

# 化妆品及保健品中 $\text{Cr}^{3+}$ 和 $\text{Cr}^{6+}$ 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  $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$  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 1,5-二苯碳酰二胍铬, 于 520 nm 波长检测。优化了衍生反应条件, 提高了检测灵敏度,  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  方法检出限 (LODs, 3 $\sigma$ ) 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  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  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;  $\text{Cr}^{3+}$ ;  $\text{Cr}^{6+}$

**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 $\text{Cr}^{3+}$ and $\text{Cr}^{6+}$ 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  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  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  $\text{Cr}^{3+}$  and sodium hydroxide to extract the  $\text{Cr}^{6+}$  followed by complexing with pyridine dicarboxylic acid (PDCA) to form  $\text{Cr}^{3+}$ -PDCA and  $\text{Cr}^{6+}$ -PDCA, respectively. Using diphenylcarbohydrazide (PDC) as the post-column derivative reagent, the absorbances of  $\text{Cr}^{3+}$ -PDC and the  $\text{Cr}^{6+}$ -PDC formed were detected at 520 nm, respectively. Under optimized derivative conditions, the detection limits (3 $\sigma$ ) for  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  were 0.12 and 0.011 mg/kg, respectively. The relative standard deviations (RSD) for  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  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  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  and the organic matter.

**Key words:** post-column derivatization; ion chromatography; cosmetics; hygienical food;  $\text{Cr}^{3+}$ ;  $\text{Cr}^{6+}$

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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>、富集浓缩<sup>[3]</sup>和阴离子交换树脂微柱浓缩样品<sup>[4]</sup>, 以及萃取光度法等<sup>[5]</sup>。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  $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ <sup>[6]</sup>。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<sup>[7-9]</sup>, 但联用设备不普及。毛细管电泳检测  $\text{Cr}^{3+}$  等重金属离子,  $\text{Fe}^{2+}$  干扰  $\text{Cr}^{3+}$  测定<sup>[10]</sup>。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<sup>[11]</sup>。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<sup>[12-13]</sup>, 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  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$ , 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 IC5-2500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  $\text{Cr}^{3+}$ 、1 017 mg/L  $\text{Cr}^{6+}$  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  $^{\circ}\text{C}$ , 检测波长 520 nm, 进样量 75  $\mu\text{L}$ , 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  $\text{Cr}^{3+}$  的测定, 另一组加入 0.5 mol/L 氢氧化钠约 15 mL 用于  $\text{Cr}^{6+}$  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  $\mu\text{m}$  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  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  的峰面积。实验结果表明, PDC 从 0.3 g/L 增加到 0.8 g/L 时,  $\text{Cr}^{3+}$  的峰面积增大,  $\text{Cr}^{6+}$  的峰面积则减小; 甲醇体积分数从 5% 增加到 20% 时,  $\text{Cr}^{3+}$  的峰面积稍微增大,  $\text{Cr}^{6+}$  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,  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  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,  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  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  $^{\circ}\text{C}$ 、60  $^{\circ}\text{C}$ 、80  $^{\circ}\text{C}$  时, 分别测定标准溶液中  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  的峰面积。实验结果表明, 温度增加,  $\text{Cr}^{3+}$  峰面积略有减小,  $\text{Cr}^{6+}$  的峰面积明显增加, 反应温度为 40  $^{\circ}\text{C}$  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<sup>[5]</sup>。 $\text{Cr}(\text{III})$  - 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<sup>[3-4]</sup>, 中性氧化铝小柱吸附样品的  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$ , 然后用酸、碱分别洗脱, 回收率好<sup>[6]</sup>。Cathum 等<sup>[11]</sup>采用吡啶二羧酸萃取环境样品中的  $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{CrO}_4^{2-}$  和  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 。综合文献报道, 碱性条件有利于  $\text{Cr}^{6+}$  的提取, 但  $\text{Cr}^{3+}$  会生成  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  沉淀, 采用酸提取  $\text{Cr}^{3+}$  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  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  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  $\text{Cr}^{6+}$  和 1.0 mol/L 乙酸提取  $\text{Cr}^{3+}$  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  $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$  的提取液。

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

Table 1 Effect of extractive reagent on the recoveries of  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  in cosmetics and hygienical food ( $n=3$ )

Sample	Extractive reagent	Cation	Original	Added	Found	Recovery $R/\%$
			$w_0 / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	$w_A / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	$w_F / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	
Color focus palette	0.5 mol/L NaOH	$\text{Cr}^{3+}$	<0.12	30.48	7.28 $\pm$ 0.61	24
		$\text{Cr}^{6+}$	0.81	4.07	5.22 $\pm$ 0.22	108
	1 mol/L $\text{CH}_3\text{COOH}$	$\text{Cr}^{3+}$	<0.12	30.48	26.97 $\pm$ 1.54	89
		$\text{Cr}^{6+}$	0.75	6.10	3.5 $\pm$ 0.31	45
Foundation cream	0.5 mol/L NaOH	$\text{Cr}^{3+}$	<0.12	30.48	5.35 $\pm$ 0.14	17
		$\text{Cr}^{6+}$	0.59	4.07	4.83 $\pm$ 0.57	104
	1 mol/L $\text{CH}_3\text{COOH}$	$\text{Cr}^{3+}$	<0.12	30.48	27.87 $\pm$ 1.68	91
		$\text{Cr}^{6+}$	0.75	6.10	3.33 $\pm$ 0.25	42
Anti-diabetic capsule	0.5 mol/L NaOH	$\text{Cr}^{3+}$	<0.12	30.48	6.1 $\pm$ 0.78	20
		$\text{Cr}^{6+}$	<0.011	6.10	5.62 $\pm$ 0.22	91
	1 mol/L $\text{CH}_3\text{COOH}$	$\text{Cr}^{3+}$	10.36	30.48	38.58 $\pm$ 3.23	93
		$\text{Cr}^{6+}$	<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  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ , 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  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  的混合标准溶液, 求得线性方程和相关系数。配制 0.05 mg/L  $\text{Cr}^{3+}$  和 0.02 mg/L  $\text{Cr}^{6+}$  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 $\sigma$ ) 见表 2。

表 2 线性方程、线性关系与检出限

Table 2 Linear regression equations, correlation coefficients and detection limits (3 $\sigma$ )

Cation	Linear regression equations	Correlation coefficient $r$	Average concentration ( $n=11$ ) $/ (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	LODs	
				$/ (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	$w / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
$\text{Cr}^{3+}$	$A = -3.10 \times 10^{-6} + 5.59 \times 10^{-5} c$	0.999 4	0.068 $\pm$ 1.559 $\times 10^{-3}$	4.7	0.12
$\text{Cr}^{6+}$	$A = -1.07 \times 10^{-4} + 7.27 \times 10^{-3} c$	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  $\text{Cr}^{3+}$  和 0.100 mg/L  $\text{Cr}^{6+}$  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  $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  标准溶液, 按照 “1.3” 处理样品, 测定。 $\text{Cr}^{3+}$  平均回收率为 89%~93%,  $\text{Cr}^{6+}$  平均回收率为 91%~108% (见表 1), 色谱图见图 1A、1B。

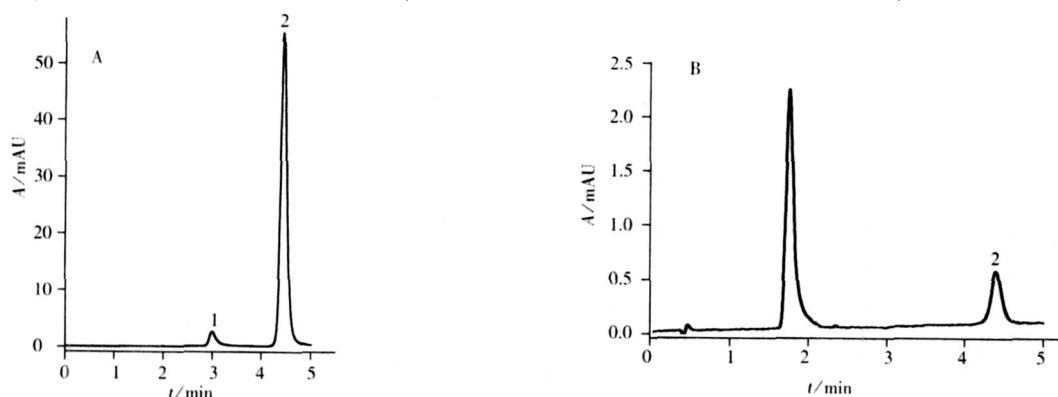


图 1 标准溶液 (A) 及胭脂粉 (B) 的离子色谱图

Fig. 1 Ion chromatogram of standard mixture (A) and powder blush refill (B)

A: 1.  $\text{Cr}^{3+}$  (8.13 mg/L), 2.  $\text{Cr}^{6+}$  (0.816 mg/L); B: 2.  $\text{Cr}^{6+}$  (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, PANDEYA 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  $Cr_2O_7^{2-}$  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