

使用固相支持液液萃取 Chem Elut S 小柱通过 GC/MS 测定偶氮染料中的芳香胺

作者

Derick Lucas
安捷伦科技有限公司

摘要

Agilent Chem Elut S 是一款样品前处理产品，通过使用合成填料进行固相支持液液萃取 (SLE)。本研究使用 Chem Elut S 小柱根据欧盟方法 ISO 14362-1 定量分析偶氮染料中的芳香胺。将含芳香胺的柠檬酸钠/氢氧化钠溶液加载到小柱上，保持 15 分钟，然后用甲基叔丁基醚 (MTBE) 进行洗脱，得到用于 GC/MS 分析的提取物。该方法使用三种不同规格的 SLE 小柱测定浓度为 30 µg/mL 的胺类，均表现出高回收率 (87%–119%) 和出色的重现性 (RSD < 9%)。结果表明，Chem Elut S 是一款适用于测定芳香胺的高性能 SLE 产品。

前言

偶氮染料是工业中使用最广泛的一类染料，占有合成染料的三分之二^[1]。许多常见产品（包括纺织纤维、食品、药品和化妆品）都使用偶氮染料作为着色添加剂。但某些偶氮染料禁止用于纺织制造业，因为其会发生还原性降解生成具有致癌性的芳香胺，对环境造成危害^[2]。

欧盟方法 ISO 14362-1 中概述了定量分析纺织品中相应偶氮染料生成的芳香胺的方法^[3]，其中使用氯苯回流从材料中萃取偶氮染料，然后将其干燥。萃取残余物用柠檬酸钠/氢氧化钠缓冲液和连二亚硫酸钠处理，以将偶氮染料还原成芳香胺。本研究通过将适当的芳香胺加标至空白柠檬酸钠/氢氧化钠溶液中来评估 Chem Elut S 的萃取回收率和重现性。

在传统 SLE 中，将水溶液样品上样到含有硅藻土 (DE) 的吸附剂床层上，水溶液样品将以薄膜形式覆盖到材料表面。然后使用与水不混溶的溶剂通过 SLE 床层，从样品中高效萃取目标分析物，将其洗脱至收集管中用于直接分析，或经过后处理后再进行分析。与传统 LLE 相比，SLE 的这一特性可节省大量时间和人力，并能提高不同操作者之间的重现性。

Chem Elut S 产品使用经优化的合成填料，克服了传统 DE 吸附剂的某些问题。DE 填料形状不规则，填料颗粒间具有明显的差异性并且存在细粉，但 Chem Elut S 填料粒径分布窄，而且无细粉。上述特性有利于获得理想的流动性能和更出色的重现性。此外，Chem Elut S 的样品保持能力优于 DE 吸附剂，可提供高效的样品吸附并降低样品穿透的可能性。使用三种大规格 Chem Elut S 小柱（5 mL，20 cc；10 mL，60 cc 以及 20 mL，60 cc），通过重力上样和洗脱操作，简化了工作流程。

本研究结果证明，使用 Chem Elut S 小柱和 GC/MS (SIM) 检测芳香胺具有高回收率和重现性。

实验部分

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。MTBE 购自 VWR-BDH Chemicals (Radnor, PA, USA)。使用二水合柠檬酸钠 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 配制浓度为 0.06 mol/L 的柠檬酸盐缓冲液。每天配制浓度为 200 mg/mL 的连二亚硫酸钠 (购自 Sigma-Aldrich) 溶液。氢氧化钠 50% 水溶液购自 Sigma-Aldrich。芳香胺纯固体和内标溶液分别购自 Sigma-Aldrich 和 AccuStandard (New Haven, CT, USA)，用于配制储备标样。表 1 列出了目标胺类的保留时间、CAS 号和 GC/MS 离子。

标样和溶液

根据需要，使用水或 DMSO 配制每种胺类的单独储备液，浓度为 10 mg/mL。然后将上述标样添加到用于校准物和样品加标的工作标样中。

样品前处理设备和备件

- Agilent Chem Elut S 5 mL，20 cc (部件号 5610-2009)
- Agilent Chem Elut S 10 mL，60 cc (部件号 5610-2010)
- Agilent Chem Elut S 20 mL，60 cc (部件号 5610-2011)
- 40 mL 和 150 mL 玻璃收集瓶
- Eppendorf 移液管

仪器条件

- Agilent 7890 GC
- Agilent 5977 GC/MSD

Agilent 5977 GC/MSD 参数	
气相色谱柱	Agilent J&W DB-35ms, 30 m × 250 μm × 0.250 μm (部件号 122-3832)
衬管	超高惰性单锥不分流衬管, 带玻璃毛 (部件号 5190-2293)
进样量	1 μL
进样口温度	280 °C
流速	2 mL/min, 恒流模式
柱温箱温度	100 °C, 然后以 10 °C/min 升至 320 °C
辅助温度	320 °C
质谱离子源	250 °C
四极杆温度	180 °C
MS 模式	SIM (离子见表 1)

表 1. 目标胺类和内标, 保留时间、SIM 参数和回收率要求^[3]

分析物	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 1 (m/z)	定性离子 2 (m/z)	%回收率要求 ^[3]
邻甲苯胺	95-53-4	2.783	106	107	89	> 50
4-氯苯胺	106-47-8	4.511	127	129	100	> 70
2,4,5-三甲基苯胺	137-17-7	4.872	120	135	134	> 70
对甲酚定	120-71-8	5.224	122	137	94	未规定
3-氯-邻甲苯胺	87-60-5	5.585	141	106	140	> 70
4-氯-邻甲苯胺	95-69-2	5.700	141	106	140	> 70
2,4-二氨基甲苯	95-80-7	7.271	121	122	94	> 50
3-硝基-对甲苯胺	119-32-4	9.268	152	107	135	> 70
2-萘胺	91-59-8	9.326	143	115	116	> 70
2-氨基联苯	90-41-5	9.427	169	168	167	> 70
4-氨基联苯	92-67-1	11.591	169	168	170	> 70
葱-d ₁₀	1719-06-8	11.784	188	184	189	内标
对氨基偶氮苯	60-09-3	15.200	197	92	120	> 70
4,4'-二氨基二苯醚	101-80-4	15.836	200	171	108	未规定
4,4'-二氨基二苯甲烷	101-77-9	15.937	198	197	106	> 70
联苯胺	92-87-5	16.012	184	185	92	> 70
3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	838-88-0	17.363	226	211	120	未规定
3,3'-二甲基联苯胺	119-93-7	17.623	212	213	106	未规定
4,4'-二氨基二苯硫醚	139-65-1	18.520	216	184	215	> 70
4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺)	101-14-4	18.856	231	266	195	未规定
3,3'-二甲氧基联苯胺	119-90-4	18.973	244	201	229	未规定

样品前处理

样品前处理步骤：ISO 14362-1 中遵循 E.4.6. 检查方案以测定芳香胺的 SLE 萃取效率^[3]。溶液用 0.06 mol/L 柠檬酸钠溶液配制，利用氢氧化钠将 pH 调节至 6。然后使用芳香胺以 30 µg/mL 的浓度对样品加标，充分混合，再进行 SLE 萃取。加入胺类后，溶液呈亮橙色/黄色。

SLE 程序

1. 为 Chem Elut S 小柱配置好收集管/瓶
2. 将样品转移到小柱上，在重力下上样（体积参见表 2）
3. 将样品在填料中保持 15 分钟
4. 采用甲基叔丁基醚进行重力洗脱（体积参见表 2）
5. 将洗脱液混合，等分加入自动进样器样品瓶中进行 GC/MS SIM 分析

回收率与重现性评估

对芳香胺的 Chem Elut S 方案进行了回收率和重现性测试。如 EN 方法所述，在 30 µg/mL 下对每个小柱进行三次重复测定^[3]。同位素标记的内标 (IS) 葱-d₁₀ 的加标浓度为 30 µg/mL 以确保准确的体积校正。考虑到 4 倍稀释（如 SLE 程序所示），用 MTBE 配制浓度为 7.5 µg/mL 的校准物。

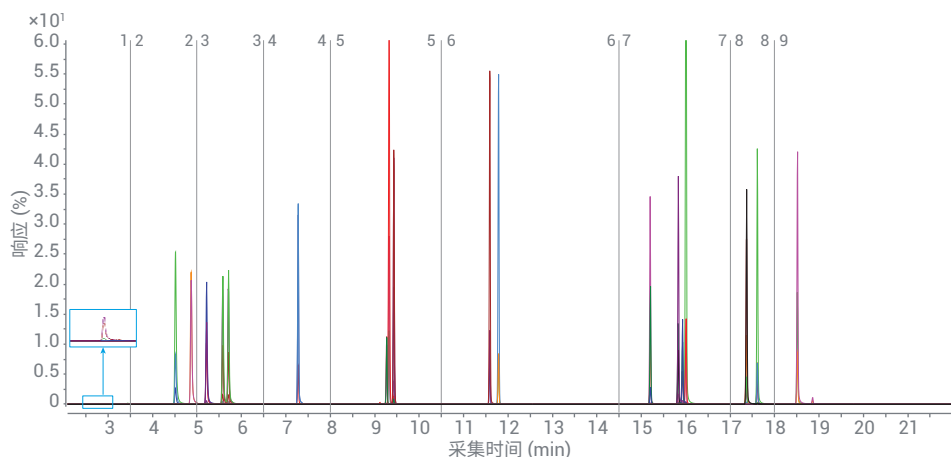


图 1. 20 种芳香胺和内标（浓度为 7.5 µg/mL）的 GC/MS SIM 叠加色谱图

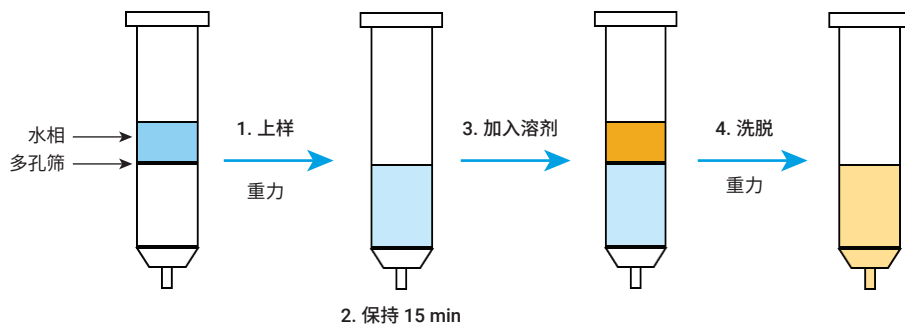


图 2. Agilent Chem Elut S 常规工作流程图。步骤如下：1) 通过重力上样；2) 将样品保持在 SLE 填料中 15 分钟；3) 加入与水不混溶的溶剂以萃取分析物；4) 通过重力洗脱有机溶剂

表 2. 用于芳香胺 SLE 萃取的小柱载样和洗脱体积

小柱	部件号	载样体积 (mL)	洗脱体积 (mL)
5 mL, 20 cc	5610-2009	5	20
10 mL, 60 cc	5610-2010	10	40
20 mL, 60 cc	5610-2011	20	80

结果与讨论

回收率与重现性结果

本研究获得了出色的结果，如表 3 所示。对于测试的所有三种规格的 Chem Elut S，回收率均在 87%–119%，RSD < 9%。将 SLE 保持时间延长至 15 分钟，对氨基偶氮苯、4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺) 和 3,3'-二甲氧基联苯胺的回收率提高了 29%–38% (图 3)。合成填料和基于 DE 的 SLE 管获得的结果均证明了上述回收率提升结论。所有大规格柱都表现出了优异的性能，尤其是 10 mL, 60 cc 管表现出了出色的重现性。

采用 Chem Elut S 进行样品前处理

Chem Elut S 管筒便易用、操作快速，对于芳香胺可实现高分析物回收率和精密度。合成填料经过严格制造，可实现高样品保持能力、均匀的装填特性、一致的批次间重现性以及最佳流动性能。Chem Elut S 5 mL, 20 cc、10 mL, 60 cc 和 20 mL, 60 cc 小柱经过精心设计，可实现重力上样和洗脱，操作非常简单。15 分钟的保持时间使本应用得以确保所有分析物均具有出色的回收率。在直接比较中，Chem Elut S 的性能特征与基于 DE 的吸附剂一致。这些特性确保了产品的筒便易用性和基质去除（即盐）能力，从而获得出色的数据质量。

表 3. 使用 Agilent Chem Elut S 获得的致癌性芳香胺的回收率和重现性

分析物	Chem Elut S 规格					
	5 mL, 20 cc		10 mL, 60 cc		20 mL, 60 cc	
	%回收率	%RSD	%回收率	%RSD	%回收率	%RSD
邻甲苯胺	96.8	5.7	91.9	2.4	91.3	4.5
4-氯苯胺	98.6	3.7	91.3	0.7	92.2	4.7
2,4,5-三甲基苯胺	98.8	3.9	92.2	0.8	93.8	4.3
对甲酚定	96.9	4.3	90.6	0.8	91.3	3.9
3-氯-邻甲苯胺	97.8	3.7	91.0	1.0	92.3	4.4
4-氯-邻甲苯胺	96.4	3.9	89.8	0.6	90.7	4.7
2,4-二氨基甲苯	96.7	4.4	90.7	0.7	90.6	4.2
3-硝基-对甲苯胺	99.8	4.7	95.0	0.8	94.9	5.0
2-萘胺	97.8	4.3	91.7	0.8	93.0	5.1
2-氨基联苯	96.4	3.4	90.7	0.6	92.8	4.4
4-氨基联苯	97.9	4.3	93.5	0.6	94.1	4.5
对氨基偶氮苯	98.9	6.2	96.2	0.5	95.3	4.1
4,4'-二氨基二苯醚	112.9	6.5	109.5	0.8	107.7	5.8
4,4'-二氨基二苯甲烷	99.5	6.1	95.3	0.6	95.0	5.5
联苯胺	116.4	5.6	110.4	1.3	111.7	6.1
3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	119.6	2.4	114.0	0.5	113.1	5.3
3,3'-二甲基联苯胺	103.4	5.4	96.8	0.4	96.8	5.7
4,4'-二氨基二苯硫醚	107.4	5.9	101.9	1.0	99.7	5.9
4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺)	107.2	5.8	101.6	1.0	99.6	5.7
3,3'-二甲氧基联苯胺	91.6	6.1	91.5	8.2	87.1	5.8

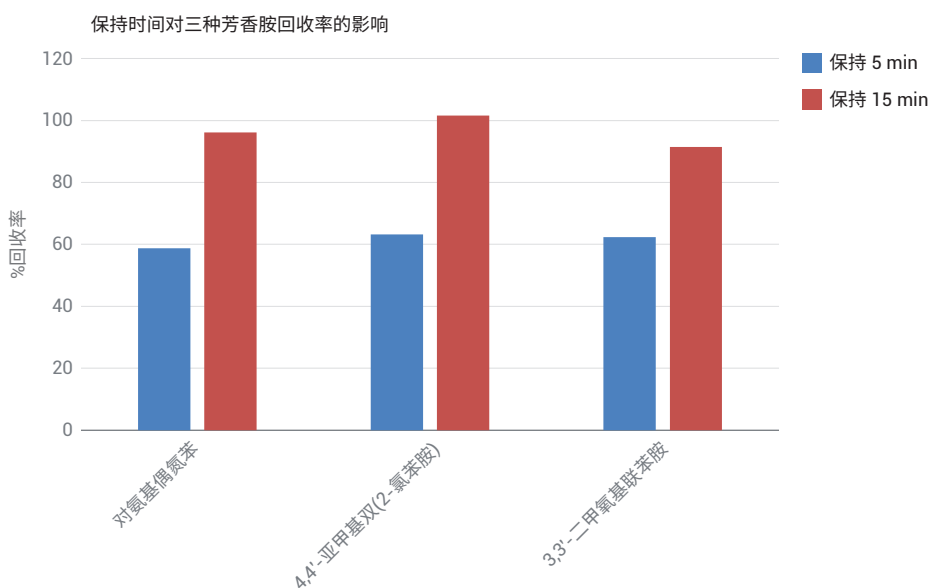


图 3. 实验展示了保持时间对三种芳香胺回收率的影响。采用 Agilent Chem Elut S 10 mL, 60 cc 管萃取含有 30 µg/mL 胺类的样品 (n = 3)

结论

Agilent Chem Elut S 采用合成填料，这些填料经过精心设计，具有出色的一致性和高水溶液样品保持能力。在本研究中，对于 ISO 14362-1 中规定的偶氮染料所降解生成的芳香胺，Chem Elut S 实现了高回收率和重现性。所测试的所有三种大规格 Chem Elut S 小柱均表现出优异的性能，所有 20 种芳香胺的回收率均为 87%–119%，RSD < 9%。Chem Elut S 样品前处理还适用于许多其他样品和分析物类型，在其他安捷伦应用简报中有相应介绍。

参考文献

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**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019
2019 年 6 月 24 日，中国出版
5994-0951ZHCN