氰化物检查法(第四法)草案

第四法

1. 连续流动注射+直流安培法

原理　通过超滤对样品进行前处理，以去除大分子物质。去除大分子物质后的样品溶液与酸性试剂混合，经连续流动注射分析仪进行在线紫外消解，将待测的总氰化物（溴化氰、氰基硼氢化钠等）转化成氰化氢。氰化氢通过气体扩散膜扩散到碱性溶液中，并在碱性溶液中转化为氰根离子。然后将氰根离子带入直流安培检测器。其中，氰根离子与银/氯化银的参考电极发生配位交换，产生的电流与测量样品的总氰化物浓度成正比。检测器响应显示为峰高。由此产生的峰值高度与样品中的总氰化物浓度成正比，最后通过标准曲线法得到样品溶液中总氰化物的残留量。

设备　连续流动注射分析仪：自动进样器、多通道蠕动泵、总氰化物分析模块、紫外消解器、膜分离器、直流安培检测器、数据处理系统。

试剂　（1）含 2% 次磷酸的 1 mol/L 硫酸溶液：取硫酸 55 mL，缓缓注入适量水中，冷却至室温，加次磷酸 20 mL，加水稀释至 1000 mL，摇匀，即得。

（2）0.1 mol/L 氢氧化钠溶液：取澄清的氢氧化钠饱和溶液 5.6 mL，加水使成 1000 mL，摇匀，即得。

（3）水。

对照品溶液的制备　（1）500 ng/mL 对照品贮备液　取水中氰成分分析标准物质（50 μg/mL），用水稀释成含氰化物浓度（以 CN^-计）为 500 ng/mL 的溶液。

（2）对照品溶液　精密量取 500 ng/mL 对照品贮备液适量，用水逐级稀释成含氰化物浓度（以 CN^-计）分别为 1.25、2.5、5、10、20、40、60、80 ng/mL 的

溶液。

（3）灵敏度溶液 精密量取 500 ng/mL 对照品贮备液适量，用水逐级稀释成含氰化物浓度（以 CN^-计）为 1.25ng/mL 的溶液。

供试品溶液的制备 取供试品 2mL，置 3KD 超滤离心管中，加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 1mL，以每分钟 4000×g 离心 45 分钟（采用水平转头）或每分钟 7500×g 离心 45 分钟（采用固定转头）后，再加水 1 mL，自“以每分钟 4000×g 离心 45 分钟（采用水平转头）或每分钟 7500×g 离心 45 分钟（采用固定转头）”起，重复操作两次，离心结束后合并滤液，混匀，即得。

仪器参数的设置 一般参考条件：进样时间为 35 s；进样体积为 200 μL；40% 泵速；样品周期时间为 160 s；紫外波长为 312 nm；直流安培检测器。

系统适用性要求 灵敏度溶液色谱图中，主成分峰峰高的信噪比应大于 10。

测定法 将酸性试剂管路插入含 2% 次磷酸的 1 mol/L 硫酸溶液中，将碱性试剂管路插入 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液中，将载液管路插入水中。开启蠕动泵，让溶液流经整个系统，待基线平稳后，分别取对照品溶液、供试品溶液注入全自动化学分析仪，记录峰高。

结果计算 以对照品溶液中氰化物浓度（以 CN-计）（ng/mL）对其相应的峰高作线性回归，求得线性回归方程，将供试品溶液的峰高带入线性回归方程，求得供试品溶液中氰化物浓度（以 CN-计）B（ng/mL），再通过换算得出供试品中氰化物浓度（以 CN-计）（ng/mL），最后除以多糖含量（mg/mL）得到供试品中氰化物残留量（ng/mg）。

计算公式为：

供试品中氰化物残留量（ng/mg）=（B×稀释倍数）/多糖含量

2. 连续流动注射+光度法

原理　本法仍以超滤对样品进行前处理，以去除大分子物质。去除大分子物质后的样品溶液，在酸性条件下，通过在线蒸馏释放出氰化氢。氰化氢通过膜分离器分离，然后被碱性溶液吸收变成氰根离子。在弱酸性条件下，氰根离子与氯胺 T 反应生成氯化氰，再与异烟酸反应经水解生成戊烯二醛，戊烯二醛与巴比妥酸缩合生成紫蓝色化合物，于波长 600 nm 处进行比色测定。

设备　连续流动分析仪：自动进样器、多通道蠕动泵、氰化物反应单元、蒸馏模块、膜分离器、600 nm 比色检测器、数据处理系统。

试剂　（1）蒸馏试剂：取枸橼酸 50 g，加水 800 mL 使溶解，加氢氧化钠 12 g，加水稀释至 1000 mL，用 1 mol/L 的盐酸溶液或 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值至 3.8。

（2）0.1 mol/L 氢氧化钠溶液：取澄清的氢氧化钠饱和溶液 5.6 mL，加水使成 1000 mL，摇匀，即得。

（3）30%十二烷基聚乙二醇醚溶液：取十二烷基聚乙二醇醚（$(C_2H_4O)_nC_{12}H_{26}O$）30 g，加水 50 mL，在 70□下搅拌至充分溶解，放冷，加水使成 100 mL，即得。

（4）缓冲溶液（pH 5.2）：取氢氧化钠 2 g 与邻苯二甲酸氢钾 20.5 g，加水 1000 mL 使溶解，用 1 mol/L 的盐酸溶液或 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值至 5.2，加试剂（3）1 mL，摇匀，即得。

（5）氯胺 T 溶液：取氯胺 T 2 g，加水 1000 mL 使溶解，即得。

（6）异烟酸-巴比妥酸试剂：取氢氧化钠 7 g、二甲基巴比妥酸（$C_6H_8O_3N_2$）16.8 g 与异烟酸（$C_6H_5NO_2$）13.6 g，加水 1000 mL 使溶解，用 1 mol/L 的盐酸溶液或 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值至 5.2，即得。

对照品溶液、灵敏度溶液、供试品溶液的制备 见 1.连续流动注射+直流安培法项下。

仪器参数的设置 一般参考条件：蒸馏模块温度为125℃，检测波长为600 nm。其余见 1.连续流动注射+直流安培法项下。

系统适用性要求 见 1.连续流动注射+直流安培法项下。

测定法 按照仪器说明，依次将指定管路放入对应的溶液中，并按照最佳工作参数进行仪器调试，待基线平稳后，分别取对照品溶液、供试品溶液注入全自动化学分析仪，记录吸光度。

3. 流动注射+光度法

原理 本法样品前处理、化学反应原理与 2. 连续流动注射+光度法相同，仅是样品分析方式不同：连续流动分析是利用连续流、通过蠕动泵将样品和试剂泵入分析模块中混合、反应，并泵入气泡将流体分割成片段，使反应达到完全的稳态后，进入检测器进行测定。流动注射分析是在封闭的管路中，将一定体积的样品注入连续流动的载液中，样品与试剂在化学反应模块中按特定的顺序和比例混合、反应，在非完全反应的条件下，进入检测器进行测定。

设备 流动注射分析仪：自动进样器、多通道蠕动泵、氰化物反应单元、蒸馏模块、膜分离器、600 nm 比色检测器、数据处理系统。

试剂 （1）蒸馏试剂：取磷酸 50 mL，加水稀释至 1000 mL，即得。

（2）0.025 mol/L 氢氧化钠溶液：取澄清的氢氧化钠饱和溶液 1.4 mL，加水使成 1000 mL，摇匀，即得。

（3）磷酸盐缓冲溶液（pH 4.0）：取磷酸二氢钾 97 g，加水 1000 mL 使溶解，即得。

（4）氯胺 T 溶液：取氯胺 T 2 g，加水 500 mL 使溶解，即得。

（5）异烟酸-巴比妥酸试剂：取氢氧化钠 12 g、二甲基巴比妥酸（$C_6H_8O_3N_2$）16.8 g 与异烟酸（$C_6H_5NO_2$）13.6 g，加水 1000 mL 使溶解，即得。

对照品溶液、灵敏度溶液、供试品溶液的制备 见 1.连续流动注射+直流安培法项下。

仪器参数的设置 见 2.连续流动注射+光度法项下。

系统适用性要求 见 1.连续流动注射+直流安培法项下。

测定法 按照仪器说明，依次将指定管路放入对应的溶液中，并按照最佳工作参数进行仪器调试，待基线平稳后，分别取对照品溶液、供试品溶液注入全自动化学分析仪，记录吸光度。

【附注】（1）不同品牌或型号仪器的试剂配制有所不同，可根据试剂情况进行调整，经完整的方法学验证后使用。

（2）当采用光度法进行测定时，供试品溶液的吸光度读数，以在 0.3-0.7 之间为宜。

（3）应注意仪器管路系统的保养，经常清洗管路；每次实验前都应检查泵管是否磨损，并及时更换已损坏的泵管。

（4）供试品溶液超滤完成后，膜上液体应不大于 100 μL，若剩余较多，可延长超滤时间。

（5）供试品溶液需当日配制，当日使用。

（6）可用 0.01mol/L 溶液氢氧化钠代替水制备对照品溶液。