

化妆品及保健品中 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的 柱后衍生 - 离子色谱法测定

钟志雄, 朱炳辉, 吴西梅

(广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 510300)

摘要: 建立了化妆品和保健品中 Cr^{3+} 、 Cr^{6+} 的柱后衍生 - 离子色谱检测法。样品中的铬经柱前络合为 2,6-吡啶二羧酸铬, 柱后衍生为 1,5-二苯碳酰二胍络, 于 520 nm 波长检测。优化了衍生反应条件, 提高了检测灵敏度, Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 方法检出限 (LODs, 3 σ) 分别为 0.12、0.011 mg/kg, 样品加标回收率为 89%~108%, 重复性好。共存离子 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 等, 以及常见有机物均不干扰测定。

关键词: 柱后衍生; 离子色谱法; 化妆品; 保健品; Cr^{3+} ; Cr^{6+}

中图分类号: O657.75; P578.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2008)05-0546-04

Determination of Cr^{3+} and Cr^{6+} in Cosmetics and Hygienical Food by Ion Chromatography with Post-column Derivatization

ZHONG Zhi-xiong, ZHU Bing-hui, WU Xi-mei

(Center for Disease Control and Prevention of Guangdong Province, Guangzhou 510300, China)

Abstract: A method was developed for the determination of Cr^{3+} and Cr^{6+} in cosmetics and hygienical food by ion chromatography using post-column derivatization with spectrophotometric detection. The sample was pretreated respectively with acetic acid to extract the Cr^{3+} and sodium hydroxide to extract the Cr^{6+} followed by complexing with pyridine dicarboxylic acid (PDCA) to form Cr^{3+} -PDCA and Cr^{6+} -PDCA, respectively. Using diphenylcarbohydrazide (PDC) as the post-column derivative reagent, the absorbances of Cr^{3+} -PDC and the Cr^{6+} -PDC formed were detected at 520 nm, respectively. Under optimized derivative conditions, the detection limits (3 σ) for Cr^{3+} and Cr^{6+} were 0.12 and 0.011 mg/kg, respectively. The relative standard deviations (RSD) for Cr^{3+} and Cr^{6+} were 1.1% and 1.3% ($n=8$), respectively, and the average recoveries were in the range of 89% - 108%. The determinations were not interfered by the coexistent cations, namely Fe^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} and the organic matter.

Key words: post-column derivitization; ion chromatography; cosmetics; hygienical food; Cr^{3+} ; Cr^{6+}

铬是人体必需的微量元素, 环境中铬主要以三价和六价形式存在, 三价铬广泛分布于人体的各组织器官, 维持人体糖和脂肪的正常代谢, 其有机化合物如吡啶甲酸铬, 常用于降糖的保健品中。六价铬则表现出明显的毒性, 对皮肤粘膜有刺激和腐蚀性, 已证实有致癌作用^[1]。食品和化妆品中铬形态分析尚没有标准检验方法, 开展检测方法研究非常必要。

铬分析常采用分光光度法, 为提高灵敏度, 可选择高灵敏的显色剂^[2]、富集浓缩^[3]和阴离子交换树脂微柱浓缩样品^[4], 以及萃取光度法等^[5]。原子吸收光度法用于铬形态分析, 样品需经萃取、浓集、洗脱处理, 再测定 Cr^{3+} 、 Cr^{6+} ^[6]。化学发光法、电感耦合等离子体光谱、质谱测定铬的灵敏度较高^[7-9], 但联用设备不普及。毛细管电泳检测 Cr^{3+} 等重金属离子, Fe^{2+} 干扰 Cr^{3+} 测定^[10]。液相色谱法测定铬形态, 多采用固相萃取富集, 以提高灵敏度^[11]。保健食品、化妆品组成复杂, 难以准确分析其有害元素形态含量, 通常只测定总量, 但不能真实反映危害水平。离子色谱法可用于铬形态分

收稿日期: 2007-06-28; 修回日期: 2007-07-17

基金项目: 广东省卫生厅医学科学技术研究基金资助项目 (A2006079)

第一作者: 钟志雄 (1965-), 男, 广东龙川人, 副主任技师, Tel: 020-84451366-8155, E-mail: zzxiong608@yahoo.com.cn

析^[12-13]，在化妆品检测中的应用尚未见报道，本文探讨离子色谱 - 光度法检测 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} ，为保健食品及化妆品监管提供检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex CS-2500型离子色谱仪，AD25紫外-可见检测器，PC-10柱后反应装置，AS50自动进样器，色谱柱 InPac CS5 (4 mm i. d. \times 250 mm)、CG5 (4 mm i. d. \times 50 mm)。

1 016 mg/L Cr^{3+} 、1 017 mg/L Cr^{6+} 为国家标准物质，2,6-吡啶二羧酸 (PDCA)、1,5-二苯碳酰二胍 (PDC)、磷酸氢二钠、碘化钾、乙酸铵、氢氧化钠、硫酸、甲醇、盐酸、十二烷基三甲基氯化铵为优级纯或分析纯。标准溶液用淋洗液配制，实验用水为 18.0 M 去离子水。

淋洗液：0.668 g PDCA、3.85 g 乙酸铵、0.72 g 磷酸氢二钠、1.67 g 碘化钾和 0.30 g 氢氧化钠溶于 100 mL 水，得到混合储备液，用时稀释 10 倍，调节溶液 pH 6.8。

衍生试剂：0.5 g 十二烷基三甲基氯化铵溶于 100 mL 热水，冷却加水约 500 mL、硫酸 20 mL，另称取 0.5 g PDC，溶于 150 mL 甲醇，两液混合加水定容到 1 000 mL，过滤后使用，冰箱储存稳定 7 d。

1.2 色谱条件

淋洗液流速 1.0 mL/min，衍生剂流速 0.5 mL/min，反应温度 40℃，检测波长 520 nm，进样量 75 μ L，以保留时间定性，峰面积定量。

1.3 样品预处理

准确称取 1 g 样品于 25 mL 比色管中，其中一组加入 1.0 mol/L 乙酸约 15 mL，用于 Cr^{3+} 的测定，另一组加入 0.5 mol/L 氢氧化钠约 15 mL 用于 Cr^{6+} 测定。两管水浴加热至沸腾 20 min，充分溶解，高速振荡 5 min，超声浸提 10 min，用 3.0 mol/L 氢氧化钠、1.5 mol/L 盐酸调节样品溶液的 pH 为 6.5 ~ 7.0，加入 2 mL 淋洗液储备液，水浴加热煮沸 2 min，冷却，加水定容至刻度。取上清液，14 000 r/min 离心分离 10 min，过 0.45 μ m 滤膜，备用。

2 结果与讨论

2.1 衍生剂浓度、反应温度与检测波长的确定

二苯碳酰二胍 (PDC) 是测定铬常用的显色剂，但灵敏度不高。本研究优化了反应条件，以提高灵敏度。分别固定 PDC、甲醇、十二烷基三甲基氯化铵和硫酸中的 3 种试剂含量，改变其中 1 种试剂的浓度，测定标准溶液中 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的峰面积。实验结果表明，PDC 从 0.3 g/L 增加到 0.8 g/L 时， Cr^{3+} 的峰面积增大， Cr^{6+} 的峰面积则减小；甲醇体积分数从 5% 增加到 20% 时， Cr^{3+} 的峰面积稍微增大， Cr^{6+} 的峰面积增加较多；十二烷基三甲基氯化铵从 0.2 g/L 增加到 4 g/L 时， Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的峰面积先增加后减小；硫酸体积分数从 1.5% 增加到 3.0% 时， Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的峰面积变化不明显。综合考虑，选择 0.5 g/L PDC、15% 甲醇、2.0% 硫酸、0.5 g/L 十二烷基三甲基氯化铵混合液作衍生剂。

反应温度对显色反应有明显的影响，在室温、40℃、60℃、80℃ 时，分别测定标准溶液中 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的峰面积。实验结果表明，温度增加， Cr^{3+} 峰面积略有减小， Cr^{6+} 的峰面积明显增加，反应温度为 40℃ 较合适。

$\text{Cr}(\text{III})$ -PDCA 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ -PDCA 在 255、325、365 nm 有紫外吸收，但吸收弱^[5]。 $\text{Cr}(\text{III})$ -PDC 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ -PDC 在 520、540 nm 等有较强的可见吸收，因此，选取 520 nm 为检测波长。

2.2 样品预处理方法的选择

铬形态分析样品前处理方法有多种，可采用 PIS 聚合物吸附、阴离子微柱浓缩法^[3-4]，中性氧化铝小柱吸附样品的 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} ，然后用酸、碱分别洗脱，回收率好^[6]。Cathum 等^[11]采用吡啶二羧酸萃取环境样品中的 Cr^{3+} 、 CrO_4^{2-} 和 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 。综合文献报道，碱性条件有利于 Cr^{6+} 的提取，但 Cr^{3+} 会生成 $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 沉淀，采用酸提取 Cr^{3+} 更合适。本实验分别测定 0.5 mol/L 碳酸氢钠、氢氧化钠，1.0 mol/L 硫酸、乙酸、盐酸溶液等浸提样品中 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的效率。结果表明，碳酸氢钠、盐酸、硫酸提取效率极低，0.5 mol/L 氢氧化钠溶液浸提 Cr^{6+} 和 1.0 mol/L 乙酸提取 Cr^{3+} 的效率较高 (见表 1)。故本

文选择 0.5 mol/L 氢氧化钠和 1.0 mol/L 乙酸分别作为 Cr^{6+} 、 Cr^{3+} 的提取液。

表 1 浸提液对化妆品和保健品中 Cr^{3+} 、 Cr^{6+} 回收率的影响 ($n=3$)

Sample	Extractive reagent	Cation	Original	Added	Found	Recovery $R/\%$
			$w_{\text{O}}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$w_{\text{A}}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$w_{\text{F}}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	
Color focus palette	0.5 mol/L NaOH	Cr^{3+}	<0.12	30.48	7.28 \pm 0.61	24
		Cr^{6+}	0.81	4.07	5.22 \pm 0.22	108
	1 mol/L CH_3COOH	Cr^{3+}	<0.12	30.48	26.97 \pm 1.54	89
		Cr^{6+}	0.75	6.10	3.5 \pm 0.31	45
Foundation cream	0.5 mol/L NaOH	Cr^{3+}	<0.12	30.48	5.35 \pm 0.14	17
		Cr^{6+}	0.59	4.07	4.83 \pm 0.57	104
	1 mol/L CH_3COOH	Cr^{3+}	<0.12	30.48	27.87 \pm 1.68	91
		Cr^{6+}	0.75	6.10	3.33 \pm 0.25	42
Anti-diabetic capsule	0.5 mol/L NaOH	Cr^{3+}	<0.12	30.48	6.1 \pm 0.78	20
		Cr^{6+}	<0.011	6.10	5.62 \pm 0.22	91
	1 mol/L CH_3COOH	Cr^{3+}	10.36	30.48	38.58 \pm 3.23	93
		Cr^{6+}	<0.011	6.10	3.92 \pm 0.57	64

2.3 干扰实验

考察了常见共存离子对铬测定的影响，实验发现，10.0 mg/L 的 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} ，15.0 mg/L 的苯甲酸、山梨酸、糖精钠、柠檬酸、酒石酸，均不影响测定。

2.4 线性方程、线性关系与检出限

在实验选定的最佳条件下，分别测定 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 的混合标准溶液，求得线性方程和相关系数。配制 0.05 mg/L Cr^{3+} 和 0.02 mg/L Cr^{6+} 的混合标准溶液，连续进样 11 次，得到浓度平均值和标准差，计算方法的检出限 (LODs, 3) 见表 2。

表 2 线性方程、线性关系与检出限

Cation	Linear regression equations	Correlation coefficient r	Average concentration ($n=11$) $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	LODs	
				$/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$w/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$
Cr^{3+}	$A = -3.10 \times 10^{-6} + 5.59 \times 10^{-5} c$	0.999 4	0.068 \pm 1.559 $\times 10^{-3}$	4.7	0.12
Cr^{6+}	$A = -1.07 \times 10^{-4} + 7.27 \times 10^{-3} c$	0.999 6	0.015 8 \pm 1.391 $\times 10^{-4}$	0.42	0.011

2.5 方法的精密度与加标回收率

配制 0.245 mg/L Cr^{3+} 和 0.100 mg/L Cr^{6+} 的混合标准溶液连续进样 8 次，峰面积平均值和相对标准偏差分别为 $1.045 \times 10^{-5} \pm 1.195 \times 10^{-6}$ 、RSD 为 1.1%， $1.086 \times 10^{-4} \pm 1.367 \times 10^{-6}$ 、RSD 为 1.3%。

准确称取 1 g 胭脂粉样品 3 份，其中 2 份分别加入 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 标准溶液，按照 “1.3” 处理样品，测定。 Cr^{3+} 平均回收率为 89%~93%， Cr^{6+} 平均回收率为 91%~108% (见表 1)，色谱图见图 1A、1B。

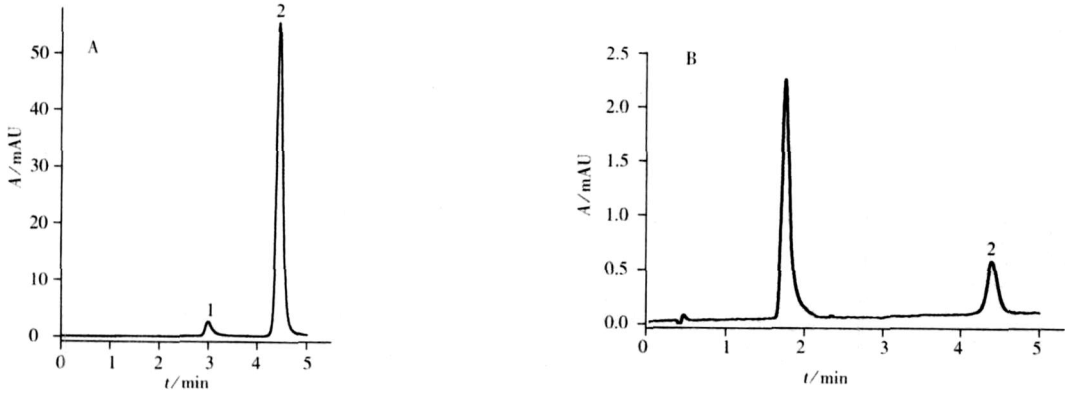


图 1 标准溶液 (A) 及胭脂粉 (B) 的离子色谱图

Fig. 1 Ion chromatogram of standard mixture (A) and powder blush refill (B)
A: 1. Cr^{3+} (8.13 mg/L), 2. Cr^{6+} (0.816 mg/L); B: 2. Cr^{6+} (0.025 mg/L)

(下转第 552 页)

参考文献:

- [1] 陈青川, 于文莲, 王静. 高效液相色谱法同时测定多种食品添加剂 [J]. 色谱, 2001, 19(2): 105 - 108
- [2] 陈金东, 李蔚. 高效液相色谱法同时测定食品中的阿斯巴甜、阿力甜 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(9): 1069 - 1070
- [3] 中华人民共和国卫生部. GB2760 食品添加剂使用卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 28 - 29
- [4] 陈少波, 潘超华. 食品中甜蜜素的紫外分光光度法测定 [J]. 分析测试学报, 2000, 19(3): 82 - 83
- [5] 贾玉珠, 骆和东, 林健. HPLC 法同时测定饮料中 5 种添加剂的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(4): 448 - 449
- [6] 郭又珍, 王志宏. 同时测定碳酸饮料中苯甲酸钠、山梨酸钾和安赛蜜的高效液相色谱法 [J]. 分析测试学报, 2001, 20(4): 67 - 68
- [7] 郭莹莹, 朱岩, 叶明立. 淋洗液发生器离子色谱抑制电导法测定甜味剂 [J]. 浙江大学学报, 2004, 31(4): 435 - 437
- [8] ZHU Yan, GUO Yingying, YE Mingli, et al Separation and simultaneous determination of four artificial sweeteners in food and beverages by ion chromatography[J]. J Chromatogr. A, 2005, 1085: 143 - 146
- [9] BOYCEM C. Simultaneous determination of antioxidants, preservatives and sweeteners permitted as additives in food by mixed micellar electrokinetic chromatography [J]. J Chromatogr. A, 1999, 847: 369 - 375
- [10] CATHERINE O T, CRAIG E TRENERRY V. Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low-Joule soft drinks and other foods[J]. J Chromatogr. A, 1995, 694: 507 - 514

(上接第 548 页)

参考文献:

- [1] FLORAS De Threshold mechanisms and site specificity in chromium () carcinogenesis[J]. Carcinogenesis, 2000, 21(4): 533 - 541.
- [2] FANG Guozhen, LUO Jikuen Spectrophotometric determination of chromium (,) by use of chromium (,) chrom A zuiol S-cetylpyridinium bromide-hydroxylamine hydrochloride-zinc () system [J]. Talanta, 1992, 39(12): 1579 - 1582
- [3] SCNDIA YM, PANDEY A K, REDDY A V, et al Selective preconcentration and determination of chromium () using a flat sheet polymer inclusion sorbent potential application for Cr() determination in real samples[J]. Anal Chem, 2002, 74(16): 4204 - 4212
- [4] SAMANTA G, BORNGCB, DASGUPTA P K Continuous automated measurement of hexavalent chromium in airborne particulate matter[J]. Anal Chem, 2001, 73(9): 2034 - 2040
- [5] THORBUM D, DANGOLLE C D F Spectrophotometric determination of chromium () by extraction of the dichromate anion into propylene carbonate[J]. Anal Chim Acta, 1997, 356: 145 - 152
- [6] SAHAYAM A C Speciation of Cr() and Cr() in potable waters by using activated neutral alumina as collector and ET - AAS for determination[J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 372(7/8): 840 - 842
- [7] XU Yi, BESSOTH F G, EIJKE J C T, et al On-line monitoring of chromium () using a fast micro machined mixer/reactor and chemiluminescence detection[J]. Analyst, 2000, 125: 677 - 685
- [8] FRANCESCO C, ANDREA R Determination of cadmium, lead, iron, nickel and chromium in selected food matrices by plasma spectrometric techniques[J]. Microchemical Journal, 2002, 79(1/2): 91 - 96
- [9] WU Ying, HU Bin, PENG Tong, et al In-situ separation of chromium () and chromium () and sequential ETV - ICP - AES determination using acetylacetone and PTFE as chemical modifiers[J]. Fresenius J Anal Chem, 2001, 370(7): 904 - 910
- [10] 王柏松, 李华, 丁富新, 等. 毛细管电泳柱上络合分离、间接紫外检测重金属离子 [J]. 分析测试学报, 2006, 25(5): 25 - 29
- [11] CATHUM S, BROWN C E, WONGWei Determination of Cr^{3+} , CrO_4^{2-} and $\text{C}_2\text{O}_7^{2-}$ in environmental matrices by high-performance liquid chromatography with diode-array detection[J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 373(1/2): 103 - 110
- [12] TOMAS D H, ROHRER J S, JACKSON P E, et al Determination of hexavalent chromium at the level of the California Public Health Goal by ion chromatography[J]. J Chromatogr. A, 2002, 956(1/2): 255 - 259
- [13] 周光明, 刘珍, 杨光明, 等. 低压离子色谱分离 - 化学发光在线检测过渡金属离子 [J]. 色谱, 2005, 23(3): 265 - 268