

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3513—2019

生乳中硫氰酸根的测定 离子色谱法

Determination of thiocyanate in raw milk—Ion chromatography

2019-12-27 发布

2020-04-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由农业农村部畜牧兽医局提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位：中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、农业农村部奶产品质量安全风险评估实验室(北京)、农业农村部奶及奶制品质量监督检验测试中心(北京)。

本标准主要起草人：文芳、叶巧燕、郑楠、李松励、王加启。

生乳中硫氰酸根的测定 离子色谱法

1 范围

本标准规定了生乳中硫氰酸根测定的离子色谱法。

本标准适用于牛、羊、水牛、牦牛等不同奶畜生乳中硫氰酸根的测定。

本标准的检出限为 0.25 mg/kg, 定量限为 0.75 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件, 仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样用乙腈沉淀蛋白, 上清液加水调节并经反相固相萃取柱净化后, 用离子色谱分离, 电导检测器检测。以保留时间定性, 外标法定量。

4 试剂或材料

除非另有规定, 仅使用分析纯试剂。

4.1 水, GB/T 6682, 一级。

4.2 乙腈(CH_3CN): 色谱纯。

4.3 甲醇(CH_3OH): 色谱纯。

4.4 丙酮($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$): 色谱纯。

4.5 50%氢氧化钠溶液(NaOH): 色谱纯。

4.6 离子色谱淋洗液: 根据仪器型号及色谱柱选择和配制不同的淋洗液体系。

4.6.1 氢氧根系淋洗液: 由仪器自动在线生成或手工配制。

4.6.1.1 氢氧化钾淋洗液: 由淋洗液自动电解发生器在线生成, 浓度为 45 mmol/L~60 mmol/L。

4.6.1.2 氢氧化钠淋洗液(45 mmol/L): 取 2.34 mL 50%氢氧化钠溶液(4.5), 用水稀释至 1 000 mL, 可通入氮气保护, 以减缓碱性淋洗液吸收空气中的 CO_2 而失效, 缓慢摇匀, 室温下可放置 7 d。

4.6.1.3 氢氧化钠淋洗液(60 mmol/L): 取 3.12 mL 50%氢氧化钠溶液(4.5), 用水稀释至 1 000 mL, 可通入氮气保护, 以减缓碱性淋洗液吸收空气中的 CO_2 而失效, 缓慢摇匀, 室温下可放置 7 d。

4.6.2 碳酸盐系淋洗液(Na_2CO_3 浓度为 5 mmol/L, NaHCO_3 浓度为 2 mmol/L, 丙酮浓度为 5%): 准确称取 0.530 0 g 碳酸钠和 0.168 0 g 碳酸氢钠, 分别溶于适量水中, 转移至 1 000 mL 容量瓶, 加入 50 mL 丙酮, 用水稀释定容, 混匀。

4.7 硫酸溶液(45 mmol/L): 移取 2.45 mL 浓硫酸, 加入适量水中, 并用水定容至 1 000 mL, 混匀。

4.8 硫氰酸根标准储备溶液(1 000 mg/L): 将硫氰酸钠(NaSCN , CAS 号: 540-72-7, 纯度 $\geq 99.99\%$) 于 80℃烘箱内烘干 2 h。准确称取干燥后的硫氰酸钠 0.139 7 g, 用水定容至 100 mL, 混匀。0℃~4℃保存, 有效期为 6 个月。

4.9 硫氰酸根标准中间溶液(10 mg/L): 准确吸取 1 mL 硫氰酸根标准储备液(4.8), 用水稀释至 100 mL, 混匀。0℃~4℃保存, 有效期为 1 个月。

4.10 硫氰酸根标准系列溶液: 分别准确移取硫氰酸根标准中间溶液(4.9) 0 μL 、10 μL 、20 μL 、50 μL 、

100 μL 、500 μL 和 1 000 μL ,用水定容至 10 mL,混匀,得到浓度分别为 0 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L 和 1.00 mg/L 的硫氰酸根标准工作液。0℃~4℃保存,有效期为 1 个月。

5 仪器设备

- 5.1 离子色谱仪:配抑制器电导检测器。
- 5.2 高速冷冻离心机:8 000 r/min,4℃。
- 5.3 天平:感量为 0.1 mg、0.01 g。
- 5.4 涡旋混匀器。
- 5.5 移液器:100 μL 、1 mL。
- 5.6 烘箱:(80±5)℃。
- 5.7 过滤器:水系,0.22 μm 。
- 5.8 反相净化小柱,如 OnGuard II RP 柱¹⁾(1.0 mL),或性能相当者。

6 样品

采集的有代表性生乳样品可用硬质玻璃瓶或聚乙烯瓶盛放,样品采集后应尽快分析。若样品在 0℃~6℃冷藏保存,冷藏时间不应超过 48 h;若不能及时测定,应于-20℃冷冻保存,冷冻时间不应超过 30 d,解冻温度不应超过 60℃,解冻次数不应超过 5 次。冷藏、冷冻的样品需恢复至室温并摇匀,待测。

7 试验步骤

7.1 试样处理

称取试样 4 g(精确至 0.01 g),用乙腈定容至 10 mL,混匀 1 min,静置 20 min,离心 5 min。准确移取 1.00 mL 上清液用水定容至 10 mL 并混匀,备用。同时做空白试验。

7.2 提取液净化

将反相净化小柱依次用 5 mL 甲醇和 10 mL 水活化,静置 30 min,取上述溶液(7.1),过 0.22 μm 滤膜并加载到活化好的净化反相柱上,弃去前 3 mL 流出液,收集滤液,待测。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 仪器参考条件 I

7.3.1.1 色谱柱:以 OH^- 为流动相,并能使用梯度洗脱的、高容量的阴离子交换柱,如 IonPac AS-16 型色谱柱(4 mm×250 mm)和 IonPac AG-16 型保护柱²⁾(4 mm×50 mm),或性能相当的离子色谱柱。

7.3.1.2 抑制器:ASRS-3004 mm 阴离子抑制器³⁾,或性能相当的抑制器;外加水抑制模式,抑制器电流为 112 mA~149 mA,外加水流量 1.2 mL/min。

7.3.1.3 淋洗液:氢氧根系淋洗液(4.6.1),流速为 1.0 mL/min,梯度淋洗。梯度淋洗条件参见表 1。

表 1 离子色谱仪淋洗液梯度淋洗条件(氢氧根体系)

序号	时间, min	流速, mL/min	OH^- 浓度, mmol/L
1	0.0~13.0	1.00	45.0
2	13.1~18.0	1.00	60.0
3	18.1~23.0	1.00	45.0

1) OnGuard II RP 柱是商品名,此处列出仅供参考,并不涉及商业目的。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

2) IonPac AS-16 型色谱柱和 IonPac AG-16 型保护柱是商品名,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

3) ASRS-300 4 mm 阴离子抑制器是商品名,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

7.3.1.4 进样体积:100 μL 。

7.3.1.5 柱温:30℃。

7.3.1.6 电导池温度:35℃。

7.3.2 仪器参考条件Ⅱ

7.3.2.1 色谱柱:碳酸盐淋洗体系的高容量阴离子交换柱,如 Metrosep Anion Supp5-150(4 mm×150 mm)阴离子交换色谱柱和 Metrosep Anion Guard(4 mm×50 mm)专用保护柱⁴⁾,或性能相当的离子色谱柱。

7.3.2.2 抑制器:MSMⅡ型抑制器⁵⁾,抑制器再生液为硫酸溶液(4.7)。

7.3.2.3 淋洗液:碳酸盐系淋洗液(4.6.2),流速为1.0 mL/min。

7.3.2.4 进样体积:100 μL 。

7.3.2.5 柱温:30.0℃。

7.3.2.6 电导池温度:40.0℃。

7.4 标准系列溶液和试样溶液分析

按选定的仪器参考条件Ⅰ或Ⅱ,对硫氰酸根标准系列溶液和试样溶液进行测定。不同淋洗液体系的标准溶液色谱图参见附录A。

7.5 定性

以硫氰酸根的保留时间定性,试样溶液中硫氰酸根的保留时间应与标准系列溶液(浓度相当)中硫氰酸根的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。

7.6 定量

以硫氰酸根的浓度为横坐标、色谱峰面积(或峰高)为纵坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低于0.99。试样溶液中待测物的浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围,应将试样溶液用水溶液稀释 n 倍后,重新测定。

8 试验数据处理

试样中硫氰酸根的含量以质量浓度 w 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算。

$$w = \frac{c \times V_1 \times V_3 \times 1000}{m \times V_2 \times 1000} \times n \quad \text{..... (1)}$$

式中:

c ——待测溶液从标准曲线上查得硫氰酸根的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V_1 ——样品用乙腈提取时定容体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——移取离心后上清液的体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——上清液稀释定容的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

n ——上机测定的试样溶液超出规定的范围后,进一步稀释的倍数。

计算结果保留至小数点后2位,用2次平行测定的算术平均值表示。

注:试样中测得的硫氰酸根离子含量乘以换算系数1.40,即得硫氰酸钠含量。

9 精密度

在重复性条件下,2次独立测试结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的10%。

-
- 4) Metrosep Anion Supp5-150(4 mm×150 mm)阴离子交换色谱柱和 Metrosep Anion Guard(4 mm×50 mm)专用保护柱是商品名,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。
- 5) MSMⅡ型抑制器是商品名,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

附录 A
(资料性附录)
硫氰酸根离子色谱仪色谱图

A.1 氢氧根体系的硫氰酸根标准溶液离子色谱图

见图 A.1。

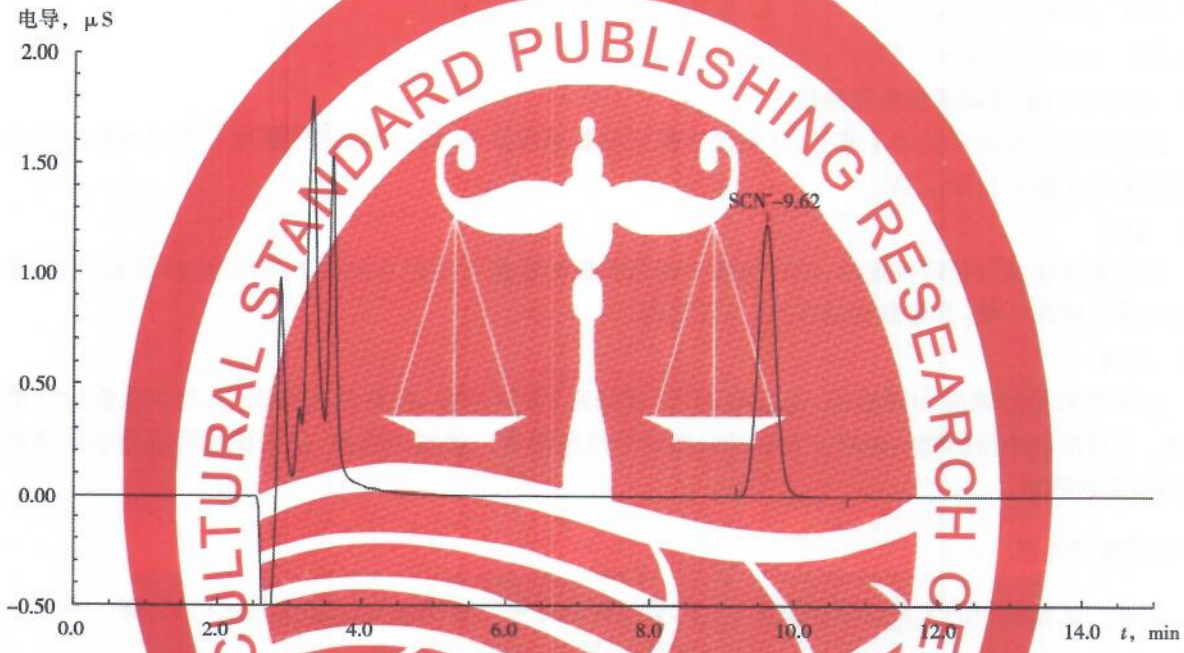


图 A.1 硫氰酸根标准溶液(0.5 mg/L)离子色谱图(氢氧根体系)

A.2 碳酸盐体系的硫氰酸根标准溶液离子色谱图

见图 A.2。

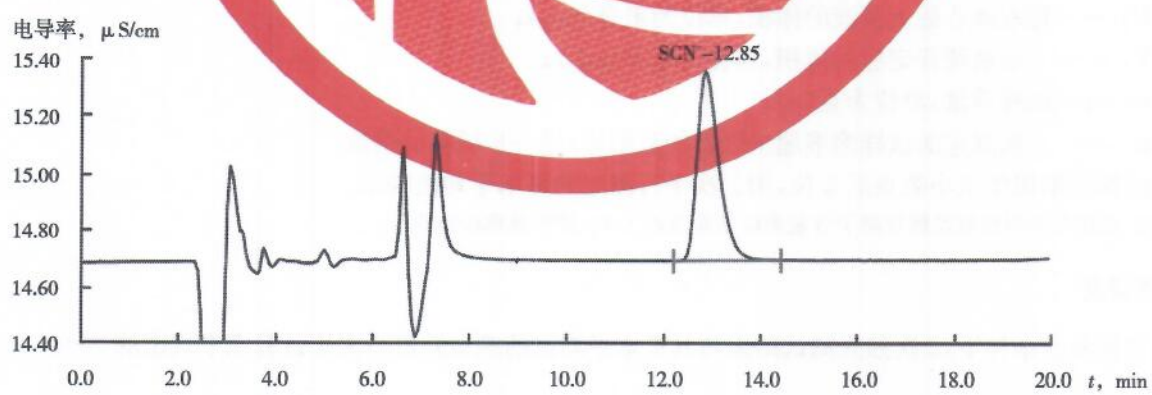


图 A.2 硫氰酸根标准溶液(0.5 mg/L)离子色谱图(碳酸盐体系)

中 华 人 民 共 和 国
农 业 行 业 标 准
生乳中硫氰酸根的测定 离子色谱法
NY/T 3513—2019

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)
北 京 印 刷 一 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

2020 年 3 月第 1 版 2020 年 3 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·8008

定价: 18.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



NY/T 3513—2019