

# 液态奶中硫氰酸钠快速检测试剂盒的研制与应用

刘凤银<sup>1</sup>, 王淑娟<sup>1</sup>, 李轩<sup>2</sup>, 李家威<sup>3</sup>, 王紫薇<sup>1</sup>, 曾思敏<sup>1</sup>, 梁岳<sup>1</sup>, 穆洪涛<sup>1</sup>

(1. 广东第二师范学院生物与食品工程学院, 广东广州 510303) (2. 中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)  
(3. 广东省生物工程研究所/广州甘蔗糖业研究所, 广东广州 510303)

**摘要:** 硫氰酸钠 (NaSCN, Sodium thiocyanate) 是一种具有防腐作用的化工原料, 常被加入乳制品中以延长其货架期, 增大了安全风险。目前已报道的硫氰酸钠快速检测方法, 大多存在底色干扰严重和灵敏度低等弊端。为提高检测灵敏度, 本研究基于 SCN<sup>-</sup> 可与 Fe<sup>3+</sup> 反应生成血红色络合物的原理, 通过显色剂筛选、显色条件优化, 以模拟奶模拟牛奶基质, 经样品前处理、显色剂显色, 建立了一种 NaSCN 半定量速测管法, 并开发为快速检测试剂盒, 用于液态奶样品中硫氰酸钠残留量检测。结果表明, 最佳显色条件为: 以 2 mol/L 硝酸铁 (2 mol/L 硝酸作溶剂) 作为显色剂, 常温下 2 min 内显色完全。该试剂盒对液态奶中硫氰酸钠残留的检出限为 5 mg/kg; 5~100 mg/kg 时, 区分度良好; 准确、灵敏、快速 (5 min)、稳定, 无需仪器辅助, 适合中小型企业与基层单位现场对大批量样品进行筛查。

**关键词:** 硫氰酸钠; 快速检测; 灵敏度; 试剂盒

文章编号: 1673-9078(2017)11-279-284

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.11.040

## Development and Application of Rapid Determination Kit for Sodium Thiocyanate in Liquid Milk

LIU Feng-yin<sup>1</sup>, WANG Shu-juan<sup>1</sup>, LI Xuan<sup>2</sup>, LI Jia-wei<sup>3</sup>, WANG Zi-wei<sup>1</sup>, ZENG Si-min<sup>1</sup>, LIANG Yue<sup>1</sup>,  
MU Hong-tao<sup>1</sup>

(1. Guangdong University of Education, College of Biology and Food Engineering, Guangzhou 510303, China)

(2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China) (3. Guangdong Provincial Bioengineering Institute, Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute, Guangzhou 510303, China)

**Abstract:** Sodium thiocyanate (NaSCN), a chemical raw material with preservative effect, was often used in dairy products to extend the shelf life, which increased the safety risk. The rapid detection methods for sodium thiocyanate that had been reported had several drawbacks such as serious background interference and low sensitivity. A NaSCN semi-quantitative rapid detection method was established in this study with the principle of sanguineous complex reaction induced by SCN<sup>-</sup> and Fe<sup>3+</sup> by selecting the chromogenic agent, optimizing chromogenic reaction conditions, simulating milk matrix, pretreating samples and the chromogenic reaction. The rapid determination kit for sodium thiocyanate residues in liquid milk samples was developed. The optimum conditions were as follows: the chromogenic agent, 2 mol/L iron nitrate (2 mol/L nitric acid as the solvent); reaction time, 2 min. The reaction was complete in room temperature under the optimum conditions. The detection limit of the kit for sodium thiocyanate residues in liquid milk was 5 mg/kg, and the color gradient was well distinguished in the NaSCN concentration of 5~100 mg/kg. The proposed kit was accurate, sensitive, rapid (5 min), stable and not in need of instrument assistance, and was suitable for on-site screening a large quantities of liquid milk samples for small and medium-sized enterprises and basic units.

**Key words:** sodium thiocyanate; rapid determination; sensitivity; kit

硫氰酸钠是乳过氧化物酶体系 (Lactoperoxidase System, LPS) 的一个重要组份, 在生鲜乳中添加一

收稿日期: 2017-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31601540); 广东省自然科学基金项目 (2016A030310304); 大学生创新创业训练计划项目 (201614278081)

作者简介: 刘凤银 (1990-), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 食品安全与检测技术

通讯作者: 穆洪涛 (1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品质量与安全

定量的硫氰酸钠, 可有效激活其 LPS 系统, 起到防腐、延长保质期作用<sup>[1,2]</sup>。但研究表明, NaSCN 对人体有一定的毒害作用, 过量摄入可引起急性毒性; 少量摄入可妨碍人体对碘的吸收和利用, 引起甲状腺疾病, 尤其对胎儿和婴儿的智力和神经发育存在较大的危害<sup>[3,4]</sup>。2011年4月, 我国卫生部发布的《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》中, 明确规定 NaSCN 属于违法添加物<sup>[5]</sup>。国际食

品法典委员会规定生乳中硫氰酸钠的最高限量值为 14 mg/kg<sup>[6]</sup>；我国尚未有其限量标准的明确规定，2015 年食药总局将液态奶品中硫氰酸钠的风险监测参考值设定为 10 mg/kg<sup>[7]</sup>。但由于具有药效好和价格低廉等优点，硫氰酸钠的非法添加现象仍时有发生。

目前，国内外已报道的硫氰酸钠检测方法主要有仪器分析法和快速检测方法。前者主要包括离子色谱法<sup>[8,9]</sup>、气相色谱法<sup>[10,11]</sup>和高效液相色谱法<sup>[12,13]</sup>等。此类方法具有准确和灵敏等优点，但需要大型昂贵的仪器设备及专业的技术人员，同时对样品前处理要求较高，检测成本高、时间长，难以满足现场快速检测的需要。后者主要是化学快速检测方法，大多基于 SCN<sup>-</sup>与 Fe<sup>3+</sup>反应生成血红色络合物的原理，以铁盐为显色剂，与 SCN<sup>-</sup>进行显色反应，通过比对或测定颜色的深浅，确定硫氰酸钠的残留量<sup>[14-16]</sup>。其中使用最多的显色剂为三氯化铁，但由于 FeCl<sub>3</sub> 溶液本底颜色深（黄色），当硫氰酸钠浓度较低时，易被显色剂本底颜色干扰，导致显色梯度不明显，灵敏度降低，不能满足实际样品检测的灵敏度需求（10 mg/kg）<sup>[17-19]</sup>。2013 年，蔡如繁等人以硝酸铁为显色剂，建立了一种紫外分光光度法，用于奶粉样品中硫氰酸钠的残留检测，有效降低了底色干扰，提高了检测的灵敏度。但由于液态奶样品在分析过程中会出现浑浊情况，该方法不能用于液态奶样品中硫氰酸钠残留的检测<sup>[20]</sup>。此后，侯东军等人通过改进样品前处理方法，以微孔板为载体，以硝酸铁为显色剂，建立了一种硫氰酸钠检测微孔板法，可用于液态奶样品的检测。但该方法需使用酶标仪读数，不便于在企业与基层单位进行推广<sup>[21]</sup>。因此，建立一种快速、灵敏、无需仪器辅助的检测方法，满足现场对食品中硫氰酸钠残留进行快速检测的需要，十分必要。

本研究基于 SCN<sup>-</sup>与 Fe<sup>3+</sup>反应生成血红色络合物的原理，采用目视比色法，通过显色剂筛选、显色条件优化，以期建立一种高灵敏度的快速检测方法，并尝试开发出一种快速检测试剂盒，以满足企业与基层单位对液态奶中硫氰酸钠残留作现场检测和批量检测的需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 主要试剂与材料

盐酸（AR，36%~38%）、硝酸（AR，65~68%）、硫酸（AR，98%）、高氯酸（AR，70%~72%）、氯化铁（AR，99%）、硝酸铁（AR，99%）、硫酸铁（AR，

99%）、高氯酸铁（CP）、硫氰酸钠（GR，99%）、乳糖（AR，98%），上海阿拉丁试剂公司；乳清蛋白，浙江威仕（康普达）生物科技有限公司。其它试剂均为国产分析纯；实验用水为一级去离子水。96 孔酶标板，厦门怡佳美实验器材有限公司。

液态奶样品，市售纯牛奶、鲜牛奶。

#### 1.1.2 主要仪器

JA2603B（M）分析天平（0.1 mg），上海精科科学仪器有限公司；UV755B 紫外可见分光光度计，上海佑科仪器仪表有限公司；SP-Max 2300A2 光吸收型全波长酶标仪，上海闪谱生物科技有限公司；ICS3000 离子色谱仪，美国戴安公司（DIONEX）。

#### 1.1.3 主要溶液的配制

硫氰酸钠标准储备液（1 g/L）：准确称取 1.0000 g 于 110 °C~120 °C 干燥恒重的硫氰酸钠，加水溶解并定容至 1000 mL。

硫氰酸钠标准使用液：临用前，准确移取 0、0.5、1、2、5、10 mL 硫氰酸钠标准储备液于 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。硫氰酸钠浓度分别为 0、5、10、20、50、100 mg/L。

模拟奶<sup>[21]</sup>：分别称取 3.5 g 乳清蛋白及 4.7 g 乳糖，溶于 91.8 mL 水中。模拟奶乳蛋白含量为 3.5%，乳糖含量为 4.7%。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 显色剂筛选

选取 4 种常见的铁盐三氯化铁、硫酸铁、硝酸铁和高氯酸铁，用其酸根阴离子所对应的酸溶解并稀释，配制显色液，进行显色反应。将 FeCl<sub>3</sub> 用 1 mol/L HCl 溶解，配制 FeCl<sub>3</sub> 显色液（1 mol/L）；取 6 只 2 mL 离心管，分别加入 2.0 mL 不同浓度的 NaSCN 标准使用液，各加入 2 滴 FeCl<sub>3</sub> 显色液，混匀，反应 5 min。按照相同步骤，配置 Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>、Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 显色液，进行显色反应。选取显色梯度明显、灵敏度高、显色反应体系稳定的显色剂作为最佳显色剂。

### 1.2.2 显色条件优化

#### 1.2.2.1 最佳显色剂浓度及酸度的确定

采用棋盘法确定最佳显色剂浓度及酸度。分别以 0.001、0.01、0.1、1.0、2.0、4.0 mol/L 六种浓度的硝酸溶液，配置 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mol/L 五种浓度的硝酸铁，得到 30 种不同浓度、不同酸度的显色剂。分别与 0、5 mg/L 的 NaSCN 标准溶液进行显色反应。从各管中取 200 μL 显色后溶液于 96 孔酶标板中，采用酶标仪于 460 nm 处测定各孔吸光值<sup>[20]</sup>。选取阴性孔（NaSCN 浓度为 0）A<sub>460nm</sub> 小于 0.12、阳性孔（NaSCN

浓度为 5 mg/L)  $A_{460\text{nm}}$  大于 0.12 的显色剂浓度及显色剂酸度组合, 分别与 0、5、10、20、50、100 mg/L 的 NaSCN 标准溶液进行显色反应, 对比不同组合下的显色效果。选取无底色干扰、各浓度管吸光值变化最大的组合浓度作为最佳显色剂浓度和显色剂酸度。

### 1.2.2.2 最佳显色温度的确定

在上述最佳显色剂浓度和显色剂酸度条件下, 分别在 4、25、37、50、60 °C 进行显色实验, 考察不同温度对显色效果的影响。选取显色梯度明显, 灵敏度高的显色条件作为最佳显色条件。

### 1.2.2.3 最佳显色时间的确定

在上述最佳显色条件下, 分别显色 2、5、10、30、60 min, 考察不同显色时间对显色效果的影响。选取显色梯度明显, 灵敏度高的显色条件作为最佳显色条件。

### 1.2.3 样品前处理

取 10 mL 液态奶置于 15 mL 离心管中, 加入 1 mL 浓  $\text{HNO}_3$ , 混匀, 用中速定性滤纸过滤, 收集滤液备用。

### 1.2.4 比色卡制作

取 6 份模拟奶, 分别添加 0、5、10、20、50、100 mg/kg 的 NaSCN 标准品。按照 1.2.3 进行样品前处理, 得滤液。取 6 只 2 mL 比色管, 分别加入 2 mL 上述滤液, 各加入 2 滴  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  显色液, 在最佳显色条件下进行显色反应, 制作标准比色卡。

### 1.2.5 试剂盒组建及性能评价

在最佳显色条件下, 组建硫氰酸钠快速检测试剂盒, 并对试剂盒特异性、检出限、重复性和稳定性等性能进行评价。

### 1.2.6 实际样品检测

随机采购市售不同品牌纯牛奶 (UHT 灭菌)、鲜牛奶 (巴氏杀菌) 共 15 个液态奶样品。采用本研究所研制的试剂盒进行检测, 同时采用离子色谱法 (Ion Chromatography, IC) 进行结果确证。离子色谱法确证实验, 委托广东省生物工程研究所/广州甘蔗糖业研究所, 按照“SNT 3927-2014 出口乳制品中硫氰酸钠含量的测定 第一法 离子色谱法”进行测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 显色剂筛选

分别以 4 种常见铁盐配置显色剂, 进行显色反应, 比对显色效果。结果见图 1。 $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  显色体系, 显色梯度不明显, 底色干扰严重;  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  显色体系, 显色梯度明显, 基本无底色干扰, 低浓度时区

分度良好;  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  显色体系, 显色梯度明显, 无底色干扰, 低浓度时区分度良好。可能原因是,  $\text{FeCl}_3$  (9.8)、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  (5.38) 的稳定常数高于  $\text{Fe}(\text{SCN})_3$  (5.0), 配合物的稳定性较高, 其  $\text{Fe}^{3+}$  难以解离, 不易与 SCN 形成配合作用;  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ 、 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  的稳定常数低于  $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ , 配合物的稳定性较差, 其  $\text{Fe}^{3+}$  更易解离, 与 SCN 形成配合作用。由于高氯酸铁价格昂贵, 会大大增加产品的成本, 因此本研究选取硝酸铁进行后续实验。

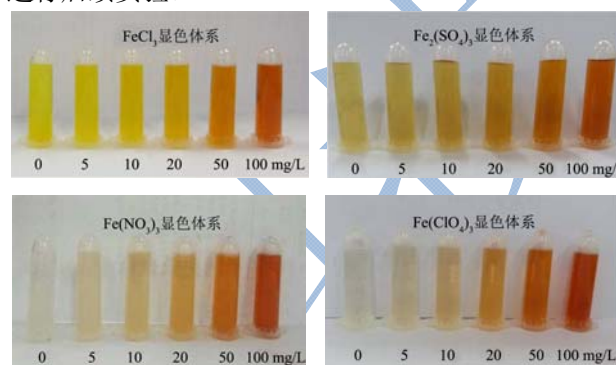


图 1 显色剂筛选

Fig.1 Screening of chromogenic agent

### 2.2 显色条件优化

#### 2.2.1 最佳显色剂浓度及酸度的确定

$\text{Fe}^{3+}$  易发生水解, 生成  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , 使溶液显红色, 产生底色干扰。水解方程式为  $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+$ 。降低  $\text{Fe}^{3+}$  浓度、增大显色剂酸度, 平衡向左移动, 有助于降低底色干扰, 提高方法的灵敏度。但显色剂浓度过低, 显色不充分, 区分度不高; 硝酸浓度过高, 增加了操作的危险性。

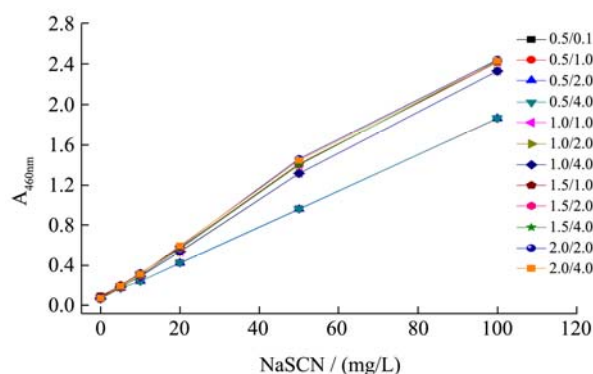


图 2 显色剂浓度及酸度对显色效果的影响

Fig.2 Effect of chromogenic agent concentration and acidity on chromogenic reaction

本研究基于目视比色法原理, 消除底色干扰, 避免出现假阳性结果非常重要。采用棋盘法, 以不同浓度的硝酸溶液配置不同浓度的硝酸铁显色剂溶液, 分别与 0、5 mg/L 的 NaSCN 标准溶液进行显色反应,

测定吸光值。实验中发现,有明显底色干扰时,采用酶标仪测定其  $A_{460\text{nm}}$  在 0.12 左右。因此,本实验选取阴性孔  $A_{460\text{nm}}$  小于 0.12、阳性孔  $A_{460\text{nm}}$  大于等于 0.12 的显色剂浓度及显色剂酸度组合,进一步与系列浓度梯度的 NaSCN 标准溶液进行显色反应,对比不同组合下的显色效果。结果见图 2。可以看出,(1)随着显色剂浓度的提高,硝酸浓度也需相应提高,才能有效抑制  $\text{Fe}^{3+}$  水解,消除底色干扰。如,当硝酸铁浓度为 0.5 mol/L 时,0.1 mol/L  $\text{HNO}_3$  可有效抑制其  $\text{Fe}^{3+}$  水解;当硝酸铁浓度提高到 1.0、2.0 mol/L 时, $\text{HNO}_3$  浓度需分别提高到 1.0、2.0 mol/L 才可有效抑制其  $\text{Fe}^{3+}$  水解,消除底色干扰。(2)当显色剂溶液中的  $\text{Fe}^{3+}$  水解得到有效抑制后,改变显色剂酸度,对显色效果无影响。如,当显色剂浓度为 0.5 mol/L 时,以 0.1 mol/L 硝酸溶液作溶剂,其  $\text{Fe}^{3+}$  水解反应可有效被抑制,无底色干扰;当硝酸浓度提高到 1.0、2.0、4.0 mol/L 时,其吸光值曲线与 0.1 mol/L 硝酸溶液作溶剂时的吸光值曲线基本完全重叠。其他 3 种浓度的显色剂,有相同的实验结果。(3)4 种不同浓度的显色剂溶液,浓度为 0.5 mol/L 时,各浓度管的吸光值变化幅度最小,显色梯度不够明显,尤其是低浓度时,区分度不高;浓度为 2.0 mol/L 时,吸光值变化幅度最大,显色梯度最为明显。为避免高浓度硝酸可能带来的危险,本研究选取 2.0 mol/L 硝酸铁浓度作为最佳显色剂浓度,能有效抑制  $\text{Fe}^{3+}$  水解的硝酸浓度 2.0 mol/L 作为最佳显色剂酸度。

### 2.2.2 最佳显色温度的确定

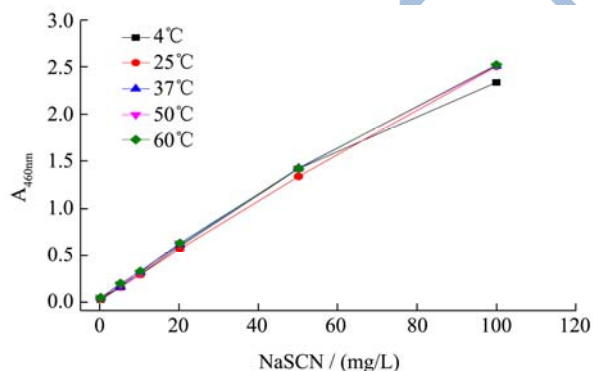


图3 显色温度对显色效果的影响

Fig.3 Effect of temperature on chromogenic reaction

$\text{Fe}^{3+}$  水解为吸热反应,温度过高, $\text{Fe}^{3+}$  水解加剧,底色加深。本研究考察了 4、25、37、50、60  $^{\circ}\text{C}$  五种不同显色温度对显色效果的影响。以蒸馏水作空白对照,采用分光光度计于 460 nm 处读数。结果见图 3。不同显色温度下,吸光值变化曲线基本重叠,显色温度对显色结果基本无影响。可能原因是,实验时间短, $\text{Fe}^{3+}$  水解程度未明显加剧,底色未明显加深。为了便

于实验操作,本研究直接在常温下进行操作。

### 2.2.3 最佳显色时间的确定

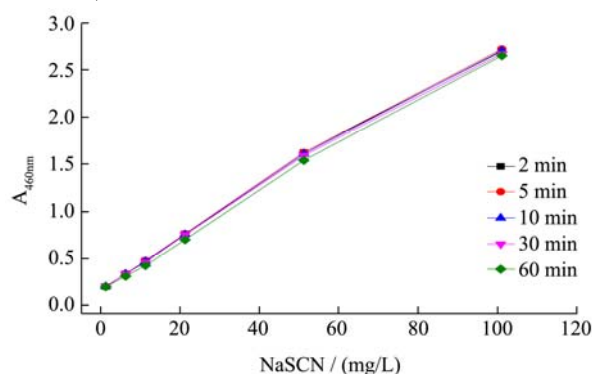


图4 显色时间对显色效果的影响

Fig.4 Effect of time on chromogenic reaction

显色时间过短,显色不充分;显色时间过长,延长了检测时间,不利于快速检测需要。本研究考察了显色 2、5、10、30、60 min 对显色效果的影响。以蒸馏水做空白对照,采用分光光度计于 460 nm 处读数。结果见图 4。不同显色时间下的吸光值曲线基本完全重叠,显色迅速,2 min 显色完全,且在 1 h 内保持稳定。为缩短操作时间,本研究选择显色时间为 2 min。

### 2.3 标准比色卡制作

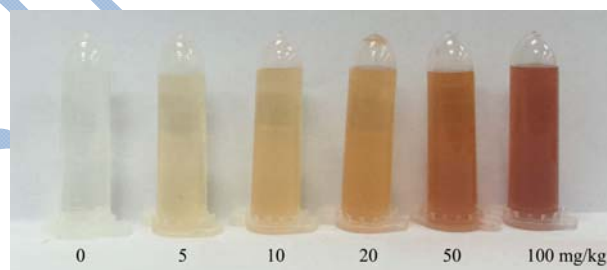


图5 硫氰酸钠标准浓度比色卡

Fig.5 Standard concentration color card of sodium thiocyanate

目前,关于牛奶样品中一些小分子物质的检测,很多研究直接在水溶液体系中绘制标准曲线或制作标准比色卡,未能充分考虑牛奶基质对检测结果的影响,导致在用于实际样品检测时,结果准确性不高。为了尽可能地降低牛奶基质对检测效果的影响,本研究拟通过向牛奶样品中添加不同浓度的 NaSCN 标准品,以真实牛奶体系进行标准比色卡制作。但由于天然牛奶本身具有一定的硫氰酸钠本底值,无阴性样品,零浓度管的显色无法获得<sup>[22]</sup>。本研究借鉴侯东军等人的研究思路,采用乳糖与乳清蛋白的混合液模拟真实牛奶基质,经样品前处理、显色剂显色,制作比色卡,以消除牛奶基质干扰,提高检测结果的准确性。

本研究采用目视比色法,半定量检测硫氰酸钠含量,故对牛奶样品的前处理要求不高,主要去除蛋白

质。本显色反应在硝酸体系中进行, 酸度提高对显色结果无影响, 为不引入其他离子, 本研究采用浓硝酸作为变性剂。对添加有硫氰酸钠系列浓度梯度的模拟奶, 采用浓硝酸沉淀蛋白, 过滤得澄清透明上清, 显色剂显色, 制作标准比色卡, 见图 5。NaSCN 浓度在 5~100 mg/kg 时, 区分度良好。

## 2.4 试剂盒组建及性能评价

### 2.4.1 试剂盒组建

试剂盒包括: 显色液, A 组份为固体硝酸铁, B 组份为溶剂 2 mol/L 硝酸溶液; 样品处理试剂, 浓硝酸; 2 mL 离心管; 15 mL 离心管; 定性中速滤纸; 一次性滴管; 一次性手套; 标准比色卡; 使用说明书等。

### 2.4.2 特异性

牛奶中含有很多其他共存离子, 若对显色反应有干扰, 易导致检测结果出现假阳性或假阴性。选取牛奶中可能存在的离子, 进行共存离子干扰实验。结果表明, 1000 倍  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  及 200 倍  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$  均不干扰测定。根据正常牛奶中各离子浓度水平, 牛奶中存在的离子对显色结果无影响, 试剂盒的特异性良好。

### 2.4.3 检出限

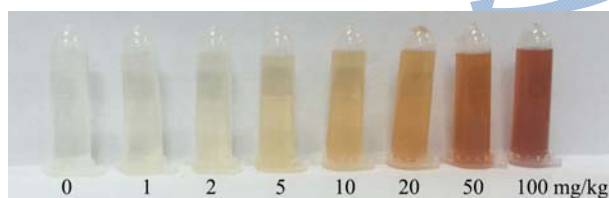


图 6 试剂盒检出限

Fig.6 Detection limit of the kit

检出限是一个分析方法能够可靠地检测出被分析物的最低浓度<sup>[23]</sup>。向模拟奶中添加一系列已知浓度的

表 1 液态奶盲样检测及离子色谱法结果比对

Table 1 Comparison of the blind analysis for NaSCN content in liquid milk by kit and ion chromatographic (n=3)

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
含量	IC	3.0	1.7	1.2	1.6	2.6	1.3	未检出	2.2	1.2	1.6	1.1	1.3	1.0	1.2	2.2
/(mg/kg)	试剂盒	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5

## 3 结论

本研究基于  $\text{SCN}^-$  可与  $\text{Fe}^{3+}$  反应生成血红色络合物的原理, 以硝酸铁为显色剂, 建立了一种硫氰酸钠半定量速测管法, 并基于该方法, 开发出了一种快速检测试剂盒, 可用于液态奶样品中硫氰酸钠残留检测。该试剂盒检出限为 5 mg/kg; 5~100 mg/kg 时, 区分度良好。与现有检测方法相比, 该试剂盒具有样品前处

理简单、准确、灵敏、快速 (5 min)、检测范围广和无需仪器辅助等优点, 适合中小型企业与基层单位对液态奶中硫氰酸钠残留作现场检测和批量检测。

### 2.4.4 重复性

向模拟奶中添加 8 mg/kg 的硫氰酸钠标准品, 用本研究研制的试剂盒对其重复测定 10 次, 其检测读取标准比色卡结果均落在 5 mg/kg 与 10 mg/kg 之间, 表明该试剂盒具有良好的重复性。

### 2.4.5 稳定性

本研究研制的试剂盒包括了样品前处理试剂和显色剂 2 种试剂, 前者为浓硝酸, 保存稳定性良好。研究发现, 显色剂中硝酸铁易水解, 本底颜色加深, 因此显色剂需现配现用。为满足商品化试剂盒对保质期的要求, 本试剂盒将显色剂设置为双组份, A 组份为一定质量的固体硝酸铁, B 组份为溶剂 2 mol/L 硝酸溶液, 使用时将 B 组份加入 A 组份中, 混匀溶解。试剂盒中, 可含有多管显色液 A、B 组份, 供不同时间、多次使用。

试剂盒试剂密封、避光、干燥保存。每月定期抽检至第 12 个月, 对添加有 0、5、10、20、50、100 mg/kg 硫氰酸钠标准品的模拟奶进行测定。结果表明, 每次测定的零管无底色干扰, 各管显色梯度明显, 该试剂盒在 12 个月内的稳定性良好。

## 2.5 实际样品检测

对 15 个液态奶盲样, 同时采用本研究研制的试剂盒和标准离子色谱法 (IC) 测定其 NaSCN 含量。结果见表 1。可见, 两种检测方法, 检测结果一致性良好。本研究研制的试剂盒, 检测结果准确。

参考文献

### 参考文献

- [1] Ay M, Bostan K. Effects of activated lactoperoxidase system on microbiological quality of raw milk [J]. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 2017, 23(1):

- 131-136
- [2] Boulares M, Mankai M, Hassouna M. Effect of thiocyanate and hydrogen peroxide on the keeping quality of ovine, bovine and caprine raw milk [J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2010, 64: 52-56
- [3] Yong L, Zhang L, Wang Y B N, et al. Liquid milk exposure and risk assessment of thiocyanate in Chinese populations [J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2017, 51(4): 332-335
- [4] Zhenwei Xu, Yiyi Han, Xiaoping Zheng, et al. Risk assessment of sodium thiocyanate and colony count in raw milk [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2013, 40: 18-22
- [5] 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名单(第 1-5 批汇总)  
A list of non-edible substances and food additives that may be illegally added in food (1-5) <http://www.nhfpc.gov.cn/sps/s7892/201406/38e5c8a53615486888d93ed05ac9731a.shtml>
- [6] Guidelines for the preservation of raw milk by use of the lactoperoxidase system. CAC/GL 13-1991
- [7] 关于乳制品中硫氰酸钠风险监测情况的通报. 国家食品药品监督管理局. 2015  
A Brief Report on the Risk Monitoring of Sodium Thiocyanate in Dairy Products. China food and drug administration. 2015
- [8] 冯伟科,熊珺,罗佳玲,等. 离子色谱法同时测定牛奶及其制品中的亚硝酸盐、硝酸盐、硫酸盐和硫氰酸盐[J]. 现代食品科技, 2011, 27(9): 1157-1159  
FENG Wei-ke, XIONG Jun, LUO Jia-ling, et al. Simultaneous determination of nitrite, nitrate, sulfate and thiocyanide in milk and its products by ion chromatography [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2011, 27(9): 1157-1159
- [9] Destanoglu O, Yilmaz G G. Determination of cyanide, thiocyanate, cyanate, hexavalent chromium, and metal cyanide complexes in various mixtures by ion chromatography with conductivity detection [J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2016, 39(9): 465-474
- [10] Ammazzini S, Onor M, Pagliano E, et al. Determination of thiocyanate in saliva by headspace gaschromatography-mass spectrometry, following a single-step aqueous derivatization with triethylxonium tetrafluoroborate [J]. *Journal of chromatography A*, 2015, 1400: 124-130
- [11] Abdolmohammad-Zadeh H, Vasli H. Monitoring of thiocyanate as a biomarker in saliva and serum samples by a combination of solid-phase extraction based on a layered double hydroxide nano-sorbent and gaschromatography [J]. *Analytical Methods*, 2014, 6(11): 3661-3667
- [12] Bhandari R K, Manandhar E, Oda R P. Simultaneous high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS-MS) analysis of cyanide and thiocyanate from swine plasma [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(3): 727-734
- [13] Chao Yu, Yan Du, Chen Xu. Determination method of sodium thiocyanate in milk and dairy products by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Additives*, 2014, 2: 234-239
- [14] 刘全宇,郭文欣,韩宏超,等. 生鲜乳中硫氰酸根快速检测定量试剂盒及应用: 中国专利, CN 104406960 A [P] 2015  
LIU Quan-yu, GUO Wen-xin, HAN Hong-chao, et al. Development and application of rapid quantitative detection kit for thiocyanate in fresh milk: Chinese patent, 2015, CN 104406960 A [P] 2015
- [15] Lin Zhang, Wenrui Wang, Yan Cai, et al. Spectrophotometric determination of sodium thincyanate in infant food [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2013(6): 717-719
- [16] Danhui Wang, Wa Gao, Mei Li. Studied the measurement about how to find out fake sodium thiocyanate in raw milk [J]. *China Dairy Industry*, 2008, 36(7): 57-58
- [17] 何瑛,林木娣,赖书莹,等. 紫外分光光度法测定乳与乳制品中硫氰酸钠的含量[J]. 食品安全导刊, 2015, 22: 72-74  
HE Ying, LIN Mu-di, LAI Shu-ying, et al. Spectrophotometric determination of sodium thiocyanate in milk and milk powder [J]. *China Food Safety Magazine*, 2015, 22: 72-74
- [18] Weiqun Li, Shengyan Dan, Hui Zhu. Spectrophotometric determination of sodium thiocyanate in milk and milk powder [J]. *China Food Additives*, 2010, 3: 240-243
- [19] 尚欣春,高志莹,洪霞,等. 乳制品中硫氰酸钠快速检测方法的优化[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(10): 12-13  
SHANG Xin-chun, GAO Zhi-ying, HONG Xia, et al. Improvement on the rapid detection method of sodium thiocyanate in dairy products [J]. *Food and Nutrition in China*, 2012, 18(10): 12-13
- [20] 蔡如繁,茹巧美,何晋浙. 乳制品中非法保鲜剂硫氰酸钠检测方法的研究[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(4): 48-51  
CAI Ru-fan, RU Qiao-mei, HE Jin-zhe. Study on the

- detection methods of illegal antistaling agent of sodium thiocyanate in dairy [J]. Dairy Industry, 2013, 41(4): 48-51
- [21] 侯东军,韩合敬,吴艳芳,等.酶标法检测牛奶中硫氰酸盐[J].中国畜牧杂志,2015,51(4):67-70  
HOU Dong-jun, HAN He-jing, WU Yan-fang, et al. Quantification of thiocyanate in milk with microplate reader [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2015, 51(4): 67-70
- [22] Ling Y, Yibaina W, Dajin Y. Investigation of concentration of thiocyanate ion in raw cow's milk from China, New Zealand and the Netherlands [J]. Food Chemistry, 2017, 215: 61-66
- [23] 姜大伟.化学分析-方法检出限的综合探讨[J].吉林地质,2012,31(3):92-94  
JIANG Da-wei. Comprehensive discussion on method detection limit in chemical analysis [J]. Jilin Geology, 2012, 31(3): 92-94

现代食品科技