式: 选择离子扫描, 定性离子  $m/z$  58、181、239、161, 定量离子  $m/z$  181。

#### 1.3.2 标准储备液及工作溶液配制

硫氰酸根标准物质( $SCN^-$ ): 硫氰酸钠或者硫氰酸钾(纯度大于或等于 99%); 硫氰酸根标准储备溶液(1032mg/L): 称取 103.2mg 硫氰酸根标准物质(精确至 0.1mg), 用水完全溶解后, 置于 100mL 容量瓶中, 用水定容至刻度,

混匀, 4℃条件下避光保存, 有效期为 1 个月; 标准溶液 A(206.4mg/L): 准确移取 20.0mL 硫氰酸根标准储备溶液, 置于 100mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀; 标准溶液 B(20.64mg/L): 准确移取 10.0mL 硫氰酸根标准溶液 A, 置于 100mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀; 工作液: 按表 1 分别精确移取不同体积的标准溶液 A 和标准溶液 B 于 100mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀。

表 1 标准工作溶液配制及其质量浓度

Table 1 Standard working solution preparation and concentration

标准溶液	标准溶液 B(20.64mg/L)					标准溶液 A(206.4mg/L)		
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>
标准溶液体积/mL	0.10	1.00	5.00	10.00	25.00	5.00	10.00	25.00
定容体积/mL	100	100	100	100	100	100	100	100
标准工作溶液质量浓度/(mg/L)	0.02064	0.2064	1.032	2.064	5.160	10.320	20.640	51.600

### 1.3.3 指标测定

#### 1.3.3.1 试样的制备与衍生

液体乳: 称取 2g 样品(准确至 0.01g)置于 15mL 具塞离心管中, 加入 0.2mL KOH 溶液, 0.2mL 十六烷基三甲基溴化铵溶液和 2mL PFB.Br- $CH_2Cl_2$  溶液, 剧烈摇动, 涡旋混合 2min, 30℃水浴反应 20min。反应完成后, 加水约 3mL, 涡旋混匀, 在高速冷冻离心机(4℃)8000r/min 离心 15min。取下层有机相直接上样。

乳粉: 称取 1g(准确至 0.01g)奶粉, 加入 10g(准确至 0.01g)水稀释, 混匀成液体乳。以下操作同液体乳。

#### 1.3.3.2 结果计算

定性分析: 硫氰酸根经气相色谱分离, 用气相色谱-质谱-计算机联用仪进行分析鉴定, 定性离子  $m/z$  58、181、239、161。

定量分析: 采用外标法进行定量, 定量离子  $m/z$  181。

$$X = c \times (V/m) \times 1000/1000.$$

式中:  $X$  为液体乳中硫氰酸根的含量/(mg/kg);  $c$  为从校准曲线得到硫氰酸根质量浓度/(mg/L);  $V$  为试样定容的体积(二氯甲烷)/mL;  $m$  为样品质量/g。乳粉中的硫氰酸根含量按本式计算后, 再乘以乳粉稀释倍数。

## 2 结果与分析

### 2.1 衍生条件的优化

影响衍生效率的主要因素为 PFB.Br 的用量、衍生反应时间和衍生反应温度, 分别对以上 3 个条件进行硫氰酸根加标单因素试验。

#### 2.1.1 PFB.Br 用量

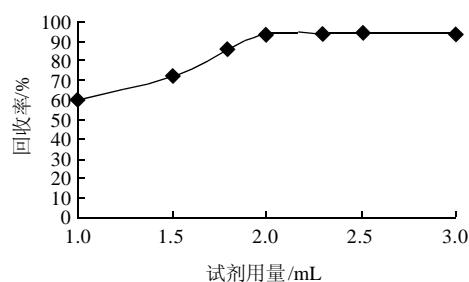


图1 衍生试剂用量对回收率的影响

Fig.1 Effect of amount of added derivatization reagent on the recovery of thiocyanate

由图1可知,在考虑试验成本的前提下,取2mL的PFB.Br时,衍生率已经达到最高。

### 2.1.2 反应温度及反应时间

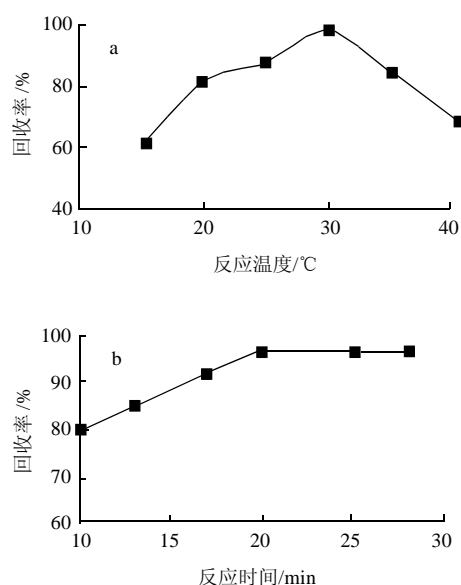


图2 反应温度(a)及反应时间(b)对回收率的影响

Fig.2 Effects of reaction temperature and time on the recovery of thiocyanate

由图2可知,在获得最高回收率的条件下,确定反应温度30℃、反应时间20min。

### 2.2 标准曲线与检出限

精确量取51.600、20.640、10.320、5.160、2.064、1.032、0.2064、0.02064mg/L的标准工作液2mL,加到15mL离心管中,然后按照1.3.3.1节的方法操作。以标准工作溶液质量浓度为横坐标、定量离子的峰面积为纵坐标,绘制校准曲线。由图3可知,标准曲线的线性相关系数为99.98%,完全能满足乳制品中硫氰酸根的检测要求。由于所检样品中均含有一定量的硫氰酸根(液体乳中硫氰酸根的含量基本都是在1~2mg/L左右,乳饮料中的含量基本都在0.5mg/L左右),针对样品基质特点,无法选择空白本底,此实验无需确定试验方法的最低检出限,结果仪器的最低检出限为0.008mg/L。

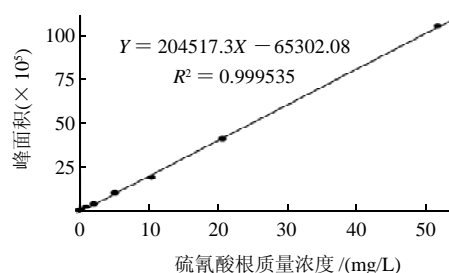


图3 硫氰酸根衍生产物标准曲线

Fig.3 Calibration curve of thiocyanate derivatives

### 2.3 回收率实验

用液态奶作为加标空白样品,选取11个浓度点,每个点做3次平行性实验,结果(表2)表明,在添加0.02~50.0mg/kg范围内,硫氰酸根的回收率在93.0%~100%之间,相对标准偏差小于7%。考虑到进样口、色谱柱、检测器等对硫氰酸根的响应范围的影响,在

表2 原料乳中添加硫氰酸盐回收率实验结果  
Table 2 Recovery of thiocyanate in blank raw milk

添加水平/(mg/L)	测定值/(mg/L)			回收率/%			平均回收率/%	标准偏差/%	相对标准偏差/%
	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>			
0.516	0.502	0.53	0.511	97.29	102.71	99.03	99.68	2.77	2.78
1.032	0.963	0.974	0.937	93.34	94.33	90.83	92.84	1.80	1.94
1.546	1.458	1.430	1.470	94.33	92.50	95.08	93.97	1.33	1.42
2.060	1.975	1.979	2.195	95.87	96.08	106.55	99.50	6.11	6.14
2.575	2.475	2.410	2.531	96.12	93.60	98.31	96.01	2.36	2.45
3.090	2.989	3.108	2.941	96.73	100.60	95.18	97.50	2.79	2.86
3.605	3.646	3.612	3.451	101.13	100.19	95.73	99.02	2.88	2.91
4.120	3.954	4.063	4.063	95.98	98.60	98.60	97.73	1.52	1.55
5.160	5.289	5.104	4.857	102.50	98.92	94.13	98.52	4.20	4.26
10.32	9.963	9.958	10.167	96.54	96.50	98.51	97.18	1.15	1.19
51.60	50.231	49.421	50.125	97.35	95.78	97.14	96.75	0.85	0.88

回收率满足实验要求的情况下, 加标水平应保持在以上数据范围之内。

#### 2.4 试样测定

按照 1.3.3.1 节的操作步骤, 检测乳制品中的硫氰酸根质量浓度, 图 4 为样品中硫氰酸根的特征离子流图及其质谱图, 可以看出, 该方法检测乳制品中的硫氰酸根时, 干扰少、定性准确, 能作为企业和检测机构准确测定硫氰酸根的有力手段。

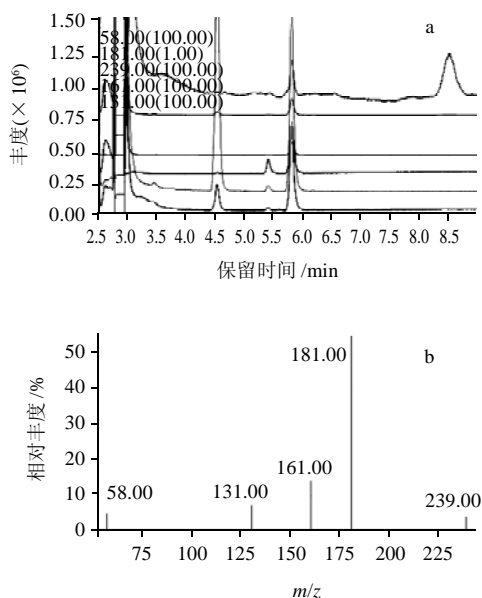


图 4 硫氰酸根衍生物特征离子流图(a)及其质谱图(b)  
Fig.4 Characteristic ion chromatogram and mass spectrum of thiocyanate derivatives

### 3 讨论与结论

由于乳制品基体相对比较复杂, 测定结果容易出现假阳性, 而质谱准确定性的特征在很大程度上减少了假阳性的出现, 减少了实验过程中的误判。气相色谱-质谱法检测灵敏度高, 比报道的离子色谱法高。乳粉及其乳制品中的脂肪含量比较高, 会有部分脂肪进入气质

联用仪, 导致衬管, 柱前端极其容易脏, 该实验过程中经常清洗衬管, 若色谱柱出现分离状况及峰形不佳时, 可以采用截取色谱柱前端来解决此类问题。

本方法是乳制品中硫氰酸根检测的快速定性定量方法, 通过对方法检出限、回收率、重现性的实验确证, 方法准确性高。本方法的建立能为质监部门和企业提供技术支持, 具有检测灵敏度高、成本低廉、检测方便快捷, 可以在乳品企业及检测机构广泛应用于液体乳与乳粉中的质量验收与质量控制, 保证市场食品的安全。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 111.
- [2] PALOMARES H J, SERRANO F O, LOPEZ R. Determination of thiocyanate ion  $\text{SCN}^-$  with electron capture detector[J]. *Analisis*, 1989, 17(6): 355-357.
- [3] TOIDA T, TOGAWA T, TANABES. Determination of cyanide and thiocyanate in blood plasma and red cell by highperformance liquid chromatography with fluorometric detection[J]. *Chromatogr*, 1984, 308 (11): 133-141.
- [4] 张贵珠, 刘善军, 何锡文. 动力学分光光度法测定痕量硫氰酸根的研究[J]. *分析化学*, 1993(8): 905-907.
- [5] 王敏. 气相色谱法测定蔬菜中硫氰酸根离子的含量[J]. *国外医学: 卫生学分册*, 1989(5): 287-288.
- [6] 刘晓宇, 云自厚. 衍生气相色谱法测定人尿和唾液微量硫氰酸根[J]. *环境与健康杂志*, 1994, 11(3): 130-131.
- [7] 孔继川, 樊静, 冯素玲. 荧光动力学法测定唾液中痕量硫氰根[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(1): 109-111.
- [8] 张贵珠, 张海清, 郭薇. 荧光动力学法测定痕量硫氰根离子的研究[J]. *分析科学学报*, 1994, 10(3): 52-54.
- [9] 张小乐, 闫金萍, 张一江, 等. 碘离子和硫氰根离子的离子交换色谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2007, 24(11): 910-912.
- [10] 史乃捷, 王茜, 李海峰. 离子色谱法检测奶粉和液态奶中的硫氰酸根[J]. *分析实验室*, 2009(增刊 2): 150-153.
- [11] 李静, 王雨, 梁立娜. 离子色谱法同时分析奶粉中碘离子和硫氰酸根[J]. *分析实验室*, 2010(5): 17-20.
- [12] 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(7): 57-58.
- [13] CHEN S H, WU H L, TANAKA M. Simultaneous gas chromatographic determination of thiocyanate, iodide, nitrite, sulphide and thiocyanate anions by derivatization with pentafluorobenzyl bromide and using a kryptand as phasetransfer catalyst[J]. *Chromatogr*, 1990, 502 (10): 257-264.