

高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用测定 化妆品中六价铬与三价铬

吴思霖, 王欣美, 潘晨, 于建, 张凯, 王柯, 郑荣*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: 建立了一种有效分离检测化妆品中 Cr(VI) 和 Cr(III) 的高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱 (HPLC-ICP-MS) 分析方法。以 10 mmol/L (pH 7.0) EDTA 为提取溶剂, 0.075 mol/L 硝酸 (pH 7.0, 氨水调节) 为流动相, 采用 Agilent Bio-WAX 柱 (4.6 mm × 50 mm, 5 μm) 对样品提取液进行分离, 电感耦合等离子体质谱进行测定。在优化实验条件下, Cr(VI) 和 Cr(III) 在 0~100 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数 (r^2) 均为 0.999 9。Cr(VI) 和 Cr(III) 的检出限分别为 6、2 μg/kg, 定量下限分别为 18、6 μg/kg, 加标回收率为 85.1%~113%, 相对标准偏差为 0.4%~4.6%。实际样品的测定结果显示, 在膏霜乳液类及粉类样品中检出 Cr(VI) 和 Cr(III)。该方法重现性好、灵敏度高, 且 Cr(VI) 在中性条件下较稳定, 不易转化为 Cr(III), 适用于不同基质类型化妆品中 Cr(VI) 和 Cr(III) 的同时检测。

关键词: 高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱 (HPLC-ICP-MS); 化妆品; 六价铬; 三价铬

中图分类号: O657.7; TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)06-0724-05

Determination of Chromium(VI) and Chromium(III) in Cosmetics by High Performance Liquid Chromatography - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

WU Si-lin, WANG Xin-mei, PAN Chen, YU Jian, ZHANG Kai, WANG Ke, ZHENG Rong*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of chromium(VI) and chromium(III) by high performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). The sample was extracted with 10 mmol/L EDTA solution (pH 7.0). The chromatographic separation was performed on an Agilent Bio-WAX column (4.6 mm × 50 mm, 5 μm) utilizing 0.075 mol/L nitric acid (pH 7.0) as mobile phase. Identification and quantitation were achieved by ICP-MS. Under the optimal conditions, the linear ranges for Cr(VI) and Cr(III) were observed from 0 μg/L to 100 μg/L with correlation coefficients (r^2) of 0.999 9. The limits of detection for Cr(VI) and Cr(III) were 6 μg/kg and 2 μg/kg, and the limits of quantitation were 18 μg/kg and 6 μg/kg, respectively. Average recoveries for Cr(VI) and Cr(III) at three spiked levels ranged from 85.1% to 113% with relative standard deviations of 0.4% - 4.6%. Through the analysis of actual samples, Cr(VI) and Cr(III) were detected out in cream lotion and powder cosmetics. With good reproducibility and high sensitivity, this method is suitable for the simultaneous determination of Cr(VI) and Cr(III) in different types of cosmetics as Cr(VI) is stable under neutral conditions.

Key words: high performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS); cosmetics; chromium(VI); chromium(III)

铬(Cr)在自然界中主要以 Cr(III) 和 Cr(VI) 两种形态存在。Cr(III) 是生物体必需的微量元素, 而 Cr(VI) 的毒性比 Cr(III) 高 100 倍, 为致畸致癌物质^[1-2], 易被人体吸收并在体内蓄积。世界卫生组织

收稿日期: 2018-12-20; 修回日期: 2019-01-18

基金项目: 上海市食品药品监督管理局资助项目(09DZ1975400)

* 通讯作者: 郑荣, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 食品化妆品监督检验, E-mail: zhengrongsifdc@163.com

国际癌症研究署(IARC)已将Cr(VI)列为致癌物质^[3]。不同价态的铬毒性差别较大,因此仅对铬做总量分析不够完善。由于Cr(VI)的高致畸致癌性,化妆品安全技术规范(2015年版)中规定铬、铬酸及其盐类(以Cr(VI)计)为禁用组分,但目前国家尚未制定Cr(VI)的相关限值。Cr(VI)在酸性条件下易转变为Cr(III)^[4-6],因此有必要建立一种同时分析Cr(VI)和Cr(III)的方法,为化妆品中铬的风险评估、相关限值制定奠定基础。

目前,国内对Cr(VI)和Cr(III)同时检测的研究主要集中在玩具^[4-5]、食品^[7-8]、饮用水^[9-10]等领域,对化妆品中铬价态的研究较少且以检测总铬为主,尚缺乏化妆品中铬价态检测的技术标准。检测Cr(VI)或同时检测Cr(VI)和Cr(III)的方法有原子吸收光谱法^[11-13]、离子色谱法^[14]及色谱-质谱联用法^[15-17]等,其中高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术(HPLC-ICP-MS)具有灵敏度高、检出限低、线性范围宽等优点,近年来已成为形态分析中最具应用前景的技术。

然而文献多采用酸性溶液提取Cr(VI)和Cr(III)^[4],将其应用于化妆品中Cr(VI)和Cr(III)的提取时重现性较差,且Cr(VI)在酸性条件下易转变为Cr(III),较难适用于不同基质类型化妆品中Cr(VI)和Cr(III)的同时测定。本文通过优化质谱、色谱及提取条件等,建立了同时检测化妆品中Cr(VI)和Cr(III)的HPLC-ICP-MS分析方法,旨在为化妆品的安全监管提供必要的技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7700型电感耦合等离子体质谱仪、1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);WNB10-45型恒温水浴摇床(美墨尔特上海贸易有限公司);5810R型高速离心机(德国Eppendorf公司);DELTA 320型pH计(瑞士Mettler公司);Milli-Q Advantage A10超纯水仪(美国Millipore公司)。

Cr(VI)标准溶液(1 000 mg/L,国家有色金属及电子材料分析测试中心);Cr(III)标准溶液(1 000 mg/L,国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院);硝酸(色谱纯,德国Merck公司);EDTA、氢氧化钠、氨水(均为分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);实验用水为超纯水(18.2 MΩ·cm)。

混合标准溶液:分别精密移取Cr(VI)和Cr(III)标准溶液适量,用10 mmol/L EDTA溶液(pH 7.0, NaOH调节)稀释,配制质量浓度为1 μg/mL的混合标准溶液,于50℃水浴中加热60 min,使Cr(III)与EDTA完全络合。

1.2 检测条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Bio-WAX柱(4.6 mm × 50 mm, 5 μm);柱温:室温;流动相:0.075 mol/L 硝酸(pH 7.0, 氨水调节);洗脱方式:等度洗脱;进样量:40 μL;流速:1.0 mL/min。

1.2.2 质谱条件 高频等离子体发射功率:1 550 W;载气:氩气(99.999%);载气流量:0.8 L/min;载气补偿气流量:0.4 L/min;氮反应碰撞模式;氮气流量:4.0 mL/min;采样锥/截取锥:Pt锥;采样深度:8.0 mm;蠕动泵:0.4 r/min。采集质量数:铬 52;积分时间:0.8 s;采集时间:180 s。

1.3 样液的制备

称取0.5 g样品置于10 mL离心管中,加入10 mL 10 mmol/L EDTA(pH 7.0, NaOH调节),涡旋混匀后于50℃水浴中加热60 min,使Cr(III)与EDTA完全络合,冷却,取部分溶液以10 000 r/min离心5 min,取上清液过0.45 μm滤膜,备用。同时,按相同操作方法做空白试验。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件的优化

使用Agilent调谐液(Li、Y、Co、Ce和Tl的质量浓度为1 μg/L)对仪器进行调谐,使仪器的灵敏度和稳定性最佳。调节碰撞反应气流速,以消除质谱检测中⁴⁰Ar¹²C⁺与³⁵Cl¹⁶O¹H⁺对⁵²Cr⁺的光谱学干扰,同时优化载气流量、补偿气流量及采样深度等,以提高仪器灵敏度,并使氧化物和双电荷的比率符合仪器推荐的要求,优化的质谱条件见“1.2.2”。

2.2 色谱柱的选择

文献中采用C₁₈^[8]、C₈色谱柱^[5]和阴离子色谱柱^[6]均可实现Cr(III)和Cr(VI)的分离,但使用C₁₈、

C₈ 色谱柱分离时, 流动相中需加入离子对试剂, 对色谱柱损伤较大^[18]。而阴离子色谱柱耐受性强, 应用广泛, 因此本实验选用阴离子色谱柱 Agilent Bio-WAX 柱(4.6 mm × 50 mm, 5 μm), 对 10 μg/L Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液进行分离。结果显示, Cr(VI) 和 Cr(III) 在 3 min 内实现了基线分离, 且峰形尖锐, 分离度好(见图 1)。

2.3 pH 值的影响

Cr(VI) 和 Cr(III) 在不同 pH 条件下的稳定性有较大差异。实验发现, 当 pH > 8.0 时, Cr(III) 的响应信号随时间延长而逐渐降低; 当 pH < 6.0 时, Cr(VI) 的响应信号随时间延长而逐渐降低, 且 16 h 后其信号损失高达 50%。这是由于在碱性条件下, Cr(III) 易水解生成沉淀, 而在酸性条件下, Cr(VI) 易转化为 Cr(III)^[4-6]。当 pH 为 6.0~8.0 时, Cr(VI) 和 Cr(III) 相对稳定, 但随着 pH 值的升高, Cr(VI) 的保留时间缩短, 分离度降低。因此, 综合考虑分离度及分析过程的稳定性, 选择流动相及提取溶剂的 pH 值为 7.0。

2.4 前处理条件的优化

2.4.1 提取溶剂的选择 文献报道的铬价态提取溶剂有多种, 如郭少飞等^[3]采用 0.05 mol/L 氢氧化钠提取化妆品中 Cr(VI), 张冀飞等^[4]采用 0.07 mol/L 盐酸提取玩具中的 Cr(VI) 和 Cr(III), 吴春敏等^[16]采用 EDTA 溶液提取乳制品中的 Cr(VI) 和 Cr(III)。由于 Cr(VI) 和 Cr(III) 对 pH 值较为敏感, 且 Cr(III) 为 Cr³⁺ 阳离子, Cr(VI) 为 CrO₄²⁻ 阴离子, 在相同条件下, 采用同一离子交换方法不能同时对两种离子起作用^[17]。因此, 本实验以 EDTA 溶液为提取溶剂, 使 EDTA 与 Cr(III) 形成稳定的 Cr(III)-EDTA 络合物, 而 Cr(VI) 不与 EDTA 络合, 最终 Cr(VI) 和 Cr(III) 分别以 CrO₄²⁻ 和 Cr(III)-EDTA 形态在色谱柱中实现分离。

2.4.2 EDTA 浓度的影响 分别用 0.1、0.5、1、5、10、50、100 mmol/L 的 EDTA (pH 7.0, NaOH 调节) 配制 1 μg/mL Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液, 考察 EDTA 浓度对 Cr(III) 与 Cr(VI) 分离情况的影响。结果表明, 随着 EDTA 浓度的增加, Cr(VI) 的峰面积无显著变化, 但保留时间逐渐缩短, Cr(III) 的峰面积逐渐增大至稳定, 两峰的分度逐渐降低。当 EDTA 浓度为 10 mmol/L 时, Cr(VI) 和 Cr(III) 的响应高且分离效果好, 因此选择 EDTA 的最佳浓度为 10 mmol/L。

2.4.3 络合温度的影响 Cr(III) 与 EDTA 在常温下络合缓慢, 需数十小时才能络合完全, 且升高温度可加快络合速度^[17]。以 10 mmol/L EDTA (pH 7.0, NaOH 调节) 配制 1 μg/mL 的 Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液, 分别置于 30、40、50、60、70、80 °C 的水浴中 60 min, 考察温度对 Cr(VI) 和 Cr(III) 响应及稳定性的影响。结果表明, 随着温度的升高, Cr(VI) 的响应信号无明显变化; Cr(III) 的响应逐渐增加, 但温度达 70 °C 后其响应信号显著下降。综合考虑, 选择 50 °C 为最佳络合温度, 此时 Cr(VI) 和 Cr(III) 的响应均较高。

2.4.4 络合时间的影响 以 10 mmol/L EDTA (pH 7.0, NaOH 调节) 配制 1 μg/mL 的 Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液, 置于 50 °C 水浴中分别络合 15、30、45、60、90、120 min 后进行测定。结果表明, 随着络合时间的延长, Cr(III) 的响应信号逐渐增大, 60 min 后其响应信号趋于稳定, 表明此时 Cr(III) 与 EDTA 已络合完全, 而络合时间对 Cr(VI) 的响应信号无显著影响, 因此选择最佳络合时间为 60 min。

2.5 线性关系、检出限及定量下限

以 10 mmol/L EDTA (pH 7.0, NaOH 调节) 将 Cr(VI) 和 Cr(III) 的混合标准溶液(1 μg/mL) 稀释成 1、5、10、20、50、100 μg/L 的混合标准工作溶液, 在优化条件下采用本方法进行测定, 以各组分的质量浓度(x , μg/L) 为横坐标, 响应值(y) 为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明, Cr(VI) 和 Cr(III) 均在 0~100 μg/L 质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数(r^2) 均为 0.999 9, 回归方程分别为 $y =$

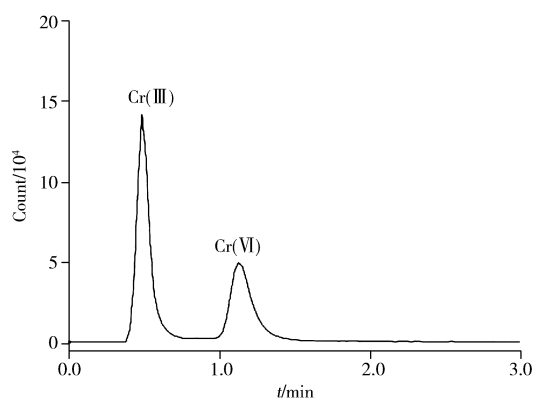


图 1 Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液(10 μg · L⁻¹) 的 HPLC-ICP-MS 图

Fig. 1 HPLC-ICP-MS chromatogram of Cr(VI) and Cr(III) (10 μg · L⁻¹) mixed standard solution

48 471. 2x + 44 530 和 $y = 46 817. 2x + 305 144$ 。以色谱峰信噪比 (S/N) 为 3 时所对应的浓度计算检出限 (LOD), 以 S/N 为 10 时所对应的浓度计算定量下限 (LOQ), 当进样量为 40 μL 时, Cr(VI) 和 Cr(III) 的 LOD 分别为 6、2 $\mu\text{g/kg}$, LOQ 分别为 18、6 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.6 加标回收率与相对标准偏差

选用液态水基类、膏霜乳液类及粉类 3 种基质的空白样品, 分别添加 100、400、1 000 $\mu\text{g/kg}$ 的 Cr(VI) 和 Cr(III) 混合标准溶液, 按照本方法进行测定。得到 3 个加标水平下 Cr(VI) 的回收率为 85.3% ~ 101%, 相对标准偏差 (RSD, $n=6$) 为 0.4% ~ 2.5%; Cr(III) 的回收率为 85.1% ~ 113%, RSD ($n=6$) 为 0.5% ~ 4.6%, 方法的准确度和精密度良好。

2.7 实际样品的检测

按照上述方法对液态水基类、膏霜乳液类及粉类 3 种基质的 30 批次实际样品进行测定, 液态水基类样品均未检出 Cr(VI) 和 Cr(III) ; 2 个膏霜乳液类样品检出 Cr(III) , 含量分别为 49.90、9.92 $\mu\text{g/kg}$; 5 个粉类样品检出 Cr(III) , 含量为 2.28 ~ 155.79 $\mu\text{g/kg}$; 1 个粉类样品同时检出 Cr(III) 和 Cr(VI) , 含量分别为 143.20、23.28 $\mu\text{g/kg}$, 该样品 (Powder - 10) 的色谱图见图 2。结果显示, 实验所选取的化妆品样品中铬多以 Cr(III) 形态存在, 部分样品检出 Cr(VI) 。

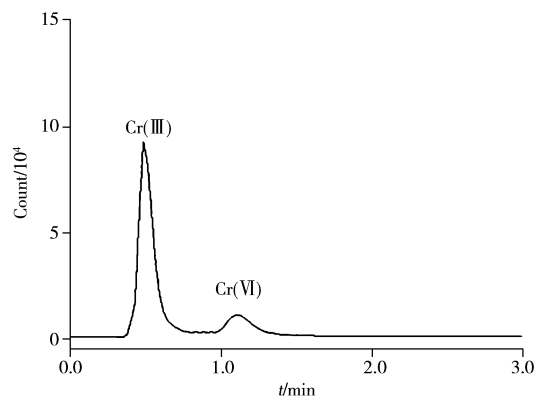


图2 粉类基质样品 (powder - 10) 的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of powder cosmetics sample (powder - 10)

3 结论

本研究建立了 HPLC - ICP - MS 同时测定化妆品中 Cr(VI) 和 Cr(III) 的分析方法。考察了 pH 值、提取溶剂、EDTA 浓度、络合温度及络合时间等条件的影响, 最终确定以 10 mmol/L (pH 7) 的 EDTA 溶液为提取溶剂, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下络合 60 min。在优化实验条件下, Cr(VI) 和 Cr(III) 的线性范围为 0 ~ 100 $\mu\text{g/L}$, 相关系数 (r^2) 均为 0.999 9, 检出限分别为 6、2 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率为 85.1% ~ 113%, RSD 为 0.4% ~ 4.6%。该方法样品前处理简单, 重现性好, 回收率高, 适用于化妆品中 Cr(VI) 和 Cr(III) 的定量分析, 可为化妆品中铬的风险评估、相关限值制定奠定基础。

参考文献:

- [1] Li J, Wang Y, Chen H B, Liang L N. *Food Sci.* (李静, 王雨, 陈华宝, 梁立娜. 食品科学), **2010**, 31(10): 250 - 253.
- [2] Li B R, Du Y F, Wang B H, He Z Y, Ma Z H. *J. Food Saf. Qual.* (李冰茹, 杜远芳, 王北洪, 何昭颖, 马智宏. 食品安全质量检测学报), **2018**, 9(9): 2056 - 2062.
- [3] Guo S F, Wang P, Wang F, Hu D C, Pan R H, Ling Y T, Wang H, Jin T, Chen C, Ouyang H. *Journal of Inspection and Quarantine* (郭少飞, 王鹏, 王帆, 胡德聪, 潘瑞花, 凌约涛, 王慧, 金涛, 陈诚, 欧阳欢. 检验检疫学刊), **2012**, 22(4): 8 - 13.
- [4] Zhang J F, Gao X, Yang X B. *J. Instrum. Anal.* (张冀飞, 高欣, 杨晓兵. 分析测试学报), **2015**, 34(2): 232 - 236.
- [5] Yan D, Zou Z J, Song J E, Zeng X C, Zhang Z X. *Environ. Chem.* (严冬, 邹振基, 宋娟娟, 曾祥程, 张之旭. 环境化学), **2014**, 33(6): 1048 - 1051.
- [6] Lu C Q. *J. Instrum. Anal.* (禄春强. 分析测试学报), **2016**, 35(12): 1639 - 1642.
- [7] Lü Y N, Song W, Shen G L, Jin Y J. *J. Instrum. Anal.* (吕亚宁, 宋伟, 沈贵兰, 金玉娟. 分析测试学报), **2018**, 37(9): 1087 - 1091.
- [8] Liu M L, Cao J, Ding H, Li X Y. *J. Food Saf. Qual.* (刘明理, 曹进, 丁宏, 李晓瑜. 食品安全质量检测学报), **2017**, 8(7): 2465 - 2470.
- [9] Tong C B, Huang F M. *West Leather* (童成豹, 黄凤妹. 西部皮革), **2013**, 35(10): 48 - 51.
- [10] Wang H J, Li Y H, Feng W Y, Wang M, Jia G, Wang B, Zhu M T, Wang Y, Chai Z F. *Chin. J. Anal. Chem.* (王华建, 黎艳红, 丰伟悦, 王萌, 贾光, 汪冰, 朱墨桃, 王云, 柴之芳. 分析化学), **2009**, 37(3): 433 - 436.

(下转第 733 页)

参考文献:

- [1] Cheng Y T, Dong H, Liang X C, Zhao B B. *Chin. J. Clin.* (程雅婷, 董衡, 梁晓翠, 赵蓓蓓. 中华临床医师杂志), **2013**, 7(14): 6535 - 6537.
- [2] Furr H C. *J. Nutr.*, **2004**, 134(1): 281S.
- [3] Zhang X, Zhao Z M, Yang H M. *Int. J. Lab. Med.* (张旋, 赵志敏, 阳红梅. 国际检验医学杂志), **2017**, 38(6): 846 - 848.
- [4] Hopfgartner G, Varesio E, Tschäppät V, Grivet C, Bourgogne E, Leuthold L A. *J. Mass. Spectrom.*, **2004**, 39(8): 845 - 855.
- [5] Josef V H, Ralf W. *Clin. Chem.*, **2015**, 53(5): 761 - 770.
- [6] Albahrani A A, Greaves R F. *Clin. Biochem.*, **2016**, 37(1): 27.
- [7] Liu J, Fang F, Chen T, Duan H L, Gong Z B. *J. Instrum. Anal.* (刘珺, 方芳, 陈婷, 段华玲, 弓振斌. 分析测试学报), **2011**, 30(10): 1100 - 1106.
- [8] Li P, Cai W, Shao X. *J. Chemom.*, **2015**, 29(5): 300 - 308.
- [9] Karażniewicz - Bada M, Głowska A. *J. Sep. Sci.*, **2016**, 39(1): 132 - 148.
- [10] Ursula T, Ulla H, Ulf - H Kan S. *Clin. Chem.*, **2003**, 49(9): 1521.
- [11] Keevil B G, Susan T. *Clin. Chem.*, **2006**, 52(12): 2296 - 2299.
- [12] Zhang X, Xie X Q, Liu T L, Song D M. *Chin. J. New Drug* (张焯, 谢小青, 刘婷立, 宋冬梅. 中国新药杂志), **2011**, 20(22): 2221 - 2228.
- [13] Yao M K, Ma B L, Ma Y M. *J. Pharm. Anal.* (姚梦侃, 马秉亮, 马越鸣. 药物分析杂志), **2010**, 30(12): 2436 - 2440.
- [14] Taylor P J. *Clin. Biochem.*, **2005**, 38(4): 328 - 334.
- [15] Bi R F, Zhang F L. *Metrology & Measurement Technique* (毕瑞锋, 张发玲. 计量与测试技术), **2016**, 43(2): 67 - 68.

(责任编辑: 丁 岩)

(上接第727页)

- [11] Tang J, Ying Y, Yu C, Yu S, Zhang N H, Ma B J. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (汤鋆, 应英, 于村, 俞莎, 张念华, 马冰洁. 中国卫生检验杂志), **2008**, 18(7): 1333 - 1338.
- [12] Xiao Y B, Wu Y H, Zhang M, Xu H, Zheng W J. *J. Instrum. Anal.* (肖亚兵, 吴延晖, 张曼, 许泓, 郑文杰. 分析测试学报), **2007**, 26(2): 235 - 238.
- [13] Lu J S, Xu J J, Tian J Y, Shen L, Hou B B, Wu T W. *Chin. J. Appl. Chem.* (卢菊生, 徐佳佳, 田久英, 沈莉, 侯彬彬, 吴体薇. 应用化学), **2010**, 27(10): 1230 - 1234.
- [14] Yu R P, Hu Z Y, Ye M L, Che J S, Zhang P C. *Chin. J. Chromatogr.* (虞锐鹏, 胡忠阳, 叶明立, 车金水, 张鹏程. 色谱), **2012**, 30(4): 409 - 413.
- [15] Huang W Y, Zhang Y. *Chin. J. Food Hyg.* (黄文耀, 张颖. 中国食品卫生杂志), **2014**, 26(6): 566 - 569.
- [16] Wu C M, Wang Y, Zhang C L, Wang D, Zhang L L, Zhang Y. *J. Dairy Sci. Technol.* (吴春敏, 王岩, 张春林, 王东, 张雷雷, 张岩. 乳业科学与技术), **2017**, 40(6): 29 - 32.
- [17] Hu Y J, Qin Y L, Lai Y D. *Mod. Food Sci. Technol.* (胡玉军, 覃毅磊, 赖毅东. 现代食品科技), **2014**, 30(4): 301 - 305.
- [18] Ni Z L, Tang F B, Qu M H, Mo R H. *Chin. J. Chromatogr.* (倪张林, 汤富彬, 屈明华, 莫润宏. 色谱), **2014**, 32(2): 174 - 178.

(责任编辑: 丁 岩)