

快速测定水体中41种初级芳香胺化合物

Rapid Determination of 41 Primary Aromatic Amines in Water

孙小杰¹, 李立军¹, 郭立海¹

Sun Xiaojie¹, Li Lijun¹, Guo Lihai¹

SCIEX China

Keywords : Water, Primary Aromatic Amines, Aniline, LC-MS/MS

引言

初级芳香胺是一类化合物，其中最简单的形式是苯胺。大部分初级芳香胺都不会威胁人类的健康，但某些物质却是已知的人类致癌物。

苯胺类化合物为芳香胺的代表，系指苯胺分子中的氢原子被其它功能团取代后形成的一类化合物。苯胺是染料工业的重要原料，广泛应用于印染、橡胶、制药、油漆和人造树脂等工业生产中。环境中所含的苯胺类化合物主要来自制药工业和染料工业的废水、含有硝基苯的矿酸性废水在有锌粉和铜盐存在下作用后的废水、有色金属选矿厂废水等。苯胺对人体具有毒性作用，仅少量就能引起中毒。它主要通过皮肤、呼吸道和消化道进入人体内，不仅能使氧合血红蛋白变为高铁血红蛋白从而降低血液的载氧能力，使组织细胞缺氧而窒息，造成中枢神经系统、心血管系统和其它脏器损害，而且苯胺类化合物还具有致癌作用。因此，在对环境中对苯胺类化合物应严格控制排放。

近年来，对水样中的苯胺类物质的测定方法的研究越来越多，其方法日臻成熟，由最初的光度法、色谱法，研究延伸至各种方法，如荧光法、电化学法、毛细管电泳法等也广泛用于苯胺类化合物的测定，他们都有着各自的优势和不足，并在不断地改进与发展中。对于大气样品的苯胺类检测已有相关参照标准，主要方法是比色法、电化学法和色谱法，其中研究和使用的是气相色谱法。本文采用液相色谱串联四极杆质谱，对水中多种初级芳香胺类物质进行了研究分析，提供了完整的解决方案。

该方案的特点和优势

1. 方法覆盖面广，一次进样完成41种芳香胺化合物的检测，分析时间仅为12分钟，大大提高了分析通量；
2. 本方法能同时对多对同分异构体初级芳香胺进行分离，大大缩

短了方法开发的时间；

3. 方法提供了多种化合物的质谱条件，液相条件，可以提高工作效率；
4. 样品前处理简单，水样（饮用水和地表水）直接过滤进样，无需富集，简单，快速，省时；



SCIEX ExionLC™液相和Triple Quad™ 4500质谱系统

1 实验方法

1.1 液相色谱条件

色谱柱：Phenomenex Kinetex 2.6 μ m F5 100 Å 100 3 mm

流动相：水相（水中含有0.05%甲酸），有机相为甲醇，流速为0.45 mL/min梯度洗脱

Time (min)	A (%)	B (%)
0	90	10
5	10	60
7	5	95
8	5	95
8.1	90	10
12	90	10

1.2 质谱条件

扫描模式：Schedule MRM，MRM离子对见表1

离子源：ESI源；离子源参数：

Source Parameters

Curtain Gas(CUR)	30psi
Collision Gas(CAD)	9psi
IonSpray Voltage(IS)	2000v
Temperature(TEM)	600° C
Ion Source Gas(GS1)	65psi
Ion Source Gas(GS2)	60psi

1.3 样品前处理过程

饮用水和地表水直接过滤上机分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

首先考虑进行所有化合物色谱峰型以及保留时间的优化。从实验中得知，起始流动相的比例以及PH值的变化，都会对分离以及灵敏度产生很大的影响。所以本实验重点研究了甲醇和乙腈的选择，初始流动相比例的选择，色谱柱的选择以及甲酸添加浓度的选择。在详细讨论甲酸含量的选择上，我们通过添加不同浓度的甲酸浓度，进行灵敏度的对比，在甲酸浓度为0.0%，0.01%，0.05%，0.1%以及0.2%的优化选择中，发现浓度为0.05%时，所有化合物的相应都是最佳，最终固定了水中甲酸浓度的添加水平为0.05%。

同时，在选择甲醇或乙腈作为洗脱相时，进行了详细的对比，通过灵敏度实验，发现在甲醇体系里，所有化合物灵敏度均优于在乙腈的体系中，故而选择甲醇作为洗脱相。流动相起始比例的变化，对极性较强的化合物灵敏度有非常大的影响，所以在兼顾化合物分离以及灵敏度的同时，进行了梯度起始比例的优化。通过优化发现，当甲醇含量越来越高时，大部分化合物的灵敏度都得到了很大的提高，同时也发现，部分同分异构体不能完全分离，最终在兼顾灵敏度以及分离度的前提下，选择了10%的甲醇作为梯度分离的起始比例。本实验中，化合物数量偏多，极性分布比较宽，为了保证每个化合物都有良好的保留行为以及峰型，又要提高分离效率，故对部分色谱柱进行优化选择。通过对比发现，在Phenomenex Omega; Phenomenex F5; Waters HSS T3中，Phenomenex F5能够提供更好的分离效果，对同分异构体有比

较好的分离，所以最终选择了Phenomenex F5作为本实验的分离色谱柱，如图1。

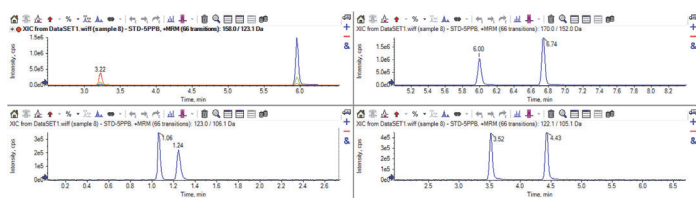


图1. Kinetex F5色谱柱上部分同分异构体的分离色谱图。

2.2 质谱条件的优化

本实验在SCIEX Triple Quad™ 4500系统上进行，选择了电喷雾电离源。每个化合物都严格根据欧盟的要求，选择两个子离子进行定量定性分析。每个化合物的优化参数详见表格1。数据采集使用了Analyst® 1.6.3软件，数据处理以及定性分析使用MultiQuant™ 3.0.2软件。

为了获得最佳的灵敏度，本实验对离子源参数部分进行了详细的优化，在进行离子源喷雾电压优化时发现，当电压越来越小时，灵敏度反而越来越强，所以进行了离子源喷雾电压的优化。最终发现，当电压设定为2000 v时，所有化合物的灵敏度都是最佳，如图2。

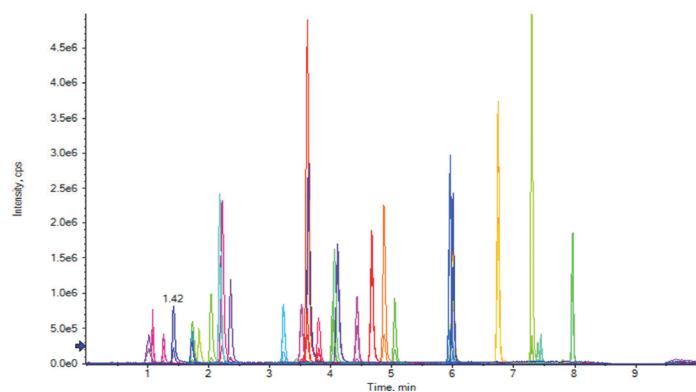


图2. 41种初级芳香胺提取离子流图。

2.3 实际样本的检测

2.3.1 方法学验证结果

回收率实验，初级芳香胺化合物的平均回收率为85%，另外有2种化合物的平均回收率在60-85%之间。

重现性实验，通过在实际空白样品中添加0.1 ng/mL, 5 ng/mL,

20 ng/mL的标准品, 每种化合物的重现性 (RSD%) 都在2.31%到7.9%范围内。在不同时间下, 测得所有化合物的日间重现性都在2.6%到8.11%范围内。

线性实验, 在浓度0.08-50 ng/mL范围内进行实验, 每种物质均有良好的线性关系, 相关系数均在0.992-0.999范围内, 如图3。

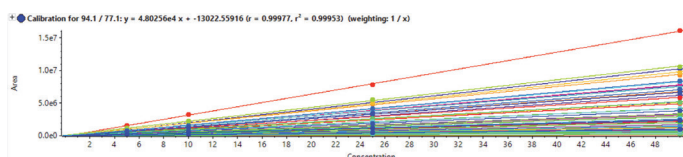


图3. 41种初级芳香胺在0.08 ng/ml-50 ng/ml内具有良好的线性关系。

2.3.2 实际水样测定结果

通过对某地区的地表水进行测定, 均没有发现41种初级芳香胺类化合物, 说明目前该地区还没有受到此类化合物的污染, 日后将进一步扩大采样范围, 对地表水源进行此类化合物的筛查分析研究。

3 小结

本文建立了快速针对水体中 (地表水以及自来水等水源) 41种初级芳香胺的检测方法。

此方法涵盖种类全, 分析时间短, 并且能够很好的对多对同分异构体进行分离。在对相对比较干净的水源进行分析时, 无需进行复杂的前处理分析, 直接进样测定, 同时具有非常优异的定量限及其检出限, 为水体中初级芳香胺的筛查定量分析提供了很好的解决方案。

表1. List of analytes with MRM transitions.

化合物	Q1	Q3	LOD ng/ml	LOQ ng/ml
Aniline 苯胺	94.1	77/51	0.08	0.2
o-Toluidine 邻甲苯胺	108	91.1/93	0.05	0.1
p-Toluidine 对甲苯胺	108	91/65	0.05	0.1
M-phenylenediamine 间苯二胺	109	92/65	0.05	0.1
o-Phenylenediamine 邻苯二胺	109	92/65	0.08	0.2
4-Nitroaniline 4-硝基苯胺	139	122/92	0.08	0.2
3-Nitroaniline 3-硝基苯胺	139	93/76	0.08	0.2
2-Nitroaniline 2-硝基苯胺	139	121/91	0.08	0.2
2,6-Diethylaniline 2,6-二乙基苯胺	150	105/91	0.05	0.1
2-Methyl-6-ethylaniline 2-甲基-6乙基苯胺	136	91/117	0.08	0.2
2,4-dimethylaniline 2,4-二甲基苯胺	122	77.1/105.1	0.01	0.04
2,6-dimethylaniline 2,6-二甲基苯胺	122	77.1/105.1	0.04	0.09
2,4-diaminotoluene 2,4-二氨基甲苯	123.1	106.1/77.1	0.05	0.1
2,6-diaminotoluene 2,6-二氨基甲苯	123.1	106.1/77.1	0.05	0.1
o-Anisidine 邻茴香胺	124.1	109.1/65	0.01	0.05
4-chloroaniline 4-氯苯胺	128.1	93.1/75	0.01	0.05
3-Chloroaniline 3-氯苯胺	128.1	93.1/111	0.15	0.3
2,4,5-trimethylaniline 2,4,5-三甲基苯胺	136	91.1/121.1	0.05	0.2
P-cresidine 对甲酚	138	123.1/78	0.01	0.05

表1. List of analytes with MRM transitions. (续)

化合物	Q1	Q3	LOD ng/ml	LOQ ng/ml
4-methoxy-1,3'-phenylenediamine 4-甲氧基-1,3-苯二胺	139	124.1/108.1	0.05	0.1
2-naphthylamine 2-萘胺	144	127/77.1	0.01	0.05
4-aminobiphenyl 4-氨基联苯	170	152/153.1	0.05	0.2
2-aminobiphenyl 2-氨基联苯	170	152/153.1	0.05	0.2
4,4-diaminobiphenyl 4,4-二氨基联苯	185	168.1/167	0.01	0.05
4-aminoazobenzene 4-氨基偶氮苯	198	77.1/105.1	0.01	0.05
Bis-(4-aminophenyl)methane 双(4-氨基苯基)甲烷	199	106.1/77	0.02	0.06
4,4'-oxydianiline 4,4'-氧二苯胺	201	108.1/184	0.01	0.05
3,3'-dimethylbenzidine 3,3-二甲基联苯胺	213	180/196.1	0.05	0.2
4,4'-diaminodiphenylsulfide 4,4-二氨基二苯硫醚	217	124/200	0.05	0.2
o-Aminoazotoluene 邻氨基偶氮甲苯	226	91/121.1	0.01	0.05
4,4'-diamino-3,3'-dimethylphenylmethane 4,4-二氨基-3,3-二甲基苯甲烷	227	120.1	0.01	0.05
3,3'-dimethoxybenzidine 3,3-二甲氧基联苯胺	245.1	230.1/187.1	0.1	0.3
3,3'-dichlorobenzidine 3,3-二氯联苯胺	253.1	217.1/182.1	0.05	0.2
4,4'-methylene-bis(2-chlorozniline) 4,4-亚甲基双(2-氯苯胺)	267	231.1/140.1	0.01	0.05
3-amino-4-methylbenzamide 3-氨基-4-甲基苯甲酰胺	151	108.1/93	0.01	0.05
3-chloro-4-methoxyaniline 3-氯-4-甲氧基苯胺	158	123.1/80.1	0.05	0.2
5-chloro-2-methoxyaniline 5-氯-2-甲氧基苯胺	158	143/108.1	0.01	0.05
1,5-diaminonaphthalene 1,5-二氨基萘	159	115.1/143.1	0.1	0.3
4-chloro-2,5-dimethoxyaniline 4-氯-2,5-二甲氧基苯胺	188	173.1/130	0.01	0.05
3-amino-p-anisanilide 3-氨基对茴香内脂	243	212.1/227	0.1	0.3
2-methoxy-4-nitroaniline 2-甲氧基-4-硝基苯胺	169	152/122.1	0.01	0.05

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2019. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte.

Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-10038-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

网址：www.sciex.com.cn

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

微博：@SCIEX