

Supported Liquid Extraction Chem Elut S 카트리지를 이용하여 GC/MS로 아조 착색제 유래 방향족 아민의 측정

저자

Derick Lucas
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent Chem Elut S는 합성 충전제를 사용하여 Supported Liquid Extraction(SLE)을 수행하는 시료 전처리 제품입니다. 본 연구에서는 Chem Elut S 카트리지를 사용해 유럽 분석법 ISO 14362-1에 따라 아조 착색제에서 유래한 방향족 아민을 정량 분석합니다. 방향족아민이 들어있는 sodium citrate/sodium hydroxide 용액을 카트리지에 로드해 15분간 유지한 후, methyl *tert*-butyl ether(MTBE)로 용리하여 GC/MS 분석을 위한 추출물을 만들었습니다. 이 분석법은 3개의 서로 다른 SLE 카트리지 포맷으로 30 μ g/mL의 아민을 측정하였으며, 모든 결과는 높은 회수율(87 ~ 119%)과 뛰어난 재현성(<9% RSD)을 나타냈습니다. 이러한 결과는 Chem Elut S는 방향족 아민 측정에 사용될 수 있는 고성능 SLE 제품이라는 것을 입증합니다.

서론

아조 염료는 업계에서 가장 널리 쓰이는 염료이고, 모든 합성 염료 중 2/3를 차지하고 있습니다¹. 섬유 직물, 식품, 약물, 화장품 등을 포함한 다수의 일반 제품은 이를 착색 첨가제로 사용합니다. 일부 아조 염료는 발암 방향족 아민으로 환원 분해될 수 있으므로 환경적 유해물질로 간주되어 직물 제조에 사용이 금지되었습니다².

유럽 분석법 ISO 14362-1에는 직물 내에 아조 염료에 대응하는 방향족 아민을 정량하는 방법을 설명하였습니다³. 아조 염료를 환류 chlorobenzene을 사용해 재료로부터 추출한 후 건조 처리합니다. Sodium citrate/sodium hydroxide 완충액과 sodium dithionite로 추출 잔류물을 처리하여 아조 염료를 방향족 아민으로 환원합니다. 본 연구에서는 적절한 방향족 아민을 바탕 sodium citrate/sodium hydroxide 용액에 스파이킹함으로써 Chem Elut S 추출 회수율과 재현성을 평가하였습니다.

기존 SLE에서 수용성 시료는 규조토(DE)를 포함한 흡착 베드에 로드되며, 여기에 수용성 시료는 얇은 필름으로 재료에 코팅됩니다. 그 후 물과 혼합될 수 없는 용매를 SLE 베드를 통과시켜 시료로부터 표적 분석물질을 고효율로 추출하고, 후처리가 있거나 없는 분석을 위해 수집 투브로 용리하였습니다. 이 기능은 기존 LLE에 비해 시간과 인건비를 현저하게 절약하고, 사용자 간 재현성을 개선할 수 있습니다.

Chem Elut S 제품은 기존 DE 흡착제에 인한 문제를 해결하기 위해 합성 총전제를 사용합니다. 뚜렷한 가변성과 미세분을 포함하고 있는 불규칙한 모양의 DE 입자와 달리, Chem Elut S 입자는 작은 입자 크기 분포를 보이며, 미세분을 포함하고 있지 않습니다. 이러한 특징은 이상적인 흐름 특성과 더 높은 재현성을 제공할 수 있습니다. 또한 Chem Elut S는 DE 흡착제보다 높은 시료 유지 성능을 갖추고 있어, 효율적으로 시료를 흡착하고 시료 투과 가능성을 낮출 수 있습니다. 3개의 큰 포맷 Chem Elut S 카트리지인 5mL, 20cc, 10mL, 60cc 및 20mL, 60cc는 중력 로드 및 용리 방식으로 워크플로를 간소화하였습니다.

본 연구는 Chem Elut S 카트리지와 GC/MS(SIM) 검출을 이용한 방향족 아민의 높은 회수율과 재현성을 입증하였습니다.

실험

모든 시약과 용매는 HPLC 또는 분석 등급이었습니다. MTBE는 VWR-BDH Chemicals(Radnor, PA, USA)에서 구입하였습니다. Sodium citrate dihydrate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)는 citrate 완충액 0.06M을 준비하는 데 사용되었습니다. Sodium dithionite는 Sigma-Aldrich에서 구입하였으며, 200mg/mL의 용액으로 매일 전처리하였습니다. Sodium hydroxide은 Sigma-Aldrich에서 구입하였으며, 50%의 수용액으로 만들었습니다. 방향족 아민의 순수한 고체와 내부 표준물질 액체는 Sigma-Aldrich와 AccuStandard(New Haven, CT, USA)에서 구입하였으며, 표준 원액으로 전처리하였습니다. 표 1은 표적 아민의 머무름 시간, CAS 번호, GC/MS 이온을 보여줍니다.

표준물질 및 용액

수요에 따라, 물 또는 DMSO에 10mg/mL인 각 아민의 개별 원액을 전처리하였습니다. 그리고 이를 표준물질을 검량 용액 및 시료 스파이킹 작업 표준물질과 혼합하였습니다.

시료 전처리 장비 및 소모품

- Agilent Chem Elut S 5mL, 20cc (p/n 5610-2009)
- Agilent Chem Elut S 10mL, 60cc (p/n 5610-2010)
- Agilent Chem Elut S 20mL, 60cc (p/n 5610-2011)
- 40mL와 150mL 유리 수집병
- Eppendorf 피펫

기기 조건

- Agilent 7890 GC
- Agilent 5977 GC/MSD

Agilent 5977 GC/MSD 파라미터	
GC 컬럼	Agilent J&W DB-35ms, 30m x 250μm x 0.250μm(p/n 122-3832)
라이너	Ultra Inert single taper, splitless, with wool (p/n 5190-2293)(p/n 5190-2293)
주입 부피	1μL
주입구 온도	280°C
유속	2mL/분, 일정 유속
오븐 온도	100°C 이후 10°C/분의 속도로 320°C까지 승온
보조 온도	320°C
MS 이온화원	250°C
사중극자 온도	180°C
MS 모드	SIM(이온은 표 1 참고)

표 1. 표적 아민과 내부 표준물질, 머무름 시간, SIM 파라미터 및 회수율 사양³

분석물질	CAS 번호	머무름 시간(분)	정량 이온(m/z)	정성 이온 1 (m/z)	정성 이온 2 (m/z)	%Rec 사양 ³
<i>o</i> -Toluidine	95-53-4	2.783	106	107	89	>50
4-Chloroaniline	106-47-8	4.511	127	129	100	>70
2,4,5-Trimethylaniline	137-17-7	4.872	120	135	134	>70
<i>p</i> -Cresidine	120-71-8	5.224	122	137	94	없음
3-Chloro- <i>o</i> -toluidine	87-60-5	5.585	141	106	140	>70
4-Chloro- <i>o</i> -toluidine	95-69-2	5.700	141	106	140	>70
2,4-Diaminotoluene	95-80-7	7.271	121	122	94	>50
3-Nitro- <i>p</i> -toluidine	119-32-4	9.268	152	107	135	>70
2-Naphthylamine	91-59-8	9.326	143	115	116	>70
2-Aminobiphenyl	90-41-5	9.427	169	168	167	>70
4-Aminobiphenyl	92-67-1	11.591	169	168	170	>70
Anthracene-d ₁₀	1719-06-8	11.784	188	184	189	내부 표준물질
<i>p</i> -Aminoazobenzene	60-09-3	15.200	197	92	120	>70
4,4'-Oxydianiline	101-80-4	15.836	200	171	108	없음
4,4'-Diaminophenylmethane	101-77-9	15.937	198	197	106	>70
Benzidine	92-87-5	16.012	184	185	92	>70
3,3'-Dimethyl-4,4'-diaminodiphenylmethane	838-88-0	17.363	226	211	120	없음
3,3'-Dimethylbenzidine	119-93-7	17.623	212	213	106	없음
4,4'-Thiodianiline	139-65-1	18.520	216	184	215	>70
4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline)	101-14-4	18.856	231	266	195	없음
3,3'-Dimethoxybenzidine	119-90-4	18.973	244	201	229	없음

시료 전처리

시료 전처리 절차: ISO 14362-1 중 E.4.6. 확인 프로토콜에 따라 방향족 아민의 SLE 추출 효율성을 측정하였습니다³. 용액은 sodium citrate를 이용해 0.06M으로 준비하였고 sodium hydroxide를 이용하여 pH 6으로 조절하였습니다. 그 후 방향족 아민으로 시료를 30 μ g/mL까지 스파이킹하였으며, SLE 추출하기 전에 충분히 혼합하였습니다. 아민 첨가 후 용액은 밝은 오렌지색/노란색을 띠었습니다.

SLE 절차

1. Chem Elut S 카트리지를 수집 튜브/병에 맞게 설정합니다.
2. 시료를 카트리지로 옮기고 중력 하에 로드합니다(부피는 표 2 참고).
3. 시료를 충진제에 15분간 유지합니다.
4. Methyl *tert*-butyl ether를 이용해 중력 용리를 수행합니다(부피는 표 2 참고).
5. 용리액은 혼합하고, GC/MS SIM 분석을 수행하기 위해 시료 분주를 자동 시료 주입기 바이알에 넣습니다.

회수율 및 재현성 평가

방향족 아민에 대한 Chem Elut S 프로토콜의 재현성과 회수율을 테스트하였습니다. EN 분석법에 기재된대로 30 μ g/mL에서 각 카트리지에 대해 3회 반복 분석하였습니다³. 동위원소 표지 내부 표준물질(IS) anthracene-d₁₀은 30 μ g/mL에서 스파이킹되어 정확한 부피 보정을 확보하였습니다. SLE 절차에 지시된대로, 검량 용액은 4배 희석을 위해 MTBE 내에서 7.5 μ g/mL로 전처리되었습니다.

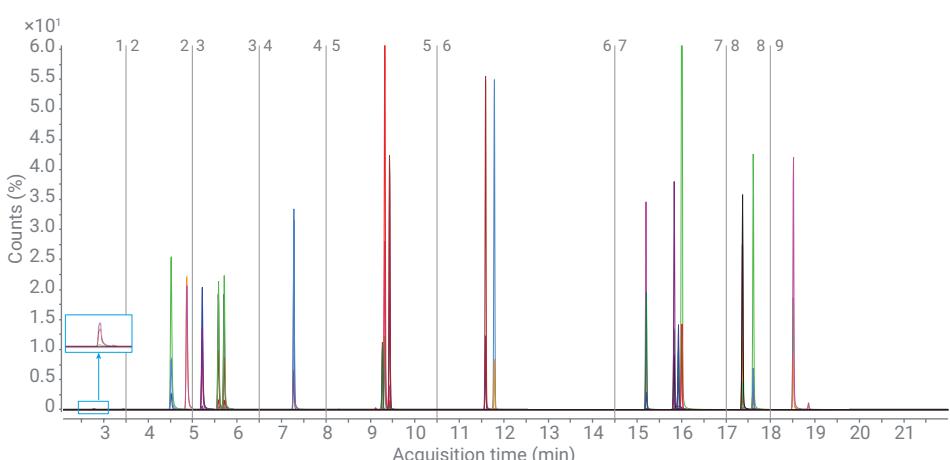


그림 1. 7.5 μ g/mL 농도의 20종 방향족 아민과 내부 표준물질의 GC/MS SIM 크로마토그램 오버레이

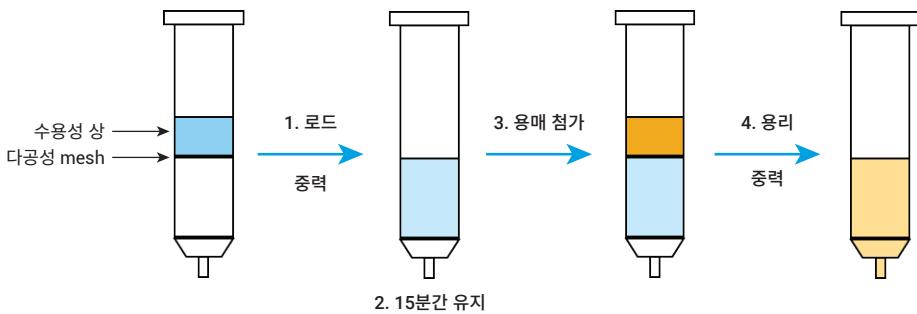


그림 2. 일반 Agilent Chem Elut S 워크플로의 다이어그램. 다음과 같은 단계가 포함되어 있습니다. 1) 시료를 중력으로 로드 2) 시료를 SLE 충진제에 15분간 유지 3) 물과 혼합될 수 없는 용매를 첨가해 분석물질 추출 4) 중력으로 유기 용매 용리

표 2. 방향족 아민 SLE 추출을 위한 카트리지 로드 및 용리 부피

카트리지	부품 번호	로드 부피(mL)	용리 부피(mL)
5mL, 20cc	5610-2009	5	20
10mL, 60cc	5610-2010	10	40
20mL, 60cc	5610-2011	20	80

결과 및 토의

회수율 및 재현성 결과

본 연구는 표 3에 확인할 수 있는 것처럼 뛰어난 결과를 얻었습니다. 테스트한 모든 3개 Chem Elut S 포멧의 회수율은 87~119%였고, %RSD<9였습니다. SLE 유지 시간을 15분으로 연장하는 것은 *p*-aminoazobenzene, 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) 및 3,3'-dimethoxybenzidine에 대한 회수율을 29~38% 향상시켰습니다 (그림 3). 합성 충진제와 DE 기반의 SLE 튜브에서 얻은 결과는 회수율의 향상을 입증하였습니다. 모든 대형 카트리지는 뛰어난 성능을 보였으며, 특히 10mL, 60cc 튜브는 가장 우수한 재현성을 나타냈습니다.

Chem Elut S를 이용한 시료 전처리

Chem Elut S 튜브는 사용이 쉽고 빠르며, 방향족 아민에 대해 높은 분석물질 회수율과 우수한 정밀도를 제공하였습니다. 합성 충진제는 높은 시료 유지 성능, 균일한 패킹, 일관된 배치 간 재현성 및 최적의 유동 특성을 위해 엄격히 제조되었습니다. Chem Elut S 5mL, 20cc, 10mL, 60cc 및 20mL, 60cc 카트리지는 간소화된 작동으로 중력 시료 로드 및 용리를 가능케 하도록 설계되었습니다. 이 응용은 15분의 시료 유지 시간 덕분에 모든 분석물질의 뛰어난 회수율을 보장합니다. 직접 비교의 결과, Chem Elut S와 DE 기반 흡착제의 성능 특성은 일치합니다. 이와 같은 특성은 뛰어난 데이터 품질, 사용 편의성 및 매트릭스 제거 (즉, 염) 능력 등을 제공합니다.

표 3. Agilent Chem Elut S를 이용한 방향족 아민의 회수율과 재현성 측정

분석물질	Chem Elut S 포멧					
	5mL, 20cc		10mL, 60cc		20mL, 60cc	
	%Rec.	%RSD	%Rec	%RSD	%Rec	%RSD
<i>o</i> -Toluidine	96.8	5.7	91.9	2.4	91.3	4.5
4-Chloroaniline	98.6	3.7	91.3	0.7	92.2	4.7
2,4,5-Trimethylaniline	98.8	3.9	92.2	0.8	93.8	4.3
<i>p</i> -Cresidine	96.9	4.3	90.6	0.8	91.3	3.9
3-Chloro- <i>o</i> -toluidine	97.8	3.7	91.0	1.0	92.3	4.4
4-Chloro- <i>o</i> -toluidine	96.4	3.9	89.8	0.6	90.7	4.7
2,4-Diaminotoluene	96.7	4.4	90.7	0.7	90.6	4.2
3-Nitro- <i>p</i> -toluidine	99.8	4.7	95.0	0.8	94.9	5.0
2-Naphthylamine	97.8	4.3	91.7	0.8	93.0	5.1
2-Aminobiphenyl	96.4	3.4	90.7	0.6	92.8	4.4
4-Aminobiphenyl	97.9	4.3	93.5	0.6	94.1	4.5
<i>p</i> -Aminoazobenzene	98.9	6.2	96.2	0.5	95.3	4.1
4,4'-Oxydianiline	112.9	6.5	109.5	0.8	107.7	5.8
4,4'-Diaminophenylmethane	99.5	6.1	95.3	0.6	95.0	5.5
Benzidine	116.4	5.6	110.4	1.3	111.7	6.1
3,3'-Dimethyl-4,4'-diaminodiphenylmethane	119.6	2.4	114.0	0.5	113.1	5.3
3,3'-Dimethylbenzidine	103.4	5.4	96.8	0.4	96.8	5.7
4,4'-Thiodianiline	107.4	5.9	101.9	1.0	99.7	5.9
4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline)	107.2	5.8	101.6	1.0	99.6	5.7
3,3'-Dimethoxybenzidine	91.6	6.1	91.5	8.2	87.1	5.8

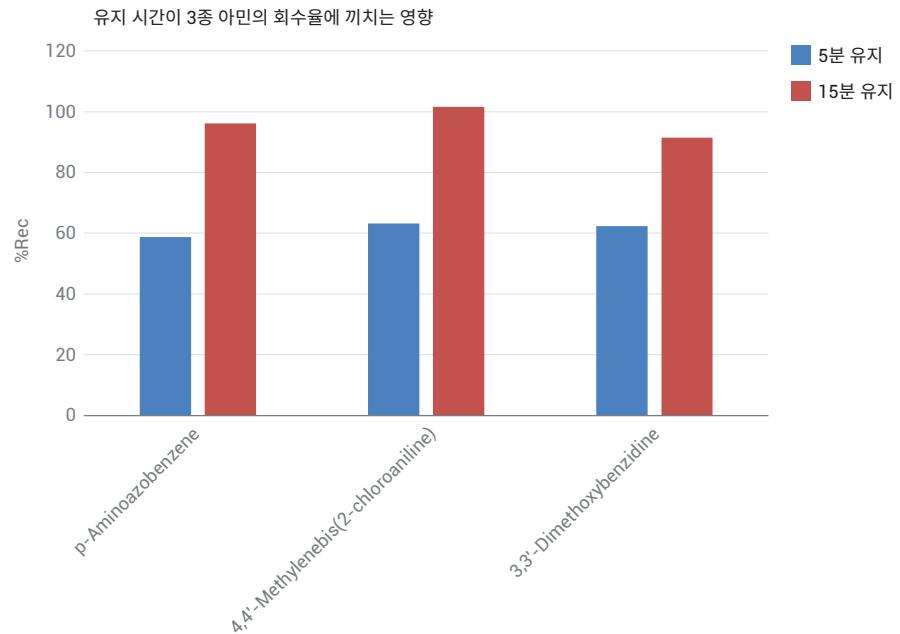


그림 3. 시료 유지 시간이 3종 방향족 아민 회수율에 미치는 영향을 입증하기 위한 실험. 30 μ g/mL 아민을 포함한 시료가 Agilent Chem Elut S 10mL, 60cc 튜브($n = 3$)로 추출되었습니다.

결론

Agilent Chem Elut S는 일관성 및 높은 수용성 시료 유지 성능을 위해 설계된 합성 충진제를 사용합니다. 본 연구에서 Chem Elut S는 ISO 14362-1에서 규정된 아조 염료 유래 방향족 아민에 대해 높은 회수율과 재현성을 나타냈습니다. 테스트된 모든 3개 대형 Chem Elut S 카트리지에서 뛰어난 성능을 나타냈으며, 모든 20종 방향족 아민의서 회수율은 87~119%이고, RSD는 <9%였습니다. Chem Elut S 시료 전처리는 또한 많은 기타 시료와 분석물질 유형에 적용 가능하며, 이에 대한 내용은 다른 애질런트 응용 자료에서 알아보실 수 있습니다.

참고문헌

1. Freeman, H. S. Aromatic Amines: Use in Azo Dye Chemistry. *Front. Biosci. (Landmark Ed.)* **2013**, 18, 145–164.
2. Pielesz, A.; et al. Detection and Determination of Aromatic Amines as Products of Reductive Splitting from Selected Azo Dyes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2002**, 53(1), 42–47.
3. Textiles - Methods for Determination of Certain Aromatic Amines Derived from Azo Colorants - Part 1: Detection of the Use of Certain Azo Colorants Accessible with and Without Extracting the Fibres. EN 14362-1:2012, Feb. **2012**.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 6월 24일, 한국에서 인쇄
5994-0951KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr

 **Agilent**
Trusted Answers