

## 实验技术与方法

## 部分蔬菜及食用菌中氰化物检测方法研究

丁杨<sup>1</sup>, 孙中华<sup>2</sup>, 赵伟<sup>3</sup>

(1. 哈尔滨市疾病预防控制中心, 黑龙江 哈尔滨 150056; 2. 黑龙江省种业技术服务中心, 黑龙江 哈尔滨 150008; 3. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**目的 建立利用蒸馏-流动注射联用法检测部分蔬菜及食用菌中氰化物的方法。方法 创新前处理方法, 利用水蒸气蒸馏技术处理样品有效除掉干扰杂质, 再利用连续流动注射仪检测馏出液中氰化物含量。结果 对20份样品进行氰化物检验, 蒸馏-流动注射联用法最低检出限为0.0125 mg/kg, 最低定量浓度为0.0375 mg/kg; 回收率为97.0%~103.6%; 测定结果相对标准偏差RSD(n=6)为3.74%~4.56%。采用异烟酸-吡唑啉酮分光光度法、异烟酸-巴比妥酸分光光度法与此方法进行对比, 蒸馏-流动注射联用法检测速度快、数据准确。结论 蒸馏-流动注射联用法检测结果准确可靠, 重复性良好, 缩短检验时间, 适合对大批量蔬菜及食用菌中氰化物快速准确地检测。

**关键词:** 蔬菜; 食用菌; 蒸馏-流动注射联用法; 氰化物; 检测

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2024)04-0394-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2024.04.005

## Determination of cyanide in some vegetables and edible fungi

DING Yang<sup>1</sup>, SUN Zhonghua<sup>2</sup>, ZHAO Wei<sup>3</sup>(1. Harbin Center for Disease Control and Prevention, Heilongjiang Harbin 150056, China;  
2. Heilongjiang Seed Industry Technical Service Center, Heilongjiang Harbin 150008, China;  
3. First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Heilongjiang Harbin 150040, China)

**Abstract: Objective** A method for the detection of cyanide in vegetables and edible fungi by distillation-flow injection method was established. **Methods** Innovative pretreatment method, the use of water vapor distillation technology to process the sample to effectively remove interfering impurities, and then the use of continuous flow syringe to detect the cyanide content in the distillate. **Results** 20 samples were tested for cyanide, the detection limit of the method was 0.0125 mg/kg, the lowest quantitative concentration was 0.0375 mg/kg; The recovery rate was between 97.0%-103.6%; The relative standard deviation RSD (n=6) was 3.74%-4.56%. The method was compared with isonicotinic acid-pyrazolone Spectrophotometer and isonicotinic acid-barbituric acid Spectrophotometer. **Conclusion** The results of distillation-flow injection method was accurate and reliable, with good repeatability and the test time was shortened. It was suitable for rapid and accurate detection of cyanide in large quantities of vegetables and edible fungi.

**Key words:** Vegetables; Edible fungus; Distillation-flow injection method; Cyanide; Detection

植物中氰化物的主要来源是本身所含氰甙配糖体类物质, 目前已知含有氰甙的植物有至少2000种<sup>[1]</sup>。轻度氰化物中毒头晕、呕吐、乏力等症状, 严重者表现为昏迷、肌肉痉挛甚至猝死<sup>[2-3]</sup>。现阶段没有针对蔬菜及食用菌中氰化物的检测方法<sup>[4-6]</sup>, 建立一种准确、快速检测蔬菜中氰化物的方法非常

必要。传统的分光光度法准确度高但操作复杂、时间长。近年来, 流动注射在线蒸馏技术采用的是全封闭体系, 检测方式环保、检测数据准确、快速<sup>[7-14]</sup>。这种技术结合两种检验方法的优点, 前处理采用水蒸气蒸馏法, 再以流动注射法检测馏出液, 实现快速准确定量检测蔬菜及食用菌中的氰化物。

收稿日期: 2022-09-07

作者简介: 丁杨 女 副主任检验技师 研究方向为理化检验工作 E-mail: dy19812001@163.com

通信作者: 赵伟 女 副主任医师 研究方向为中西医结合治疗血液系统疾病 E-mail: zwzw20052005@163.com

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

蔬菜: 甘蓝、春笋、鲜口蘑、鲜黄花菜、四季豆角、人工种植鲜平菇、鲜木薯、木耳、香菇、长豇豆。

## 1.2 主要仪器及试剂

分析天平(赛多利斯工业称重设备北京有限公司,型号 CP423S-OCE);智能一体化蒸馏仪(山东济南盛泰电子科技有限公司,型号 ST106-3RW);流动注射分析仪(美国哈希公司,型号 QC8500Series2);紫外可见分光光度计(日本岛津株式会社(中国)有限公司,型号 UV-2550);电热恒温水浴锅(北京市光明医疗仪器厂,型号 DK-98-II)。

磷酸二氢钾(136 g/L);氯胺 T(10 g/L,临用现配);异烟酸-巴比妥酸(2:1,用 12 g/L 氢氧化钠溶液临用现配);乙酸锌(100 g/L);氢氧化钠溶液(20 g/L,临用现配);氢氧化钠溶液(10 g/L,临用现配);氢氧化钠溶液(1 g/L,临用现配);氢氧化钠溶液(12 g/L,临用现配);磷酸二氢钾(97 g/L);氯胺 T(2 g/L,临用现配);异烟酸-巴比妥酸(13.6 g/L,用 12 g/L 氢氧化钠溶液临用现配);乙酸锌-酒石酸混合试剂;水中氰化物标准溶液(BWZ6709-2016,100 mg/L,北京北方伟业计量技术研究院);水中氰化物标准物质使用液(1 mg/L,临用现配);乙酸溶液(3+97);酚酞-乙醇指示液(10 g/L);磷酸盐缓冲溶液(pH7.0);异烟酸-吡啶啉酮溶液(临用现配)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样品前处理

样品粉碎后均匀取样 20 g(精确到 0.000 1 g),置于 500 mL 全玻璃蒸馏瓶中,加 200 mL 去离子水,密封后常温磁力搅拌 30 min,然后快速加入 20 mL 乙酸锌溶液(100 g/L),加 2 g 酒石酸。将冷凝管下端插入盛有 10 mL 氢氧化钠溶液(20 g/L)的碘量瓶中。检查气密闭性后开始蒸馏。收集馏出液共约 250 mL,去离子水定容至 250 mL。取馏出液 10 mL 用氢氧化钠溶液(1 g/L)定容至 250 mL 制成上机样品备用。另用去离子水代替样品制备空白样品备用。

### 1.3.2 定性方法

平行取 2 份馏出液 10 mL。另取空白试样 3 份,分别加入氰化物标准溶液 0 mL、0.05 mL 和 0.1 mL。向馏出样加入一滴酚酞溶液,用乙酸调节红色退去。再向各管加 3 mL 磷酸二氢钾溶液(136 g/L)和 0.25 mL 氯胺 T 溶液(10 g/L),混匀,放置 1~2 min 后,向各管加入 5 mL 异烟酸-巴比妥酸溶液(2:1),在 20~25 °C 室温下 15 min 后与平行加标样品比较,观察显色情况。

### 1.3.3 流动注射法

蒸馏温度:125 °C,检测温度:60 °C;泵速:35 s。等待加热温度达到 125 °C 后,向整个流路系统中泵入超纯水至少 30 min,稳定后再将各泵管放入相应的溶液中,运行至少 10 min 后,在 0~100 μg/L 工作

曲线范围内检测样品。

### 1.3.4 异烟酸-巴比妥酸分光光度法

取馏出液稀释液 10 mL 置于 25 mL 具塞比色管中。向各管加 1 滴酚酞溶液,乙酸调节酸度 PH 在 5~8 范围内。加入 3 mL 磷酸二氢钾(136 g/L)、0.25 mL 氯胺 T(10 g/L),混匀,放置 1~2 min 后,向各管加入 5 mL 异烟酸-巴比妥酸溶液(2:1),在 25 °C 室温下 15 min 后,于 600 nm 波长,1 cm 比色皿,以纯水为参比,在 0~100 μg/L 工作曲线范围内检测样品。

### 1.3.5 异烟酸-吡啶啉酮分光光度法

试样溶液及标准系列溶液中各加 1 mL 氢氧化钠溶液(10 g/L)和 1 滴酚酞指示液,乙酸溶液调至红色消失,加 5 mL 磷酸盐缓冲溶液(0.5 mol/L,pH 7.0),在 37 °C 恒温水浴锅中保温 10 min,再分别加入 0.25 mL 氯胺 T 溶液,混匀,放置 5 min。分别加入 5 mL 异烟酸-吡啶啉酮溶液,加水至 25 mL,混匀。在 37 °C 恒温水浴锅中放置 40 min,用 1 cm 比色杯,以零管调节零点,波长 638 nm,在 0~100 μg/L 工作曲线范围内检测样品。

## 1.4 统计学分析

为验证蒸馏-流动注射联用法检测氰化物的能力,根据实验中所做标准工作曲线,对浓度为 2 μg/L 溶液重复测量 11 次,计算得出该方法最低检出限、样品最低检出限和最低定量浓度。以添加高低两种浓度的鲜木薯、春笋为样品,对比 3 种不同方法进行 6 次的回收率实验,对照本底值计算其平均值、回收率验证方法的准确性;以 4 种样品进行 6 次精密密度实验,计算其平均值、标准偏差及相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD),验证方法的精密密度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法

因植物所含氰甙配糖体类物质需要水解时间,粉碎样品后选择搅拌时间。为提高实验效率缩短实验时间,进行 4 个时间点摸索性实验(见表 1)。通过表 1 的数据分析:15 min 氰甙配糖体类物质不能完全水解析出,45 min 数据相比 30 min 数据在统计学意义相差不大;选择 30 min 磁力搅拌时间,植物所含氰甙配糖体类物质能完全水解析出,在同等蒸馏实验条件下所提取的氰化物最多。

### 2.2 定性方法

在用流动注射仪定量之前先进行了定性实验。目的其一是快速查验样品中是否存在氰化物;其二是根据变色的深浅,调整定量时的工作曲线范围。

表1 不同磁力搅拌时间条件下部分样品提取氰化物结果

Table 1 Results of extracting cyanide from some samples under different magnetic stirring time

类别	氰化物(mg/kg)	不同磁力搅拌时间						
		甘蓝	春笋	鲜口蘑	鲜黄花菜	四季豆角	人工种植平菇	鲜木薯
振荡时间(min/次)	15	0.08	7.31	0.20	0.08	3.86	—	25.6
	30	0.12	7.54	0.28	0.10	4.74	—	27.6
	45	0.11	7.53	0.28	0.09	4.74	—	27.4
	60	0.12	7.54	0.28	0.10	4.75	—	27.1

注:—代表未检出

在 GB 5009.36—2016 中采用苦味酸法定性。本文参考 GB/T 5750—2006 中氰化物、氯化氰的检测标准,采用了更为简便的定性方法。这种直接定性的方法原理是氰根与氯胺 T 作用生成氯化氰,再与异烟酸-巴比妥酸反应生成蓝紫色化合物。在 20~25 °C 条件下,对样品前处理后的馏出液进行快速定性方法检测。此方法最低检测质量浓度为 0.002 mg/L。根据馏出液生成里蓝紫色化合物的颜色深浅程度不同,对比空白试样和加标液的颜色,判断是否符合工作曲线范围内。生成物颜色如果比标准曲线(在 0~100 μg/L 范围内工作曲线方程式  $y=2.87225x+0.00000$ )更深,那么就要考虑重新制备工作曲线或稀释后再上机比色。

### 2.3 流动注射法检测方法

在 0~100 μg/L 范围内标准曲线方程  $y=0.04070x+0.05717$  其相关系数  $r^2=0.99993$ 。进行重复测量( $n=11$ ),得出该方法最低检出限为 0.001 mg/L。样品最低检出限为 0.0125 mg/kg。最低定量浓度为 0.0375 mg/kg。低于 GB 5009.36—2016 异烟酸-吡

啉酮分光光度法最低定量浓度 0.045 mg/kg。以 4 种样品进行精密度实验( $n=6$ ),所得结果见表 2 RSD 在 3.74%~4.56% 之间,检测数据的精密度符合实验要求。

### 2.4 方法比对

参考 GB 5009.36—2016 和 GB/T 5750.5—2006,以鲜木薯、春笋为样品,分别以异烟酸-吡啉酮分光光度法、异烟酸-巴比妥酸分光光度法、蒸馏-流动注射联用法 3 种方法检测,做比对实验。3 种不同方法的回收率实验( $n=6$ )、加标样品回收率在 97.0%~103.6% 之间。表 3 为两种分光光度法与蒸馏-流动注射联用法的数据比较。

对比 3 种方法的测定结果差异性不明显。但对比整体实验时间、操作环境、实验过程,蒸馏-流动注射联用法用时更短,有效避免因人员操作带来的数据误差。

### 2.5 样品检测

以此方法检测 20 份样品中氰化物。部分样品检测值见表 4。

表2 部分样品精密度数据

Table 2 Part sample precision data

名称	6次检测数值/(mg/kg)						平均值/(mg/kg)	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
春笋	7.38	8.18	7.28	7.52	7.54	7.34	7.54	4.37
鲜口蘑	0.171	0.185	0.190	0.176	0.180	0.178	0.180	3.74
鲜黄花菜	0.132	0.146	0.138	0.150	0.140	0.138	0.140	4.56
四季豆角	4.49	5.08	4.62	4.74	4.80	4.69	4.74	4.21

表3 两种分光光度法与蒸馏-流动注射联用法检测样品数据对比

Table 3 Comparison of Spectrophotometer, distillation-flow injection method for determination of sample data

名称	加标量/(mg/kg)	异烟酸-吡啉酮分光光度法			异烟酸-巴比妥酸分光光度法			蒸馏-流动注射联用法		
		本底值/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	回收率/%	本底值/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	回收率/%	本底值/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	回收率/%
鲜木薯	2	27.4	30.1	102	27.4	28.6	97.3	27.6	29.1	98.1
	5		31.9	98.0		33.2	103		31.8	97.0
春笋	2	7.58	9.73	102	7.59	9.41	97.6	7.54	9.42	98.4
	5		12.4	97.5		12.4	98.6		12.8	103.6

## 3 结论

蒸馏-流动注射联用法在前处理方面首先选择适宜的样品水解时间 30 min,再利用水蒸气蒸馏技术除掉样品的干扰杂质,采用流动注射仪对 20 份样品进行氰化物检测。定性实验结果与最终检测结果一致。以蒸馏-流动注射联用法检测所得数据

从准确度和精密度方面进行多次检测,并且与异烟酸-吡啉酮分光光度法、异烟酸-巴比妥酸分光光度法进行比较,蒸馏-流动注射联用法样品的最低检出限质量浓度为 0.0125 mg/kg、最低定量浓度为 0.0375 mg/kg,均低于异烟酸-吡啉酮分光光度法、异烟酸-巴比妥酸分光光度法的最低检出限和最

表4 部分样品检测的氰化物结果

Table 4 Cyanide results from some of the samples tested

名称	检测数值/(mg/kg)
春笋	7.54
鲜野生口蘑	0.18
鲜黄花菜	0.10
木耳	0.15
人工种植鲜平菇	—
鲜木薯	27.6
香菇	—
长豇豆	0.01
四季豆角	4.74

注:—代表未检出

低定量浓度。蒸馏-流动注射联用法所得数据准确可靠,重复性良好,缩短检验时间提高实验效率,适合对大批量蔬菜和食用菌中氰化物快速准确的检测。

### 参考文献

- [ 1 ] 余璐璐,刘杨,徐飞. 氰化物的来源及其在植物中的功能研究进展[J]. 生命科学, 2019, 31(2): 128-134.  
YU L L, LIU Y, XU F. The source of cyanide and its function in plants[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2019, 31(2): 128-134.
- [ 2 ] 郭忠,张文德. 食品中的氰化物来源及其安全性的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(4): 404-408.  
GUO Z, ZHANG W D. Research progress on source and safety of cyanide in food[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2014, 26(4): 404-408.
- [ 3 ] 宋逸群,孙倩倩. 食品中氰化物检验方法的研究进展[J]. 福建分析测试, 2021, 30(3): 14-17.  
SONG Y Q, SUN Q Q. Research progress on detection methods of cyanide in food[J]. Fujian Analysis and Testing, 2021, 30(3): 14-17.
- [ 4 ] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 5750—2023生活饮用水标准检验方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2007.  
Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB 5750—2023 Standard inspection method for domestic and drinking water[S]. Beijing: China Standards Press, 2007.
- [ 5 ] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法:GB/T 8538—2022[S]. 北京:中国标准出版社, 2022.  
National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration of Market Supervision and administration. National Standards for food safety Method for examination of natural mineral water for drinking: GB/T 8538—2022[S]. Beijing: China Standards Press, 2022.
- [ 6 ] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB 5009.36—2016食品安全国家标准 食品中氰化物的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2016.  
The National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. GB 5009.36—2016 National Standards for food safety Determination of cyanide in food products[S]. Beijing: China Standards Press, 2016.
- [ 7 ] 李拥军,高向娜,程妍,等. 甘肃省市售杏仁和扁桃仁及其制品中氰化物含量状况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(1): 64-68.  
LI Y J, GAO X N, CHENG Y, et al. Investigation on cyanide content in almond, apricot kernel and their products sold in Gansu Province[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(1): 64-68.
- [ 8 ] 韦小焯,黄一帆,陈桂鸾,等. 流动注射法测定鲜木薯中氰化物[J]. 化学分析计量, 2018, 27(3): 20-23.  
WEI X Y, HUANG Y F, CHEN G L, BAN Y H, LU Yun, et al. Determination of cyanide in fresh cassava by flow injection method[J]. Chemical Analysis And Meterage, 2018, 27(3): 20-23.
- [ 9 ] 胡馨月,吴永强,赖晋锋,等. 连续流动分析法测定杏仁中氰化物[J]. 化学分析计量, 2021, 30(9): 22-25.  
HU X Y, WU Y Q, LAI J F, et al. Determination of cyanide in almond by continuous flow analysis[J]. Chemical Analysis And Meterage, 2021, 30(9): 22-25.
- [ 10 ] 马兴,张密密,肖亚兵,等. 快速水蒸气蒸馏-流动注射分析仪联用测定食品中氰化物[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(19): 162-165.  
MA X, ZHANG M M, XIAO Y B, et al. Determination of Cyanide in Food by Rapid Steam Distillation-Flow Injection Analysis[J]. Food Research And Development, 2020, 41(19): 162-165.
- [ 11 ] 边天斌,黄希汇,樊继彩,等. 连续流动注射分光光度法测定杏仁中氰化物[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(23): 2857-2859, 2864.  
BIAN T B, HUANG X H, FAN J C, et al. Determination of cyanide in apricot kernel by continuous flow injection spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2021, 31(23): 2857-2859, 2864.
- [ 12 ] 朱晓贤. 环境监测中两种氰化物测定方法的探讨[J]. 皮革制作与环保科技, 2021, 2(21): 87-88.  
ZHU X X. Discussion on two cyanide determination methods in environmental monitoring [J]. Leather Manufacture and Environmental, 2021, 2(21): 87-88.
- [ 13 ] 王东晓. 连续流动分析仪同时测定饮用水中阴离子合成洗涤剂、挥发酚、氰化物、氨氮[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(8): 927-930, 939.  
WANG D X. Simultaneous determination of anionic synthetic detergent, volatile phenol, cyanide and ammonia nitrogen in drinking water by continuous flow analyzer[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2021, 31(8): 927-930, 939.
- [ 14 ] 郑倩清,马彩娟,黄诚. 连续流动在线蒸馏法测定木薯淀粉中氰化物[J]. 公共卫生与预防医学, 2021, 32(4): 55-58.  
ZHENG Q Q, MA C J, HUANG C. Determination of cyanide in cassava starch by continuous flow online distillation[J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2021, 32(4): 55-58.