

连续流动注射分光光度法测定白酒中氰化物

闵巍, 周红霞

上海市浦东新区疾病预防控制中心, 上海 200136

摘要: **目的** 建立连续流动注射分光光度法测定酒中氰化物的方法。 **方法** 样品经稀释后, 应用连续流动注射分光光度仪测定其中的氰化物。 **结果** 在该实验条件下, 酒中氰化物的线性范围为 0.01~2.5 mg/L, 相关系数 $r \geq 0.999$, 精密密度为 1.1%~2.2%, 加标回收率为 85%~104.2%。 **结论** 应用连续流动注射分光光度法测定酒中氰化物, 符合国标要求, 并且操作简单, 提高了工作效率, 对批量检测和应急检测有着十分重要的意义。

关键词: 流动注射; 氰化物; 酒

中图分类号: R155.5⁺9 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)02-0246-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.02.034

Determination of cyanide in liquor by continuous flow injection spectrophotometry

MIN Wei, ZHOU Hong-xia

Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200136, China

Corresponding author: ZHOU Hong-xia, E-mail: 1223973251@qq.com

Abstract: **Objective** To establish a continuous flow injection spectrophotometric method for the determination of cyanide in liquor. **Methods** The samples were diluted, and then continuous flow injection spectrophotometry was used to determine cyanide in liquor. **Results** Under the experimental conditions, the linear range was 0.01-2.5 mg/L, with the correlation coefficient being more than or equal to 0.999. The relative standard deviation was 1.1%-2.2%, and the recoveries of spiked samples ranged between 85% and 104.2%. **Conclusions** The results show that determination of cyanide in liquor by the continuous flow injection spectrophotometric method completely satisfies the request of international standard; moreover, it is simple, rapid, efficient and very practicable, especially suitable for the batch determination and emergent detection.

Key words: flow injection; cyanide; liquor

《食品安全国家标准蒸馏酒及其配制酒》^[1]中规定蒸馏酒及其配制酒中氰化物限量为 ≤ 8.0 mg/L (以 HCN 计, 氰化物指标按 100% 酒精度折算), 目前国标 GB/T 5009.48-2003 4.7 氰化物的测定, 采用传统蒸馏方式, 用全玻璃蒸馏器蒸馏, 操作复杂, 如操作不当, 容易造成样品蒸馏液的损失。目前国内检测水和空气中氰化物的方法有很多, 如流动注射法^[2]、气相色谱法^[3]、分光光度法^[4]等。白酒中氰化物测定我国主要采用异烟酸-吡啶啉酮分光光度法 (GB/T 5009.48-2003《蒸馏酒及配制酒卫生标准的分析方法》^[5]), 该法手工操作繁琐, 准确性较差, 因此近年来有研究者提出使用流动注射法测定白酒中氰化物^[6-7], 但其方法线性范围窄, 并未涉及高浓度中毒样品检测。本试验对白酒进行直接稀释后, 采用连续流动注射分光光度

法, 测定酒中氰化物, 不仅可以在线蒸馏, 不易造成蒸馏液的损失, 同时又能在在线绘制标准曲线, 大大提高了工作效率。本方法不仅适用于大批量样品的筛查, 而且可用于应急和日常检测。

1 材料与方法

1.1 仪器 AA3 流动注射仪 (德国 SEAL 公司)、自动进样器 (德国 SEAL 公司)、蒸馏器 (日本 Riko 公司)、冷凝装置 (宁波天恒仪器厂)、电子天平 (上海天平仪器厂)、超纯水系统 (法国默克密理博公司)。

1.2 试剂 盐酸、氢氧化钠、硫酸锌、柠檬酸、邻苯二甲酸氢钾, 以上试剂为国药集团化学试剂有限公司, 分析纯; 10.0 g/L 硫酸锌溶液; 蒸馏试剂: 100 g 柠檬酸溶于 340 ml 蒸馏水, 加 240 ml 氢氧化钠溶液 (2.5 mol/L), 用 1 mol/L 的盐酸或 1 mol/L 的氢氧化钠调 pH 到 3.8, 稀释至 1 000 ml, 溶液混匀; 邻苯二甲酸氢钾缓冲溶液: 称取 2.3 g 氢氧化钠在 500 ml 去离子水中, 溶解

作者简介: 闵巍 (1981-), 男, 主管技师, 主要从事食品、水质理化检测工作。

通信作者: 周红霞, E-mail: 1223973251@qq.com。

后,再加 20.5 g 邻苯二甲酸氢钾,用水稀释至 975 ml 左右,用 1 mol/L 的盐酸或 1 mol/L 的氢氧化钠调 pH = 5.2,最后定容至 1 000 ml,加 1.0 ml FFD6 溶液,混匀;2.0 g/L 氯胺 T(美国 SIGMA ALDRICH 公司);显色剂:把 7.0 g 氢氧化钠溶于 500 ml 水,加入 16.8 g 1,3-二甲基巴比妥酸(德国默克公司)和 13.6 g 异烟酸(德国默克公司),稀释至 950 ml,用 1 mol/L 的盐酸或 1 mol/L 的氢氧化钠调 pH = 5.2,稀释至 1 000 ml,加 1.0 ml 的 FFD6 溶液,混匀;FFD6【单(双)十二烷基硫酸盐二苯氧钠】水溶液:加 5 ml FFD6 溶液于 500 ml 水,溶液混匀;氰化物标准:50 mg/L±1%,以 CN 计,中国计量科学研究院;本试验用水均为超纯水。

1.3 原理 酸性条件下氢氰酸在 125 ℃ 在线蒸馏。蒸馏后的氰化物和氯胺 T 反应生成氯化氰,然后与异烟酸及 1,3-二甲基巴比妥酸反应生成红色络合物,在 600 nm 处检测。

1.4 测定方法

1.4.1 标准溶液 分别吸取氰化物标准溶液用含 0.4 g/L 氢氧化钠溶液和 10%乙醇的溶液配制成浓度为:0、0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、2.50 mg/L。

1.4.2 样品测定 白酒(0.4 g/L 氢氧化钠溶液直接稀释成 10°左右的酒精度),进行在线蒸馏测定。

1.4.3 仪器条件

1.4.3.1 参数设置 每小时样品数为 27,进样时间 90 s,样品对冲洗 2.0,冲洗时间 45 s,氰化物蒸馏温度 125 ℃。

1.4.3.2 操作注意事项 体系应在通风好的条件下操作。废液可能含有 HCN 气,应直接导入含 1 mol/L 氢氧化钠溶液的废液瓶中。加入几滴酚酞以指示 pH。在泵入试剂前,蒸馏浴温度应不低于为 100 ℃。蒸馏浴温度应在 125 ℃±2 ℃。蒸馏池前的模块用去离子水清洁,蒸馏池后的模块用有 FFD6 的洗液清洁。每个星期蒸馏池后的模块用 1 mol/L NaOH 清洁 5 min,再用有 FFD6 的洗液清洁 10 min。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计处理。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)进行统计描述,两组数据的组间比较采用 *t* 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ (双侧)。

2 结果与讨论

2.1 酒中乙醇浓度对测定影响 分别配制不同浓度的乙醇溶液(5%~60%)进行测定,试验证明:酒精度在 5%~15%时,对低浓度检测影响最小,趋于平稳,酒精度在 20%~60%时,对低浓度样品测定时存在一定

的影响,见图 1。

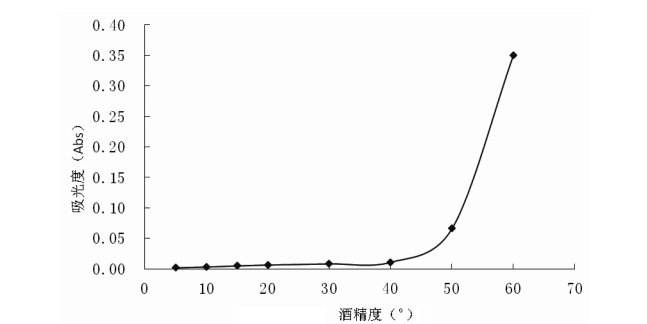


图 1 不同浓度酒精度本底值的情况分析

2.2 线性范围、检出限和定量限 方法在 0.01~2.50 mg/L 范围内具有较好的线性,其 *r* 值为 0.9994,通过用氰化物浓度为 0.01 mg/L 的标准溶液,测定 15 次,测定平均值为 0.0075 mg/L,其标准偏差为 0.00015 mg/L,即定性限为 $D_L = 2\sqrt{2} \times t_f \times S_{wb} \times f$ 为 14, t_f 显著性水平 0.05(单侧),查表得 1.761, S_{wb} 测定标准偏差为 0.00015 mg/L,故检出限为 0.0007 mg/L,定量限为 0.010 mg/L。

2.3 加标回收率和精密度 分别选取三种市售白酒样品,在实际样品中加入高、中、低等三个不同浓度氰化物标准溶液,获得不同样品的回收率,见表 1。

表 1 回收率测试

样品	酒精度 (°)	测定 次数	测定结果 (mg/L)	加标量 (mg/L)	实测量 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
白酒 1 浓香型	52	6	0.1662	0.05	0.0521	104.2	2.2
		6		0.50	0.5139	102.8	
		6		1.00	1.0158	101.6	
白酒 2 清香型	56	8	0.1910	0.05	0.0427	85.4	1.3
		8		0.50	0.4540	90.8	
		8		1.00	0.0941	94.1	
白酒 3 米香型	50	6	0.3148	0.05	0.0452	90.4	1.1
		6		0.50	0.4770	95.4	
		6		1.00	1.0188	101.9	

2.4 酒精度对回收率的影响 检测高浓度氰化物样品时,需要进行稀释。将酒精度为 50°的白酒样品,添加高浓度氰化物,进行不同倍数稀释,并调节酒精度,试验发现,调节样品酒精度为 10°后的回收率优于未调节的样品,且随着稀释倍数的增加,调节酒精度的样品无明显变化,而未调节的样品,在逐步降低,结果见表 2。

表 2 酒精度和稀释倍数对回收率的影响

编号	稀释倍数 (倍)	溶液实际加入浓度 (mg/L)	添加酒精样品实测值 (mg/L)	不添加酒精样品实测值 (mg/L)
1	10	1.0	0.921(酒精度 10°)	1.10(酒精度 5°)
2	20	1.0	0.905(酒精度 10°)	1.26(酒精度 2°)
3	50	1.0	0.902(酒精度 10°)	1.31(酒精度 1°)

2.5 方法比较 国标法测定酒中氰化物是异烟酸-吡啶啉酮分光光度法,试剂中存在有机溶剂,毒性相对大,检出限为 0.1 mg/L,标准曲线范围为 0.1~0.4 mg/L,蒸馏方式和比色操作方式是手工法,而本试验是异烟酸-巴比妥酸流动注射法,试剂中不存在有机溶剂,相对毒性较小,检出限比国标低,标准曲线范围 0.01~2.5 mg/L,比国标法更宽,且蒸馏方式和比色操作方式可以自动化。根据上述情况分析,仪器法的工作效率明显优于手工法。另外两种方法对三种类型样品测定各 6 次,经过配对 t 检验, P 值(置信区间为 95%)均大于 0.05,两种方法差异无统计学意义,见表 3。

表 3 两种方法的比较

白酒	国标法测定 (mg/L, $\bar{x} \pm s$)	本法测定 (mg/L, $\bar{x} \pm s$)	t 值	P 值
浓香型白酒	0.1643 \pm 0.0053	0.1662 \pm 0.0037	-1.117	0.315
清香型白酒	0.1893 \pm 0.0038	0.1910 \pm 0.0025	-1.038	0.347
米香型白酒	0.3167 \pm 0.0036	0.3148 \pm 0.0034	0.792	0.464

(上接第 161 页)

胞的 Wnt-7A 信号,此外研究发现其可抑制肿瘤微血管形成而抑制肿瘤增长^[10]。基于目前的研究,推测 DKK3 基因可能对细胞周期具有调控作用,具有抑制细胞增殖而促进细胞凋亡的功能。5-氮杂胞苷为广谱的去甲基化药物,对已经甲基化的基因产生去甲基化作用,从而使甲基化沉默表达的基因激活并重新表达,是目前最常用的去甲基化药物,作用确切且有效率高^[11]。基于胃癌中存在 DKK3 基因甲基化这一事实,本研究采用广谱去甲基化药物 5-氮杂胞苷作用 SGC7901 胃癌细胞,发现在 5-氮杂胞苷作用后呈未甲基化状态,表明 5-氮杂胞苷对 SGC7901 胃癌细胞 DKK3 基因启动子具有去甲基化作用,进一步研究发现 5-氮杂胞苷作用后的 SGC7901 胃癌细胞 D1-D7 吸光度均显著低于未行 5-氮杂胞苷作用的 SGC7901 胃癌细胞吸光度(均 $P < 0.05$),表明 5-氮杂胞苷对 SGC7901 胃癌细胞 DKK3 基因启动子的去甲基化导致细胞增殖速度降低。采用流式细胞仪检测细胞周期和凋亡,发现 5-氮杂胞苷作用后的 SGC7901 胃癌细胞 G_0/G_1 期和凋亡率显著高于作用前 SGC7901 胃癌细胞(均 $P < 0.05$),S 期、 G_2/M 期和 PI 显著低于作用前 SGC7901 胃癌细胞(均 $P < 0.05$),表明 5-氮杂胞苷作用后的 SGC7901 胃癌细胞增殖速度增加,而凋亡减少,推测其可能与 DKK3 基因重新表达有关。此外,本研究的结果间接表明 DKK3 基因具有抑癌基因功能,对细胞周期及凋亡具有调控作用。值得注意的是,5-氮杂胞苷为广谱的去甲基化药物,可能不仅仅对

3 小 结

本方法采用连续流动注射分光光度法测定酒中氰化物,具有较好的灵敏度、精密度、准确度,并且操作简单,自动化程度高,检测方法满足国家标准技术要求,为日常和应急检测提供一种较好的方法。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 2757-2012 食品安全国家标准蒸馏酒及其配制酒[S]. 北京:中国标准出版社, 2012:1.
- [2] 徐燕. 流动注射分析水中挥发酚、氰化物及阴离子合成洗涤剂[J]. 预防医学论坛, 2014, 20(6): 437-439.
- [3] 张爱霞,武和平,刘楠. 车间空气中氰化物气相色谱测定方法探讨[J]. 实用预防医学, 2009, 16(3): 906-907.
- [4] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5750. 5-2006 生活饮用水标准检验方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2007:35-36.
- [5] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 48-2003, 蒸馏酒及配制酒卫生标准的分析方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2003:414.
- [6] 姜汉硕,赵婉娟,蒋莹. 连续流动注射分析法测定白酒中氰化物[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(4): 476-479.
- [7] 王艳春,王宝旺,魏玉霞. 白酒中氰化物的流动注射分光光度测定法[J]. 中国医学装备, 2014, 11(S1): 146-148.

收稿日期:2017-02-16

DKK3 基因启动子具有去甲基化作用,亟待靶向更高的去甲基化药物。

参考文献

- [1] Kang WS, Cho SB, Park JS, et al. Clinico-epigenetic combination including quantitative methylation value of DKK3 augments survival prediction of the patient with cervical cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2013, 139(1): 97-106.
- [2] Das DS, Wadhwa N, Kunj N, et al. Dickkopf homolog 3 (DKK3) plays a crucial role upstream of WNT/beta-CATENIN signaling for Sertoli cell mediated regulation of spermatogenesis[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63603.
- [3] 崔丹,翟博,张明,等. Dkk3 在肝细胞肝癌中的表达及其临床意义[J]. 肝胆外科杂志, 2014, 22(4): 304-307.
- [4] Tao L, Huang G, Chen Y, et al. DNA methylation of DKK3 modulates docetaxel chemoresistance in human nonsmall cell lung cancer cell [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2015, 30(2): 100-106.
- [5] Rukova B, Staneva R, Hadjidekova S, et al. Whole genome methylation analyses of schizophrenia patients before and after treatment [J]. Biotechnol Bioinform Equip, 2014, 28(3): 518-524.
- [6] O'Donnell AH, Edwards JR, Rollins RA, et al. Methylation abnormalities in mammary carcinoma: the methylation suicide hypothesis[J]. J Cancer Ther, 2014, 5(14): 1311-1324.
- [7] 沈琼,陈陆俊,徐斌,等. 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 1 在食管癌中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(5): 1168-1170.
- [8] 孔繁静. DKK-3 基因甲基化在胃癌病情及预后评估中的价值[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(9): 1253-1255.
- [9] 杨磊,贾彬,闫慧明,等. Dickkopf-3 和血管内皮生长因子 C 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(3): 351-353.
- [10] Medinger M, Muesser P, Girsberger S, et al. Dkk3 levels in patients with myeloproliferative neoplasms[J]. Thromb Res, 2014, 133(2): 218-221.
- [11] Sood S, Srinivasan R. Alterations in gene promoter methylation and transcript expression induced by cisplatin in comparison to 5-Azacytidine in HeLa and SiHa cervical cancer cell lines[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 404(1-2): 181-191.

收稿日期:2017-04-17