

用于玩具材料中三价和六价铬定量分析的 LC-ICP-MS 方法，满足欧洲法规 EN71-3: 2012 特定元素迁移的要求

应用简报

材料

作者

Kazuhiko Sakai¹、Juane Song²、
Dong Yan² 和 XiangCheng Zeng²

¹安捷伦科技，日本

²安捷伦科技，中国



前言

铬 (Cr) 广泛应用于工业生产过程如电镀、制革和印染，以及钢铁和合金等工业产品中。Cr 具有不同的氧化态，但通常以三价 Cr (Cr(III)) 或六价 Cr (Cr(VI)) 的形式存在。Cr(III) 是维持人体健康的一种必需微量元素，而 Cr(VI) 却是一种大家熟知的有毒物质。Cr(VI) 被视为人体的一种致癌物质，因此其最大污染量受到法规的严格控制。例如，欧盟 (EU) 根据危害性物质限制指令 (RoHS)，禁止在电子设备中使用 Cr(VI)。

同样地，EU 玩具安全指令 (2009/48/EC) 通过最大程度地减少儿童接触潜在有害或有毒的玩具产品，来力保他们的安全。玩具安全的欧洲标准 (EN71) 支持 EU 指令 2009/48/EC 的要求，并且根据玩具可能会被嚼碎、吮吸或吞食的假设，标准 (EN71-3) 的第三部分涵盖了不同种类玩具产品中特定元素的迁移检测。EN71-3



Agilent Technologies

的最新修订版（2012 版）于 2013 年 7 月 20 日生效；从此，所有在 EU 销售的玩具必须遵守修订后的标准。

玩具材料和玩具部件被分为三类：第 I 类：干燥、易碎、粉末状或柔软的材料；第 II 类：液体或黏性材料；第 III 类：涂料和可刮掉的材料。EN71-3 规定了 17 种元素的迁移限度，它们是铝、锑、砷、钡、硼、镉、铬、钴、铜、铅、锰、汞、镍、硒、锶、锡（包括有机锡化合物）和锌。Cr 的 Cr(III) 和 Cr(VI) 分别有其各自的迁移限度，见表 1。第 II 类玩具材料（液体产品可能最容易被吞食）必须满足 Cr(VI) 5 ppb 的最低限度。EN71-3 中规定的样品制备方法（见图 1）最终将样品稀释 500 倍。这意味着样品中 Cr(VI) 的限度实测为 10 ppt，所以本应用需要灵敏度非常高的方法，以满足不同形态 Cr 的测定。本文描述了测定所需低浓度不同形态 Cr 的方法，该方法联用 Agilent 7700x ICP-MS 和 Agilent 1260 生物惰性 LC。

实验部分

联用 Agilent 7700x ICP-MS 和 Agilent 1260 生物惰性 LC。7700 的碰撞/反应池 (CRC) 使用氦 (He) 模式，以去除⁴⁰Ar¹²C、³⁴S¹⁸O、³⁷Cl¹⁶O 和³⁵Cl¹⁶OH 等的光谱干扰，它们会干扰低浓度 Cr 同位素的测定。对于不同形态的 Cr，He 模式可以使 7700 实现所需要的低检测限 (DL)，并且还能在不损失色谱性能的同时对色谱方法进行独立优化，以确保不同形态 Cr 的峰与碳、硫和/或氯化合物的峰分开。为了测定这两种 Cr 形态，在溶液中以 [Cr(H₂O)₆]³⁺ 形式存在的阳离子 Cr(III)，通过与 EDTA 融合被转变为阴离子 [Cr³⁺-EDTA]⁻¹。从而这两种 Cr 形态就可以通过阴离子交换柱实现有效分离。整合方法的建立和 LC-ICP-MS 联用系统的流程控制由 ICP-MS MassHunter (MH) 软件包来完成。

表 1. 玩具材料分类和对应的不同形式 Cr 的迁移限度

玩具材料	类 1	类 2	类 3
绘画的涂料、清漆、漆料、印刷油墨、聚合物、泡沫及类似涂料			√
聚合物及类似材料，包括层合板，无论是否有纺织物加固，但不包括其它纺织品			√
纸和纸板			√
纺织品，无论是天然的还是合成的			√
玻璃、陶瓷和金属材料			√
无论是否着色的其它材料			
压缩的颜料片，会留下痕迹的材料或玩具中以固体形式存在的类似材料	√		
柔软的模型材料，包括雕塑土和石膏	√		
液体颜料，包括指画颜料、清漆、漆料、钢笔中的液体墨水，以及在玩具中以液体形式存在的类似材料		√	
玩具材料中的迁移限度 (mg/kg)			
铬 (III)	37.5	9.4	460
铬 (VI)	0.02	0.005	0.2

ICP-MS

使用配备标准 Micromist 雾化器的 Agilent 7700x ICP-MS 进行 Cr 的测定。LC 柱的出口直接与 ICP-MS 雾化器相连。钴 (Co) 作为内标 (ISTD)，通过在线 ISTD 套件 (G3280-60590) 引入。每张色谱图采用点对点 ISTD 校正，这是一种简单有效的校正信号漂移的方法。峰积分由 ICP-MS MassHunter 软件的自动积分器来完成。操作条件见表 2。在 He 碰撞模式下，优化等离子体条件以获得 Cr 测定时的最高灵敏度， CeO^+/Ce^+ 的氧化物比例低于 0.5%。通过 ICP-MS MassHunter 的自动调谐功能优化离子透镜电压。

HPLC

为满足极低 Cr 检测限的要求，我们使用了 Agilent 1260 Infinity 生物惰性 HPLC：G5611A 生物惰性四元泵和 G5667A 生物惰性高效自动进样器。生物惰性 HPLC 中所有与样品或流动相接触的材料全部更换为惰性材料，消除了

表 2. LC-ICP-MS 操作参数

ICP-MS 条件	
RF 功率	1550 W
采样深度	8.0 mm
载气流量	1.10 L/min
辅助气流量	0 L/min
选择气流量	0 L/min
碰撞池气体流量	He, 4.3 mL/min
八极杆偏置电压	-18 V
KED	+3 V
HPLC 条件	
流动相	75 mM HNO_3 溶液，氨水调 pH = 7
流速	0.8 mL/min
进样量	100 μL
采集参数	
采集	时间分辨分析 (TRA)
驻留时间	1.0 s ($m/z = 52$) , 0.1 s ($m/z = 59$)
运行时间	160 s

与蛋白质等生物样品发生反应的可能，也避免了 HPLC 部件中金属背景浸出。生物惰性 LC 非常适合于需要获得最低 DL 的金属形态分析工作。

使用阴离子交换柱 (Agilent Bio WAX NP5 (5190-2488), 4.6 x 50 mm, 5 μm , PEEK 保护柱)，在室温下进行不同形态 Cr 的分离。使用配有聚丙烯瓶盖的玻璃样品瓶 (5182-0540)。在使用前，将这些样品瓶用稀硝酸清洗，并用超纯水 (UPW) 彻底洗净。注意当样品接触到橡胶、塑料，甚至痕量有机残留物时，样品中不同形态的 Cr 很容易被还原。表 2 列出了 HPLC 的操作参数。

试剂

Cr(III) 和 Cr(VI) 分别用 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 和 K_2CrO_4 来制备，购自 KANTO 化学品公司（东京，日本）。高纯 Na-EDTA 购自 DOJINDO 实验室公司（熊本，日本），经溶解和稀释后采用氨水中和。半导体级 HCl 和氨水 (Tamapure AA-100, 购自 Tama 化学品公司，神奈川，日本) 用于样品制备。

样品制备

样品制备过程见图 1。该过程遵循 EN71-3，它模仿了当一个儿童吞下玩具材料后的胃部消化情况；它不能用于不同形态铬的总提取。得到的提取（迁移）溶液采用 EDTA 和氨水稳定化。加入氨水中和溶液，可以使从玩具材料中提取的不同形态的铬保持数小时稳定，不会发生形态间转换或者沉淀损失。我们确证了如果溶液被中和到 $\text{pH} = 7 \pm 0.5$ 时，这两种 Cr 在样品制备后会保持至少 24 小时稳定。采用相同的样品制备方法配制校准标准液。

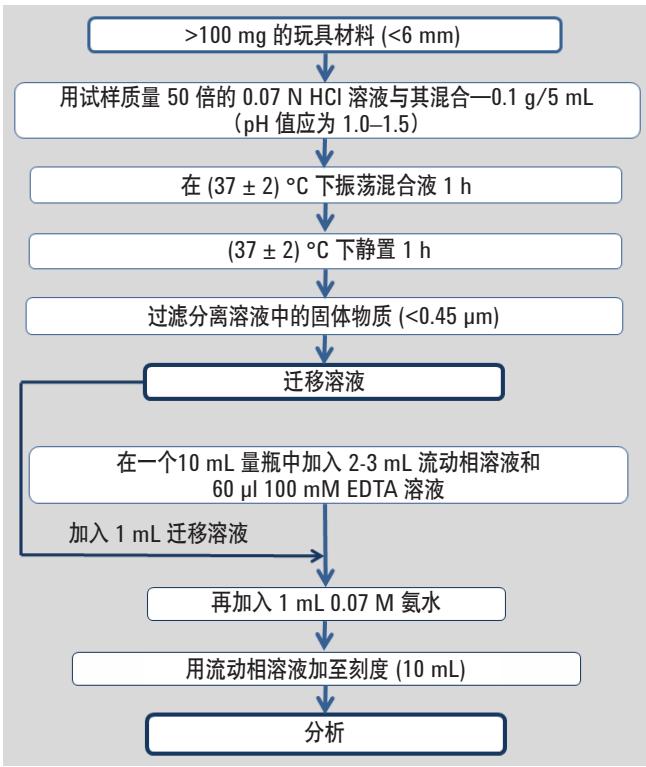


图 1. 样品制备流程 (样品最终稀释 500 倍)

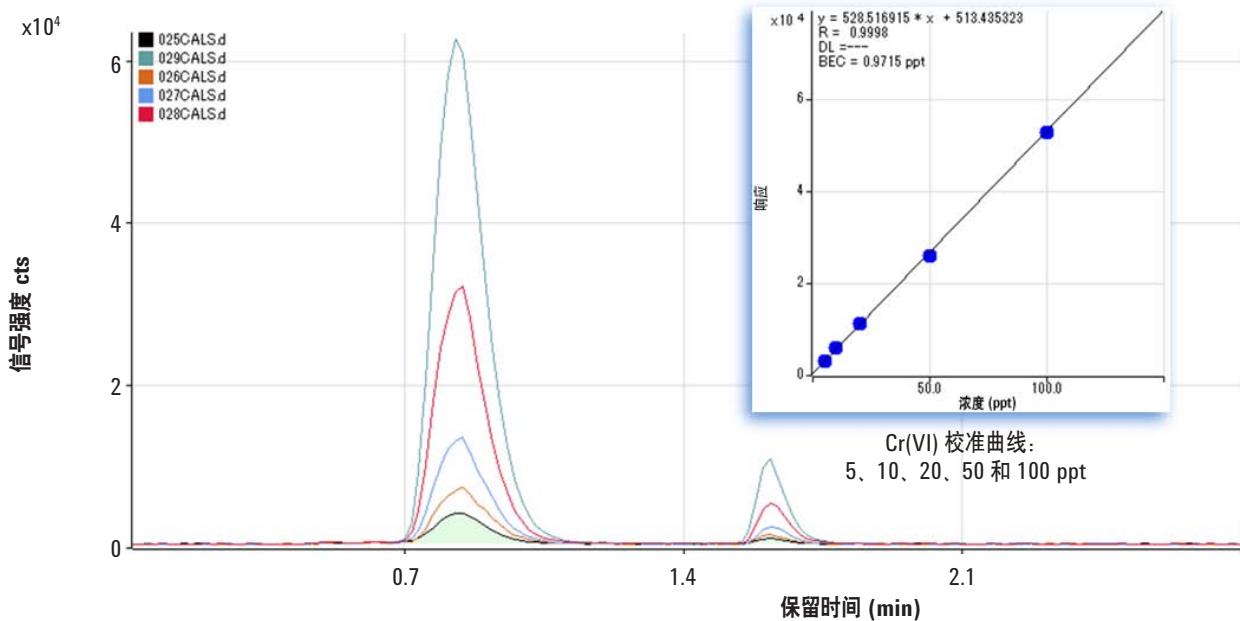


图 2. Cr(III) 和 Cr(VI) 校准标准液的重叠色谱图及 Cr(VI) 的校准曲线

结果与讨论

图 2 展示了校准标准液的重叠色谱图，以及 Cr(VI) 的校准曲线。色谱图对应的校准标准液包括 5 ppt、10 ppt、20 ppt、50 ppt 和 100 ppt 的 Cr(VI)，以及高 10 倍浓度的 Cr(III)。不同形态的 Cr, Cr(III) 和 Cr(VI)，保留时间分别在 0.85 和 1.67 min，实现了完全分离。

表 3 列出了方法验证和三种玩具材料的分析结果。

表 3. 方法和分析汇总

			Cr(III)	Cr(VI)
保留时间		min	0.95	1.67
DL	溶液中	ppt	3.1	2.0
	材料中	μg/kg	1.6	1.0
MDL	溶液中	ppt	8.6	2.1
	材料中	μg/kg	4.3	1.1
残留			< 1/10000	< 1/10000
定量值	样品 1		78.6 ± 4.2	3.0 ± 0.7
	样品 2	μg/kg	15.1 ± 0.9	< D.L.
	样品 3		50.8 ± 1.3	< D.L.
加标回收率	样品 1		98.0	111.2
	样品 2	%	97.2	98.1
	样品 3		102.7	96.2
50 次样品测定的稳定性	样品 1		2.4	2.9
	样品 2	RSD %	2.9	4.6
	样品 3		1.4	4.3

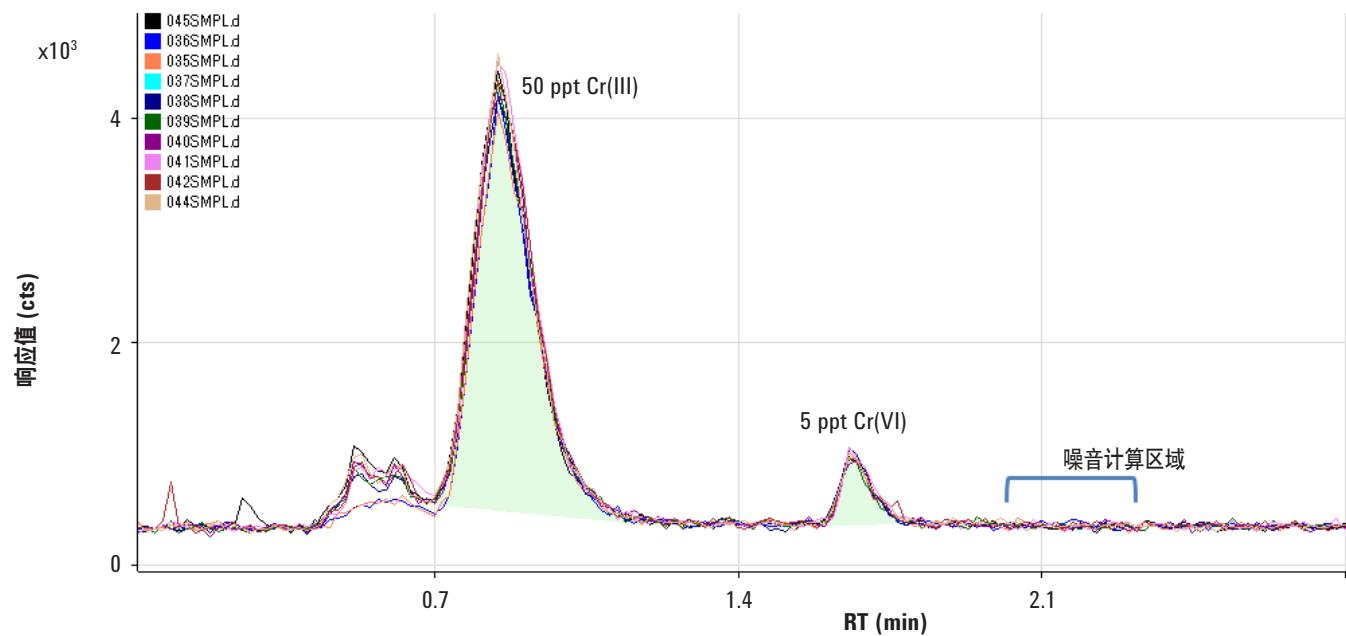


图 3. 浓度 1 标准液 10 次重复测定的重叠色谱图：50 ppt Cr(III) 和 5 ppt Cr(VI)

DL 与 MDL

图 3 展示了浓度 1 (最低浓度, 50 ppt Cr(III) 和 5 ppt Cr(VI)) 校准标准液 10 次重复分析的重叠色谱图。根据色谱图的 S/N，我们可以测得溶液中 Cr(III) 和 Cr(VI) 的检测限 (DL) 分别为 3.1 和 2.0 ppt。峰-峰噪音的测定范围如图所示，且 DL 计算的是 S/N = 3 时的浓度。这些得到的 DL 足够低，满足标准 EN71-3 中对具有最低迁移限度的第 2 类玩具材料的要求。方法检测限 (MDL) 也通过这 10 张色谱图进行计算。MDL 定义为 10 次分析定量值的 3σ 对应的浓度 (表 3)。

高浓度 Cr(III) 峰拖尾的影响

图 3 展示了这两种 Cr 看似出色的分离，但 Cr(III) 的浓度通常远高于 Cr(VI) 的浓度。这意味着痕量的 Cr(VI) 需要极好的分离，以在有高浓度 Cr(III) 存在时实现准确定量。图 4 为含 0.1 ppb Cr(VI) 和 200 ppb Cr(III) 的溶液的色谱图。在右侧的放大色谱图中，可以轻易辨认出 0.1 ppb Cr(VI) 的峰。它可以被准确积分，测得浓度为 0.097 ppb (回收率 97%)，误差 (计算 10 次重复测定的 SD) 为 ± 0.003 ppb。这表明即使有 2000 倍更高浓度 Cr(III) 的存在，仍可准确定量 Cr(VI)。

冲洗试验

由于对 Cr(VI) 的测定需要相对低的 DL，所以我们应考虑高浓度样品进样后的残留污染。为了检查 LC-ICP-MS 方法的冲洗性能，我们在包含每种 Cr 形态 100 ppb 的溶液进样前

后立即分析一个制备的空白样品。结果发现在空白中测得的这两种 Cr 的浓度均低于其 DL。

玩具材料样品分析：定量分析、加标回收率试验和稳定性

我们分析了三种玩具材料：蜡笔（样品 1）、泡泡液（样品 2）和软塑料（样品 3）。这些材料分别属于 EN71-3 规定的类别 1、2 和 3。将它们按照图 1 描述的过程进行样品制备，然后采用上述 LC-ICP-MS 方法进行分析。每个样品中不同形态 Cr 的测得浓度列于表 3。

使用迁移溶液进行加标回收率试验。将 Cr(III) 和 Cr(VI) 加标到溶液中，使浓度分别为 1 ppb 和 0.1 ppb。溶液用氨水中和后再加标，避免 Cr(VI) 的还原。加标回收率试验的结果见表 3，确证了这两种 Cr 形态均具有良好的回收率。采用加标迁移样品，考察其长期稳定性，每种玩具材料各

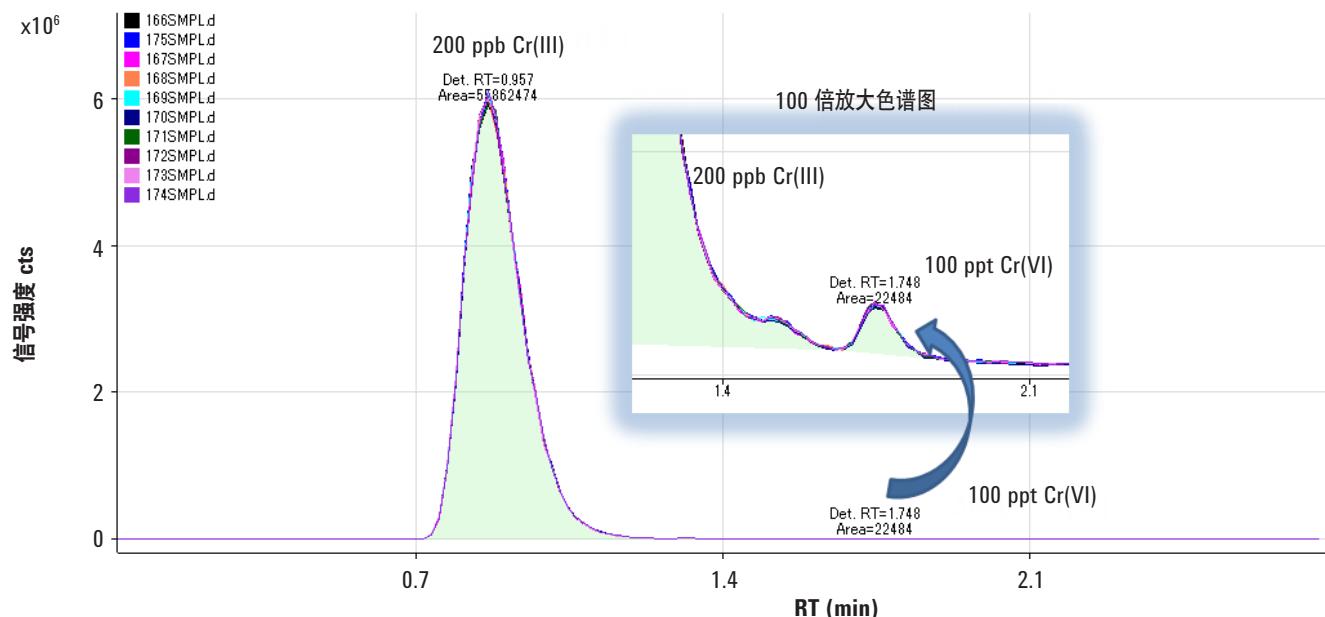


图 4. 200 ppb Cr(III) 存在下，0.1 ppb Cr(VI) 的分离和准确测定

50–60 次进样分析的结果见图 5。曲线表明在整个分析运行中每种 Cr 的测得浓度接近平均浓度。每个样品的运行时间为 4 分钟，每种玩具材料样品的总运行时间为 3–4 小时。我们确证样品具有良好的稳定性，这表明三种玩具样品中不同形态的 Cr 之间都没有发生内部转换，也没有因沉淀而损失。

结论

开发了一种联用 Agilent 7700x ICP-MS 和 Agilent 1260 生物惰性 LC 的方法，用于玩具材料中 Cr 形态的分析（Cr(III) 和 Cr(VI) 的分离和测定），以遵守 EN71-3:2012 中新的限度规定。欧洲标准 EN71-3 支持 EU 玩具安全性指令 2009/48/EC 的目标，并且要求检测方法能够准确测定样品制备后测定液中 10 ppt 的 Cr(VI)。已证实建立的方法对于两种 Cr 形态均具有个位数 ppt 的 DL，并且验证了该方法具有应用中所需的性能。

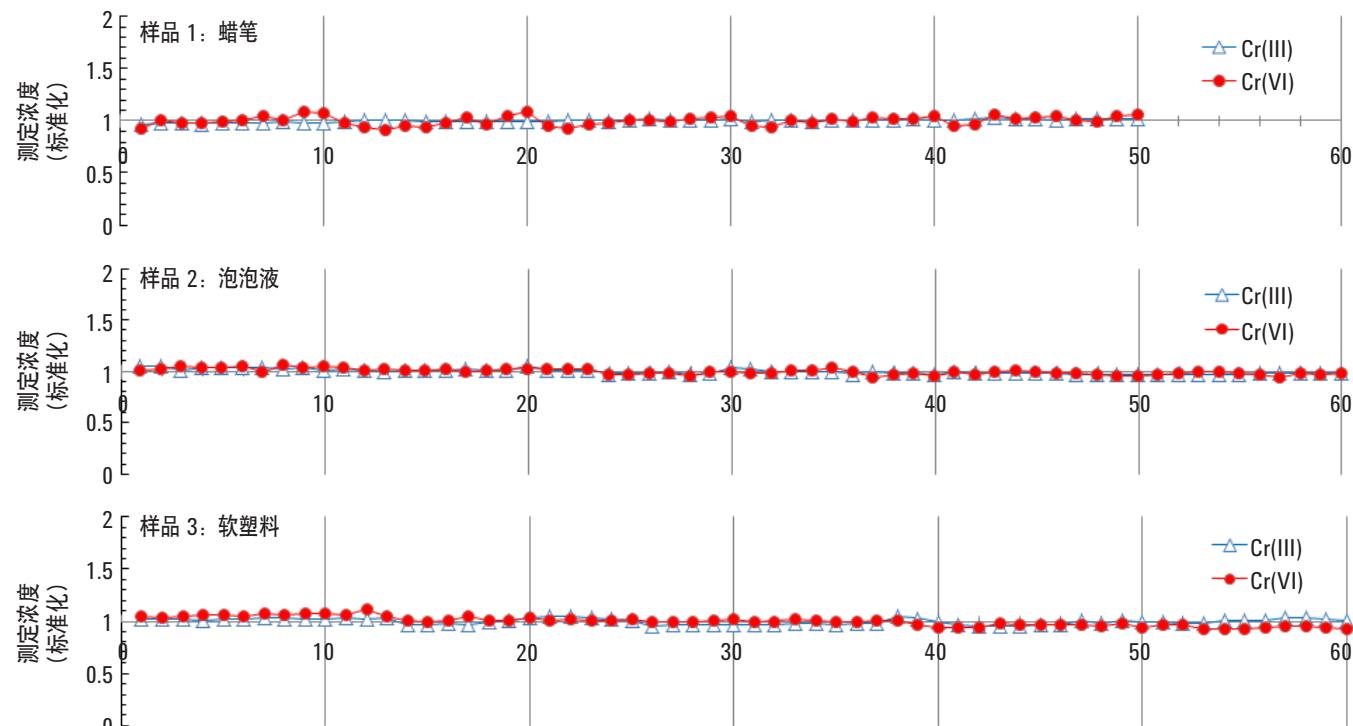


图 5. Cr(III) 和 Cr(VI) 各超过 50 次分析的信号稳定性（200 分钟）。分析前，向三种玩具样品的迁移溶液中加标 1 ppb Cr(III) 和 0.1 ppb Cr(VI)

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误，或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明及技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2013

2013 年 8 月 1 日出版

出版号: 5991-2878CHCN

