

邹佳佳, 杨乾展, 代磊, 等. 超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法测定药用铝箔中 34 种芳香伯胺[J]. 环境化学, 2023, 42(5): 1763-1766.

ZOU Jiajia, YANG Qianzhan, DAI Lei, et al. Determination of 34 primary aromatic amines in medicinal aluminum foil by ultra performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (5): 1763-1766.

超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法测定药用铝箔中 34 种芳香伯胺*

邹佳佳¹ 杨乾展² 代磊¹ 李舒雅¹ 何丹^{1**}

(1. 重庆医科大学药学院, 重庆, 400016; 2. 岛津企业管理有限公司分析计测事业部, 重庆, 400010)

摘要 本文建立了超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法 (UPLC-MS/MS) 检测药用铝箔类中 34 种芳香伯胺的含量. 采用 Waters ACQUITY UPLC-HSS T3 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.4 mL·min⁻¹, 柱温为 40 °C. 采用电喷雾离子源 (ESI+), 工作模式为多反应监测模式 (MRM). 34 种芳香伯胺在 1—100 ng·mL⁻¹ 浓度范围内均具有较好的线性关系 ($r>0.999$), 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%, 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, 可用于药用铝箔中 34 种芳香伯胺的测定.

关键词 芳香伯胺, 药用铝箔, UPLC-MS/MS.

Determination of 34 primary aromatic amines in medicinal aluminum foil by ultra performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry

ZOU Jiajia¹ YANG Qianzhan² DAI Lei¹ LI Shuya¹ HE Dan^{1**}

(1. College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China; 2. Shimadzu Co., LTD, Analytical & Measuring Instruments Division, Chongqing, 400010, China)

Abstract An ultra performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed for the determination of 34 primary aromatic amines in medicinal aluminum foils. Waters ACQUITY UPLC-HSS T3 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm) chromatographic column was used, with 0.1% formic acid aqueous solution-acetonitrile as mobile phase and gradient elution. The flow rate was 0.4 mL·min⁻¹, column temperature was 40 °C. Electrospray ion source (ESI+) was used, and the working mode was multi-reaction monitoring mode (MRM). The 34 primary aromatic amines had satisfactory linear relationships in the concentration range of 1—100 ng·mL⁻¹ ($r>0.999$). The relative standard deviations of retention time and peak area of each compound were less than 1.21% and 5.00%, respectively. The recoveries were between 73.5% and 114.8%. The established method has the characteristics of high sensitivity, good repeatability and high accuracy, and is feasible for the determination of 34 primary aromatic amines in medicinal aluminum foil.

* 重庆医科大学药学院支部书记“双带头人”项目 (YXY2021SDTR01) 资助.

Supported by the “Double Leaders” Project of the Branch Secretary of the School of Pharmacy of Chongqing Medical University (YXY2021SDTR01).

** 通信联系人 Corresponding author, Tel: 15310985850, E-mail: Danhe@cqmu.edu.cn

Keywords primary aromatic amines, medicinal aluminum foil, UPLC-MS/MS.

芳香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^[1-2].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 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[2].作为直接与药品接触的药用铝箔类,其中使用的着色剂和聚合物涂层中,都存在芳香族伯胺残留风险^[3].现阶段,测定芳香伯胺的方法有气相色谱法、气相色谱-串联质谱法、分光光度法、液相色谱法、液相色谱-串联质谱法^[4-6]等,但这些方法仍然存在灵敏度低、准确度低、操作繁琐、检测时间长以及检测的组分较少等问题.本文在中国食品药品检定研究院发布的药用复合膜、袋(含铝箔类)中 29 种芳香伯胺液相-质谱联用测定法基础上^[7],建立了药用铝箔中 34 种芳香伯胺的 UPLC-MS/MS 测定方法,为有效控制药品包装材料,保障用药安全提供技术参考.

1 实验部分

1.1 实验材料

LC-MS-8060 三重四极杆液质联用仪(日本岛津公司); LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站(日本岛津公司); SIL-30AC 自动进样器(日本岛津公司); KQ-2200B 型超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司); LS220A 型万分之一电子分析天平(普利赛斯国际贸易有限公司); Milli-Q 超纯水仪(Millipore 有限公司).

甲醇(赛默飞世尔科技有限公司,色谱纯);甲酸(赛默飞世尔科技有限公司,色谱纯);乙腈(美国 TEDIA 公司,色谱纯); 34 种芳香伯胺标准品(均购于上海安谱瑞世标准技术服务有限公司);药用铝箔(国内某药企).

1.2 溶液的制备

分别取 34 种芳香伯胺适量,置于棕色瓶,乙腈溶解并稀释成浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合母液($4 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合标准溶液,现用现配.

取复合膜样品 100 cm^2 ,裁成 $2.5 \text{ cm}\times 0.2 \text{ cm}$ 的细条状至 250 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,称定重量,超声提取 30 min,放冷后补足失重,摇匀,将提取液以 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液.

1.3 分析方法

液相条件: Waters ACQUITY UPLC-HSS T3($100 \text{ mm}\times 2.1 \text{ mm I.D.}, 1.8 \mu\text{m}$)液相色谱柱;流动相为 A 相-0.1% 甲酸水, B 相-乙腈;流速 $0.4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样体积 $3 \mu\text{L}$,柱温 $40 \text{ }^\circ\text{C}$;梯度洗脱程序: 0—1 min, 5% B; 1—4 min, 5% B→40% B; 4—10 min, 40% B→95% B; 10—13.5 min, 95% B; 13.5—13.6 min, 95% B→5% B; 13.6—16.0 min, 5% B.

质谱条件:电喷雾离子源(ESI+);碰撞气为氩气,加热气为 $10.0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 空气,雾化气为 $3.0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 氮气,干燥气为 $10.0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 氮气;接口温度 $300 \text{ }^\circ\text{C}$, DL 温度 $250 \text{ }^\circ\text{C}$,加热模块温度 $400 \text{ }^\circ\text{C}$;接口电压 4 kV;扫描模式为 MRM(表 1).

表 1 34 种芳伯胺的 MRM 参数

Table 1 MRM parameters of 34 primary aromatic amines

化合物	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre/V	CE/V	Q3 Pre/V
对苯二胺	106-50-3	109.2	65.1*, 92.1	-13, -14	-24, -20	-11, -18
间苯二胺	108-45-2	109.2	65.1*, 92.1	-10, -13	-24, -19	-24, -16
2,4-二氨基甲苯	95-80-7	123.2	77.1*, 106.1	-11, -10	-29, -19	-14, -11
4,4'-二氨基二苯醚	101-80-4	201.2	108.1*, 80.0	-10, -15	-22, -35	-22, -15
2,6-二氨基甲苯	823-40-5	123.2	77.1*, 106.1	-11, -11	-29, -22	-29, -20
联苯胺	92-87-5	185.2	167.1*, 168.1	-14, -14	-27, -21	-17, -17
4,4'-二氨基二苯甲烷	101-77-9	199.2	106.0*, 77.0	-15, -15	-25, -54	-10, -15
苯胺	63-53-3	94.0	77.1*, 51.0	-19, -11	-23, -32	-14, -20
1,5-二氨基萘	2243-62-1	159.0	115.1*, 143.1	-12, -13	-34, -24	-20, -27
对甲氧基苯胺	104-94-9	124.1	92.1*, 109.1	-15, -26	-25, -22	-21, -19
邻甲氧基苯胺	90-04-0	124.1	109.1*, 92.1	-26, -15	-22, -25	-19, -21
邻甲苯胺	95-53-4	108.2	91.1*, 65.1	-10, -10	-22, -28	-17, -24
3,3'-二甲氧基联苯胺	119-90-4	245.2	230.1*, 213.2	-11, -10	-19, -20	-24, -14
3,3'-二甲基联苯胺	119-93-7	213.2	80.1*, 196.1	-17, -18	-35, -20	-19, -20
2,4-二氨基苯甲醚	615-05-4	139.1	124.1*, 108.1	-11, -11	-17, -19	-12, -20
3-氨基对甲苯甲醚	120-71-8	138.2	123.1*, 77.1	-12, -12	-21, -35	-22, -28
2,6-二甲基苯胺	87-62-7	122.2	77.05*, 107.1	-10, -10	-28, -22	-14, -21
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
2,4'-二氨基二苯甲烷	1208-52-2	199.2	106.0*, 77.0	-15, -15	-25, -54	-10, -15

续表 1

化合物	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre/V	CE/V	Q3 Pre/V
对氯苯胺	106-47-8	128.1	93.1*, 111.1	-11, -10	-22, -17	-16, -16
2,4-二甲基苯胺	95-68-1	122.2	77.1*, 107.1	-10, -10	-31, -22	-14, -21
2,4,5-三甲基苯胺	137-17-7	136.2	91.1*, 121.15	-11, -11	-24, -21	-17, -26
4,4'-二氨基二苯硫醚	139-65-1	217.1	124.05*, 0.05	-17, -18	-23, -48	-24, -29
2-萘胺	91-59-8	143.8	127.1*, 117.1	-12, -13	-26, -22	-24, -12
2,4,6-三甲基苯胺	88-05-1	136.2	91.1*, 121.15	-11, -11	-24, -21	-17, -26
1-萘胺	134-32-7	143.8	127.1*, 117.1	-12, -13	-26, -22	-24, -12
2,2'-二氨基二苯甲烷	6582-52-1	199.2	106.0*, 77.0	-15, -15	-25, -54	-10, -15
4-氯邻甲苯胺	95-69-2	142.1	107.1*, 125.0	-12, -11	-20, -25	-20, -22
2-氨基-4-硝基甲苯	99-55-8	153.1	107.0*, 90.2	-13, -11	-17, -21	-19, -18
4-氨基联苯	92-67-1	170.1	152.1*, 153.1	-12, -12	-30, -30	-22, -22
3,3'-二氯联苯胺	91-94-1	253.1	217.1*, 182.1	-12, -12	-22, -28	-23, -18
对氨基偶氮苯	60-09-3	198.0	77.1*, 93.2	-15, -15	-23, -23	-14, -20
4,4'-次甲基-双-(2-氯苯胺)	101-14-4	267.1	140.0*, 95.05	18, 12	-25, -32	-23, -13
邻氨基偶氮甲苯	97-56-3	226.2	91.1*, 121.1	-11, -11	-23, -23	-17, -20

*表示定量离子

2 结果与讨论

2.1 系统适应性试验

取混合对照溶液, 供试品溶液, 空白溶液分别进样, 结果空白溶液无干扰, 供试品溶液色谱峰出峰时间和对照品一致, 34 种芳香伯胺对照品相应保留时间的色谱峰分离良好。

2.2 线性关系考察

将不同浓度的混合标准溶液进行稀释后, 按 2.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 权重 1/C。采用外标法建立校准曲线, 34 种芳香胺上机浓度在 1—100 ng·mL⁻¹(4,4'-二氨基二甲醚及 2-氨基-4-硝基甲苯为 5—100 ng·mL⁻¹) 范围内, 均具有较好的线性关系, 相关系数均大于 0.999, 具体结果见表 2。

表 2 方法学考察结果

Table 2 Methodological investigation results

化合物	相关系数	信噪比	检出限/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)	回收率±RSD/%
对苯二胺	0.9998	12	0.29	0.86	91.1±0.13
间苯二胺	0.9999	32	0.29	0.87	92.6±0.86
2,4-二氨基甲苯	0.9997	20	0.15	0.46	102.3±4.18
4,4'-二氨基二甲醚	0.9997	11	1.46	4.41	88.0±0.57
2,6-二氨基甲苯	0.9999	22	0.16	0.49	74.2±2.22
联苯胺	0.9998	61	0.05	0.16	82.4±4.09
4,4'-二氨基二苯甲烷	0.9998	43	0.08	0.24	76.8±1.00
苯胺	0.9999	31	0.22	0.66	100.7±3.71
1,5-萘二胺	0.9999	22	0.10	0.29	93.7±3.54
对甲氧基苯胺	0.9998	125	0.03	0.08	87.6±0.26
邻甲氧基苯胺	0.9997	196	0.02	0.06	95.1±1.20
邻甲苯胺	0.9994	132	0.03	0.08	112.7±0.35
3,3'-二甲氧基联苯胺	0.9996	80	0.03	0.10	106.4±3.77
3,3'-二甲基联苯胺	0.9995	177	0.02	0.05	100.7±1.54
2,4-二氨基苯甲醚	0.9998	53	0.06	0.17	112.4±1.37
3-氨基对甲苯甲醚	0.9996	111	0.03	0.09	106±0.87
2,6-二甲基苯胺	0.9995	48	0.06	0.19	111.3±0.97
3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	0.9996	79	0.10	0.03	114.5±0.39
2,4-二氨基二苯甲烷	0.9993	107	0.03	0.09	103.6±3.13
对氯苯胺	0.9996	100	0.03	0.10	108.3±2.53

续表 2

化合物	相关系数	信噪比	检出限/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)	回收率±RSD/%
2,4-二甲基苯胺	0.9993	14	0.23	0.70	106.5±2.34
2,4,5-三甲基苯胺	0.9996	30	0.12	0.35	102.7±0.93
4,4-二氨基二苯硫醚	0.9996	105	0.01	0.03	112.3±1.01
b-萘胺	0.9998	141	0.01	0.03	114.5±1.06
2,4,6-三甲基苯胺	0.9998	141	0.03	0.08	107.8±0.69
a-萘胺	0.9996	225	0.01	0.02	114.2±0.61
2,2-二氨基二苯甲烷	0.9998	107	0.03	0.10	107.4±1.66
4-氯邻甲苯胺	0.9995	111	0.01	0.03	107.4±0.21
2-氨基-4-硝基甲苯	0.9996	16	1.10	3.31	108.4±2.20
4-氨基联苯	0.9998	149	0.02	0.07	112.6±1.68
3,3-二氯联苯胺	0.9994	37	0.07	0.21	108±0.12
对氨基偶氮苯	0.9998	133	0.03	0.08	101.5±1.42
4,4-次甲基-双-(2-氯苯胺)	0.9995	42	0.09	0.26	109.4±0.51
邻氨基偶氮甲苯	0.9996	71	0.05	0.15	109.7±0.89

2.3 稳定性试验

按照“1.2”项下方法制备样品溶液,将样品溶液在室温下放置 0、2、4、8、12、24 h,按“1.3”节色谱及质谱条件进样测定.结果 34 种芳香伯胺的峰面积标准偏差不大于 8.71%,表明该样品溶液在室温下 24 h 内稳定.

2.4 精密度试验

在“1.3”项下色谱及质谱条件下,将浓度为 5 ng·mL⁻¹ 的标准工作溶液分别连续测定 8 次,考察仪器的精密度,结果如表 2 所示,34 种芳香伯胺的保留时间和峰面积的标准偏差分别不大于 1.21% 和 5.00%,仪器精密度良好.

2.5 重复性试验

按供试品溶液制备方法平行制备供试品(空白样品)溶液 8 份并分别加入 34 种芳香伯胺标准品适量,使得加标浓度为 10 ng·mL⁻¹,按“1.3”节色谱及质谱条件进样测定.34 种芳香族伯胺的保留时间和峰面积的标准偏差分别不大于 1.18% 和 4.44%,表明该方法具有良好的重复性.

2.6 回收率试验

在空白铝箔样品中添加适量混合对照品溶液做加标回收实验($n=2$),加标浓度 10.0 ng·mL⁻¹.空白样品中 34 种芳香伯胺均为未检出,回收率结果见表 2.结果显示,34 种芳香伯胺用甲醇提取的加标回收率在 73.5%—114.8% 之间,RSD 不高于 5%,回收率整体良好.

2.7 样品检测

采用本方法对 5 个不同批次药用铝箔进行测定,结果在所检测的样品中均未检测到待测的 34 种芳香伯胺,表明所测样品均符合该 34 种芳香伯胺的限度要求.

3 结论(Conclusion)

本文建立了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铝箔中 34 种芳香族伯胺的 UPLC-MS/MS 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.该方法可用于药用铝箔中 34 种芳香伯胺的准确测定.

参考文献 (References)

- [1] KAMPFER P, CRETZAZ S, NUSSBAUMER S, et al. Quantitative determination of 58 aromatic amines and positional isomers in textiles by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2019, 10(1592): 71-81.
- [2] 食品安全国家标准 食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定 [EB/OL]. [2021-02-22]. <https://members.wto.org/>
- [3] 朱敏娜,姜鑫,李勇,等.2015年版《国家药包材标准》药用铝箔之溶剂型丙烯酸酯类黏合剂涂布量差异试验的探讨[J]. *中国药品标准*, 2018, 19(2): 115-119.
- [4] 张璞,吴红洋,曹汐,等.药用复合膜中苯二胺含量测定及限度标准研究[J]. *中国药业*, 2020, 29(23): 43-45.
- [5] 邹茄,朱碧君,常亮,等. GC-MS法测定药用复合膜中25种初级芳香胺的迁移量[J]. *中国新药杂志*, 2021, 30(7): 649-653.
- [6] 李莎,武静文,吴红洋,等.药用复合膜中2,4-二氨基甲苯的检测[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(7): 1234-1240.
- [7] 药用复合膜、袋(含铝箔类)中 29 种芳香伯胺液相-质谱联用测定法 [EB/OL]. 中国食品药品检定研究院, [2020-04-08].