

高效液相色谱-电喷雾串联质谱法快速分离鉴定 纺织品中的 9 种致癌染料

丁友超, 曹锡忠, 吴丽娜, 张 倩

(江苏出入境检验检疫局工业产品检测中心, 江苏 南京 210001)

摘要 :采用高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱(HPLC-ESI-MS/MS)在选择反应监测(SRM)模式下分离鉴定纺织品中禁用的 9 种致癌染料。用甲醇超声同时提取天然纤维和化学纤维上的染料,以 5 mmol/L 乙酸铵和乙腈为流动相在 C18 柱上于前段洗脱酸性红 26、直接蓝 6、直接黑 38 和直接红 28(采用电喷雾质谱负离子模式检测),于后段洗脱碱性红 9、碱性紫 14、分散蓝 1、分散橙 11 和分散黄 3(采用电喷雾质谱正离子模式检测),实现了对不同种类纤维纺织品中分属 4 类性质不同染料的一次提取和一次分析检测。通过比较试样与标样的色谱保留时间和质谱图中子离子的相对丰度比,可准确鉴别纺织品中的致癌染料。

关键词 :高效液相色谱-串联质谱;致癌染料;纺织品

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)05-0603-05 栏目类别 :研究论文

Fast separation and identification of nine carcinogenic dyes in textiles using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry

DING Youchao, CAO Xizhong, WU Lina, ZHANG Qian

(*Inspection Center of Industrial Products, Jiangsu Entry-Exit Inspection and
Quarantine Bureau, Nanjing 210001, China*)

Abstract : A qualitative method of the identification of nine carcinogenic dyes prohibited in textiles was developed using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry interfaced with electro-spray ionization (HPLC-ESI-MS/MS) in the selective reaction monitoring (SRM) mode. The dyes were extracted from textiles composed of natural or chemical fibers by methanol under ultrasounication, and then eluted with gradient by acetonitrile and 5 mmol/L ammonium acetate from an RP-C18 column with two segments in effluents. The first effluents accommodated Acid Red 26, Direct Blue 6, Direct Black 38 and Direct Red 28 with negative ionization mode, while the second accommodated Basic Red 9, Basic Violet 14, Disperse Blue 1, Disperse Orange 11 and Disperse Yellow 3 with positive ionization mode. Thus the investigated compounds could be identified simultaneously with single-run analysis no matter which type of the fibre the sample was and no matter which category of the dye the analyte was. The established method was successfully applied to identify the carcinogenic dyes in textile samples through comparing the chromatographic retention time and the relative abundance of characteristic product ions with the standards.

Key words : high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); carcinogenic dyes ; textile

染料的致癌性^[1]和纺织品的生态性能一直备受关注。除了对可分解的致癌芳香胺的偶氮染料禁用之外,欧盟委员会的纺织品生态标签(Eco-label) (欧盟 2002/371/EC 指令) 和国际环保纺织协会的纺织品生态标准(Oeko-Tex Standard 100)^[2]都要

求纺织品中不得使用对人体有直接致癌作用的 9 种染料(见表 1)。

染料检测的常用方法有薄层色谱法(TLC)^[3]、高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLC-DAD)^[4,5]和高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)^[6]。

偶氮、三苯甲烷和蒽醌类染料,按染色应用可分为酸性、直接、碱性和分散等 4 大类染料,主要分别用于毛、棉、腈纶和涤纶等 4 类纤维织品的染色,染色机理差别较大。酸性染料的磺酸基与蛋白质纤维中的氨基通过离子键结合,而直接染料虽含有磺酸基,但由于其分子链较长,与纤维素纤维的大分子长链主要通过氢键和范德华力结合;带阳离子的碱性染料与带阴离子的腈纶纤维通过离子键结合;分散染料极性较弱,一般在高温高压下染色,通过范德华力和氢键等与化学纤维中的惰性高分子结合^[7,9]。因此,要完全提取织物纤维中的染料,需建立多种萃取系统,但在样品处理之前还需鉴别样品的纤维种类,根据其使用的染料类型选取不同的萃取方法,这样会大大降低检测效率。

酸性、直接和碱性染料都带有极性基团,易溶于水,不宜用乙酸乙酯、丙酮和正己烷等中等极性和弱极性的有机溶剂提取;分散染料极性较弱,不宜用水溶液提取。而作为极性有机溶剂的甲醇对这 4 类染料都有较好的溶解能力,且比乙腈对棉、麻、丝、毛等天然纤维和涤纶、腈纶、锦纶等化学纤维具有较好的溶胀作用。因此,本文选取甲醇对不同纤维样品中的染料进行一次提取。

2.1.2 超声条件对提取量的影响

超声辅助萃取是一种快捷、高效的固-液萃取方式^[10]。本文参照 GB/T 20382-2006 制定中用的甲醇作为提取剂,在 70 ℃ 恒温水浴、40 kHz 超声频率^[7]下,调节工作功率为全功率 420 W 的 0、40%、70%、100%(即 0、168、294、420 W),并在 0、15、30、60 min 时间内分别提取,考察超声波工作条件对染料提取率的影响。结果表明:参考样品中检出的染料(除了分散黄 3)在 30 min 提取时间内检测值最大,而在 40%~70% 功率条件下萃取,染料的检测值较高,如图 1 所示。在未加纤维情况下,直接对染料的标准溶液超声,以验证超声波对染料的稳定性影响。5、50、500 mg/L 的各种染料标准溶液在 70 ℃ 水浴中于 420 W 超声功率下超声 60 min,标准溶液的浓度未发生明显变化,表明染料未发生分解。而在纤维存在时,超声时间太长(如 60 min)或超声功率太大(如 420 W),9 种染料的提取率都会下降,其原因可能是在超声提取的过程中,染料处于对纺织品纤维的解吸和吸附的动态平衡过程:一方面,超声波的辅助能量促进纺织纤维在甲醇中的溶胀和其大分子链的蠕动,促进染料从纤维中解吸;另一方面,超声能量过大或时间较长,会促进染料分子向纤维无定型区的渗透,促进纤维对染料的吸附。

2.1.3 样品提取液过滤膜的选择

为了防止提取液中的纤维碎屑和杂质堵塞分析

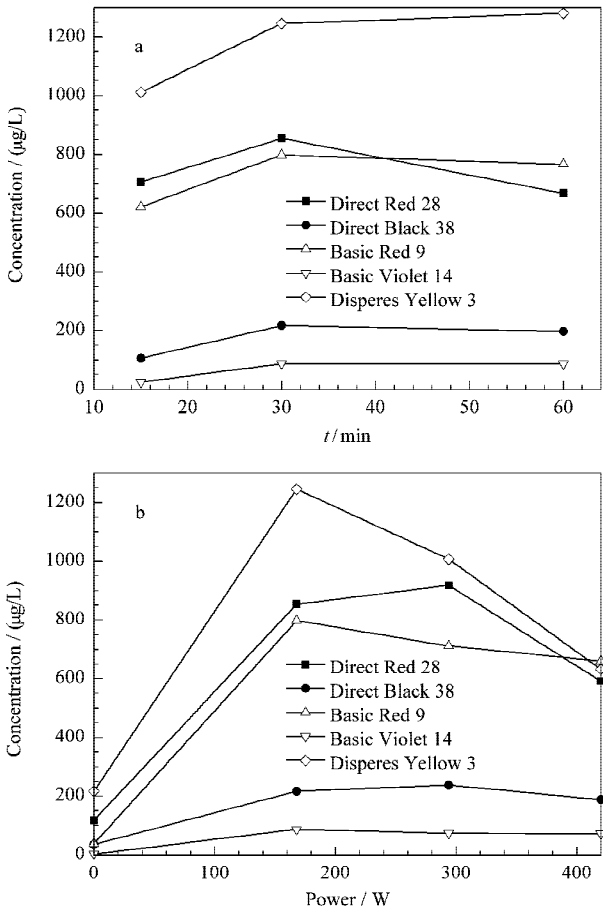


图 1 (a)超声波在 168 W 下不同萃取时间和(b)在不同超声功率下萃取 30 min 对染料提取率的影响
Fig. 1 Effects of (a) different extraction times at 168 W and (b) different ultrasonic wave powers for 30 min on extraction efficiencies of dyes
Conditions: at 40 kHz ultrasound in 70 ℃ water bath.

仪器,需对样品进行净化。本文选择实验室常用的尼龙、聚四氟乙烯和聚丙烯有机滤膜对参考样品提取后的样液进行过滤,结果表明:聚四氟乙烯和聚丙烯对染料检测结果影响不大;而在用尼龙膜过滤后,直接红 28、直接黑 38 和分散黄 3 的检测值显著下降,表明尼龙可能对这些染料产生强烈的吸附作用。作为亚酰胺聚合体的尼龙(锦纶),其分子结构中的憎水性的亚甲基可与分散染料反应,而亲水性的氨基和亚氨基等基团则可吸附酸性染料和直接染料等水溶性染料^[4],因此,尼龙滤膜不宜用于染料溶液的过滤。

2.2 色谱条件的选择

表 1 中的前 4 种染料都含有磺酸根基团,极性较强。本文试用叔丁基铵和二己基铵的乙酸盐作为离子对试剂来改善这些极性化合物在色谱分离中的保留^[11],但是阳离子对试剂在离子化时的竞争作用^[12]会强烈影响并降低碱性染料和分散染料的质谱检测信号。当用甲醇取代乙腈作为洗脱溶剂时,

表 1 中的前 4 种磺酸类染料都未从色谱柱上洗脱下来。其原因可能是: 相比甲醇、乙腈具有一定的碱性, 更适合对这些含有酸性基团的化合物的洗脱。而用 5 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液和乙腈作为洗脱溶剂, 可按极性从强到弱依次把磺酸类(酸性和直接)染料、碱性染料和分散染料从 C18 柱上洗脱下来。在总离子流色谱图上, 用 ESI⁻ 检测的 4 种磺酸类染料在前段出现, 而用 ESI⁺ 检测的 2 种碱性染料和 3 种分散染料则在后段出现。对 ESI 检测模式进行程序处理: 在 5.65 min 之前出峰的染料采用负离子模

式检测, 后段出峰的染料采用正离子模式检测, 实现了用同一仪器分析方法对这 4 类化学性质差异较大的染料的同时测定, 避免了针对不同类染料建立不同的分析方法, 从而大大地提高了分析效率。对于同一时刻的色谱共同流出物, 可通过对总离子流图的解卷积分方法实现在不同离子通道下的分离(见图 2)。由于在正负离子模式下检测的化合物保留时间最小差值为 0.5 min, 且各保留时间的偏差不超过 0.1 min, 本方法未出现因离子抑制而导致灵敏度下降的现象。

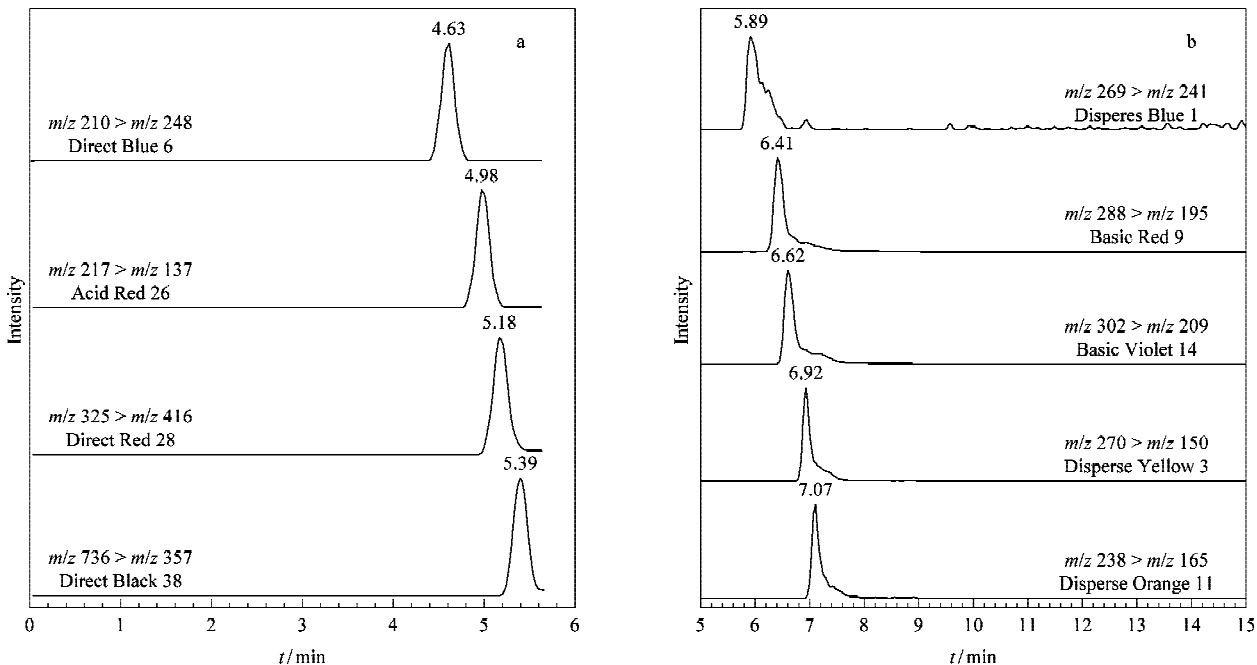


图 2 9 种染料标准溶液的选择反应监测模式下的 HPLC-MS/MS 谱图
Fig. 2 Chromatograms of LC-ESI-MS/MS with SRM mode of nine dye standard solutions
a. negative ionization mode ; b. positive ionization mode.

2.3 质谱鉴定

酸性红 26、直接黑 38、直接红 28 和直接蓝 6 在水溶液中呈阴离子形态, 碱性红 9 和碱性紫 14 在溶液中呈阳离子形态, 选用 ESI 源离子化, 离子化效率高, 而分散蓝 1、分散黄 3 和分散橙 11 也可被 ESI 源电离生成阳离子, 因此表 1 中的前 4 种染料用 ESI⁻ 检测, 而后 5 种染料用 ESI⁺ 检测。从染料离子化的产物中选取响应信号较强的特征离子为母离子, 再对母离子进行二级质谱全扫描, 选择 3 个信号较强的碎片离子作为特征离子在 SRM 模式下进行定性分析。通过比较试样与标样的特征离子的相对丰度比进行鉴定。经 HPLC 检测呈阳性的试样也可不经色谱柱分离而直接导入质谱进行分析, 通过与染料标准物质的二级质谱图(图略)比较进行确认。

根据 3 倍信噪比计算检出限, ESI⁺ 模式下检测的碱性和分散染料的检出限为 0.4 ~ 4.0 μg/kg,

ESI⁻ 模式下检测的酸性和直接染料的检出限为 2.0 ~ 8.0 μg/kg, 都远低于 HPLC 的检出限^[7]。因此, 本方法可灵敏地分析样液中痕量的致癌染料。

2.4 样品分析

将建立的方法应用于实验室的日常分析, 根据化合物的色谱保留时间和质谱的离子丰度比进行鉴别。图 3 为参考样品中检出的属于偶氮类染料的直接黑 38、三苯甲烷类染料碱性紫 14 和蒽醌类染料分散黄 3 的重构离子色谱图和质谱图, 与标准溶液分析结果(见表 1 和图 2)相比较, 保留时间基本一致, 而 3 个特征离子的丰度比变化不超过 10%。欧盟 EC/657 规定串联质谱确证需要一个母离子和两个特征离子, 而本文选用 3 个特征离子对(母离子/子离子)监控, 可增加目标物鉴别的准确度。9 种染料加标样中残留物的特征离子丰度比与标准物的特征离子丰度比也基本一致, 表明本方法准确可靠。

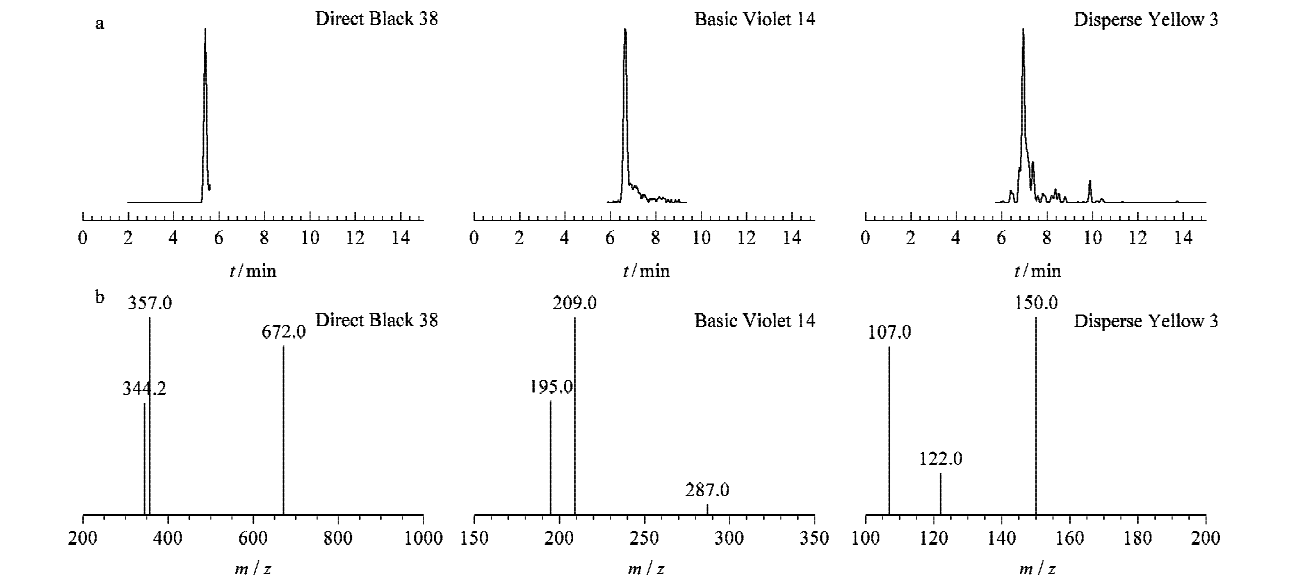


图 3 参考样品的 (a) 重构离子色谱图和 (b) 选择监控离子质谱图

Fig. 3 (a) Re-constructed ion chromatograms and (b) selected ion monitoring spectra of reference samples

3 结论

本文建立了高效液相色谱-电喷雾串联质谱定性分析 9 种致癌染料的方法,通过比较试样和标样的色谱保留时间和质谱中特征离子的丰度比,可同时准确鉴别纺织品中的 9 种致癌染料,方法灵敏、简明、可靠,可克服 TLC 和 HPLC 分析中难以准确性的问题。本文在样品前处理中对不同种类的纤维织品用超声波辅助甲醇一次提取,在色谱分离和质谱鉴别中对 4 类不同性质的染料一次进样分析,样品检测的总时间不超过 1 h,方法快速、高效、准确。然而要定量分析纺织品中的致癌染料含量,还需进一步研究样品的提取方法,针对本文研究的酸性、直接、碱性和分散等 4 类染料的不同染色机理,选用不同的提取溶剂把染料从织物纤维上完全剥离,再进行准确定量。

参考文献:

[1] European Commission Environment Institute. Proceedings

of the 2nd workshop on risk assessment: Occupational Exposure. Copenhagen, Denmark: European Commission Environment Institute, 1997

[2] Test Institute of the International Oeko-Tex Association. General and special conditions. (2008-01-07). http://www.oeko-tex.com/OekoTex100_PUBLIC/

[3] Home J M, Dudley R J. Forensic Sci Int, 1981, 17: 71

[4] Surowiec I, Quye A, Trojanowicz M. J Chromatogr A, 2006, 1112: 209

[5] Sahin S, Demir C, Gucer S. Dyes and Pigments, 2007, 73: 368

[6] Socher G, Nussbaum R, Rissler K, et al. Chromatographia, 2001, 54: 65

[7] Wang J P, Su H W, Hong C Y, et al. Dyeing and Finishing (王建平, 苏红伟, 洪晨跃, 等. 印染), 2007, 33(1): 32

[8] Reemtsma T. J Chromatogr A, 2003, 1000: 477

[9] Fan X R. Textile dyeing technology. Beijing: China Textile and Apparel Press (范雪荣. 纺织品染整工艺学. 北京: 中国纺织出版社), 1996

[10] Luque de Castro M D, da Silva M P. Trends Anal Chem, 1997, 16: 16

[11] Fuh M F, Chia K J. Talanta, 2002, 56: 663

[12] Storm T, Reemtsma T, Jekel M. J Chromatogr A, 1999, 854: 71