

染发剂中 2-氨基-4-硝基苯酚和 2-氨基-5-硝基苯酚的液相色谱-质谱法测定方法研究

于文莲, 周 新, 张 青, 陈 伟, 白 桦, 陈会明

(中国检验检疫科学研究院, 北京 100025)

2-氨基-4-硝基苯酚和 2-氨基-5-硝基苯酚在染发剂中同时可用做氧化染发剂。在市场上氧化型染发剂占有 70% 80%, 是广泛使用的染发剂。但研究表明长期使用氧化型染发剂会增加患膀胱癌的危险性, 2001 年美国 Gago - Dominguez^[1-2] 发表文章, 在美国加利福尼亚州洛杉矶市选取 1 514 个膀胱癌患者与同样的年龄性别的人作对比, 显示多年多频次使用永久性染发剂, 会增加患膀胱癌的危险性, 许多文献也表明其会增加致癌的风险性^[1-4]。欧盟化妆品指令 78/768/EEC 规定禁止使用 2-氨基-4-硝基苯酚、2-氨基-5-硝基苯酚, 我国卫生部于 2006 年规定不允许使用该类染发剂。鉴于染发剂对人体健康的危害性, 近年来染发剂的检测较受关注, 国内外均有文献报道, 采用气相色谱^[5-7]等方法对染发剂中对苯二胺、萘酚等化合物进行分析研究, 但国外仅有 1 篇文献^[8]用液相色谱同时检测 2-氨基-4-硝基苯酚和 2-氨基-5-硝基苯酚, 没有采用质谱方法。本工作对染发剂中 2 种 *n*-氨基-*n*-硝基苯酚氧化剂进行了研究, 建立了液相色谱-质谱同时测定染发剂中 2 种氧化剂的方法, 方法简单、快速、准确。平均回收率为 91.5%、92.3%; 检出限均为 0.2 mg/L。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 - Quattro Micro AP 液相色谱-质谱仪; 涡旋振荡器 (德国); KQ - 600 超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)。

2-氨基-4-硝基苯酚 (RDH 公司, 纯度 99.9%); 2-氨基-5-硝基苯酚 (Aldrich 公司, 纯度 90%); 甲醇、乙腈为色谱纯。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取一定量的 2 种标准品, 用甲醇溶解定容, 配制成为 1 g/L 的标准储备液, 放于冰箱冷藏保存。使用时再逐步稀释至所需浓度。

1.3 样品处理

实验应在避光的条件下进行。准确称取染发剂 0.500 g, 置于 25 mL 具塞离心管中, 加入甲醇 20 mL, 在涡旋振荡器上混匀后, 超声波清洗器中超声振荡 10 min, 转入 25 mL 容量瓶, 用甲醇定容 25 mL。取部分溶液放入 10 mL 具塞离心管中, 在离心机上于 12 000 r/min 高速离心 10 min 后, 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 滤液供测定用。

1.4 液相色谱条件

色谱柱: Atlantis C₁₈ (2.1 mm i.d. ×150 mm, 5 μm), 流速: 0.2 mL/min, 进样体积: 5.0 μL, 柱温: 室温。流动相: 流动相梯度见表 1, A: 水, B: 乙腈。

1.5 质谱条件

多反应监测 (MRM)、离子模式 ESI, 毛细管电压 3.0 kV, 锥孔电压 30.0 V, 萃取锥孔电压: 4.0 V, RF Lens 电压 0.5 V, 源温度 100, 喷雾温度 300, 监测子离子及其碰撞能量: *m/z* 153.0 > 106 (17 eV), *m/z* 153.0 > 122 (15 eV)。

表 1 流动相梯度

	时间 t/min				
	0	12	24	24	40
流动相 A%	90	90	60	90	90
流动相 B%	10	10	40	10	10

作者简介: 于文莲, 女, 副研究员

2 结果与讨论

2.1 提取方法

考察了乙腈、甲醇、甲醇 - 水体系, 实验表明甲醇、乙腈提取效果相差不大, 而甲醇 - 水体系提取液变成乳浊液, 提取效果不好。从经济和环保角度考虑, 采用甲醇做提取液。提取时间考察了 5、10、15、20、25 min, 实验结果表明 10 秒 20 min 提取效果没有显著变化; 由于 2-氨基-4-硝基苯酚和 2-氨基-5-硝基苯酚的氧化性, 时间长会使提取物氧化, 所以选取较短的提取时间 10 min。

2.2 流动相选择

使用乙腈、甲醇、乙腈 - 水、甲醇 - 水流动相体系, 色谱峰分离度较差, 拖尾比较严重; 本实验选择甲醇 - 乙腈流动相梯度洗脱体系进行了考察。考察了流动相梯度洗脱条件中不同体积分数甲醇 - 乙腈对各组分的分离、峰拖尾以及保留时间的情况, 结果表明, 流动相梯度洗脱可以改善色谱峰拖尾, 分离度较好。

2.3 质谱条件的选择

实验表明毛细管电压在 1.0 秒 4.0 kV 范围对检测响应的影响较大, 色谱峰面积随毛细管电压增大, 在 3.0 kV 时峰面积趋于平缓, 所以选取毛细管电压 3.0 kV; 碰撞能量主要控制待测物离子的断裂, 给出碎片离子。在碰撞能量 10 秒 20 eV 间, m/z 106 和 122 碎片离子的强度较大, 因此选择这两个离子作为定量检测离子, 碰撞能量分别选择 17、15 eV 为宜。TIC 图见图 1。

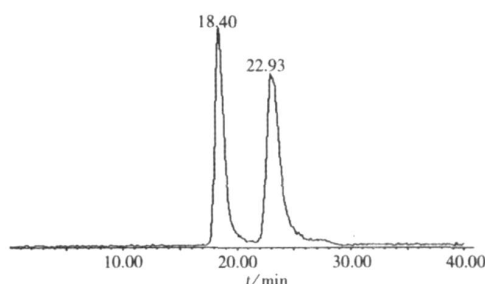


图 1 LC-MS 总离子流图

2.4 回归方程、线性范围与检出限

准确吸取一定量的标准储备液, 用甲醇配制成混合标准溶液。以质量浓度和峰面积绘制标准工作曲线。根据各组分在仪器响应的信噪比大于 10 得出定量下限。各组分的线性方程、相关系数、线性范围及检出限列于表 2。从表中可以看出各组分的线性关系良好。

2.5 方法的回收率与精密度

准确称取 8 份不含被测组分的染发剂样品 0.500 g, 分别加入一定量的 2 种组分标准品, 按照选定条件进行分析, 考察方法的回收率和精密度, 结果见表 3。从表中数据可以看出, 组分的平均回收率为 91.5%、92.3%, 相对标准偏差分别为 1.51%、1.85%。

2.6 应用

本方法已经应用于进口染发剂的检测工作中, 对多种进口染发剂进行测定, 均未检出。

表 2 回归方程、线性范围、相关系数和检出限

组 分	线性范围 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	回归方程	相关系数 r	检出限 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
2-氨基-4-硝基苯酚	0.2 秒 100	$y = 36.9595\rho - 8.8236$	0.999	0.2
2-氨基-5-硝基苯酚	0.2 秒 100	$y = 24.9060\rho + 6.8649$	0.997	0.2

表 3 回收率与精密度 ($n = 8$)

组 分	添加量 m / mg	平均测得量 m / mg	平均回收率 $\%$	相对标准偏差 $\text{RSD} / \%$
2-氨基-4-硝基苯酚	0.010	0.009 15	91.5	1.51
2-氨基-5-硝基苯酚	0.010	0.009 23	92.3	1.85

参考文献:

- [1] GAGO - DOMINGUEZ M, CHAN K K, ROSS R K, et al [J]. Int J Cancer, 2001, 94: 905 - 906

(下转第 359 页)

(3) GC - MS联用技术在舰船非金属材料常温释放物及高温热解物定性中起着重要的关键性作用, 热解物中众多的异构体可依据标准谱库及有机物沸点规律及结构特征进行定性; 但对无机气体的定性还要辅之于其它仪器和方法, 由此得出舰船非金属材料的毒性评价才能全面及科学。

参考文献:

- [1] 贺曼罗. 胶粘剂与其应用 [M]. 北京: 中国铁道出版社. 1987. 1, 11.
- [2] 中华人民共和国国家军用标准. 舰船用非金属材料毒性评价规程 [S]. GJB 3881 - 1999.
- [3] 中华人民共和国国家军用标准. 潜艇舱室空气 45种组分分析方法 [S]. GJB 533. 30 - 88 1988.
- [4] 中华人民共和国国家军用标准. 潜艇舱室空气组分检测方法 [S]. GJB 533. 31 ~ 533. 35 - 91 1991.

Assessment and Analysis of Substance Released at Room Temperature and Decomposed at High Temperature from 3 Kinds of Special Adhesive for Ships

PAN Hu-xiang, WANG Nan-ping, CHEN Qian, XU Lin-jun, XU Xin-hong
(Naval Medical Research Institute, Shanghai 200433, China)

Abstract: In order to evaluate the toxicity of adhesive in ships exposed to room and high temperature and provide the scientific basis for correct and rational screening of these materials, the room temperature released products and high-temperature decomposed products of 3 kinds of special adhesive were analyzed quantitatively by GC - MS technique

Key words: Adhesive; Toxicity; Ship; GC - MS

(上接第 356页)

- [2] GAGO - DOMINGUEZ M, CATELAO J E, YUAN J. [J]. Int J Cancer, 2001, 91: 575 - 579.
- [3] Toxicology and Carcinogenesis Studies of 2 - Amino - 4 - Nitrophenol, NTP No. 339.
- [4] 朱会卷, 朱 英. [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 888 - 890.
- [5] 刘 丽, 李 英, 刘志红. [J]. 分析化学, 2004, 32(10): 1333 - 1336.
- [6] 张前莉, 周建科, 韩 康, 等. [J]. 日用化学工业, 2006, 36(2): 128 - 130.
- [7] WANG S P, HUANG T H. [J]. Anal Chim Acta, 2005, 534: 207 - 214.
- [8] SURESH C R. [J]. Sep Sci, 2001, 24: 173 - 178.

Determination of 2-amino-4-nitrophenol and 2-amino-5-nitrophenol in Hair Dye by Liquid Chromatography - Mass Spectrometry

YU Wen-lian, ZHOU Xin, ZHANG Qing, CHEN Wei, BAI Hua, CHEN Hui-ming
(Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100025, China)

Abstract: A new method of 2-amino-4-nitrophenol and 2-amino-5-nitrophenol in hair dye determined by liquid chromatography - mass spectrometry. Chromatographic separation was carried out on a Atlantis C18 (2.1 mm i. d. ×150 mm, 5 μm) column with gradient elution with methanol - acetonitrile at a flow rate 0.2 mL/min. The mass spectrometry was operated in the positive electrospray ionization mode. Quantity was performed using multiple reaction monitoring of the product ion transitions $m/z153.0 > m/z106$ (17 eV) for 2-amino-4-nitrophenol and $m/z153.0 > m/z122$ (15 eV) for 2-amino-5-nitrophenol. Linearity of peak was obtained over a range of concentration is from 0.2 to 100 mg/L. The limit is 0.2 mg/L of the method. The proposed method was accurate and rapid with wide linear range. The repeatability and the reproducibility of the method were excellent. It has been applied to detect the real with satisfactory results.

Key words: Liquid chromatography; Mass spectrometry; Gradient elution; Hair dye