

在线样品前处理-离子色谱法测定阿胶中的六价铬

钟乃飞

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词: 离子色谱; 六价铬; 阿胶; 在线样品前处理; IonPac AS19

Key words: Ion chromatography; Hexavalent chromium; Donkey-hide glue; Online sample preparation technique; IonPac AS19

引言

近些年来,“假阿胶”事件频频曝光,一度引起消费者的恐慌。所谓“假阿胶”,是在巨大利润的驱使下,一些不法商家采用皮革下脚料等劣质材料冒充驴皮制作的伪劣阿胶^[1]。由于皮革下脚料在鞣制、染色过程中会添加很多重铬酸钾和重铬酸钠,故使用它制作的阿胶往往重金属铬的含量会严重超标。

铬(Ⅲ)是生物和人体必需的一种痕量金属元素,缺乏它会导致遗传不正常,葡萄糖代谢紊乱等症状。与之相反,铬(Ⅵ)具有强烈的致癌和致突变性,由于其更易被人体吸收,其毒性比铬(Ⅲ)大100倍。长期接触铬(Ⅵ),对人类的健康存在着潜在的危害性^[2,3]。因此,建立阿胶中重金属铬(Ⅵ)的定量测定方法,对规范阿胶市场和保障食品安全具有重要意义。

目前对于阿胶中重金属铬(Ⅵ)的定量测定尚无报道。阿胶中总铬测定已报道的有火焰原子吸收法^[4],石墨炉原子吸收法^[5,6]和电感耦合等离子质谱法^[7]。由于这三种方法只能测定总铬含量,不能检测铬(Ⅵ)含量,其实际意义存在一定的缺陷。在其他基质中,测定铬(Ⅵ)的方法主要有直接分光光度法^[8],离子色谱法^[9],离子交换柱分离-电感耦合等离子体质谱法^[10]和离子色谱-电感耦合等离子体质谱法^[11]等方法。由于分光光度法精度不高,离子交换柱分离-电感耦合等离子体质谱法操作繁琐,离子色谱-电感耦合等离子体质谱法仪器昂贵,根据可行性和可推广性,拟参照离子色谱法的研究思路,对阿胶中重金属铬(Ⅵ)进行定量检测。

测试条件

仪器: ThermoFisher公司ICS-2100配十通阀系统; LPG3400低压四元泵; WVD3400紫外检测器PC-10柱后衍生装置;

在线预处理条件:

在线预处理柱: IonPac NG1柱(35×4mm)
(P/N: 039567);

在线预洗脱液: 30mmol/L KOH;

在线预洗脱液处理柱: IonPac ATC-HC(75×4mm)
(P/N: 0359604);

在线预柱清洗液: 纯乙腈;

在线预处理液流速: 0.55mL/min;

离子色谱条件:

色谱柱: IonPac AS19分析柱(250×4mm)
(P/N: 062885);

IonPac AG19保护柱(50×4mm)
(P/N: 062887);

淋洗液: 25mmol/L KOH

淋洗液流速: 1.0mL/min;

衍生液流速: 0.5mL/min

衍生试剂: 2mmol/L 1,5-二苯卡巴肼、10%甲醇
(V:V)、2.5%硫酸(V:V)

反应管: 375μL编结反应管(ThermoFisher)
(P/N: 043700)

检测波长: Vis@545nm

进样量: 25μL

样品前处理

阿胶样品准确称取0.1g(精确到0.1mg),用150mmol/L NaOH溶解于10mL容量瓶,超声30分钟。离心取上清液过0.45μm滤膜后进样。图1-图4给出了色谱系统的工作过程。

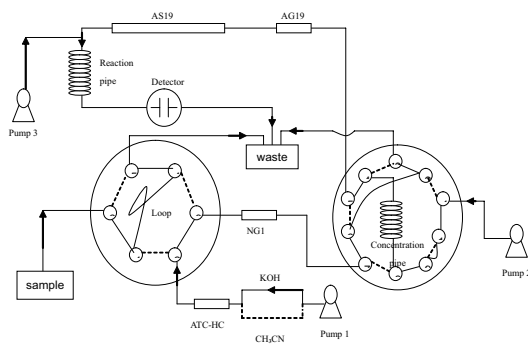


图1 样品装载

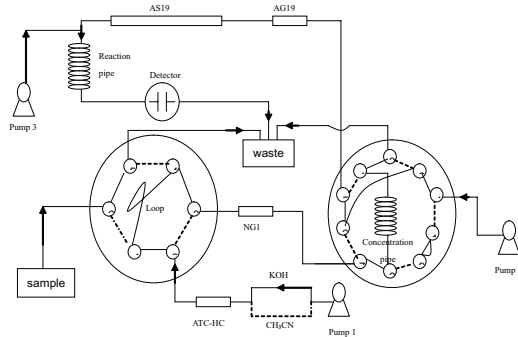


图2 样品在线预处理及富集

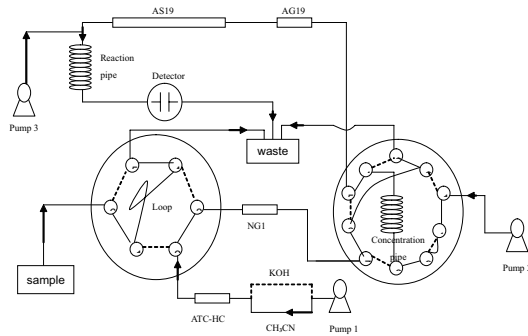


图3 样品分离及预处理柱清洗

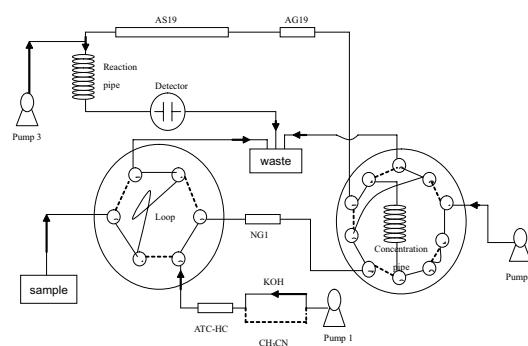


图4 样品分析及系统平衡

注：泵1：Thermofisher UltiMate 3000四元梯度泵；
泵2：Thermofisher ICS-2100离子色谱仪输液泵；
泵3：PC-10柱后衍生装置；

实验主要有四个步骤：

样品装载：如图1，样品注入25 μL 定量环，此时六通阀处于Load状态，十通阀处于A状态。泵1提供在线预洗脱液平衡预处理柱NG1，泵2提供淋洗液平衡保护柱AG19、分析柱AS19；

样品在线预处理及富集：如图2，最初3分钟时，切换六通阀使其处于Inject状态，在线预洗脱液将定量环中的样品冲入预处理柱NG1进行处理，与此同时，十通阀切换为B状态，使得从预处理柱NG1流出的溶液能收集到2mL富集管中；

样品分离及预处理柱清洗：如图3，切换十通阀进入A状态，将收集在富集管中的溶液冲入保护柱及分析柱中进行分离分析，此时电脑开始采集信号；六通阀切换回Load状态，泵1提供在线预柱清洗液对预处理柱NG1进行清洗；

样品分析及系统平衡：如图4，从分析柱流出的待测物与衍生液反应，在波长为545 nm处产生吸收，从而进行检测。泵1重新换为在线预洗脱液平衡预处理柱NG1，为下次进样做好准备。

结果和讨论

样品预处理

铬（VI）在酸性环境下呈强氧化性，容易被阿胶中还原性物质还原为铬（III），因此样品的提取应在碱性条件下进行。阿胶样品中有机物含量高，且往往具有还原性，所以样品在前处理的过程中，铬（VI）很容易被还原为铬（III），这就给样品的提取、分离和检测带来了较大的困难。

我们采用了马弗炉灼烧、硝酸消解后调pH至碱性、乙腈处理沉淀蛋白、过氧化氢处理等前处理方法，但实验加标回收很不理想。最终确定用NaOH作为提取液，具体方法为：称取0.1 g阿胶样品，用150 mmol/L NaOH溶液定容至10 mL。超声30 min对样品中 Cr^{6+} 进行提取，离心10 min后，经过0.22 μm 滤膜过滤后，先通过聚合物反相柱，在碱性条件下，去除阿胶中的干扰物质，并将 Cr^{6+} 富集在2 mL富集管中，经阴离子交换色谱柱分离，柱后衍生反应可见光检测。

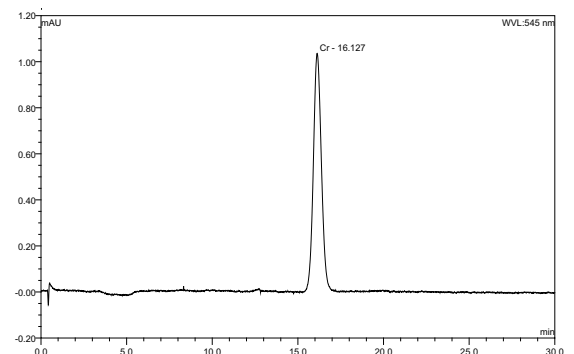


图5 标准样品色谱图（Cr（VI）：0.02 mg/L）

方法的线性关系、检出限和重复性

配制铬（VI）质量浓度为1.0 g/L的储备液，逐级稀释成0.004 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.04 mg/L、0.08 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.8 mg/L和1.0 mg/L 9组不同质量浓度的混合标准溶液。

表1 线性方程

组分	线性方程	线性范围 (mg/L)	相关系数 (r^2)
Cr^{6+}	$y=9.6656x+0.0115$	0.004-1.0mg/L	0.9999

稀释并检测铬(VI)标准溶液,测定峰高信噪比(S/N)为10:1时铬(VI)的浓度确定为本方法的定量下限2.283 µg/L;测定峰高信噪比(S/N)为3:1时铬(VI)的浓度确定为本方法的检出限为0.6917 µg/L。

向空白基质中加入中浓度铬(VI)标准溶液,按以确定的前处理方法处理后,连续进样6次,计算6次的RSD,考察重现性。六次进样的色谱峰的保留时间、峰面积和峰高的RSD分别为1.007%、1.755%和1.214%。

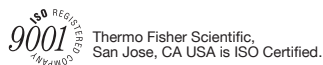
结论

本方法采用离子色谱柱后衍生可见光定量检测阿胶中重金属铬(VI)的方法。具有简单,快速,灵敏度高,选择性好等特点。适用于阿胶中重金属铬(VI)的定量测定。

参考文献

- [1]. 杨朝晖本报, 阿胶产业急需一场质量标准化洗礼, in 科技日报2010.
- [2]. 许春树, 皮革中六价铬的研究进展评述. 西部皮革, 2005. 27(6): 第15-20页.
- [3]. 李丁, 王萍与马超良, 六价铬对小鼠骨髓、肝血嗜多染红细胞的影响. 工业卫生与职业病, 1999(3): 第59页.

- [4]. 董顺玲, 原子吸收光谱法测定中成药阿胶中铜、铬、镉、铅、砷、锑、锡和汞. 光谱学与光谱分析, 1996(6): 第91-98页.
- [5]. 石岩等, 微波消解-石墨炉原子吸收法测定阿胶中铬含量. 药物分析杂志, 2011(8): 第1527-1529页.
- [6]. 史兆松等, 阿胶中总铬含量测定方法研究. 齐鲁药事, 2010(10): 第599-601页.
- [7]. 贾艾玲, 王红梅与李玲玲, 电感耦合等离子体质谱法检测阿胶中6种有害元素的含量. 药物分析杂志, 2012(3): 第434-436页.
- [8]. 薛斌等, 可见分光光度法对水样中痕量Cr(III)和Cr(VI)的同时测定. 沈阳工业大学学报, 2004(1): 第117-120页.
- [9]. 李静等, 牛奶中三价铬和六价铬的同时提取和检测方法. 食品科学, 2010(10): 第250-253页.
- [10]. 邓琴与黄文耀, 食品中六价铬的测定. 中国卫生检验杂志, 2010(11): 第2759-2760页.
- [11]. 杨振宇等, 保健食品中的六价铬测定. 质谱学报, 2008(2).
- [12]. 吴宏伟等, 离子色谱-化学发光法测定环境水样中痕量间苯二酚和间苯三酚. 分析化学, 2012(11).



thermoscientific.com

© 2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
邮编: 201206
电话: 021-68654588
传真: 021-64457830

北京
北京东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼F座7层702-715室
邮编: 100007
电话: 010-84193588
传真: 010-88370548

免费服务热线:
800 810 5118
400 650 5118

ThermoFisher
SCIENTIFIC