

保健食品中的六价铬测定

杨振宇, 郭德华, 杨克成, 葛黎萍

(上海出入境检验检疫局, 上海 200135)

摘要: 采用碱性溶液稳定并提取保健品中的六价铬, 在阴离子色谱柱上进行分离, 用 ICP-MS 对六价铬进行检测。对保健奶粉、营养冲剂、保健饮品等样品进行了试验, 线性相关系数大于 0.999, 精密度 $RSD < 10\%$, 回收率在 $80\% \sim 110\%$ 之间, 最低检出限为 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该方法简便快速, 具有较强的定性能力。

关键词: 六价铬; IC-ICP-MS; 保健食品

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2008)02-92-05

Determination of Hexavalent Chromium in Health Foods

YANG Zhen-yu, GUO De-hua, YANG Ke-cheng, GE Li-ping

(Shanghai Entre-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

Abstract: Hexavalent chromium was extracted from the health foods sample with alkaline solution. The extract was determined by IC-ICP-MS. The parameters of health milk powder, nutritional drink powder and healthy beverage were acquired. The linear correlation coefficient is greater than 0.999, the RSD of precision is less than 10% , the recoveries are in the range of $80\% \sim 110\%$, and the LOQ is $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The method is simple, quick and strong qualitative capability.

Key words: hexavalent chromium; IC-ICP-MS; health foods

铬是一种微量元素, 常见的离子价态有 0、+2、+3 和 +6。Cr(II) 离子是强还原剂, 相当不稳定, 能迅速地氧化成三价铬, 因此, Cr(II) 在生物体内极少存在。六价铬离子具有较高的正电荷和较小的半径, 因此, 不论在晶体中还是在溶液中都不存在简单的 Cr(VI) 离子, 而总是以酸根阴离子的形式存在。其中主要是与氧结合成铬酸盐(CrO_4^{2-})或重铬酸盐($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), 是一种很强的氧化剂。在酸性溶液中, 这些离子很容易还原成 Cr(III)。三价铬是最稳定的氧化态,

也是生物体内最常见的一种, 但是 Cr(III) 在碱性溶液中却有较强的还原性, 较易被氧化^[1]。

三价铬的毒性比较小, 而且为人体所必需, 其主要生理功能是作为葡萄糖耐量因子的组成成分、体内某些代谢酶类的活化剂、核酸的稳定剂以及能促进胆固醇和脂肪酸的生成。

人体缺乏三价铬可能导致一系列疾病, 比较明显是缺铬导致的糖尿病, 所以一些针对糖尿病人的保健品中就添加了三价铬。六价铬的毒性比较大, 吸附在皮肤上或摄入体内时可能引起病

变甚至癌变,大量摄入可致死亡。然而对于保健食品中铬的测量是参照食品中总铬的测定方法 GB/T 5009.123-2003《食品中铬的测定方法》,而没有保健食品中六价铬的测定方法。对于这些添加三价铬的保健品,如果只测总量显然无法知道其中铬的具体价态以及可能造成的危害。国内外对食品中六价铬的测量有一些研究,如对动物性食品罐头^[2]、饲料^[3]、乳制品^[4-5]等农畜产品中的六价铬测定进行了研究。主要采用不改变价态的碱消解或水浸提,通过萃取或柱吸附的方法分离六价铬,然后用石墨炉原子吸收测定。这些方法的好处是利用石墨炉原子吸收灵敏度高的优点,缺点是需要分离,操作比较复杂。

离子色谱是高效液相色谱的一个分支,主要用于阴、阳离子的分析。离子色谱选择性好、灵敏、快速、简便,可同时测定多组分,在测量环境样品中有较广泛的应用^[6]。笔者曾对离子色谱测量食品保健品中的六价铬进行了研究,采用弱碱提取、离子色谱分离、柱后衍生分光光度定量的测量方法^[7]。但在研究中发现,对一些颜色较深或者在色谱上有干扰峰出现的样品,离子色谱法定量六价铬就比较困难了。在已有的元素分析方法中,ICP-MS 是比较新的元素测量手段,具有极高的灵敏度和极强的选择性。由于 ICP-MS 采用蠕动泵进样,可以与色谱进行联用,色谱-ICP-MS 联用可以说是测量元素价态最有效的方法之一。本研究拟采用离子色谱法和 ICP-MS 联用的方法来测量保健品中的六价铬。

1 实验步骤

1.1 试剂

实验所用水均为超纯水,电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$;氯化镁(分析纯)、65% HNO_3 (优级纯)、25% NH_4OH (分析纯);均购自国药集团。

1.1.1 磷酸缓冲溶液(pH 7.0) 将 8.71 g 磷酸氢二钾和 6.80 g 磷酸二氢钾溶解在水中,定容至 100 mL,混匀。

1.1.2 碱性提取液 取 20 g NaOH 和 30 g Na_2CO_3 溶解在水中,用水定容至 1 000 mL,混匀待用。

1.1.3 六价铬标准溶液 GBW(E)080257, $0.100 0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.1.4 六价铬工作标准溶液 六价铬标准储备溶液用水逐级稀释成 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,吸取 0、

0.2、0.5、1、2、5 mL 该溶液于 50 mL 离心管中。分别加入 0.5 mL 磷酸缓冲溶液、0.4 g 氯化镁和 10 mL 提取液,用水定容至 25 mL,混匀。在 $6 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速下离心 5 min,吸取清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜,即得到 0、0.4、1、2、4、10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准工作溶液系列(该标准系列应临用现配)。

1.1.5 流动相的配制 准确移取 2 mL 65% HNO_3 和 2.5 mL 25% NH_4OH 溶液于 500 mL 烧杯中,加水近 400 mL,混匀。用 NH_4OH 或 HNO_3 溶液将 pH 调至 9.3,移入 500 mL 容量瓶,用水定容。使用前超声 10 min。

1.2 实验仪器

Elite P230 离子色谱泵;大连伊利特公司产品,带 200 μL 定量环;PE Elan 6000 ICP-MS;美国 PE 公司产品;分离色谱柱;Hamilton PRP-X100,15 cm,46 mmID,5 μm ;摇床;分析天平;感量 0.1 mg 和 0.01 g 各一台;冷冻离心机;最大转速 $10 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,可使用 50 mL 离心管;尼龙滤膜:0.45 μm 。

1.3 分析方法

1.3.1 前处理 将固体样品打碎至粉末状,水分含量高的则打成糊状,均匀液体样品则可直接称样。一般固体样品称取 0.5 g 于 50 mL 离心管,液体样品则称取 1.0 g 或量取 1.0 mL 于 50 mL 离心管中,加入 0.5 mL 磷酸缓冲溶液、0.4 g 氯化镁和 10 mL 提取液,混匀。摇床上以 200 min^{-1} 的频率振摇 60 min,然后在转速 $6 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,4 $^\circ\text{C}$ 下离心 5 min。如离心后仍混浊,可吸取 5 mL 溶液于 10 mL 离心管中,再在转速 $10 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,4 $^\circ\text{C}$ 下离心 5 min。吸取清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜,待上机测量。按相同步骤处理制备空白溶液。

1.3.2 色谱分析条件 色谱柱:Hamilton PRP-X100,15 cm,46 mmID,5 μm ;柱温:35 $^\circ\text{C}$;流动相:56 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HNO_3 + 67 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4OH ,pH 9.3;流速:1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样量:100 μL 。

1.3.3 ICP-MS 分析条件 开机稳定后,先做标准曲线,然后测量样品,用质量数 52 的结果进行峰面积或峰高外标法定量,用质量数 53 的结果协助定性。ICP-MS 的工作参数列于表 1。

表 1 ICP-MS 的工作参数

Table 1 Instrumental conditions parameters of ICP-MS

项目	工作参数	项目	工作参数
RF 功率	1 200 W	样品提升速率	色谱进样
辅助气流量	1.00 L · min ⁻¹	扫描方式	跳峰
雾化器流量	0.85 L · min ⁻¹	分析模式	定量
等离子体气	20 L · min ⁻¹	峰通道数	1
脉冲电压	1 200 W	测量点	1
冷却水温度	(18±1) °C	测量方式	脉冲
测量质量数	52,53	重复次数	450
单次测量时间	2 000 ms	总测量时间	约 900 s

表 2 不同碱性溶液使用量和不同温度下三价铬转化为六价铬的量(μg · L⁻¹)Table 2 The invert quantity of Cr(Ⅲ) to Cr(Ⅵ) in different quantities of alkaline solution and different temperatures (μg · L⁻¹)

碱性混合溶液 使用量/mL	不同提取温度下的转化量/(μg · L ⁻¹)			
	25 °C	40 °C	60 °C	90 °C
2.50	0.00	0.00	0.00	0.00
5.00	0.35	0.40	0.45	0.37
12.50	1.26	1.04	1.05	0.83
25.00	2.11	2.14	2.23	3.24

2 实验讨论

2.1 提取方法

2.1.1 提取液的浓度水平 三价铬和六价铬在碱性溶液中不易转化,所以样品前处理一般以碱性溶液浸提为主,但采用的碱性溶液及其强度则各有报道。如文献[2]采用 10% 四甲基氢氧化铵强碱性溶液;文献[3]采用 0.01 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液;美国 EPA 3060A 方法则采用 0.28 mol · L⁻¹ Na₂CO₃ 和 0.5 mol · L⁻¹ NaOH 混合溶液。本方法主要对 EPA 的前处理方法进行了考察,发现使用该提取方法时,三价铬会转化成六价铬。由于在强碱条件下,三价铬确实有可能转化成六价铬,所以在不同的温度条件下试验不同浓度水平的碱性提取液,加入高水平的三价铬来考察其转化成六价铬的情况,加入三价铬的量为 0.4 mg · L⁻¹,溶液浓度水平用 0.28 mol · L⁻¹ Na₂CO₃ 和 0.5 mol · L⁻¹ NaOH 混合溶液的使用量来表示,不足则加水补足,其结果示于表 2 和图 1。

在 EPA Method 3060A 的提取条件下,近 1% 的三价铬转化成六价铬。所以,本方法最终使用 2.5 mL 碱性提取液,用水定容到 25 mL,其浓度是 EPA Method 3060A 所使用的碱性提取液的 10%。

2.1.2 提取温度的确定 EPA Method 3060A 方法的提取温度是 90 °C,提取 1 h。实验按 25、40、60、90 °C 4 种温度进行提取实验,加入六价铬的量为 0.01 mg · L⁻¹。考虑到温度上升可能会造成浸出物质的不同,因此采用标准加入法进行对比,即同时做样品和样品加标,提取结束后在未加标的样品中添加 0.01 mg · L⁻¹ 六价铬标

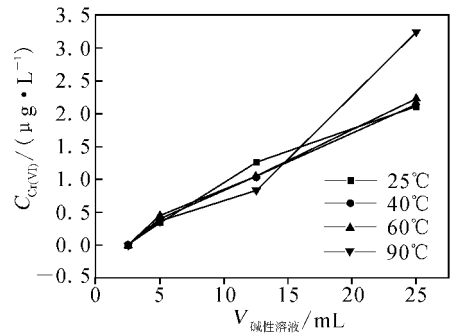


图 1 不同浓度水平碱性溶液和不同温度下三价铬向六价铬的转化情况

Fig. 1 The inversion of Cr(Ⅲ) to Cr(Ⅵ) in different quantities of alkaline solution and different temperatures

准,测量该样品作为标准值,与加标样品的结果进行对比。发现在 40 °C 下,大部分样品的添加回收试验的回收率有明显下降,随着温度上升,回收率进一步下降。所以,本研究确定实验条件为室温,提取 1 h,具体结果列于表 3。

2.1.3 氯化镁添加量的确定 在 EPA Method 3060A 方法中为了防止三价铬的转化,添加了 0.4 g 氯化镁,对于镁盐的效果和具体添加量做了不同添加量的对比试验。在试剂空白溶液中添加三价铬,添加水平为 0.4 mg · L⁻¹,除了氯化镁的添加浓度,其他条件不变。结果发现,在未添加氯化镁的溶液中检出 0.4 μg · L⁻¹ 六价铬,而添加了氯化镁的溶液没有检出六价铬。可以说明,氯化镁的添加起到了阻止三价铬向六价铬转化的作用。由于某些保健食品中三价铬的含量很高,所以本方法最终确定氯化镁的添加量为 0.4 g。

表 3 不同提取温度下不同基质的回收率试验(%)

Table 3 The recovery tests in different matrix and different temperatures(%)

样品基质	不同提取温度下的回收率/%			
	25 °C	40 °C	60 °C	90 °C
空白	100	107	97	104
营养补剂	98	75	47	16
降糖奶粉	102	85	72	0
保健饮品	94	91	88	60

2.1.4 样品量的确定 由于样品中可能存在还原性物质,使得在溶液中的六价铬会被还原成更稳定的三价铬,所以样品量不宜过大,因此,对 2 种不同基质的样品进行了回收率对比试验。其他实验条件不变,称样量各不相同,添加的六价铬含量为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,与提取温度试验一样,考虑到样品量不同造成的溶液基质不同,该试验也采用了标准加入法,其结果列于表 4。

表 4 不同称样量的回收率

Table 4 The recoveries of different sample quantities

称样量 /g	营养补剂		称样量 /g	营养补剂	
	结果/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率 /%		结果/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率 /%
0.5	10.6	106	1.0	9.67	97
1.0	5.83	58	2.0	9.50	95
1.5	3.75	38	3.0	8.31	83
2.0	3.28	33	4.0	7.58	76

可以看到,随着样品量的增大,回收率下降,所以本方法规定了样品量的上限,即固体不超过 0.5 g,半固体和液体不超过 1 g 或 1 mL。

2.2 仪器条件的选择

2.2.1 离子色谱条件的确定 在研究离子色谱法时,提供阳离子色谱分离的是戴安公司 CS-5 阳离子柱,但本方法采用的色谱条件参考了 Varian 公司测量水中六价铬的色谱分离条件。相比来讲,Hamilton 的色谱柱价格要低一些,而且采用的流动相是硝酸和氨水,其组成和状态非常适合 ICP-MS 进样,六价铬出峰时间约为 5 min。

2.2.2 质谱的干扰 在 ICP-MS 检测时也存在多原子离子的干扰,主要是 $\text{Ar}^{40}\text{C}^{12}$ 干扰 Cr^{52} ,

$\text{Cl}^{37}\text{O}^{16}$ 干扰 Cr^{53} ,即样品液中的含碳阴离子和氯离子会产生干扰峰。但在本研究的色谱条件下,含碳的阴离子和氯离子出峰早,一般并不干扰六价铬的检测。对于阳性样品可以通过对质量数 52 和 53 的丰度比来进行定性,某降糖奶粉的色谱图示于图 2。三价铬在碱性溶液中以组成和价态各异的配位离子形式存在,而不是以 Cr^{3+} 阳离子的形式存在,而且在加入氯化镁时, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 会与 $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 产生共沉淀。所以在本方法的研究条件下,不能定量检测三价铬,而且谱图上也不会有固定三价铬的峰,图 2 中峰 5 可能是某种三价铬配位离子的峰,因为质谱定性是属于铬化合物。

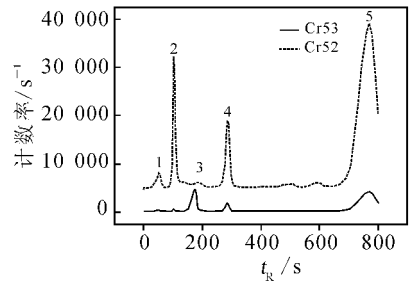


图 2 某降糖奶粉的色谱图

Fig. 2 The chromatograms of a sample of healthy milk powder

注:峰 1、峰 2 可能是由于 C 造成的;峰 3 是 Cl 的干扰;峰 4 是六价铬的峰;峰 5 是未知峰。

2.3 线性范围、检测限、回收率及精密度

2.3.1 线性和最低检出限实验 本方法标准曲线在 $0 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性良好,相关系数 > 0.999 。样品添加 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Cr}(\text{VI})$ 标准,连续测量 11 次,计算标准偏差,按 3 倍标准偏差计算得到方法的最低检出限,按 10 倍标准偏差计算得到方法的定量检出限。结果为最低检测限(LOD) $0.06 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,定量检测限(LOQ) $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。按固体样品 0.5 g 定容 25 mL 计,样品中的定量探测限为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,半固体和液体的定量探测限为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.3.2 回收率和精密度试验 本研究对某降糖奶粉、某保健液和某营养冲剂 3 个样品进行了回收率和精密度试验,样品中均未检出六价铬。添加水平为 $0.2, 1, 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,实验平行数为 6,其结果列于表 5。

表 5 添加实验的精密度和回收率

Table 5 The precision and recovery of fortified tests

添加水平	降糖奶粉/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$			保健液/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$			营养冲剂/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$		
	0.2	1	5	0.2	1	5	0.2	1	5
1	0.175	0.876	4.96	0.185	0.987	4.59	0.197	1.01	5.39
2	0.201	0.843	4.78	0.203	0.856	4.84	0.193	0.834	5.29
3	0.209	0.902	4.75	0.176	0.912	4.89	0.182	0.901	5.33
4	0.188	0.938	4.59	0.196	0.882	4.80	0.175	0.863	5.21
5	0.197	0.812	4.88	0.198	0.963	4.84	0.204	0.903	5.08
6	0.187	0.941	4.69	0.187	0.92	4.95	0.178	0.914	5.29
平均值	0.19	0.89	4.78	0.19	0.92	4.81	0.19	0.90	5.26
平均回收率	0.96	0.89	0.95	0.95	0.92	0.96	0.94	0.90	1.05
变异系数/%	6.2	5.8	2.8	5.2	5.3	2.6	6.1	6.6	2.1

参考文献:

- [1] 王 夔. 生命科学中的微量元素 [M]. 2 版. 北京: 中国计量出版社, 1996: 172.
- [2] 吴永宁. 现代食品安全科学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 199.
- [3] 卫生部技术标注. 生活饮用水水质卫生规范 [S]. 卫监发 [2001] 161 号. 北京: 卫生部卫生法制与监督司编印, 2001: 3-8.
- [4] 杨惠芬. 食品卫生理化检验标准手册 [M]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 149.
- [5] 宋全厚, 胡正芝. 恒温平台石墨炉原子吸收光谱法分别测定食品中总铬和六价铬 [J]. 食品与发酵工业, 1990, (4): 1-20.
- [6] SOARES M E, BASTOS M L, FERREIRA M A. Determination of total chromium and chromium (VI) in animal feeds by electrothermal atomic absorption spectrometry [J]. J Anal At Spectrom, 1994, 9: 1 269-1 272.
- [7] LAMEIRAS J, SOARES M E, BASTOS M L, et al. Quantification of total chromium and hexavalent chromium in UHT milk by ETAAS [J]. J Analyst, 1998, 123: 2 091-2 095.
- [8] SOARES M E, BASTOS M L, FERREIRA M A. Selective determination of chromium(VI) in powdered milk infant formulas by electrothermal atomic absorption spectrometry after ion exchange [J]. J AOC Int, 2000, 83(1): 220-223.
- [9] 周玉芝, 邵光勺, 牟世芬. 铬(III)和铬(VI)的离子色谱分析 [J]. 环境化学, 1996, 15(5): 446-450.
- [10] 杨振宇, 郭德华. 离子色谱法测定食品中的六价铬 [J]. 分析试验室, 2005, 24(增刊): 148.