

快速测定土壤和沉积物中38种初级芳香胺化合物

Rapid Determination of 38 Primary Aromatic Amines in Soil and Sediment

孙小杰¹, 刘冰洁¹, 李立军¹, 郭立海¹

Sun Xiaojie¹, Liu Bingjie¹, Li Lijun¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX应用支持中心, 上海

Keywords: Soil; Sediment; Primary Aromatic Amines; Aniline; LC-MS/MS

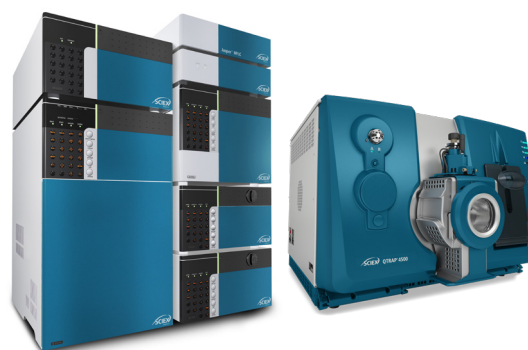
引言

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, 在环境中对苯胺类化合物应严格控制排放。

近年来, 对土壤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。本文采用液相色谱串联四级杆质谱, 对土壤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38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;



SCIEX ExionLC™系统和QTRAP® 4500系统

1 实验方法

1.1 液相色谱条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex 2.6 μm 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: 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：电喷雾电离源；

离子源参数：

Source Parameters

气帘气 (Curtain Gas, CUR)	30 psi
碰撞气 (Collision Gas, CAD)	9 psi
电离电压 (IonSpray Voltage, IS)	2000 v
辅助气温度 (Temperature, TEM)	600
雾化气 (Ion Source Gas, GS1)	65 psi
辅助加热气 (Ion Source Gas, GS2)	60 psi

1.3 样品前处理过程

称取5 g土壤以及土壤沉积物样品于试管中，加入正己烷丙酮 (1:1) 溶液10 ml，同时加入100 μ l氨水溶液，进行超声提取30 min，离心10 min，取上清溶液进行过滤，待净化用。

选用Cleanert C18固相萃取小柱，先后使用5 ml二氯甲烷和5 ml甲醇进行活化平衡，取上清溶液2 ml进行上样，最后使用5 ml甲醇进行洗脱，将洗脱液进行氮气吹至尽干，使用0.05%的水溶液1 ml进行定容，过滤，待液质分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

为了进行灵敏度的对比，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%。

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。

色谱柱的选择也对分离有很大的影响，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。

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。

为了获得较好的灵敏度，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1。

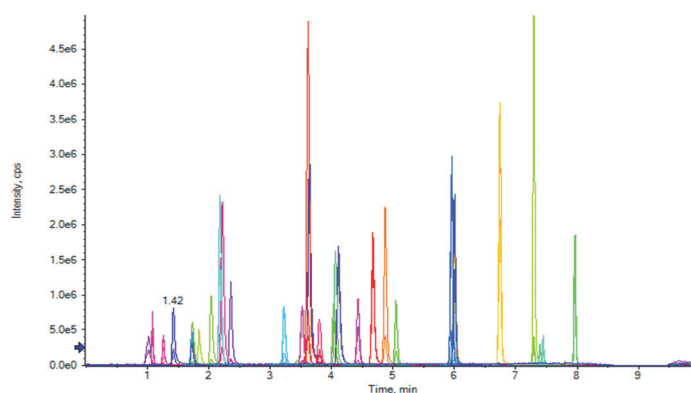


图1. 38种初级芳香胺提取离子流图。

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70%，另外有2种化合物的平均回收率在50-70%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2.2%到7.2%范围内。在不同时间下，测得所有化合物的日间重现性都在2.9%到8.91%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0.9932-0.9999范围内，如图2。

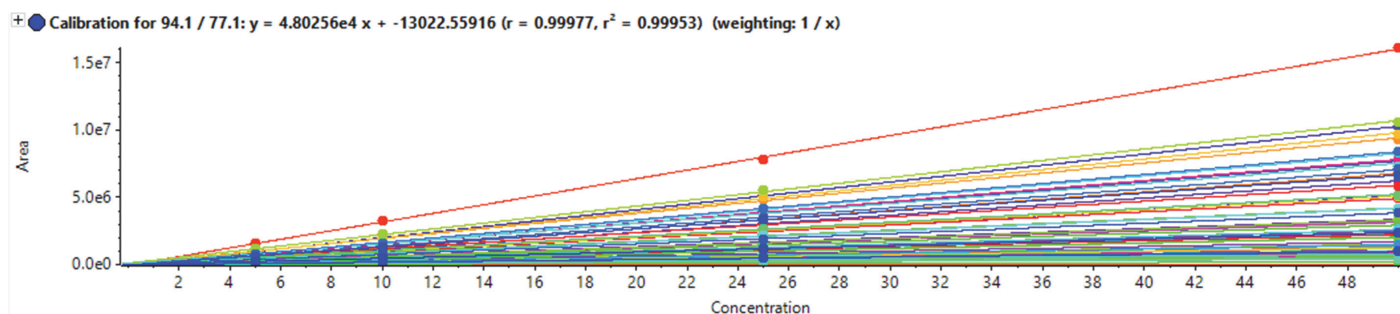


图2. 38种初级芳香胺在0.08 ng/ml-50 ng/ml内具有良好的线性关系。

2.3.2 实际土壤和沉积物样品测定结果

通过对某地区的土壤和沉积物进行测定，均没有发现38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，日后将进一步夸大采样范围，对地区土壤和沉积物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土壤和沉积物中38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，同时具有非常优异的定量限及其检出限，为土壤和沉积物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. 38种化合物离子对信息。

化合物	Q1	Q3	LOD(µg/kg)	LOQ(µg/kg)
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

表 1. 38种化合物离子对信息。(续)

化合物	Q1	Q3	LOD($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
P-cresidine 对甲酚	138	123.1/78	0.01	0.05
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'-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
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-anisilide 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

Q1-母离子; Q2-子离子; LOD-最低检出限; LOQ-最低定量限

表2. 38种化合物质谱参数以及保留时间。

化合物	DP (v)	CE (v)	CXP(v)	RT(min)
Aniline 苯胺	50	27/39	9	1.42
o-Toluidine 邻甲苯胺	50	22/23	9	2.36
p-Toluidine 对甲苯胺	50	24/37	9	3.99
M-phenylenediamine 间苯二胺	50	21/30	9	1.02
o-Phenylenediamine 邻苯二胺	50	21/30	9	2.36
4-Nitroaniline 4-硝基苯胺	50	18/27	9	5.89
3-Nitroaniline 3-硝基苯胺	50	26/37	9	5.01
2-Nitroaniline 2-硝基苯胺	50	17/23	9	4.23
2,6-Diethylaniline 2,6-二乙基苯胺	50	26/33	9	4.56
2-Methyl-6-ethylaniline 2-甲基-6乙基苯胺	50	29/27	9	4.67
2,4-dimethylaniline 2,4-二甲基苯胺	50	35/23	9	3.52

表2. 38种化合物质谱参数以及保留时间。(续)

化合物	DP (v)	CE (v)	CXP(v)	RT(min)
2,6-dimethylaniline 2,6-二甲基苯胺	50	35/33	9	4.43
2,4-diaminotoluene 2,4-二氨基甲苯	50	20/38	9	1.08
2,6-diaminotoluene 2,6-二氨基甲苯	50	20/38	9	1.25
o-Anisidine 邻茴香胺	50	22/30	9	2.22
4-chloroaniline 4-氯苯胺	50	24/24	9	3.8
3-Chloroaniline 3-氯苯胺	50	24/18	9	4.4
2,4,5-trimethylaniline 2,4,5-三甲基苯胺	50	31/21	9	5.99
P-cresidine 对甲酚	50	21/36	9	3.61
4-methoxy-1,3'-phenylenediamine 4-甲氧基-1,3-苯二胺	50	21/24	9	3.62
2-naphthylamine 2-萘胺	50	32/45	9	4.87
4-aminobiphenyl 4-氨基联苯	50	38/26	9	6
2-aminobiphenyl 2-氨基联苯	50	38/26	9	6.74
4,4-diaminobiphenyl 4,4-二氨基联苯	50	40/34	9	1.84
4-aminoazobenzene 4-氨基偶氮苯	50	24/19	9	7.29
Bis-(4-aminophenyl)methane 双(4-氨基苯基)甲烷	50	33/50	9	2.03
4,4'-oxydianiline 4,4'-氧二苯胺	50	26/25	9	1.73
3,3'-dimethylbenzidine 3,3'-二甲基联苯胺	50	44/26	9	4.03
4,4'-diamino-3,3'-dimethylphenylmethane 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基苯甲烷	50	32	9	4.06
3,3'-dimethoxybenzidine 3,3'-二甲氧基联苯胺	50	27/45	9	4.11
3,3'-dichlorobenzidine 3,3'-二氯联苯胺	50	29/36	9	7.39
3-amino-4-methylbenzamide 3-氨基-4-甲基苯甲酰胺	50	19/33	9	2.18
3-chloro-4-methoxyaniline 3-氯-4-甲氧基苯胺	50	23/41	9	3.23
5-chloro-2-methoxyaniline 5-氯-2-甲氧基苯胺	50	23/32	9	5.96
1,5-diaminonaphthalene 1,5-二氨基萘	50	40/28	9	1.72
4-chloro-2,5-dimethoxyaniline 4-氯-2,5-二甲氧基苯胺	50	21/38	9	5.96
3-amino-p-anisilide 3-氨基对茴香内脂	50	29/23	9	3.64
2-methoxy-4-nitroaniline 2-甲氧基-4-硝基苯胺	50	18/27	9	6

DP-去簇电压; CE-碰撞电压; CXP-碰撞池出口电压; RT-保留时间

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-11669-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
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

全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
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

官网: sciex.com.cn

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

官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)