

固相萃取-气相色谱-质谱法测定儿童彩泥中的初级芳香胺

康苏媛 张庆* 白桦 王超 吕庆

(中国检验检疫科学研究院 北京 100123)

摘要 建立了固相萃取-气相色谱-质谱(SPE-GC-MS)检测儿童彩泥中苯胺等 9 种初级芳香胺的方法。对彩泥样品采用超声萃取法,以甲醇为提取剂于室温下反复提取 2 次,提取液经过浓缩后与还原剂溶液在 70 ℃ 反应 30 min,将反应后的溶液通过 Oasis HLB 固相萃取柱净化收集后进行检测。采用本方法成功实现了 9 种初级芳香胺的分离检测,方法的定量限为 5 mg/kg,实际样品的平均回收率在 70% ~ 110% 之间。本方法准确、快速、灵敏度高,可用于儿童彩泥中初级芳香胺的实际检验。

关键词 固相萃取; 气相色谱-质谱法; 初级芳香胺; 彩泥

1 引言

长期以来,偶氮染料由于颜色鲜艳而被广泛应用于产品染色领域^[1,2]。但是由于部分偶氮染料与人体的代谢产物(如汗液等)作用,产生对人体有致癌作用的芳香胺。芳香胺是包括苯胺及其衍生物在内的一类物质,其中很多物质被证明有毒性和致癌性,会对人体和环境造成不良影响^[3,4]。彩泥(俗称橡皮泥)在儿童玩具以及幼儿教育中一直有较高的使用量。彩泥可直接与儿童皮肤接触,甚至有可能被儿童误食,如果其中含有致癌芳香胺将给儿童带来严重的伤害。欧盟 EN71 玩具安全标准系列标准中规定,在彩泥等玩具中不得检出超过 5 mg/kg 的 9 种致癌性芳香胺(苯胺、邻甲苯胺、2-甲氧基苯胺、4-氯苯胺、2-萘胺、联苯胺、3,3'-二甲基联苯胺、3,3'-二氯联苯胺和 3,3'-二甲氧基联苯胺)^[5]。

致癌性芳香胺的检测方法一般包括 3 步:偶氮染料的还原裂解、芳香胺的提取及测定。目前,初级芳香胺检测研究主要集中于纺织品、皮革、电子电气产品、烟气、废水等方面^[6~9],其中纺织品和皮革的研究最多^[10~12]。采用的检测方法包括高效液相色谱法(HPLC)^[13]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[14]、薄层色谱法(TLC)^[15]和毛细管电泳法^[16]等。目前市场上销售的彩泥主要以水、面粉、塑胶、染料、色素为原料,其中还含有大量有机酸类物质,如苯甲酸等。彩泥的基质复杂,用检测纺织品中初级芳香胺的国标方法检测彩泥,经过甲醇提取,浓缩后过硅藻土的固相萃取柱,再用甲基叔丁基醚洗脱后检测,发现杂质严重影响分离检测效果。本研究考察了各实验参数对于检测结果的影响,建立了儿童彩泥中初级芳香胺的测定方法。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

6890/5975 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司);固相萃取和真空抽滤装置(美国 Supelco 公司);旋转蒸发仪(日本 Eyela 公司);超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);离心机(日本 Hitachi 公司);Oasis HLB 固相萃取柱(6 mL 200 mg,美国 Waters 公司);氮气、氦气(>99.999%)。9 种芳香胺的标准品均购自美国 Chemservice 公司。甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);其它试剂均为分析纯。实验用水为经 Milli-Q 净化系统过滤的去离子水。

2.2 样品前处理

2.2.1 偶氮染料的提取及还原裂解 称取 1 g 待测样品(对于不同颜色的同类玩具材料视为单独样品),切碎至 2 mm × 2 mm 小块,然后将其分别在 20 mL 甲醇中超声提取 2 次,超声时间为 20 min,离心

2010-11-29 收稿;2011-01-18 接受

本文系国家财政部行业公益性项目(No. 200810953)资助

* E-mail: njuzhangqing@caiq.org.cn

后取上清液,再分别用10 mL 甲醇洗涤剩余残渣两次,离心后将所得上清液合并至鸡心瓶中。然后将此溶液在35 °C水浴中旋转蒸发,将甲醇蒸干,加入8.5 mL 0.06 mol/L 柠檬酸缓冲溶液(pH=6.0),1.5 mL 200 g/L 连二亚硫酸钠溶液,在70 °C 恒温反应30 min,取出冷却至室温。

2.2.2 初级芳香胺的固相萃取 在反应后溶液中加入1 mL 4 mol/L NaOH,然后通过依次用5 mL 甲醇活化、5 mL 水平衡的 Oasis HLB 的固相萃取柱。甲醇作为固相萃取柱洗脱液,洗脱5次,每次用量为1 mL,收集洗脱液经过无水 Na₂SO₄除水后,经过0.45 μm 微孔滤膜过滤后供 GC/MS 测定。

2.3 色谱与质谱分析条件

色谱条件: HP-5M 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 1.80 μm);高纯氮,流速为1.0 mL/min;分流进样,分流比5:1。进样口温度:280 °C;程序升温:初始温度100 °C(保持2 min),以10 °C/min 升至135 °C;以15 °C/min 升至185 °C(保持1 min);以15 °C/min 升至220 °C(保持12 min);以8 °C/min 升至280 °C,尾吹2 min。9种初级芳香胺标准物的色谱图如图1所示。质谱条件:采集模式为选择离子监测方式(SIM);检测器:质量选择检测器(MSD);质量扫描范围 m/z 50~300;离子化方式:EI;电离能量:70 eV。

3 结果与讨论

3.1 样品前处理条件的优化

3.1.1 偶氮染料提取液的选择 测定彩泥中初级芳香胺的前提条件是将能分解出初级芳香胺的偶氮染料有效提取并还原转化。本研究选择分散蓝106(Disperse blue 106)、酒石黄(Tartrazine)、分散红1(Disperse red 1)、分散橙37(Disperse orange 37)4种不同类型的代表性偶氮染料作为测试对象,考察了它们在甲醇、甲基叔丁基醚、正己烷、水、乙醇等溶剂中的溶解情况。结果表明4种偶氮染料在甲醇中的溶解性最好。本研究选择甲醇为提取剂。

采用紫外可见光谱对提取过程进行考察。自行制作了含有偶氮染料的彩泥样品,考察了甲醇的提取效果,结果见图2。甲醇连续超声提取2次可将彩泥中的偶氮染料基本提取完全。因此,本实验采用上述条件进行提取。

3.1.2 固相萃取条件的优化 由于彩泥基质复杂,样品提取液有必要进行净化处理,分别考察了5种不同类型及品牌的固相萃取柱(Chroma bond Easy, Oasis HLB, OROCHEM C₁₈, Supelclean ENVI-Card SPE 和 Supelclean ENVI-Chrom P)的净化效果,结果见图3。综合考虑各萃取柱的净化效果和回收率,Oasis HLB 的萃取效果最好。

比较了甲醇、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷及它们的混合液对芳香胺在固相萃取柱上的洗脱能力。根据洗脱曲线,以甲醇为洗脱液时,回收率最佳。实验表明,每次用1 mL 甲醇洗脱,经过5次可将吸附在固相萃取柱上的样品洗脱完全。

3.1.3 水溶液的酸碱性对提取率的影响 实验发现,苯甲酸等酸性物质是彩泥中影响芳香胺检测的主要基质成分,在过固相萃取柱前加适量 NaOH 溶液至 pH 12,可将苯甲酸转化为苯甲酸盐,从而有效减少基质干扰。

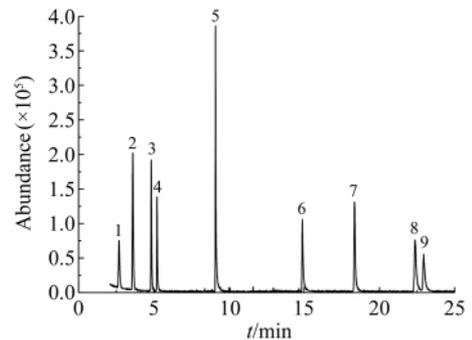


图1 10 mg/L 初级芳香胺标准物的色谱图

Fig.1 Chromatogram of 9 aromatic amines

1. 苯胺(Aniline); 2. 邻甲苯胺(Aminotoluene); 3. 甲氧基苯胺(2-Methoxyaniline); 4. 氯苯胺(4-Chlorobenzenamine); 5. 2-萘胺(2-Naphthylamine); 6. 联苯胺(Benzidine); 7. 3,3'-二甲基联苯胺(3,3'-Dimethylbenzidine); 8. 3,3'-二氯联苯胺(3,3'-Dichlorobenzidine); 9. 3,3'-二甲氧基联苯胺(3,3'-Dimethoxybenzidine)。

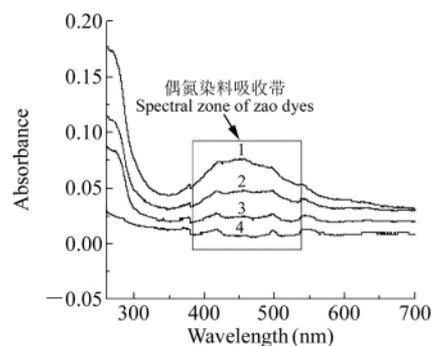


图2 偶氮染料甲醇提取液的紫外可见吸收光谱

Fig.2 UV-visible absorption spectra of azo dye extract by methanol

1. 第一次提取液(The first extract); 2. 第二次提取液(The second extract); 3. 第三次提取液(The third extract); 4. 空白(Blank)。

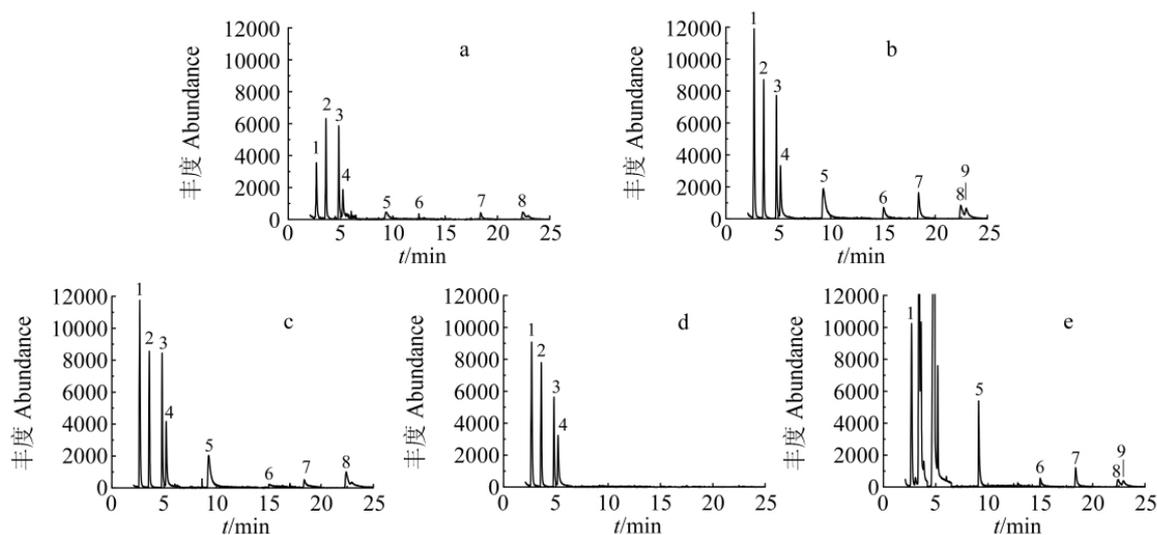


图3 5种固相萃取柱对芳香胺回收的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of extracts of aromatic amines using 5 SPE

a. Chroma bond Easy; b. Oasis HLB Cartridge; c. OROCHEM C18; d. Supelclean ENVI-Card; e. Supelclean ENVI-Chrom P.

1~9峰同图1(Peak numbers are the same as in Fig. 1)。

3.2 标准曲线和方法的定量限

将芳香胺标准品溶于甲醇,分别配制成100 mg/L标准储备液,置于冰箱中4℃避光保存,可保存1个月。取适量标准储备液用甲醇稀释分别稀释成浓度为1, 2.5, 5, 10, 20和100 mg/L的标准工作溶液。将标准样按浓度从低到高的在上述实验条件下依次进行测定,以得到的色谱峰的峰面积为纵坐标,对应的初级芳香胺含量为横坐标,绘制标准工作曲线(表1)。结果表明:9种芳香胺浓度在5~100 mg/kg范围内,浓度与其峰面积呈良好线性关系。在优化条件下进行测定,以10倍信噪比确定方法的定量限。本方法对9种芳香胺的定量限均为5 mg/kg。

表1 9种芳香胺的线性范围、线性方程及相关系数

Table 1 Linear ranges, linear equations and correlation coefficient (r^2) of 9 aromatic amines

初级芳香胺 Aromatic amines	线性范围 Linear ranges (mg/kg)	线性方程 Linear equations	相关系数 Correlation coefficient
苯胺 Aniline	5~100	$Y = 1338750X - 184102$	0.9998
邻甲苯胺 Aminotoluene	5~100	$Y = 582688.6X - 184010$	0.9983
2-甲氧基联苯胺 2-Methoxyaniline	5~100	$Y = 536539.8X - 73169.$	0.9999
4-氯苯胺 4-Chlorobenzenamine	5~100	$Y = 433491.4X - 54607.$	0.9999
2-萘胺 2-Naphthylamine	5~100	$Y = 785749X - 174187$	0.9998
联苯胺 Benzidine	5~100	$Y = 1375620X - 979027.$	0.9994
3,3'-二甲基联苯胺 3,3'-Dimethylbenzidine	5~100	$Y = 851759X - 595110$	0.9991
3,3'-二氯联苯胺 3,3'-Dichlorobenzidine	5~100	$Y = 522497.6X - 329618$	0.9987
3,3'-二甲氧基联苯胺 3,3'-Dimethoxybenzidine	5~100	$Y = 329024.5X - 227041$	0.9995

3.3 回收率和精密度

对实际样品进行3个加标浓度5, 25和100 mg/kg的加标回收实验。在优化的实验条件下,对每个添加浓度平行测定6次,回收率和精密度测定结果见表2。

应用本方法对市场上销售的15款儿童彩泥产品进行了检测,均未检出芳香胺类物质。

表2 彩泥类玩具样品中添加芳香胺的回收率和精密度

Table 2 Results of recoveries for aromatic amines in play-clay

初级芳香胺 Aromatic amines	添加水平 Spiked (mg/kg)	回收率 Recovery (%)	RSD (% n=6)	初级芳香胺 Aromatic amines	添加水平 Spiked (mg/kg)	回收率 Recovery (%)	RSD (% n=6)
苯胺 Aniline	5	96.1	2.3	联苯胺 Benzidine	5	94.9	5.4
	25	93.9	7.1		25	95.0	9.0
	100	98.0	3.2		100	98.1	2.8
邻甲苯胺 Aminotoluene	5	97.2	2.4	3,3'-二甲基联苯胺 3,3'-Dimethylbenzidine	5	96.7	3.9
	25	93.5	7.3		25	90.6	11.6
	100	98.5	3.5		100	100.1	3.0
2-甲氧基联苯胺 2-Methoxyaniline	5	98.6	2.3	3,3'-二氯联苯胺 3,3'-Dichlorobenzidine	5	81.5	9.6
	25	90.5	6.4		25	78.3	3.3
	100	97.5	3.0		100	88.4	3.1
4-氯苯胺 4-Chlorobenzenamine	5	93.8	2.0	3,3'-二甲氧基联苯胺 3,3'-Dimethoxybenzidine	5	97.1	2.2
	25	89.4	5.8		25	89.3	8.4
	100	97.0	4.2		100	102.5	3.0
2-萘胺 2-Naphthylamine	5	97.0	2.4				
	25	91.4	6.7				
	100	93.9	4.5				

References

- Garrigós M C, Reche F, Marín M L, Jiménez A. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 976(1-2): 309 ~ 317
- Zhou Q X, Zhang X G, Xiao J P. *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216(20): 4361 ~ 4365
- Lavandeira J G, Petinal C S, Blanco E, Cela R. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2010**, 397(2): 751 ~ 763
- Textiles Determination of the Banned Azo Colourants (纺织品禁用偶氮染料的测定). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准) GB/T 17592-2006
- Toys Determination of the Banned Azo Colourants (玩具中芳香胺的检测). The European Standard(欧盟标准) EN71-2005
- HUANG Li-Fang, LI Lai-Sheng(黄丽芳, 李来生). *Journal of Analytical Science(分析科学学报)*, **2008**, 24(3): 265 ~ 269
- CHEN Zhang-Yu, YANG Guang-Yu, MIAO Ming-Ming(陈章玉, 杨光宇, 缪明明). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, **2006**, 34(5): 679 ~ 682
- SUN Yin-Feng, NIU Zeng-Yuan(孙银峰, 牛增元). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, **2009**, 37(6): 861 ~ 866
- HU Guo-Hua, RUI Zhen-Rong(胡国华, 芮振荣). *Shanghai Journal of Preventive Medicine(上海预防医学杂志)*, **2008**, 20(4): 203 ~ 206
- Rehorek A. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2007**, 388(8): 1653 ~ 1662
- LI Ying, ZHANG Yan, JING Rui-Jun(李英, 张焱, 荆瑞俊). *Dyeing and Finishing(印染)*, **2006**, 3: 40 ~ 42
- ZHANG Yu-Hui, LIN Fang, CHEN Hui-Ling(张榆辉, 林芳, 陈惠玲). *Westleather(西部皮革)*, **2009**, 31(15): 37 ~ 42
- DING Jian-Hua, HE Hai-Xia(丁健桦, 何海霞). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, **2008**, 36(12): 1662 ~ 1666
- SHAO Qiu-Rong, FANF Xing-You, DING Xiao(邵秋荣, 方邢有, 丁晓). *Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析试验室)*, **2010**, 29(suppl): 417 ~ 418
- QIAN Yi, WANG Qi-Xuan, ZHANG Ning(钱毅, 王绮轩, 张宁). *Modern inspection technology(现代商检科技)*, **1996**, 6(5): 1 ~ 4
- LIU Zhi-Ming, YOU Tian-Yan, WANG Er-Kang(刘志明, 由天艳, 汪尔康). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, **1998**, 26(6): 786 ~ 791

