

三重四极杆液质联用法用于药用复合膜、袋（含铝箔类）中芳香伯胺的测定

LCMSMS-710

摘要： 本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪建立了测定药用复合膜、袋（含铝箔类）中 34 种芳香族伯胺的液质方法，16 min 内完成 34 种芳香族伯胺的分析。该方法采用外标法定量，相关系数均在 0.999 以上；各化合物保留时间和峰面积的相对标准偏差均小于 0.21% 和 5.00%，甲醇提取加标回收率在 73.5~114.8% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好、准确度高的特点，可用于药用复合膜、袋（含铝箔类）中芳香族伯胺的测定。

关键词： 芳香族伯胺 三重四极杆串联质谱 药用复合膜

芳香族伯胺是一类典型的有毒有害物质，常用于生产某些着色剂，可通过皮肤、胃肠道和呼吸道进入人体，导致机体细胞的功能和结构发生变化，严重者可引发人体输尿管癌、肾癌、膀胱癌等恶性疾病。

其超标的主要原因为：一、是原料中使用了某些含有偶氮染料组分的色粉等物质，在一定条件下分解形成各种芳香胺物质，特别在深色制品中较容易出现；二、是原料生产过程中使用了一些含有芳香胺基团的物质或助剂，在受热等条件下可能释放出芳香胺；此外，加工过程中使用的某些交联剂和促进剂等在一定条件下也可释放出芳香胺物质。

2011 年欧盟修订的塑料法规 EU 10/2011 要求，单个芳香族伯胺量和总量应为不得检出，检测限为 0.01 mg/kg（食品或食品模拟物中）。最新国标 GB 31604.52-2021《食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定》规定单个芳香伯胺的检测低限为 1.0 µg/kg。

作为直接与药品接触的药用复合膜、袋（含铝箔类）中的芳香族伯胺的检测同样意义重大。本文建立了药品包装材料中 34 种芳香族伯胺的测定方法，供相关行业人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

输 液 泵 : LC-30AD×2
脱 气 机 : DGU-20A_{SR}
自动进样器 : SIL-30AC
柱 温 箱 : CTO-20A

系统控制器 : CBM-20A
质 谱 仪 : LCMS-8060 三重四极杆质谱仪
色谱工作站 : LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱 : UPLC-HSS T3 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 µm)
流 动 相 : A 相 -0.1% 甲酸水, B 相 - 乙腈
流 速 : 0.4 mL/min
柱 温 : 40°C
进 样 体 积 : 3 µL
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始比例为 5%, 梯度程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.0	Pumps	Pump B Conc.	5
4.0	Pumps	Pump B Conc.	40
10.0	Pumps	Pump B Conc.	95
13.5	Pumps	Pump B Conc.	95
13.6	Pumps	Pump B Conc.	5
16.0	Pumps	Pump B Conc.	5
16.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI (+)	碰撞气 : 氦气
加热气 : 空气 10.0 L/min	接口温度 : 300°C
雾化气 : 氮气 3.0 L/min	D L 温度 : 250°C
干燥气 : 氮气 10.0 L/min	加热模块温度 : 400°C
接口电压 : 4 kV	扫描模式 : MRM (表 2)

表 2 MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
1	对苯二胺	106-50-3	109.2	65.1*	-13	-24	-11
				92.1	-14	-20	-18
2	间苯二胺	108-45-2	109.2	65.1*	-10	-24	-24
				92.1	-13	-19	-16
3	2,4- 二氨基甲苯	95-80-7	123.2	77.1*	-11	-29	-14
				106.1	-10	-19	-11
4	4,4'- 二氨基二苯醚	101-80-4	201.2	108.1*	-10	-22	-22
				80.0	-15	-35	-15
5	2,6- 二氨基甲苯	823-40-5	123.2	77.1*	-11	-29	-29
				106.1	-11	-22	-20
6	联苯胺	92-87-5	185.2	167.1*	-14	-27	-17
				168.1	-14	-21	-17
7	4,4'- 二氨基二苯甲烷	101-77-9	199.2	106.0*	-15	-25	-10
				77.0	-15	-54	-15
8	苯胺	63-53-3	94.0	77.1*	-19	-23	-14
				51.0	-11	-32	-20
9	1, 5- 二氨基萘	2243-62-1	159.0	115.1*	-12	-34	-20
				143.1	-13	-24	-27

10	对甲氧基苯胺	104-94-9	124.1	92.1* 109.1	-15 -26	-25 -22	-21 -19
11	邻甲氧基苯胺	90-04-0	124.1	109.1* 92.1	-26 -15	-22 -25	-19 -21
12	邻甲苯胺	95-53-4	108.2	91.1* 65.1	-10 -10	-22 -28	-17 -24
13	3,3'-二甲氧基联苯胺	119-90-4	245.2	230.1* 213.2	-11 -10	-19 -20	-24 -14
14	3,3'-二甲基联苯胺	119-93-7	213.2	180.1* 196.1	-17 -18	-35 -20	-19 -20
15	2,4-二氨基苯甲醚	615-05-4	139.1	124.1* 108.1	-11 -11	-17 -19	-12 -20
16	3-氨基对甲苯甲醚	120-71-8	138.2	123.1* 77.1	-12 -12	-21 -35	-22 -28
17	2,6-二甲基苯胺	87-62-7	122.2	77.05* 107.1	-10 -10	-28 -22	-14 -21
18	3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	838-88-0	227.2	120.1* 178.1	-19 -11	-25 -27	-12 -18
19	2,4'-二氨基二苯甲烷	1208-52-2	199.2	106.0* 77.0	-15 -15	-25 -54	-10 -15
20	对氯苯胺	106-47-8	128.1	93.1* 111.1	-11 -10	-22 -17	-16 -16
21	2,4-二甲基苯胺	95-68-1	122.2	77.1* 107.1	-10 -10	-31 -22	-14 -21
22	2,4,5-三甲基苯胺	137-17-7	136.2	91.1* 121.15	-11 -11	-24 -21	-17 -26
23	4,4'-二氨基二苯硫醚	139-65-1	217.1	124.05* 80.05	-17 -18	-23 -48	-24 -29
24	2-萘胺	91-59-8	143.8	127.1* 117.1	-12 -13	-26 -22	-24 -12
25	2,4,6-三甲基苯胺	88-05-1	136.2	91.1* 121.15	-11 -11	-24 -21	-17 -26
26	1-萘胺	134-32-7	143.8	127.1* 117.1	-12 -13	-26 -22	-24 -12
27	2,2'-二氨基二苯甲烷	6582-52-1	199.2	106.0* 77.0	-15 -15	-25 -54	-10 -15

28	4- 氯邻甲苯胺	95-69-2	142.1	107.1*	-12	-20	-20
				125.0	-11	-25	-22
29	2- 氨基 -4- 硝基甲苯	99-55-8	153.1	107.0*	-13	-17	-19
				90.2	-11	-21	-18
30	4- 氨基联苯	92-67-1	170.1	152.1*	-12	-30	-22
				153.1	-12	-30	-22
31	3,3'- 二氯联苯胺	91-94-1	253.1	217.1*	-12	-22	-23
				182.1	-12	-28	-18
32	对氨基偶氮苯	60-09-3	198.0	77.1*	-15	-23	-14
				93.2	-15	-23	-20
33	4,4'- 次甲基 - 双 - (2- 氯苯胺)	101-14-4	267.1	140.0*	-18	-25	-23
				195.05	-12	-32	-13
34	邻氨基偶氮甲苯	97-56-3	226.2	91.1*	-11	-23	-17
				121.1	-11	-23	-20

* 表示定量离子

1.3 标准品

各物质标准品：购于上海安谱，于 -20°C 冰箱保存，备用。

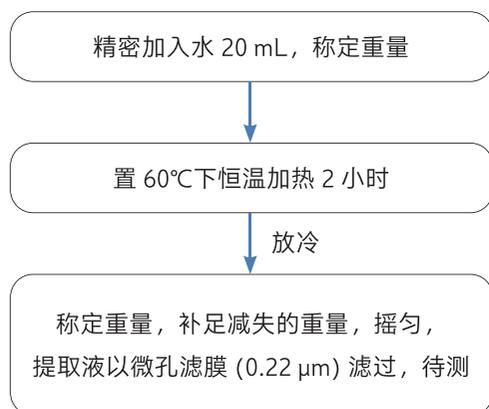
1.4 标准曲线溶液的制备

分别取芳香胺各对照品适量，置于棕色瓶中，用乙腈溶解并稀释成浓度约 10 µg/mL 的混合母液（置于 4°C 以下保存），取混合标准储备液用 5% 乙腈水稀释，配制成浓度为 1、2、5、10、20、50、80、100 µg/L 八个浓度的混合标准溶液，现用现配。

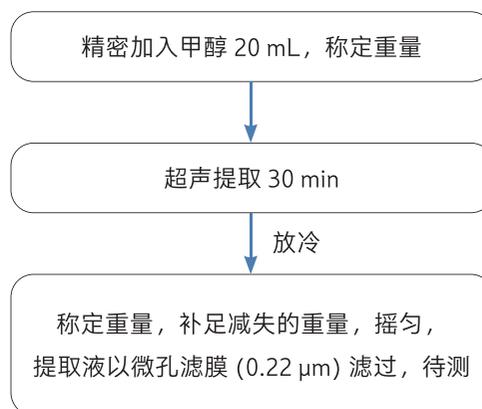
1.5 样品前处理

取复合膜样品 100 cm²，裁成 2.5 cm×0.2 cm 的细条状至 250 mL 具塞锥形瓶中，分别用水提法和纯提法进行提取处理后上机检测。

水提取：

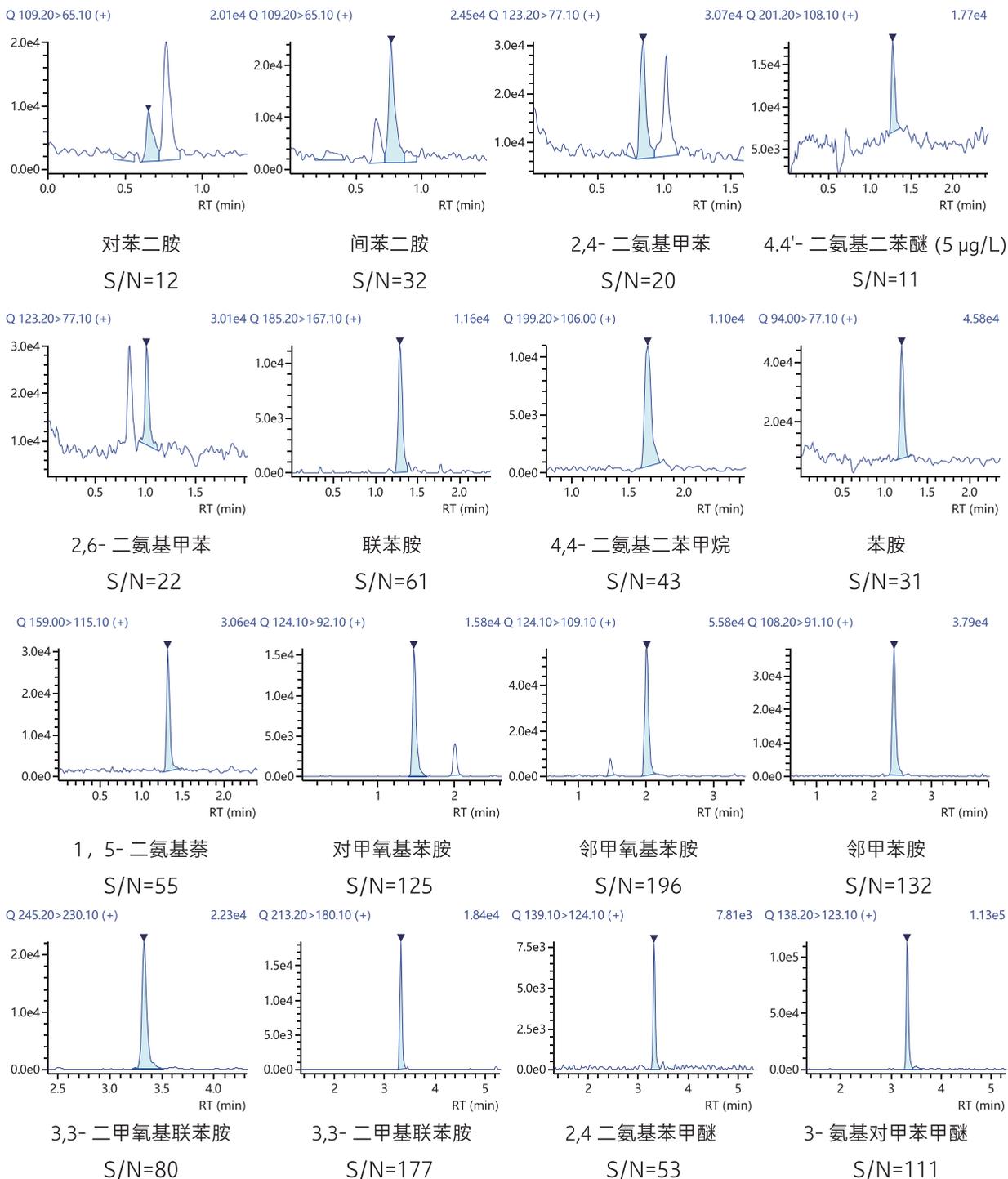


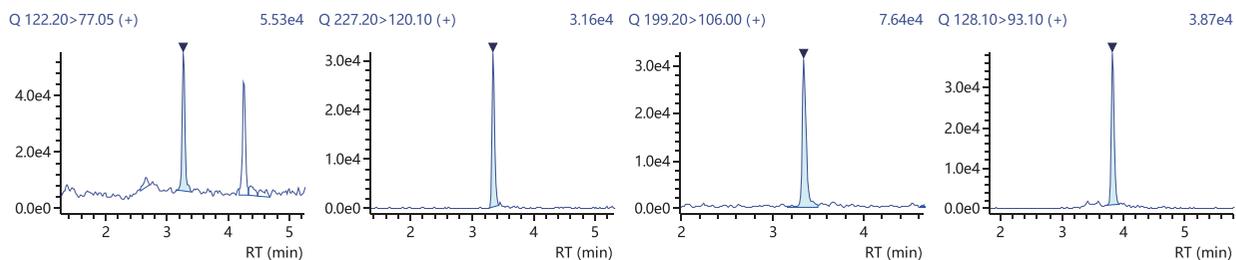
甲醇提取：



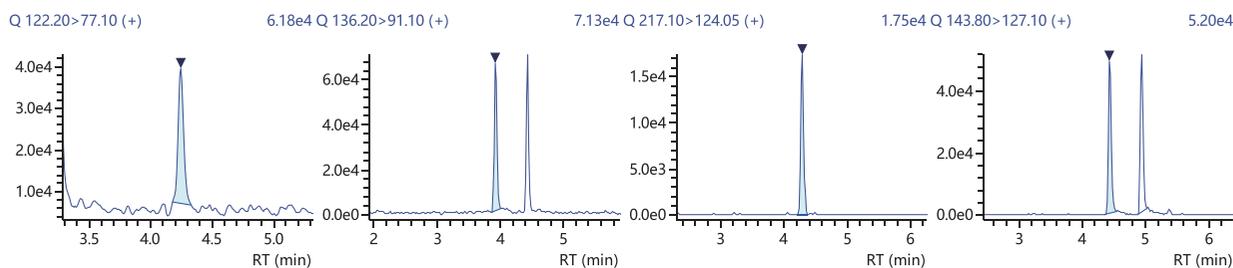
■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

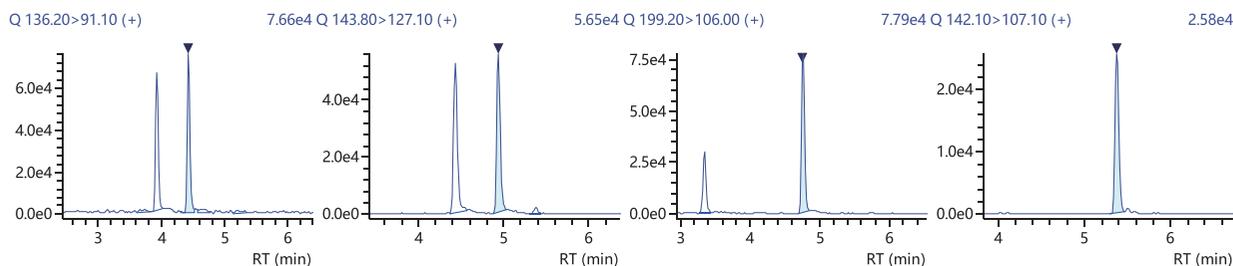




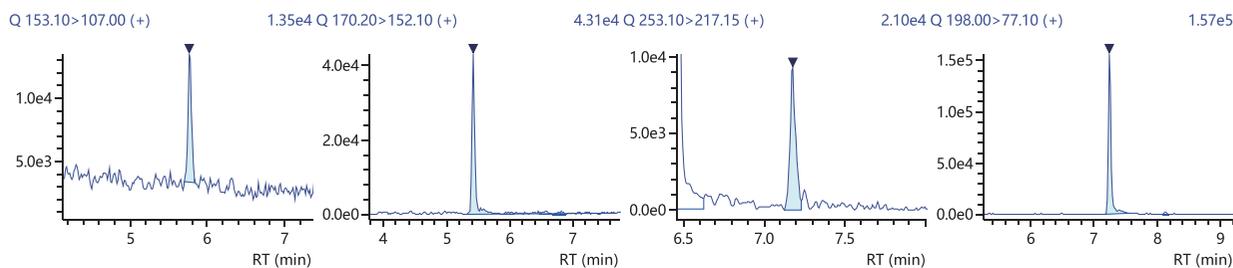
2,6- 二甲基苯胺 S/N=48 3,3- 二甲基 -4,4- 二氨基二苯甲烷 S/N=79 2,4- 二氨基二苯甲烷 S/N=107 对氯苯胺 S/N=100



2,4- 二甲基苯胺 S/N=14 2,4,5- 三甲基苯胺 S/N=30 4,4- 二氨基二苯硫醚 S/N=105 b- 萘胺 S/N=141



2,4,6- 三甲基苯胺 S/N=141 a- 萘胺 S/N=225 2,2- 二氨基二苯甲烷 S/N=107 4- 氯邻甲苯胺 S/N=111



2- 氨基 -4- 硝基甲苯 (5 µg/L) S/N=16 4- 氨基联苯 S/N=149 3,3- 二氨基二苯甲烷 S/N=37 对氨基偶氮苯 S/N=133

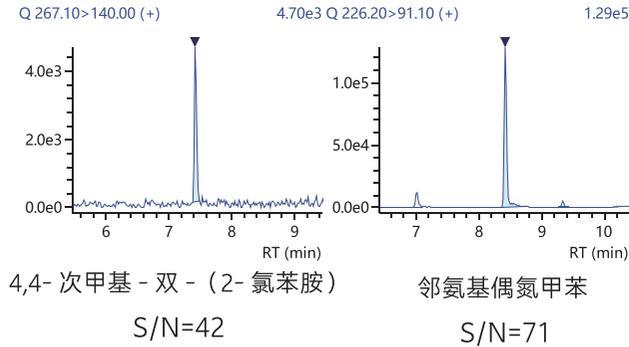


图 1 34 种芳香族伯胺标准品 MRM 色谱图 (1 µg/L)

2.2 线性

将不同浓度的混合标准溶液进行稀释后，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度 (C) 为横坐标，峰面积 (A) 为纵坐标，权重 1/C。采用外标法建立校准曲线，部分校准曲线如图 2 所示。34 种芳香胺上机浓度在 1-100 µg/L (部分 5-100 µg/L) 浓度范围内，均具有较好的线性关系，线性相关系数均 > 0.999，具体结果见表 3。

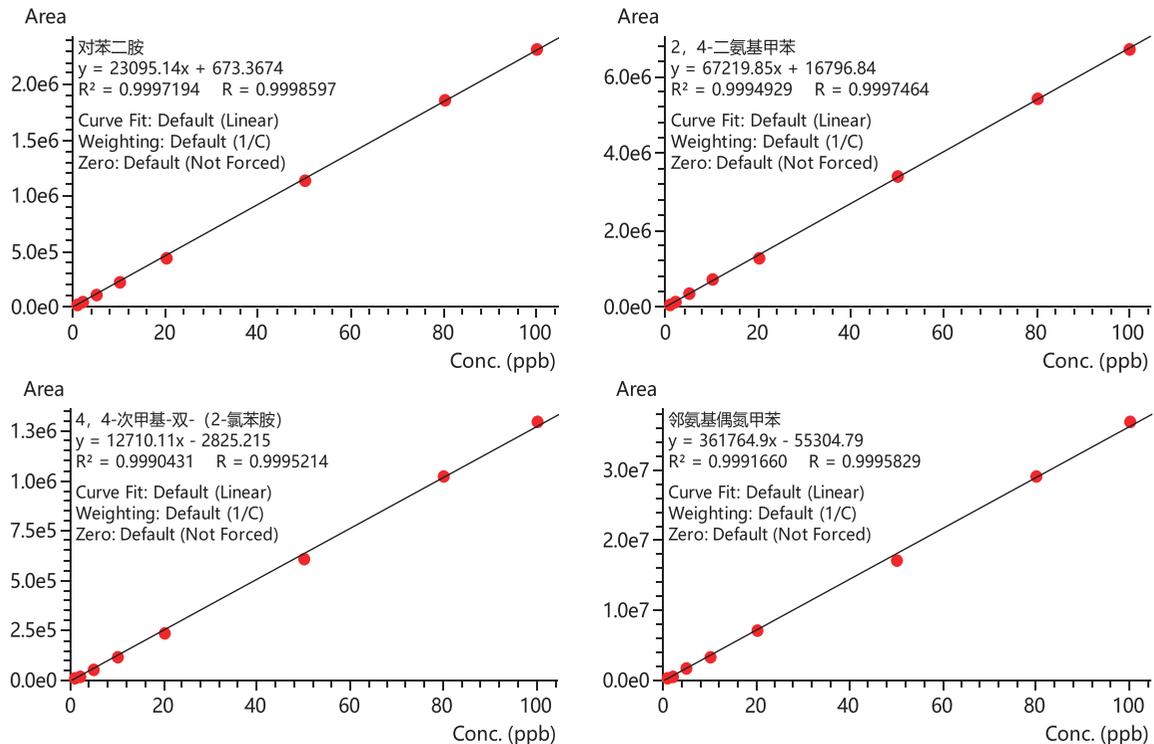


图 2 部分芳香族伯胺校准曲线图

表 3 34 种芳香族伯胺线性关系

序号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (µg/L)	相关系数 r	准确度 %	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	对苯二胺	Y = (23095.1)X + (673.367)	1~100	0.9998	95.1~108.6	0.29	0.86

2	间苯二胺	$Y = (63088.0)X + (18641.2)$	1~100	0.9999	96.2~107.6	0.29	0.87
3	2, 4- 二氨基甲苯	$Y = (67219.9)X + (16796.8)$	1~100	0.9997	95.5~106.8	0.15	0.46
4	4, 4- 二氨基二甲醚	$Y = (8613.10)X + (-9952.15)$	5~100	0.9997	92.8~105.4	1.46	4.41
5	2, 6- 二氨基甲苯	$Y = (56738.6)X + (860.328)$	1~100	0.9999	92.6~105.3	0.16	0.49
6	联苯胺	$Y = (41104.6)X + (1296.55)$	1~100	0.9998	93.25~104.22	0.05	0.16
7	4, 4- 二氨基二苯甲烷	$Y = (48569.1)X + (-3525.52)$	1~100	0.9998	95.9~104.7	0.08	0.24
8	苯胺	$Y = (121552)X + (7975.24)$	1~100	0.9999	92.6~104.6	0.22	0.66
9	1, 5- 萘二胺	$Y = (77117.7)X + (16055.3)$	1~100	0.9999	96.1~105.8	0.10	0.29
10	对甲氧基苯胺	$Y = (50982.9)X + (4625.21)$	1~100	0.9998	94.8~101.3	0.03	0.08
11	邻甲氧基苯胺	$Y = (220998)X + (-10007.9)$	1~100	0.9997	93.4~105.2	0.02	0.06
12	邻甲苯胺	$Y = (147941)X + (12569.3)$	1~100	0.9994	96.5~103.9	0.03	0.08
13	3, 3- 二甲氧基联苯胺	$Y = (55951.8)X + (27159.1)$	1~100	0.9996	84.3~108.0	0.03	0.10
14	3, 3- 二甲基联苯胺	$Y = (47601.7)X + (15898.6)$	1~100	0.9995	90.1~108.6	0.02	0.05
15	2, 4 二氨基苯甲醚	$Y = (22509.4)X + (2101.07)$	1~100	0.9998	98.3~104.7	0.06	0.17
16	3- 氨基对甲苯甲醚	$Y = (322914)X + (13157.5)$	1~100	0.9996	95.6~104.2	0.03	0.09
17	2, 6- 二甲基苯胺	$Y = (151591)X + (2168.19)$	1~100	0.9995	92.7~103.7	0.06	0.19
18	3, 3- 二甲基 -4, 4- 二氨基 二苯甲烷	$Y = (80469.7)X + (24915.3)$	1~100	0.9996	97.7~105.6	0.10	0.03
19	2, 4- 二氨基二苯甲烷	$Y = (81815.4)X + (19321.7)$	1~100	0.9993	96.3~105.6	0.03	0.09
20	对氯苯胺	$Y = (121795)X + (-931.951)$	1~100	0.9996	94.9~102.3	0.03	0.10
21	2, 4- 二甲基苯胺	$Y = (111505)X + (-13533.5)$	1~100	0.9993	95.6~105.1	0.23	0.70
22	2, 4, 5- 三甲基苯胺	$Y = (194848)X + (-18860.7)$	1~100	0.9996	94.6~102.3	0.12	0.35
23	4, 4- 二氨基二苯硫醚	$Y = (52197.6)X + (-3740.87)$	1~100	0.9996	93.9~103.9	0.01	0.03
24	b- 萘胺	$Y = (151480)X + (-2473.24)$	1~100	0.9998	94.9~105.6	0.01	0.03
25	2, 4, 6- 三甲基苯胺	$Y = (193214)X + (13012.9)$	1~100	0.9998	95.3~102.3	0.03	0.08
26	a- 萘胺	$Y = (167409)X + (697.438)$	1~100	0.9996	92.9~109.9	0.01	0.02
27	2, 2- 二氨基二苯甲烷	$Y = (231644)X + (-27093.4)$	1~100	0.9998	95.1~101.3	0.03	0.10
28	4- 氯邻甲苯胺	$Y = (79362.5)X + (-9071.82)$	1~100	0.9995	92.2~102.4	0.01	0.03
29	2- 氨基 -4- 硝基甲苯	$Y = (7131.96)X + (-5755.21)$	5~100	0.9996	95.1~107.2	1.10	3.31
30	4- 氨基联苯	$Y = (125136)X + (-175.270)$	1~100	0.9998	95.9~105.1	0.02	0.07
31	3, 3- 二氯联苯胺	$Y = (24226.6)X + (-2572.89)$	1~100	0.9994	92.7~103.3	0.07	0.21
32	对氨基偶氮苯	$Y = (455697)X + (-66081.0)$	1~100	0.9998	94.5~104.5	0.03	0.08
33	4, 4- 次甲基 - 双 - (2- 氯苯胺)	$Y = (12710.1)X + (-2825.22)$	1~100	0.9995	93.7~107.7	0.09	0.26
34	邻氨基偶氮甲苯	$Y = (361765)X + (-55304.8)$	1~100	0.9996	95.0~102.2	0.05	0.15

2.3 精密度

对浓度分别为 5 和 20 ng/mL 的标准工作溶液连续测定 8 次，考察仪器的精密度，结果如表 4 所示，在此模拟物介质下，34 种芳香族伯胺的保留时间和峰面积的标准偏差分别小于 0.21% 和 5.00%，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=8)

序号	化合物名称	RSD%(2 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	对苯二胺	0.11	5.00	0.15	3.15
2	间苯二胺	0.65	3.00	0.61	2.09
3	2, 4- 二氨基甲苯	1.06	3.78	1.06	1.68
4	4, 4- 二氨基二甲醚	0.70	3.54	0.67	4.15
5	2, 6- 二氨基甲苯	1.21	3.39	1.18	3.42
6	联苯胺	0.29	4.78	0.37	2.29
7	4, 4- 二氨基二苯甲烷	1.05	3.87	0.68	1.79
8	苯胺	0.84	2.89	0.73	2.70
9	1, 5- 萘二胺	0.28	4.64	0.32	2.54
10	对甲氧基苯胺	0.85	4.73	0.83	1.78
11	邻甲氧基苯胺	0.55	1.91	0.48	1.52
12	邻甲苯胺	0.20	4.50	0.28	2.45
13	3, 3- 二甲氧基联苯胺	0.09	3.46	0.10	2.70
14	3, 3- 二甲基联苯胺	0.08	3.98	0.10	3.30
15	2, 4 二氨基苯甲醚	0.08	2.92	0.09	3.61
16	3- 氨基对甲苯甲醚	0.08	2.31	0.09	2.38
17	2, 6- 二甲基苯胺	0.08	3.74	0.10	2.42
18	3, 3- 二甲基 -4, 4- 二氨基二苯甲烷	0.11	2.94	0.09	1.92
19	2, 4- 二氨基二苯甲烷	0.10	2.91	0.10	2.05
20	对氯苯胺	0.06	4.19	0.06	3.76
21	2, 4- 二甲基苯胺	0.06	3.60	0.07	2.12
22	2, 4, 5- 三甲基苯胺	0.08	3.83	0.07	3.88
23	4, 4- 二氨基二苯硫醚	0.06	3.48	0.07	4.36
24	b- 萘胺	0.06	2.02	0.06	2.83
25	2, 4, 6- 三甲基苯胺	0.07	2.75	0.06	1.44
26	a- 萘胺	0.05	2.52	0.05	1.00
27	2, 2- 二氨基二苯甲烷	0.06	2.47	0.06	1.94
28	4- 氯邻甲苯胺	0.05	1.99	0.05	4.29
29	2- 氨基 -4- 硝基甲苯	0.05	4.96	0.06	1.90
30	4- 氨基联苯	0.06	3.52	0.05	3.14

31	3, 3- 二氯联苯胺	0.03	4.53	0.04	3.45
32	对氨基偶氮苯	0.04	1.33	0.04	0.74
33	4, 4- 次甲基 - 双 - (2- 氯苯胺)	0.04	3.06	0.04	4.44
34	邻氨基偶氮甲苯	0.04	3.43	0.04	1.56

2.4 回收率

按 1.5 提取方法，分别在空白铝箔样品中做加标回收实验，加标浓度 10.0 ng/mL。考察两种提取方法的回收率。空白样品及加标后不同提取方法色谱图见图 3、图 4 和图 5，回收率结果见表 5。空白样品中 34 种芳香胺均为未检出。表 5 结果显示，34 种芳香胺用甲醇提取的加标回收率在 73.5~114.8% 之间，回收率整体良好；用水提取的加标回收率在 6.5~106.2% 之间。两种提取方式的平均回收率分布见图 6，结果显示水提法有 7 种化合物回收率低于 60%，14 种化合物不到 80%，回收率波动过大；采用甲醇进行提取后绝大多数目标化合物回收率在 80~120% 之间，甲醇提取的效果明显优于水。

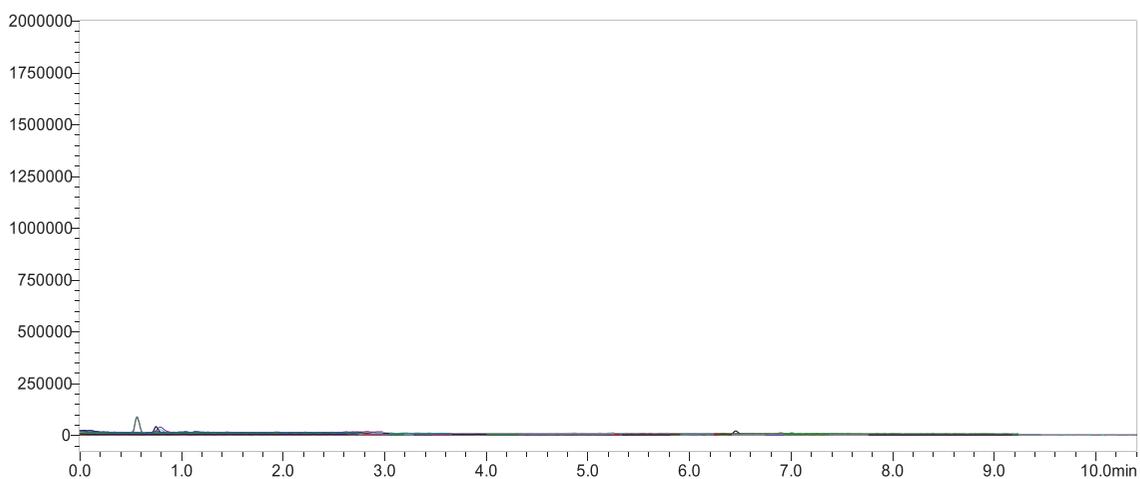


图 3 空白基质色谱图

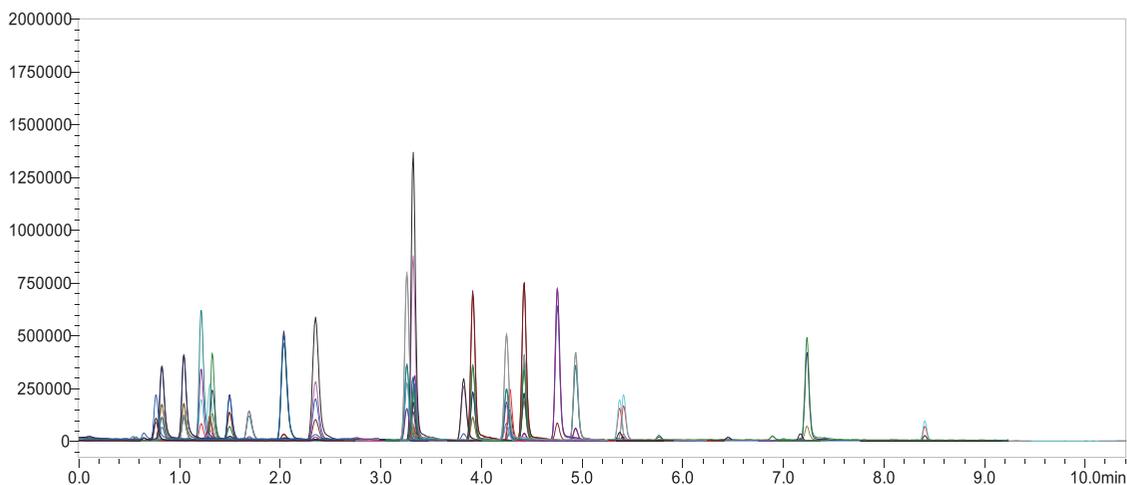


图 4 34 种芳香族伯胺加标回收实验测试色谱图 (10 ng/mL, 水提取)

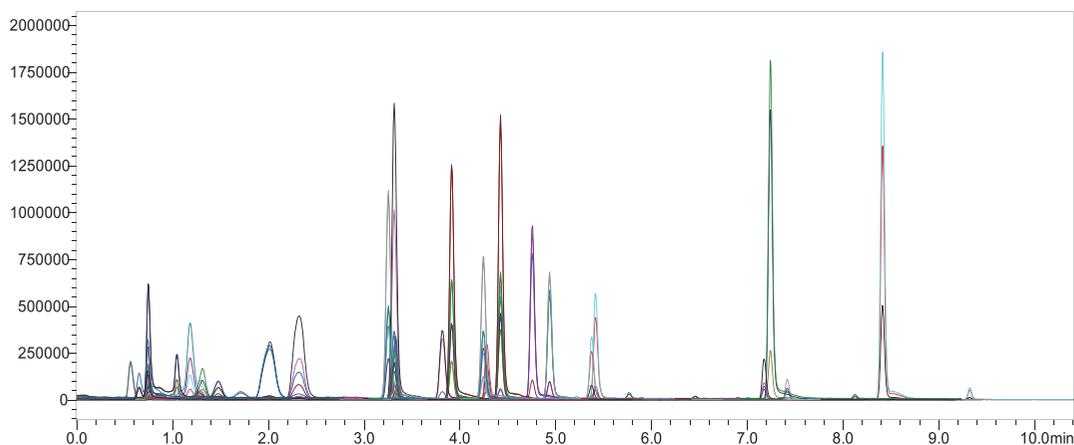


图 5 34 种芳香族伯胺加标回收实验测试色谱图 (10 ng/mL, 甲醇提取)

表 5 加标回收率考察

序号	化合物名称	水提取回收率 (%)		RSD%	甲醇提取回收率 (%)		RSD%
		No.1	No.2		No.1	No.2	
1	对苯二胺	24.0	24.8	2.16	91.2	91.1	0.13
2	间苯二胺	60.0	64.1	4.61	92.0	93.2	0.86
3	2, 4- 二氨基甲苯	88.8	84.2	3.74	105.4	99.3	4.18
4	4, 4- 二氨基二甲醚	90.4	94.8	3.39	87.7	88.4	0.57
5	2, 6- 二氨基甲苯	90.2	84.6	4.51	73.5	75.9	2.22
6	联苯胺	104.0	98.0	4.15	84.8	80.0	4.09
7	4, 4- 二氨基二苯甲烷	97.3	90.5	5.11	76.3	77.4	1.00
8	苯胺	102.6	102.2	0.29	102.9	97.7	3.71
9	1, 5- 萘二胺	105.7	102.2	2.40	96.0	91.3	3.54
10	对甲氧基苯胺	92.2	97.2	3.22	87.5	87.8	0.26
11	邻甲氧基苯胺	90.6	94.0	2.57	95.9	94.3	1.20
12	邻甲苯胺	82.7	81.8	0.78	113.0	112.4	0.35
13	3, 3- 二甲氧基联苯胺	106.2	101.8	2.98	109.3	103.6	3.77
14	3, 3- 二甲基联苯胺	89.0	91.2	1.71	99.6	101.8	1.54
15	2, 4 二氨基苯甲醚	87.9	89.7	1.44	111.4	113.5	1.37
16	3- 氨基对甲苯甲醚	83.3	84.6	1.11	106.7	105.4	0.87
17	2, 6- 二甲基苯胺	76.9	82.5	4.99	112.1	110.6	0.97
18	3, 3- 二甲基 -4, 4- 二氨基二苯甲烷	93.7	89.9	2.92	114.2	114.8	0.39
19	2, 4- 二氨基二苯甲烷	99.9	100.8	0.64	105.9	101.3	3.13
20	对氯苯胺	85.1	79.8	4.57	106.3	110.2	2.53
21	2, 4- 二甲基苯胺	75.4	75.5	0.12	104.8	108.3	2.34
22	2, 4, 5- 三甲基苯胺	62.7	60.7	2.25	102.1	103.4	0.93

23	4, 4- 二氨基二苯硫醚	95.6	95.8	0.14	113.0	111.4	1.01
24	b- 萘胺	73.5	74.9	1.36	115.4	113.7	1.06
25	2, 4, 6- 三甲基苯胺	55.2	56.2	1.34	107.3	108.4	0.69
26	a- 萘胺	71.1	76.4	5.09	113.7	114.7	0.61
27	2, 2- 二氨基二苯甲烷	90.3	95.7	4.13	108.7	106.2	1.66
28	4- 氯邻甲苯胺	66.0	64.2	1.97	107.6	107.2	0.21
29	2- 氨基 -4- 硝基甲苯	99.2	100.9	1.19	107.0	110.4	2.20
30	4- 氨基联苯	49.4	47.8	2.26	113.9	111.2	1.68
31	3, 3- 二氯联苯胺	17.9	18.4	1.80	107.9	108.1	0.12
32	对氨基偶氮苯	31.8	31.5	0.66	102.6	100.5	1.42
33	4, 4- 次甲基 - 双 - (2- 氯苯胺)	21.0	21.3	0.99	109.8	109.1	0.51
34	邻氨基偶氮甲苯	6.9	6.5	3.96	110.4	109.0	0.89

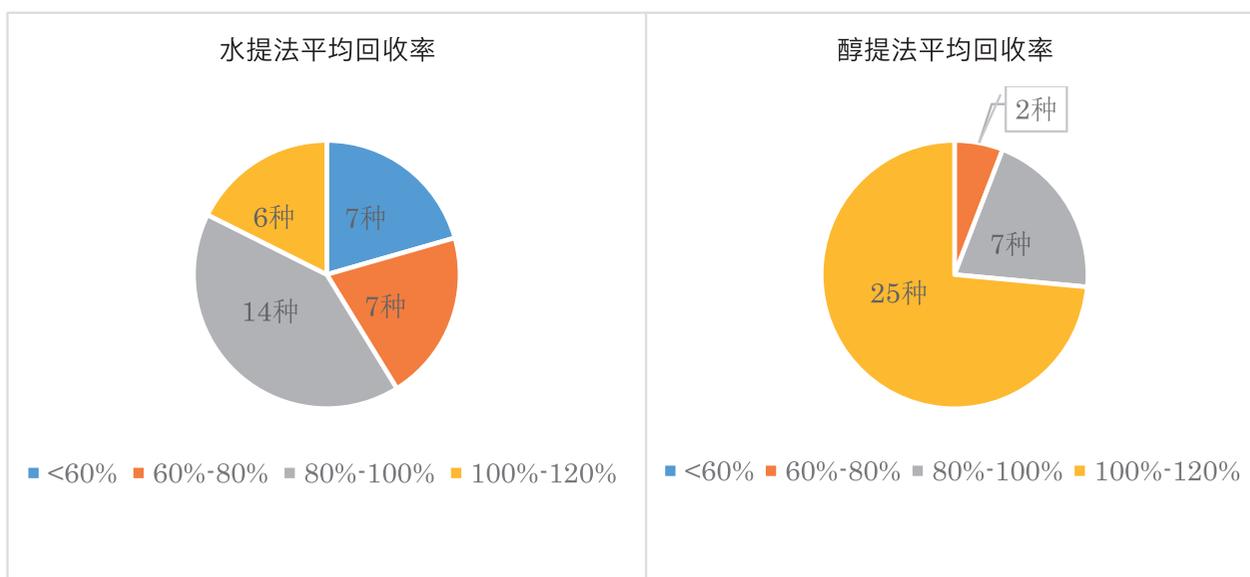


图 6 不同提取方法回收率分布图

■ 结论

本文建立一种使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定药用复合膜中 34 种芳香族伯胺的液质方法。对该方法进行了方法学验证，该方法具有分析速度快、方法线性范围宽、灵敏度高、稳定可靠。采用该方法分别对水提取和甲醇提取两种提取方法进行了准确度比较，结果显示甲醇提取对大多数组分更为准确有效。该方法可用于药用复合膜、袋（含铝箔类）中芳香族伯胺的准确测定。

岛津应用云

