

实验技术与方法

反相离子对色谱-电感耦合等离子体质谱法测定明胶空心胶囊中铬的形态

黄文耀,张颖

(湖北省疾病预防控制中心 应用毒理湖北省重点实验室,湖北 武汉 430079)

摘要:目的 建立明胶空心胶囊中的铬的形态检测方法。方法 以0.25 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠-2 mmol/L 四丁基氢氧化铵-5% 甲醇为流动相,经 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (3.0 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱分离,微波提取反相离子对色谱分离电感耦合等离子体质谱完成明胶空心胶囊中的 Cr(Ⅲ)和 Cr(Ⅵ)测定。结果 水微波提取和分析过程中 Cr(Ⅲ)和 Cr(Ⅵ)不相互转化,三价铬由于没有形成络阴离子,不会形成色谱峰,此时只能测定 Cr(Ⅵ),用乙二胺四乙酸二钠提取时,三价铬与之形成络阴离子,进而形成色谱峰,此时有部分六价铬转化为三价铬,根据峰面积计算出此时三价六价铬的含量总值,减去用水提取出的六价铬,即可得到三价铬真实含量。Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)检出限分别为0.6和0.51 mg/kg,线性范围:5~100 μg/L。结论 本方法能使用于明胶空心胶囊中铬形态的测定。
关键词:反相离子对色谱法;电感耦合等离子体质谱法;铬;形态;胶囊;食品污染物;食品安全
中图分类号:R155;R155.5;O614.61⁺¹ 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)06-0566-04
DOI:10.13590/j.cjfh.2014.06.012

Determination of chromium form Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ) in the gelatin hollow capsule by RPIC/ICP-MS

HUANG Wen-yao, ZHANG Ying

(Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hubei Provincial Key Laboratory for Applied Toxicology, Hubei Wuhan 430079, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of chromium form Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ) simultaneously in gelatin capsule. **Methods** Chromium in gelatin capsule was ultrasonic extracted and determined using reversed-phase ion-pair chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry (RPIC/ICP-MS). **Results** Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ) were not interchangeable in the process of ultrasonic extraction and analysis, and only Cr (Ⅵ) could be determined. When extracted by EDTA, both Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ) could be measured. Because of the interconversion between Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ), the total chromium could be calculated according to peak area. The amount of Cr (Ⅲ) could be determined by subtracting Cr (Ⅵ) from the total chromium. The detection limit of Cr (Ⅲ) and Cr (Ⅵ) were 0.67 and 0.51 mg/kg, and the linear range was 5-100 μg/L. **Conclusion** This method could be used to determine the chromium form in gelatin capsule.

Key words: Reversed phase ion-pair chromatography; inductively coupled plasma mass spectrometry; chromium; form; capsule; food contaminant; food safety

由于使用回收皮革(经碱式硫酸铬鞣制)制作劣质明胶,对下游明胶产品如使用明胶增稠的奶糖、酸奶和胶囊皮形成较大的安全隐患。但是不同价态的铬具有不同的环境影响和生物效应,三价铬 Cr(Ⅲ)是人体必需的微量元素^[1],可促进葡萄糖的利用,是正常糖脂代谢不可缺少的;而六价铬 Cr

(Ⅵ)化合物有毒,可干扰重要的酶体系,经口、呼吸道或皮肤吸收后,具有致癌和诱发基因突变的作用^[2-3]。用铬总量对铬进行风险评估所得结果与实际情况有较大差异^[4],为更准确评价铬在明胶空心胶囊中存在状态以及相互转化规律,探索一种可以同时测定空心胶囊中 Cr(Ⅲ)和 Cr(Ⅵ)的含量的方法是十分有必要的。

目前铬形态分析的主要检测手段有原子吸收光谱(AAS),原子发射光谱(AES)及电感耦合等离子质谱等^[4]。而高效液相色谱-电感耦合等离子质谱联用技术(HPLC-ICP-MS)具有接口简单、检出限低、分析时间短等优点^[5]。本研究利用超声波对胶

收稿日期:2014-03-24

基金项目:湖北省卫生厅重点科研基金项目(JX2A25)

作者简介:黄文耀 男 主任技师 研究方向为无机化学

E-mail:313234967@qq.com

通讯作者:张颖 女 技师 研究方向为无机化学

E-mail:dongcuiying_0911@163.com

囊中的铬进行提取,经反相离子对色谱分离,电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定明胶空心胶囊中的Cr(Ⅲ)和Cr(Ⅵ)。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

电感耦合等离子体质谱仪(Bruker 820MS,美国Bruker),Agilent-1200型高效液相色谱仪、Agilent-240Z石墨炉原子吸收分光光度计均购自美国Agilent,Milestone one型微波消解仪(意大利麦尔斯通),数控超声清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、四丁基氢氧化铵10%水溶液、氨水均购自上海国药集团化学试剂有限公司且均为分析纯(纯度>99%),甲醇,100 μg/ml六价铬单元素标准溶液[编号:GBW(E)080257,中国计量科学研究院],1 000 μg/ml三价铬单元素标准溶液(编号:GSB04-1723-2004,国家有色金属及电子材料分析测试中心),硝酸(优级纯,使用前经低温重蒸,铬本底值低<0.1 μg/L),试验用水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

称取经制备均匀的样品约0.15 g置于微波消化罐中,加入50 ml 0.5 mmol/L EDTA溶液,140℃微波提取20 min,待消解罐完全冷却后再打开内罐,转移定容至50 ml,经0.45 μm的滤膜过滤,备用。

称取样品约0.15 g置于微波消化罐中,加入50 ml超纯水,140℃微波提取20 min,冷却转移定容至50 ml,经0.45 μm的滤膜过滤,备用,用此方法提取六价铬。

1.2.2 仪器条件

色谱条件:色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈(3.0 mm×150 mm,5 μm);柱温为室温;流速0.5 ml/min;进样量100 μl;流动相:0.25 mmol/L EDTA,2 mmol/L四丁基氢氧化铵,5%甲醇,用10%氨水和1%硝酸调节pH=7。

质谱条件:每次试验前使用5 μg/L的调谐液对仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等指标进行优化后联机,以色谱进样阀为质谱工作的触发信号,ICP-MS在线测量,参考条件见表1。

表1 ICP-MS参考条件

Table 1 ICP-MS reference conditions

参数选项	参数值
质荷比/(m/z)	52
射频功率/W	1 400
等离子体气流速/(L/min)	18.0
雾化气流速/(L/min)	0.98
辅助气流速/(L/min)	1.8
碰撞反应气(H ₂)流速/(ml/min)	60

1.2.3 样品测定

在与测定标准溶液相同的试验条件下,将空白溶液和样品溶液依次测定,得到色谱峰面积,与标准系列比较定量。以水提取的样品测试六价铬,以EDTA溶液提取溶液测试总量减去六价铬为三价铬含量。

2 结果与分析

2.1 色谱柱类型的选择

比较C₁₈的peek柱和不锈钢柱,试验表明使用C₁₈的不锈钢柱与peek柱的峰高值无明显差别。HPLC的流路系统及其与ICP-MS之间的连接均为peek管,降低本底值。

2.2 提取剂及提取条件的选择

选取不同浓度的EDTA溶液、不同浓度的硝酸、超纯水、EDTA和四丁基氢氧化铵的混合溶液利用140℃微波20 min提取。在保证提取效率和价态间不相互转化的前提下,选取超纯水提取六价铬,0.5 mmol/L EDTA溶液提取用差减法计算出三价铬含量的方法,得出样品中的不同形态铬的含量。各种试验条件下,用水微波提取时,六价铬不会向三价铬转化,此时三价由于没有形成络阴离子,不会形成色谱峰,所以用水来提取,只能测定六价铬含量。用EDTA提取时,三价铬与之形成络阴离子,进而形成色谱峰,此时有部分六价铬转化为三价铬,根据峰面积计算出此时三价六价铬的含量总值,减去用水提取出的六价铬,即可得到三价铬真实含量。选取不同温度下水浴、超声水浴、微波进行提取,试验证明,140℃微波20 min提取效率最高。

2.3 流动相pH的选择

在酸存在时,六价铬易还原成三价铬;溶液呈碱性时,三价峰会向六价峰靠近^[6]。试验对pH=4.0~8.0进行了考察,结果表明,保持pH=7.0时对于三价六价铬稳定存在以及最佳的色谱分离至关重要。

2.4 流动相中EDTA浓度的选择

反相离子对色谱中离子强度的大小对分离度和出峰时间有很大影响。试验对流动相中EDTA的浓度0.00、0.10、0.25、0.50 mmol/L进行了考察,结果表明,保持EDTA浓度在0.25 mmol/L时可以保证分离度和较好的出峰时间。

2.5 流动相甲醇含量的选择

试验考查流动相中甲醇含量,选取5%、10%、15%甲醇分别试验,结合图1、2、3可知,甲醇含量升高时,保留时间缩短,基线升高。因此,流动相选取5%甲醇。根据上述最优条件测定的Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)混合标准溶液色谱图见图4。

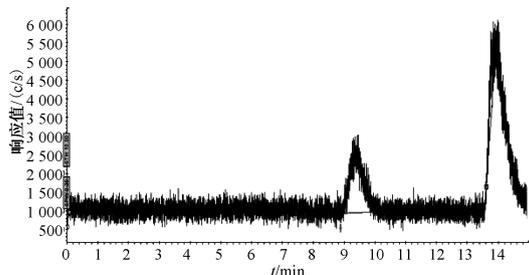


图1 5% 甲醇浓度对 Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)保留时间的影响
Figure 1 Effect of 5% Methanol on the retention time of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ)

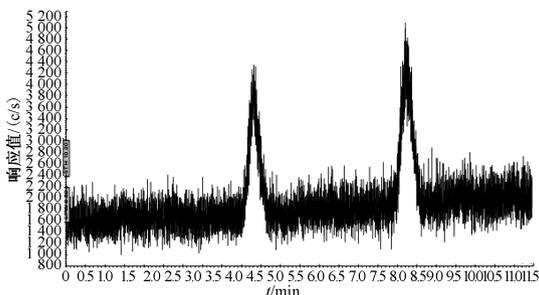


图2 10% 甲醇对 Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)保留时间的影响
Figure 2 Effect of 10% Methanol on the retention time of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ)

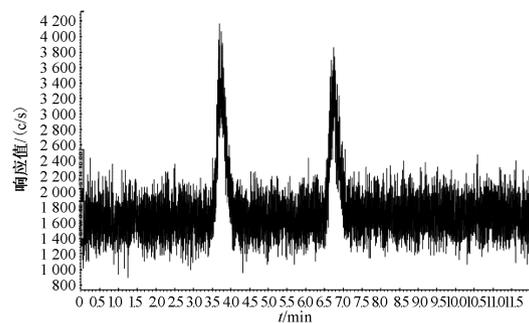


图3 15% 甲醇对 Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)保留时间的影响
Figure 3 Effect of 15% Methanol on the retention time of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ)

2.6 标准曲线及方法的准确性

三价铬的校准曲线为 $y = 87.75x - 308.2$, 相关系数 $r = 0.9965$; 六价铬的校准曲线为 $y = 104.3x -$

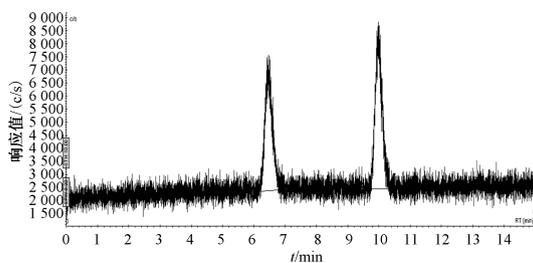


图4 20 µg/L Cr(Ⅲ)、Cr(Ⅵ)液相色谱图
Figure 4 Chromatogram of 20 µg/L Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ)

581.7, 相关系数 $r = 0.9990$ 。按 GB/T 5009.123—2003《保健食品中吡啶甲酸铬含量的测定》^[7] 测定样品中总铬含量, 未检出的胶囊样品作为空白胶囊, 做了加标回收试验, 加标回收数据见表 2。

表2 空白样品加标回收试验

Table 2 Results of recoveries

参数	Cr(Ⅲ)	Cr(Ⅵ)
加标量/µg	1.00	1.00
测定值/µg	0.947	0.914
回收率/%	94.7	91.4

2.7 方法的检出限及精密度

总铬含量的测定结果为未检出的样品作为空白样品, 测定 20 次, 按信号噪声三倍标准差计算, 以取样量为 0.15 g, 定容体积为 50 ml 计算, Cr(Ⅲ)和 Cr(Ⅵ)检出限分别为 0.67 和 0.51 mg/kg。

对 8 个 2012 年空心胶囊抽检铬超标样品进行检测, 在两年内进行了 5 次重复试验, 六价铬均未检出, 而三价铬的测定值与 5 次测定结果的平均值相差均 < 20%。

2.8 样品适应性

对 2012 年空心胶囊抽检超标样品进行检测, 其中总铬测定是按照 GB/T 5009.123—2003 进行 2 次重复测定均值, 三价铬和六价铬为 5 次测定均值, 胶囊样品检测结果见表 3。

3 小结

采用平行处理两份测试液克服了样品提取过

表3 胶囊样品检测结果对照

Table 3 Concentration of chromium in capsules

企业省份	药品名称	产品批号	生产日期	总铬 /(mg/kg)	三价铬 /(mg/kg)	六价铬 /(mg/kg)
吉林	苍耳子鼻炎胶囊	20111001	20111004	14.00	13.20	ND
吉林	炎立消胶囊	110302	20110302	49.00	50.11	ND
辽宁	头孢氨苄甲氧苄啶胶囊	20111110	20111110	19.00	19.44	ND
辽宁	头孢氨苄甲氧苄啶胶囊	20120304	20120304	34.00	33.78	ND
吉林	阿莫西林胶囊	20110101	20110106	28.00	28.96	ND
吉林	头孢氨苄甲氧苄啶胶囊	20110201	20110212	11.00	11.23	ND
吉林	胃康灵胶囊	110827	20110807	9.40	9.36	ND
吉林	补肾强身胶囊	110401	20110412	17.00	18.02	ND

注: ND 为未检出

程中六价铬转化为三价铬,能够准确测试明胶空心胶囊中铬的形态。对有限样品测试结果表明,样品中铬均以三价存在,且在28个月的观察期内未发生转化,表明本研究测试的空心胶囊样品转化为六价铬的风险较小。

参考文献

- [1] 黄文耀,邓琴,沈更新,等. 保健食品中三价铬的测定方法[J]. 公共卫生与预防医学,2006,17(3):66-67.
- [2] Coenelis R, Caruso J, Crews H, et al. Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine and occupational speciation health[M]. Chichester:Wiley,2004:120-135.
- [3] Berner T O, Murphy M M, Slesinski R. Determining the safety of

chromium tripicolinate for addition to foods as a nutrient supplement[J]. Food and Chemical Toxicology,2004,42(6):1029-1042.

- [4] 庞艳华,刘名扬,刘淑艳,等. 反相离子对色谱-电感耦合等离子体质谱法测定化妆品中不同形态的铬[J]. 色谱,2011,29(10):1027-1030.
- [5] 李冰,杨红霞. 电感耦合等离子体质谱原理和应用[M]. 北京:地质出版社,2005:14-16.
- [6] 田雨荷,黄文耀,汤志勇,等. RPIC/ICP-MS 测定水中的 Cr(III)和 Cr(VI)[J]. 光谱实验室,2013,30(4):1980-1984.
- [7] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.123—2003 保健食品中吡啶甲酸铬含量的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

实验技术与方法

酸水解法测定婴幼儿配方食品、乳和乳制品中二噁英类持久性有机污染物

沈海涛^{1,2,3},丁钢强³,李敬光¹,张磊¹,徐青元³,韩见龙³,吴永宁¹

(1. 国家食品安全风险评估中心,北京 100021; 2. 中国疾病预防控制中心,北京 100021; 3. 浙江省疾病预防控制中心,杭州 310051)

摘要:目的 建立适合婴幼儿配方食品、乳及乳制品中二噁英类持久性有机污染物(POPs)分析的前处理技术。方法 利用索氏抽提法和酸水解法分别提取婴幼儿配方食品、乳及乳制品中的脂肪,比较两种方法的差异。结果 对于婴幼儿配方食品,两种萃取方法测得的结果差异不大;对于乳粉和液态鲜乳,索氏抽提法的结果与实际值偏差较大。结论 不同类型乳粉的组分(酪蛋白与乳清蛋白比例等)和加工工艺差异很大,酸水解法能有效地使乳及乳制品中的脂肪转变为游离态,提高了脂肪的提取率,为准确测定 POPs 奠定基础。

关键词:乳; 乳制品; 婴幼儿配方食品; 二噁英; 食品污染物; 酸水解法; 前处理; 食品安全

中图分类号:R155.55;TS252.5;O622 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)06-0569-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.06.013

Acid digestion for the determination of dioxin like POPs in infant formula, milk and milk-based products

SHEN Hai-tao, DING Gang-qiang, LI Jing-guang, ZHANG Lei, XU Qing-yuan, HAN Jian-long, WU Yong-ning
(China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective To develop a fast, economical and sensitive method for determining the dioxin-like persistent organic pollutants (POPs) in infant formula, milk and milk-based products. **Methods** Lipid extraction efficiencies of traditional sample extraction (Soxhlet extraction) and acid digestion liquid-liquid extraction (LLE) were compared. **Results** For infant formula, lipid contents (%) determined by direct Soxhlet extraction (19.6 ± 2.0) and by LLE (20.9 ± 1.2) were close to the nutrition label (21.8 ± 1.3), and the differences in efficiency between these two methods were not significant (*t*-test, $P > 0.05$). For fresh cow milk and other milk powder however, lipid contents (%)

收稿日期:2014-07-21

基金项目:浙江省科技创新团队项目(2011R50021)

作者简介:沈海涛 男 副主任技师 研究方向为持久性有机污染物 E-mail:oldfishmann@hotmail.com

通讯作者:吴永宁 男 研究员 研究方向为食品安全 E-mail:wuyongning@cfsa.net.cn

韩见龙 男 主任技师 研究方向为理化检验 E-mail:jlhan@cdc.zj.cn