

气相色谱-质谱法测定蜡笔中的芳香伯胺

康苏媛, 张庆*, 白桦, 王超, 吕庆

(中国检验检疫科学研究院工业品检验研究所, 北京 100123)

摘要: 建立了固相萃取-气相色谱-质谱(SPE-GC-MS)检测儿童蜡笔中苯胺等9种芳香伯胺的方法。先用正己烷除去蜡笔中的烷烃类物质,再以甲醇为提取剂在室温下超声提取两次,提取液经过浓缩后与还原剂连二亚硫酸钠在70℃下反应30 min,将反应后的溶液通过硅藻土固相萃取柱净化收集,然后采用HP-5M色谱柱分离,并用质谱进行检测。采用该方法成功地实现了9种芳香伯胺的分离检测。对于不同的芳香伯胺的定量限为5 mg/kg,实际样品的平均回收率为86.02%~102.43%。实验结果证明,该方法准确、稳定,可以用于蜡笔中芳香伯胺的实际检验。

关键词: 固相萃取; 气相色谱-质谱法; 芳香伯胺; 蜡笔

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2011)05-0422-04

Determination of primary aromatic amines in crayons by gas chromatography-mass spectrometry

KANG Suyuan, ZHANG Qing*, BAI Hua, WANG Chao, LÜ Qing

(Institute of Industrial Product Inspection, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China)

Abstract: A method for the determination of nine primary aromatic amines in crayon by solid phase extraction (SPE) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was developed. The alkanes in the sample were removed with *n*-hexane. Then the sample was extracted twice with ultrasonic extraction by methanol. The extract was evaporated, then the concentrated solution reacted with the reducing agent (sodium hydrosulfite) for 30 min at 70 °C. After the extraction with a diatomite SPE column, the aromatic amines were collected and separated on an HP-5M column, determined by MS. The nine primary aromatic amines can be separated and determined successfully. Under the optimized conditions, the detection limits were 5 mg/kg and the spiked recoveries of the samples were in the range of 86.02% – 102.43%. The method is accurate and stable. It can be applied in the analysis of the primary aromatic amine of real crayon samples.

Key words: solid phase extraction (SPE); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); primary aromatic amines; crayon

偶氮染料被广泛地应用于产品的染色领域,如纺织品、皮革、化妆品等很多工业品中^[1,2]。但是部分偶氮染料在还原条件下,如与人体的代谢产物(汗液等)作用,会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,其中的很多物质被证明有毒性和致癌性,会对人体和环境造成严重的影响^[3,4]。目前国际上对于芳香伯胺在纺织服装、玩具等产品中的残留量有严格

的规定。欧盟EN71“玩具安全标准”系列标准中规定在玩具中不得检出超过5 mg/kg的苯胺、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、3,3'-二甲氧基联苯胺等9种致癌性芳香胺^[5]。

蜡笔在儿童玩具以及幼儿教育中一直有较高的使用量,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

* 通讯联系人: 张庆, 博士, 副研究员. Tel: (010) 85771969, E-mail: njuzhangqing@yahoo.com.cn.

基金项目: 国家财政部行业公益性项目(No. 200810953).

收稿日期: 2010-12-27

的伤害。本研究与 EN71 方法的不同之处在于测定对象及相应的前处理方法。EN71 测定的仅仅是玩具表层已经形成的 9 种芳香胺在水中(用于模拟汗液及唾液)的迁移量;而本研究的测定对象为玩具中 9 种芳香胺的总量,包含了来自本体及由玩具中偶氮染料转化而来的芳香胺。目前市场上销售的蜡笔成分主要含蜡类、凡士林、矿物油、碳酸钙、硬脂酸、颜料等,其特殊的材质并不能简单地直接使用已有的检测方法,如针对纺织品、皮革、电子产品等开发的检测方法^[6-11]。为此,本研究考察了各种实验参数对于检测结果的影响,旨在建立针对蜡笔中芳香伯胺的测定方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 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)。硅藻土固相萃取柱(20 mL 20 g;美国 VARIAN 公司)。9 种芳香胺(具体名称见表 1)的标准品均购自美国 Chemservice 公司。甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);4 种偶氮染料(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))标准品均购自美国 Sigma 公司。实验用水为经 Milli-Q 净化系统过滤的去离子水。氮气、氦气(纯度 >99.999%)。实验中所使用的其他试剂均为分析纯。

将芳香胺标准品溶于乙腈中,分别配制成 100 mg/L 的标准储备液,置于 4 °C 冰箱中避光保存,可保存 1 个月。

取适量的标准储备液,用甲基叔丁基醚分别稀释成 1、2.5、5、10 和 20 mg/L 的混合标准工作溶液。标准工作液需每天配制。

1.2 样品前处理

1.2.1 蜡笔样品的预处理

称取 1 g 待测样品(对于不同颜色的同类蜡笔材料视为单独样品测试),切碎至 2 mm × 2 mm 左右的小块,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 20 mL 正己烷浸没样品,超声 20 min 后离心(转速 10 000 r/min) 10 min,弃去上清液,将样品放在通风橱过夜将残余的正己烷挥发近干。

1.2.2 偶氮染料的提取及还原

将处理过的蜡笔样品用 20 mL 甲醇超声提取 2

次,每次超声时间为 20 min,离心后取上清液至鸡心瓶中;再分别用 10 mL 甲醇洗涤剩余残渣两次,离心;合并上清液,并于 35 °C 水浴中旋蒸至 1 mL 左右,用氮气吹至近干;残渣中加入 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 下恒温反应 30 min,取出冷却至室温。

1.2.3 芳香伯胺的固相萃取

向上述反应液中加入 0.5 mL 1 mol/L NaOH 溶液,接着将反应液倒入硅藻土固相萃取柱中自由吸附 15 min,然后用甲基叔丁基醚冲洗 4 次,每次 20 mL,收集洗脱液于鸡心瓶中,向其中加入 2 mL 0.5 mol/L 盐酸溶液,涡旋 1 min,在 20 ~ 25 °C 水浴中旋蒸至上层有机相近干;再加入 2 mL 0.5 mol/L NaOH 溶液和 2 mL 甲基叔丁基醚,充分混匀,分层后取上层有机相供 GC-MS 分析。

1.3 GC-MS 条件

色谱条件:HP-5M 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 1.80 μm);载气:高纯氦,流速 1.0 mL/min;分流进样,分流比 5:1;进样口温度:280 °C;柱温升温程序:初始温度 100 °C(保持 2 min),以 10 °C/min 升至 135 °C,再以 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。

质谱条件:离子源为电子轰击离子源(EI),电离能量 70 eV。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。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 样品净化方法的选择

蜡笔中的主要成分是蜡质、凡士林、矿物油、碳酸钙、硬脂酸、颜料等。这些物质大部分溶于有机溶剂,影响芳香胺的检测。通过用正己烷对蜡笔样品进行预处理,能够减少大量杂质,降低干扰,得到较好的分离效果。

2.1.2 偶氮染料提取液的选择

测定蜡笔中芳香伯胺的前提条件是将能分解出芳香伯胺的偶氮染料有效提取并还原转化。本研究以分散蓝 106、酒石黄、分散红 1、分散橙 37 等 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、乙醇等不同溶剂中的溶解情况,结果表明这 4 种偶氮染料在甲醇中的溶解性最好,因此选择以甲醇作为提取溶剂。

经过试验,用甲醇连续超声提取 2 次后可将蜡笔中的偶氮染料提取完全。

2.1.3 酸的选择

芳香族伯胺多数能与酸生成盐。根据这一性质,在含有芳香胺的甲基叔丁基醚中加入适量的酸将其转化为盐类,溶于水,真空旋转蒸干甲基叔丁基醚溶剂,然后在余下的水溶液中加入等量的碱,反应后芳香胺盐又转化为芳香胺,用甲基叔丁基醚萃取后进行 GC-MS 测定。加入酸可减少蒸馏时芳香胺的损失,提高回收率。尝试使用不同浓度的醋酸和盐酸,通过回收率比较,使用盐酸的效果较好。

通过对比不同浓度的盐酸,发现加入 0.5 mol/L 的盐酸效果最好。表 1 是用 3 种不同浓度的盐酸处理蜡笔后芳香伯胺的回收率,图 1 是不同浓度的盐酸处理的实际样品的 GC-MS 谱图,从中可看出 0.5 mol/L 盐酸的分离效果好于 1 mol/L 及 0.1 mol/L。

表 1 用不同浓度的盐酸处理蜡笔后芳香伯胺的回收率

Table 1 Recoveries of nine aromatic amines in crayon treated with different concentrations of hydrochloric acid

Aromatic amine	0.5 mol/L	1 mol/L	0.1 mol/L	%
Aniline	94.76	95.18	77.55	
Aminotoluene	106.82	117.32	79.85	
2-Methoxyaniline	98.86	102.95	74.33	
4-Chlorobenzenamine	101.64	105.34	76.32	
2-Naphthylamine	82.34	74.28	44.88	
Benzidine	81.00	59.20	39.87	
3,3'-Dimethylbenzidine	82.14	84.25	53.44	
3,3'-Dichlorobenzidine	83.16	78.62	41.25	
3,3'-Dimethoxybenzidine	98.77	70.14	46.42	

2.2 线性关系

分别测定混合标准溶液,以得到的各组分的定量离子的色谱峰峰面积(Y)为纵坐标、对应的芳香

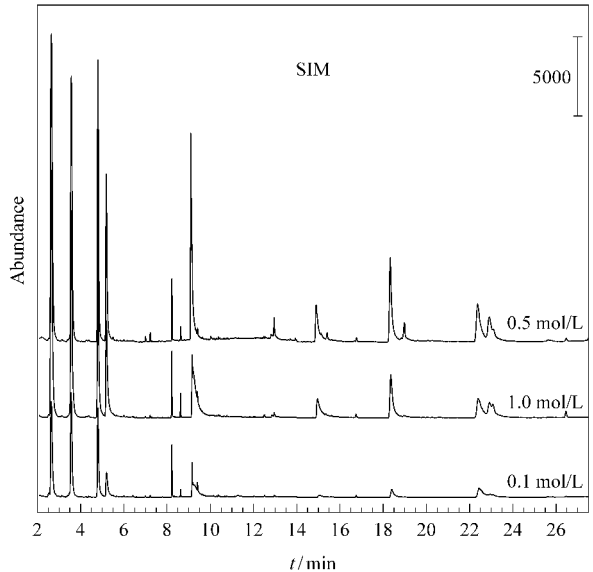


图 1 不同浓度的盐酸处理蜡笔的色谱图
Fig. 1 Chromatograms of a crayon sample treated with different concentrations of hydrochloric acid

伯胺质量浓度 X(mg/L) 为横坐标作图,绘制标准工作曲线。结果(见表 2)表明,9 种芳香胺在 1~20 mg/L 范围内,其峰面积与对应的质量浓度呈良好的线性关系。当样品中的待测芳香胺超过此线性范围时,可适当加大样品的稀释倍数。

2.3 方法的定量限、回收率和精密度

在本方法确定的实验条件下对混合标准溶液进行测定,以 10 倍信噪比(S/N) 作为定量限,确定苯胺、邻甲苯胺、2-甲氧基苯胺、4-氯苯胺、2-萘胺、联苯胺、3,3'-二氯联苯胺、3,3'-二甲基联苯胺、3,3'-二甲氧基联苯胺的定量限均为 5 mg/kg。

在实际样品中添加 3 个浓度水平(5.00、25.00、100.00 mg/kg) 的标准样品,按本方法所确定的实验条件,对每个添加浓度平行进行 6 次测定,各物质的回收率和精密度见表 3。

表 2 9 种芳香胺的保留时间、选择离子、线性方程及相关系数

Table 2 Retention times, selected ions, linear equations and correlation coefficients (r²) of 9 aromatic amines

Aromatic amine	Retention time/min	Selected ion (m/z)	Linear equation	r ²
Aniline	2.68	65, 66, 93*	Y = 1338750X - 184102.0	0.9998
Aminotoluene	3.58	77, 106*, 107	Y = 582688.6X - 184009.8	0.9983
2-Methoxyaniline	4.79	80, 108*, 123	Y = 536539.8X - 73169.9	0.9999
4-Chlorobenzenamine	5.18	92, 127*, 129	Y = 433491.4X - 54607.1	0.9999
2-Naphthylamine	9.10	115, 116, 143*	Y = 785749.1X - 174186.9	0.9998
Benzidine	14.80	183, 184*, 185	Y = 1375620X - 979027.2	0.9994
3,3'-Dimethylbenzidine	18.17	106, 212*, 213	Y = 851759.2X - 595110.5	0.9991
3,3'-Dichlorobenzidine	22.09	126, 252*, 254	Y = 522497.6X - 329618.4	0.9987
3,3'-Dimethoxybenzidine	22.65	201, 229, 244*	Y = 329024.5X - 227040.9	0.9995

Y: peak area; X: mass concentration, mg/L; linear range: 1~20 mg/L; * quantitative ion.

表3 蜡笔类玩具样品中添加芳香胺的回收率和精密度 ($n=6$)
Table 3 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of aromatic amines in crayon ($n=6$)

Aromatic amine	Spiked / (mg/kg)	Found / (mg/kg)	Recovery / %	RSD / %	Aromatic amine	Spiked / (mg/kg)	Found / (mg/kg)	Recovery / %	RSD / %
Aniline	5.00	4.61	92.29	6.96	Benzidine	5.00	4.66	93.15	6.38
	25.00	24.04	96.14	5.62		25.00	22.41	89.64	8.85
	100.00	96.50	96.50	3.91		100.00	96.59	96.59	3.99
Aminotoluene	5.00	4.80	96.03	4.90	3,3'-Dimethylbenzidine	5.00	4.75	95.05	5.15
	25.00	24.22	96.88	5.41		25.00	22.96	91.85	5.75
	100.00	96.56	99.56	1.64		100.00	99.83	99.83	2.85
2-Methoxyaniline	5.00	4.90	97.96	2.62	3,3'-Dichlorobenzidine	5.00	4.70	93.98	7.45
	25.00	23.90	95.59	4.53		25.00	23.79	95.17	4.97
	100.00	96.91	96.91	1.91		100.00	102.43	102.43	1.79
4-Chlorobenzenamine	5.00	4.79	95.72	5.29	3,3'-Dimethoxybenzidine	5.00	4.73	94.57	6.80
	25.00	24.96	99.84	4.01		25.00	21.50	86.02	5.59
	100.00	100.77	100.77	2.47		100.00	99.62	99.62	3.49
2-Naphthylamine	5.00	4.47	89.37	3.75					
	25.00	22.73	90.93	6.16					
	100.00	89.53	89.53	4.31					

2.4 实际样品的测定

对市场上出售的15种蜡笔制品进行了分析测

定。其中有1件检出苯胺单体,含量为6.12 mg/kg,图2b为该阳性样品的色谱图。

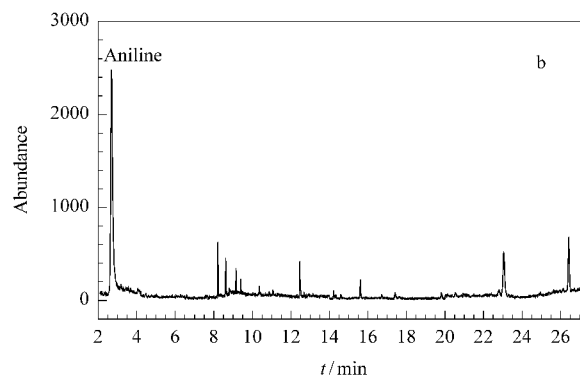
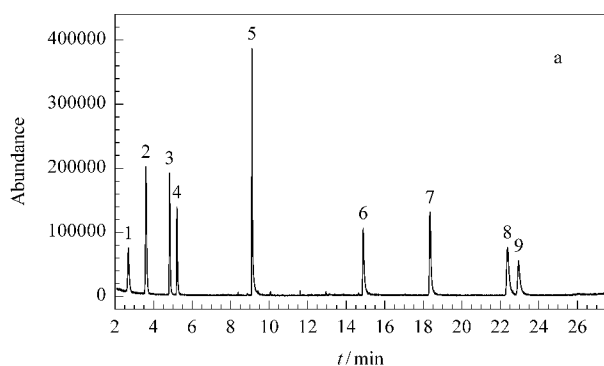


图2 (a)9种芳香伯胺混合标准溶液(10 mg/L)和(b)一个阳性样品的SIM模式下的GC-MS谱图

Fig. 2 GC-MS chromatograms of (a) a mixed solution of nine primary aromatic amines (10 mg/L) and (b) a real sample containing a primary aromatic amine in SIM mode

Peaks: 1. aniline; 2. aminotoluene; 3. 2-methoxyaniline; 4. 4-chlorobenzenamine; 5. 2-naphthylamine; 6. benzidine; 7. 3,3'-dimethylbenzidine; 8. 3,3'-dichlorobenzidine; 9. 3,3'-dimethoxybenzidine.

3 结语

建立了蜡笔中芳香伯胺的检测方法。该方法成功地解决了蜡笔中的杂质影响,利用固相萃取的方法收集芳香伯胺提取液,可操作性较强,回收率较高,重复性较好。该方法可以用于蜡笔中芳香伯胺的测定。

参考文献:

[1] Rastogi S C, Barwick V J, Carter S V. *Chromatographia*, 1997, 45: 215
 [2] Zhou Q X, Zhang X G, Xiao J P. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(20): 4361
 [3] García-Lavandeira J, Salgado-Petinal C, Blanco E, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(2): 751

[4] GB/T 17592-2006
 [5] EN71-11-2005
 [6] Wang H H, Niu Z Y, Ye X W, et al. *Journal of Instrumental Analysis* (王卉卉, 牛增元, 叶曦雯, 等. 分析测试学报), 2009, 28(8): 944
 [7] Ding J H, He H X, Lin H L, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (丁健桦, 何海霞, 林海禄, 等. 分析化学), 2008, 12(36): 1662
 [8] Huang L F, Li L S, Liu C. *Journal of Analytical Science* (黄丽芳, 李来生, 刘超. 分析科学学报), 2008, 24(3): 265
 [9] Chen Z Y, Yang G Y, Miao M M, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (陈章玉, 杨光宇, 缪明明, 等. 分析化学), 2006, 34(5): 679
 [10] Hu G H, Rui Z R, Lu D S, et al. *Shanghai Journal of Preventive Medicine* (胡国华, 芮振荣, 卢大胜, 等. 上海预防医学杂志), 2008, 20(4): 203
 [11] Rehorek A, Plum A. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 388(8): 1653