

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

李 静, 王 雨, 梁立娜*

(戴安中国有限公司应用研究中心, 北京 100085)

摘要 :碘离子和硫氰酸根的含量是奶粉质量检测的重要项目,但由于奶粉基体复杂,色谱分析中容易产生干扰。本文使用一种带有疏水性烷基链和弱阴离子交换官能团的混合分离模式色谱柱 Acclaim Mixed-Mode WAX-1,成功实现了碘离子、硫氰酸根与样品中干扰峰的基线分离,并用紫外检测器进行了检测。实验中将奶粉样品溶于水后,用乙腈沉淀蛋白,并通过 OnGuard RP 前处理柱除去对色谱柱有污染的有机物质。所用淋洗液为乙腈-100 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6)-水(体积比为 45:5:50),紫外检测波长为 226 nm。该方法对碘离子和硫氰酸根的检出限分别为 4.6 $\mu\text{g/L}$ 和 13.8 $\mu\text{g/L}$ 。0.2 mg/L 标准溶液峰面积的相对标准偏差分别为 1.2% ($n=6$) 和 1.7% ($n=6$)。该分析方法准确可靠,线性范围宽,检出限较低,为乳制品质量检测提供了可行方法。

关键词 :离子色谱;混合模式色谱柱;碘离子;硫氰酸根;奶粉

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2010)04-0422-04

Simultaneous determination of iodide and thiocyanate in powdered milk using ion chromatography with mixed-mode column

LI Jing, WANG Yu, LIANG Lina*

(Application Research Center, Dionex China Limited, Beijing 100085, China)

Abstract :The contents of iodide and thiocyanate are important detection items in powdered milk quality testing. Due to the complexity of the powdered milk matrix, chromatographic analysis is easily subjected to interference. Acclaim Mixed-Mode WAX-1 column incorporated both hydrophobic and weak anion-exchange properties was used to separate iodide and thiocyanate from interfering substances in powdered milk matrix, and detected by Ultraviolet (UV) detection. After powdered milk was dissolved in water, the protein was precipitated by acetonitrile. Then OnGuard RP pre-treatment column was used to remove the organic matters which might pollute the column. The eluent was acetonitrile-100 mmol/L phosphate buffer (pH 6)-water (45:5:50 v/v/v). The UV detection wavelength was 226 nm. The limits of detection of iodide and thiocyanate were 4.6 $\mu\text{g/L}$ and 13.8 $\mu\text{g/L}$ respectively, and the relative standard deviations of peak areas were 1.2% ($n=6$) and 1.7% ($n=6$) for 0.2 mg/L iodide and thiocyanate standard solutions. The method is accurate and reliable, and has wide linear range, low limit of detection. This method provides a viable approach for powdered milk quality dairy products.

Key words :ion chromatography; mixed-mode column; iodide; thiocyanate; powdered milk

近几年来食品安全事故频繁发生,卫生部在食品安全方面的工作力度也逐年加大,2008年12月12日发布的《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盐属于违法添加物质。健康

牛的奶中平均含有 0.9 mg/kg 的硫氰酸根,是乳制品过氧化物酶抗菌体系的主要成分之一^[1]。有些不法奶户为了延长原料乳的保质期,人为加入硫氰酸盐作为生牛奶保鲜剂。由于硫氰酸盐是有毒物质,过量摄入可抑制人体甲状腺聚碘功能^[2,3],引起

* 通讯联系人:梁立娜,博士。Tel: (010) 62849182, E-mail: lianglina@dionex.com.cn.

收稿日期 2010-08-20

甲状腺机能低下,致使脑垂体前叶代谢性地加强分泌促甲状腺素,从而导致甲状腺组织增生肿大。碘是影响身体和智力发育的必要元素,国家标准对每100 g奶粉中碘含量的要求是30至150 μg ,碘摄取不足或过量都会引起甲状腺肿大的疾病^[4]。乳制品中特别是婴儿配方奶粉中都含有碘^[5]。由于儿童比成人更容易因碘缺乏或过量导致甲状腺肿大,而且婴幼儿所需碘主要来源于母乳及奶粉,所以对孕妇和婴幼儿奶粉中碘的检测十分必要^[6]。碘离子的分析方法有很多,如示差脉冲溶出伏安法、催化荧光法、电感耦合等离子体-原子光谱或质谱法、反相离子对色谱法和离子色谱法等^[4,7,8]。硫氰酸根的检测方法有荧光动力学法、反相离子对色谱法和离子色谱法^[2-4]。采用色谱法检测奶粉中碘离子和硫氰酸根存在的主要问题是奶粉基体过于复杂,不同分离和检测方式都存在一定程度的基体干扰。

本文采用带有疏水性烷基链和弱阴离子交换官能团的混合分离模式色谱柱,成功实现了碘离子、硫氰酸根与样品中干扰峰的基线分离,为孕妇和婴幼儿配方奶粉中碘离子和硫氰酸根的检测提供了可行方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

ICS-2500 离子色谱仪,带四元梯度混合泵(Dionex,美国);Ultimate 3000 可变波长紫外可见检测器,带11 μL 聚醚醚酮(PEEK)池;OnGuard II RP 前处理柱(1.0 mL);0.22 μm 尼龙滤膜。

磷酸氢二钾(分析纯,北京益利精细化学品有限公司);焦磷酸钠(分析纯,汕头市西陇化工厂);乙腈(色谱纯,Fisher Scientific);磷酸(>85%,分析纯,北京化工厂);碘化钠(优级纯,天津津科精细化工研究所);硫氰酸钾(优级纯,北京化工厂);超纯水(Millipore,电阻率为18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$);市售孕妇和婴幼儿配方奶粉。

1.2 色谱条件

色谱柱:Acclaim Mixed-Mode WAX-1 柱,4.6 mm \times 250 mm;淋洗液:乙腈-100 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6)-水(体积比为45:5:50);淋洗液流速:1.0 mL/min;检测波长 226 nm;进样量 200 μL 。

1.3 溶液配制

1.3.1 100 mmol/L 磷酸盐缓冲液的配制

称取 13.6 g KH_2PO_4 和 0.42 g $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 溶于 1 L 超纯水中,用磷酸微调 pH 至 6,溶液过 0.22 μm 滤膜,真空抽滤滤去不溶性杂质。

1.3.2 碘离子和硫氰酸根混合标准溶液的配制

用 $\text{NaI} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 固体和 KSCN 固体分别配制 1 000 mg/L 的碘离子和硫氰酸根标准储备液,取上述两种标准储备液各 1.0 mL,置于同一个 100 mL 的容量瓶中,用超纯水稀释到刻度,该溶液中碘离子和硫氰酸根的质量浓度均为 10 mg/L。

分别取上述溶液 0.05、0.1、0.25、0.5、1.0 mL 于 5 个 10 mL 容量瓶中定容至刻度,获得碘离子和硫氰酸根的混合标准溶液系列。

1.3.3 样品溶液的制备

每种奶粉样品各称取 1 g,加入 4 mL 水,充分摇匀后加入 5 mL 乙腈,摇匀后用水定容到 10 mL,静置沉淀蛋白,取 2 mL 上清液用水稀释至 10 mL,通过 0.22 μm 过滤膜和 OnGuard RP 柱后,弃去前面的 3 mL 流出液,收集后面的流出液用于进样。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

碘离子和硫氰酸根都是易极化阴离子,在普通阴离子交换色谱柱上保留时间长,峰形较宽且不对称。有文献采用 IonPac AS16 强亲水性阴离子交换色谱柱分离碘离子和硫氰酸根,在较短的分析时间内获得了尖锐对称的峰形,但该方法仅适用于基体比较简单的样品^[9,10]。实践证明,在电导和紫外检测方式下,仅通过阴离子交换的模式分离奶粉样品都存在一定程度的基体干扰问题。碘离子和硫氰酸根也可以采用离子对高效液相色谱法分离^[4],但该方法受离子对试剂浓度的影响较大,保留时间和灵敏度的稳定性差,操作繁琐,系统平衡时间长;目前尚未见应用于奶粉样品检测的报道。

Acclaim Mixed-Mode WAX-1 色谱柱同时具有疏水性烷基链和弱阴离子交换官能团,因此对于疏水性离子化合物具有独特的分离选择性。对于成分复杂的混合物,可以通过调节流动相中的有机溶剂比例、离子强度、pH 以优化分离效果。由于在进行反相色谱分离的同时兼有优异的离子交换性能,使得该色谱柱成功实现了碘离子、硫氰酸根与奶粉样品中干扰峰的基线分离。

2.2 分离条件的优化

由戴安公司的《Acclaim Mixed-Mode WAX-1 色谱柱使用指南》可知,该柱常用的流动相由有机溶剂和一定 pH 的磷酸盐水溶液组成,焦磷酸盐的加入可以消除不锈钢柱套对某些分析组分的影响。

有机溶剂主要影响有机成分的分离,反相色谱条件下流动相中有机溶剂比例的提高或降低可以使

组分的保留时间相应的缩短或延长。由于奶粉样品在前处理过程中经过 OnGuard RP 柱去除了疏水性有机物,因此样品溶液基质中留存的也都属于离子性化合物,有机溶剂仅能根据这些化合物的疏水性差异对其进行初步的分离。WAX-1 色谱柱是硅胶基质柱,使用的最佳 pH 范围为 2.8 ~ 6.5,最常用 pH 为 6,pH 的变化对基体中有机酸的作用明显,升高 pH 值可以缩短它们的保留时间,但对于碘离子和硫氰酸根以及对它们干扰最大的两个色谱峰基本没有影响。流动相中的磷酸盐溶液是离子交换分离模式的淋洗液,其浓度对分离有很大影响。磷酸盐浓度降低,离子性化合物与色谱柱的作用时间延长,有利于保留时间相近的物质获得更大的分离度。经过多次试验,本文最终使用中等比例的乙腈,pH 为 6 的较低离子强度磷酸盐溶液为流动相,使待分析离子与干扰物质达到了良好分离。图 1 为某奶粉样品的分离色谱图。

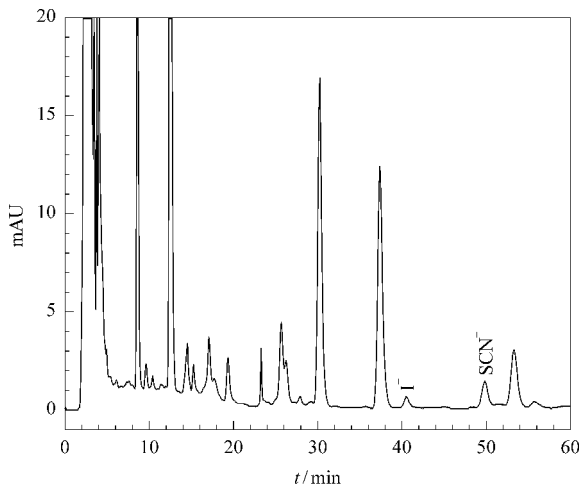


图 1 奶粉样品中碘离子和硫氰酸根的分色谱图
Fig. 1 Separation chromatogram of iodide and thiocyanate in powdered milk

2.3 方法学考察

采用 1.3.2 节中制备的标准溶液,分别对碘离子和硫氰酸根 5 个浓度的标准溶液进样,考察它们在 0.05 ~ 1 mg/L 内峰面积与其质量浓度的线性关系,两者的线性方程分别为 $y = 11.6324x - 0.0803$ 和 $y = 5.0671x - 0.0666$ (其中 y 为峰面积 (mAU · min), x 为组分的质量浓度 (mg/L)), 相关系数均为 0.9998。

以信噪比 3:1 确定检出限,碘离子和硫氰酸根的检出限分别为 4.6 $\mu\text{g/L}$ 和 13.8 $\mu\text{g/L}$ 。以信噪比 10:1 确定定量限,碘离子和硫氰酸根的定量限分别为 15.3 $\mu\text{g/L}$ 和 46.0 $\mu\text{g/L}$ 。

取碘离子和硫氰酸根质量浓度为 0.2 mg/L 的

混合标准溶液,连续进样 6 次,测得保留时间的相对标准偏差(RSD)分别为 0.31% 和 0.32%,峰面积的 RSD 分别为 1.2% 和 1.7%。

2.4 样品分析

运用本文方法对市场上购买到的 2 种孕妇配方奶粉和 4 种婴儿配方奶粉进行了检测,结果见表 1。

表 1 几个奶粉样品中碘离子和硫氰酸根的含量
Table 1 Contents of iodide and thiocyanate in powdered milk samples

Sample	$\alpha \text{I}^- /$ (mg/kg)	$\alpha \text{SCN}^- /$ (mg/kg)
Brand 1 pregnant formula	1.78	10.50
Brand 2 pregnant formula	1.35	17.60
Brand 3 infant formula	0.785	3.935
Brand 4 infant formula	0.845	6.780
Brand 5 infant formula	0.665	6.525
Brand 6 infant formula	0.995	1.860

由表 1 可见,Brand 1 孕妇配方奶粉中碘离子的含量超过国家标准规定的奶粉中碘离子含量上限 (1.5 mg/kg),其他奶粉中碘离子的含量符合要求。乳制品中天然硫氰酸根的含量受奶牛品种、个体、饲养类型等因素影响,因而有很大差异,健康奶牛的奶中平均含硫氰酸根 0.9 mg/kg,范围为 0.4 ~ 22 mg/kg^[1]。由于奶粉经过浓缩而得,其天然存在的硫氰酸根含量会相应提高。由表 1 可见,所有检测奶粉中硫氰酸根的含量均在可接受范围内,几种婴儿配方奶粉中硫氰酸根的含量较低,品质较好。

2.5 样品测定重现性和加标回收率

对 Brand 1 孕妇配方奶粉进行 5 次平行测定,碘离子和硫氰酸根含量的 RSD 分别为 8.3% 和 4.8%。对 Brand 1 孕妇配方奶粉进行加标回收率的测定,分别加入低、中、高 3 种浓度的碘离子和硫氰酸根标准溶液,按本文方法进行测定,所得结果见表 2,加标回收结果良好。

表 2 Brand 1 孕妇配方奶粉样品中碘离子和硫氰酸根的加标回收率 ($n = 5$)

Table 2 Spiked recoveries of iodide and thiocyanate in Brand 1 pregnant formula sample ($n = 5$)

I^-			SCN^-		
Added/ (mg/kg)	Found/ (mg/kg)	Recovery/ %	Added/ (mg/kg)	Found/ (mg/kg)	Recovery/ %
1.00	2.74	95.5	5.00	14.97	89.3
2.00	4.03	112.3	10.00	21.49	109.9
3.00	4.93	104.8	15.00	25.90	102.6

3 结论

本文利用 Acclaim Mixed-Mode WAX-1 色谱柱的多重分离机理,通过色谱条件优化,建立了一种奶

粉中碘离子和硫氰酸根的同时分析方法,成功实现了复杂奶粉基体中碘离子和硫氰酸根的良好分离。该法准确可靠,灵敏度较高,为乳制品质量检测提供了可行方法。

参考文献:

- [1] Huang Y X, Bai H, Meng S Z, et al. Heilongjiang Animal Husbandry Science and Technology (黄玉贤,白虹,孟淑珍,等. 黑龙江畜牧科技), 1998(3): 8
- [2] Zhang G Z, Zhang H Q, Guo W, et al. Journal of Analytical Science (张贵珠,张海清,郭薇,等. 分析科学学报), 1994, 10(3): 52
- [3] Zhang X L, Yan J P, Zhang Y J, et al. Journal of Environment and Health (张小乐,闫金萍,张一江,等. 环境与健康杂志), 2007, 24(11): 910
- [4] Jiang H, Zhou Z Y, Wang Y B, et al. Journal of Instrumental Analysis (姜华,周志勇,王玉宝,等. 分析测试学报), 2004, 23(5): 130
- [5] Wang Y. Railway Occupational Safety Health and Environmental Protection (王艳. 铁道劳动安全卫生与环保), 2006, 33(2): 98
- [6] Chai C W, Liu K N, Mou S F. Chinese Journal of Chromatography (柴成文,刘克纳,牟世芬. 色谱), 2001, 19(1): 94
- [7] Mo S M, Liang L N, Cai Y Q, et al. Rock and Mineral Analysis (墨淑敏,梁立娜,蔡亚岐,等. 岩矿测试), 2006, 25(2): 122
- [8] Liu Y J, Xie J L. Yunnan Chemical Technology (刘亚君,谢金伦. 云南化工), 1999(4): 37
- [9] Mo S M, Liang L N, Cai Y Q, et al. Journal of Instrumental Analysis (墨淑敏,梁立娜,蔡亚岐,等. 分析测试学报), 2006, 25(1): 105
- [10] Mo S M, Liang L N, Cai Y Q, et al. Chinese Journal of Chromatography (墨淑敏,梁立娜,蔡亚岐,等. 色谱), 2005, 23(6): 677