Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

提高消费品中致敏和致癌染料的分析速度和定量性能

Jane Cooper[1]、Jeremy Marchand[2]
[1] 沃特世公司，英国曼彻斯特
[2] 法国南斯大学

方案优势

本应用纪要阐述了消费品中致敏和致癌分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料鉴别和定量的高通量处理方法，并具备以下优势：

- 缩短运行时间，从而减少溶剂的用量。
- 与现有的方法相比，提高灵敏度、选择性和稳健性。

沃特世提供的解决方案

ACQUITY UPLC® H-Class系统

Xevo® TQD

MassLynx™质谱软件

ACQUITY UPLC BEH C_{18}柱

关键词

分散染料、酸性染料、直接染料、碱性染料、消费品、纺织品、限制物质

引言

最初所有的染料均是天然化合物，但后来人们开发了各种能够快速生产的廉价合成染料。根据染色工艺中的用途，人们对合成染料进行了分类。亲脂性分散染料用于许多合成纤维的染色，例如聚酯、尼龙、乙酸纤维素、合成丝绒和聚氯乙烯。阴离子酸性染料、阳离子碱性染料和直接染料等水溶性染料广泛应用于天然和合成纤维中。例如，酸性染料可以用于丝绸、羊毛、尼龙和改性丙烯酸纤维；碱性染料可以用于丙烯酸纤维、羊毛、丝绸和纸张；直接染料可以用于棉花、纸张、皮革、羊毛、丝绸和尼龙。

为了保护消费者、员工以及社区环境，许多公司制作了限制物质列表（RSL）。RSL详细列出了产品供应生产链的每个环节所遵循的法规和非法规要求，以减少和消除有害物质和工艺。在这情况下，他们也将环境持续性融入到产品中，确保其产品的安全性并符合法规要求。在许多消费品供应商的RSL中，对许多潜在的有害分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料都作了详细的说明。

针对各种染料，各国和国际组织制订了法规和非法规要求和标准，其中包括：欧盟标准化委员会关于玩具安全性标准（BS EN 71第9部分）[1]、Oeko-Tex标准1000[2]、欧盟委员会决议（2009/567/EC）[3]以及德国食品和商品法（LFGB § 30）等。所有标准都详细规定了许多潜在的致敏、致癌、致突变或具有生殖毒性的染料为限制物质。

纺织品及其组分中分散染料分析的标准方法是DIN54231[4]，该方法采用高效液相色谱（HPLC）或者薄层色谱（TLC）进行，并使用紫外（UV）、质谱（MS）或光密度法检测。

实验条件

样品制备

纺织品

- 将纺织品（0.5 g）剪碎，并使用超声浴（50°C）以20 mL甲醇萃取15分钟。
- 将100 µL萃取液转移到一个LC样品瓶中，以900 µL水稀释。

LC条件

系统：ACQUITY UPLC H-Class
运行时间：7分钟
色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C_{18} 2.1 x 50 mm，1.7 µm
柱温：30°C
样品温度：10°C
流动相A：水（5 mmol/L乙酸铵溶液）
流动相B：乙腈（5 mmol/L乙酸铵溶液）
流速：0.6 mL/min
进样量：5 µL

详细的流动相梯度如表1所示。

质谱条件

质谱仪：Xevo TQD
电离模式：ESI正离子和负离子
毛细管电压：0.7 kV
离子源温度：150°C
脱溶剂气温度：500°C
脱溶剂气体流速：1000 L/h
锥孔气体流速：20 L/h
采集：多反应监测（MRM）

其他用于分散染料分析的方法包括：带电喷雾离子源（ESI）色谱质谱法[5]、HPLC和UV/VIS检测[6]、大气压化学电离法（APCI）和质谱检测[7]、电喷雾和质谱检测[8, 9]，以及离子交换高效液相色谱（HPIEC）和质谱检测。

本应用纪要使用与Xevo TQD结合Waters® ACQUITY UPLC H-Class系统，通过与以前的方法对比说明对消费品中分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料进行分析的优点。结果显示，分析的稳健性、选择性和灵敏度都得到了增强，并且减少了运行时间和相应的溶剂用量。

如表3所示本方法对用于分析分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料的质谱条件进行了优化。CAS编号、分子式和结构式显示在表2中。如图1所示已经确立的染料多反应监测（MRM）方法使用Xevo TQD上的快速极性转换操作。这样就可以使用相同的分析方法同时对正离子和负离子染料进行分析。

	时间（min）	流速（mL/min）	%A	%B	梯度曲线
1	初值	0.60	90	10	-
2	0.50	0.60	90	10	6
3	3.00	0.60	5	95	6
4	5.00	0.60	5	95	6
5	5.01	0.60	90	10	6
6	7.00	0.60	90	10	6

表1. ACQUITY UPLC H-Class流动相梯度。

分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料			
1. **Disperse Blue 3** CAS: 2475-46-9 $C_{17}H_{16}N_2O_3$	**2.** **Disperse Blue 7** CAS: 3179-90-6 $C_{18}H_{18}N_2O_6$	**3.** **Disperse Blue 35** CAS: 12222-75-2 $C_{20}H_{14}N_2O_5$	**4.** **Disperse Blue 102** CAS: 69766-79-6 $C_{15}H_{19}N_5O_4S$
5. **Disperse Blue 106** CAS: 68516-81-4 $C_{14}H_{17}N_5OS$	**6.** **Disperse Blue 124** CAS: 61951-51-7 $C_{16}H_{19}N_5O_4S$	**7.** **Disperse Brown 1** CAS: 23355-64-8 $C_{16}H_{15}Cl_3N_4O_4$	**8.** **Disperse Orange 1** CAS: 2581-69-3 $C_{18}H_{14}N_4O_2$
9. **Disperse Orange 3** CAS: 730-40-5 $C_{12}H_{10}N_4O_2$	**10.** **Disperse Orange 11** CAS: 82-28-0 $C_{15}H_{11}NO_2$	**11.** **Disperse Orange 37** CAS: 13301-61-6 $C_{17}H_{15}Cl_2N_5O_2$	**12.** **Disperse Orange 149** CAS: 85136-74-9 $C_{25}H_{26}N_6O_3$
13. **Disperse Red 1** CAS: 2872-52-8 $C_{16}H_{18}N_4O_3$	**14.** **Disperse Red 11** CAS: 2872-48-2 $C_{15}H_{12}N_2O_3$	**15.** **Disperse Red 17** CAS: 3179-89-3 $C_{17}H_{20}N_4O_4$	**16.** **Disperse Yellow 1** CAS: 119-15-3 $C_{12}H_9N_3O_5$
17. **Disperse Yellow 3** CAS: 2832-40-8 $C_{15}H_{15}N_3O_2$	**18.** **Disperse Yellow 23** CAS: 6250-23-3 $C_{18}H_{14}N_4O$	**19.** **Disperse Yellow 39** CAS: 12236-29-2 $C_{17}H_{16}N_2O$	**20.** **Disperse Yellow 49** CAS: 54824-37-2 $C_{21}H_{22}N_4O_2$
21. **Acid Red 26** CAS: 3761-53-3 $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_7S_2$	**22.** **Basic Red 9** CAS: 569-61-9 $C_{19}H_{18}N_3Cl$	**23.** **Basic Violet 14** CAS: 632-99-5 $C_{20}H_{20}ClN_3$	**24.** **Direct Red 28** CAS: 573-58-0 $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$

表2. 分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料、相关CAS编号、分子式和结构式。

编号	化学物质	保留时间（min）	ESI（+/-）	锥孔电压（V）	MRM通道	碰撞能量
1	分散蓝3	2.41	+	45	297.0 > 235.1	33
					297.0 > 252.0 *	21
2	分散蓝7	2.26	+	50	359.0 > 283.0 *	32
					359.0 > 314.0	20
3	分散蓝35	2.97	+	36	285.0 > 185.0	12
					285.0 > 270.0*	28
4	分散蓝102	2.53	+	42	366.0 > 147.0	31
					366.0 > 208.1*	18
5	分散蓝106	2.71	+	42	336.0 > 147.0	35
					336.0 > 178.0*	17
6	分散蓝124	3.04	+	39	378.1 > 160.1	23
					278.0 > 220.1*	16
7	分散棕1	2.84	+	53	433.0 > 197.1*	31
					433.0 > 357.0	37
8	分散橙1	3.36	+	49	319.0 > 122.0*	22
					319.0 > 169.0	26
9	分散橙3	2.77	+	45	243.0 > 92.0	22
					243.0 > 122.0*	18
10	分散橙11	2.80	+	53	238.0 > 165.0*	30
					238.0 > 223.0	25
11	分散橙37	3.27	+	50	392.0 > 133.0*	38
					392.0 > 350.9	22
12	分散橙149	3.60	-	69	457.1 > 121.0*	52
					457.1 > 266.0	33
13	分散红1	2.91	+	51	315.1 > 134.0*	25
					315.1 > 284.1	23
14	分散红11	2.40	+	51	268.0 > 225.0*	28
					268.0 > 253.0	21
15	分散红17	2.64	+	53	345.1 > 164.1*	26
					345.1 > 269.1	28
16	分散黄1	2.57	-	32	274.0 > 166.0*	12
					274.0 > 226.0	15
17	分散黄3	2.80	-	37	268.0 > 134.0*	18
					368.0 > 253.0	18
18	分散黄23	3.37	+	46	303.1 > 105.0*	21
					303.1 > 181.0	17
19	分散黄39	2.83	+	55	291.0 > 130.0*	29
					291.0 > 245.1	28
20	分散黄49	3.02	-	22	373.1 > 168.0*	27
					373.1 > 209.1	21
21	酸性红26	1.80	+	47	437.0 > 121.1*	25
					437.0 > 355.1	19
22	碱性红9	2.01	+	60	288.2 > 195.1*	33
					288.2 > 271.1	35
23	碱性紫14	2.12	+	68	302.1 > 195.1	35
					302.1 > 209.1*	32
24	直接红28	2.02	-	81	325.0 > 81.0	27
					325.0 > 152.0*	23

*表3. 分散染料、酸性染料、直接染料、碱性染料、保留时间、离子化模式、锥孔电压、多反应监测通道和相关的碰撞能量值（*参考定量通道）。*

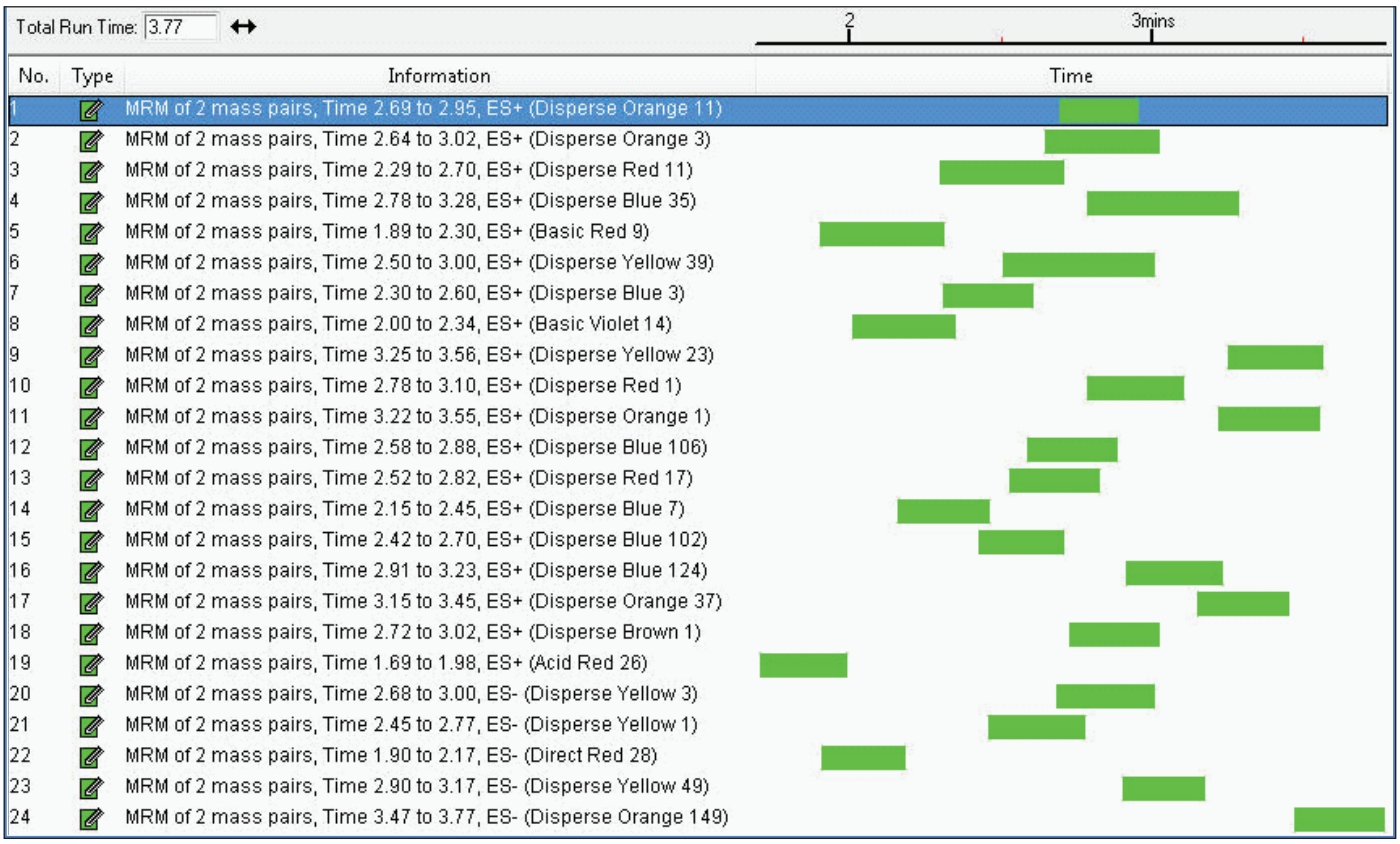


图1. 24种分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料的多反应监测方法。

仪器控制、数据采集和结果处理

使用MassLynx软件（版本4.1）进行数据采集、ACQUITY UPLC H-Class系统和Xevo TQD的控制。数据定量使用TargetLynx™应用管理器实现。

结果与讨论

使用配有电喷雾离子源（ESI）的Waters Xevo TQD结合ACQUITY UPLC H-Class系统，以多反应监测模式对24种分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料进行分析。

开发方法优化了多反应监测条件，并优化了基于马博士等人[6]的工作经验得到的HPLC条件（流动相、色谱柱、梯度）。利用沃特世方法开发工具，将方法从HPLC转换到UPLC，方法开发工具包括：沃特世色谱柱选择性图表[11-12]，帮助选择合适的UPLC色谱柱；ACQUITY UPLC色谱柱计算器[12]，帮助开发UPLC梯度和流速。经过条件优化的UPLC使所有的化合物能够在7分钟的运行时间内全部洗脱。

Xevo TQD循环迅速，极性转换时间短，更窄的UPLC色谱峰同时也能够得到高效分离效果。HPLC和UPLC色谱图之间的对比情况如图2所示，图中表明了方法可提高灵敏度和样品处理量。

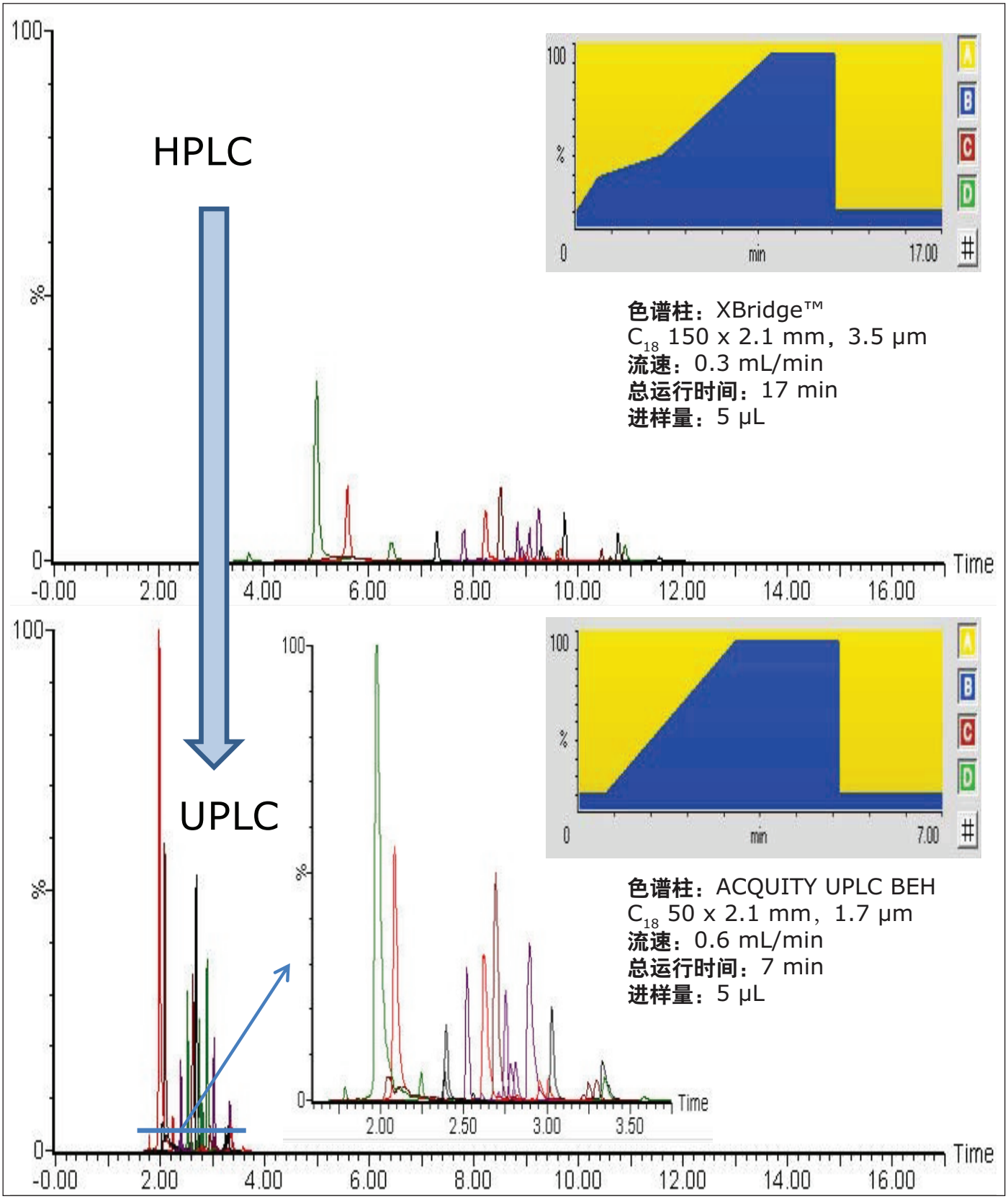
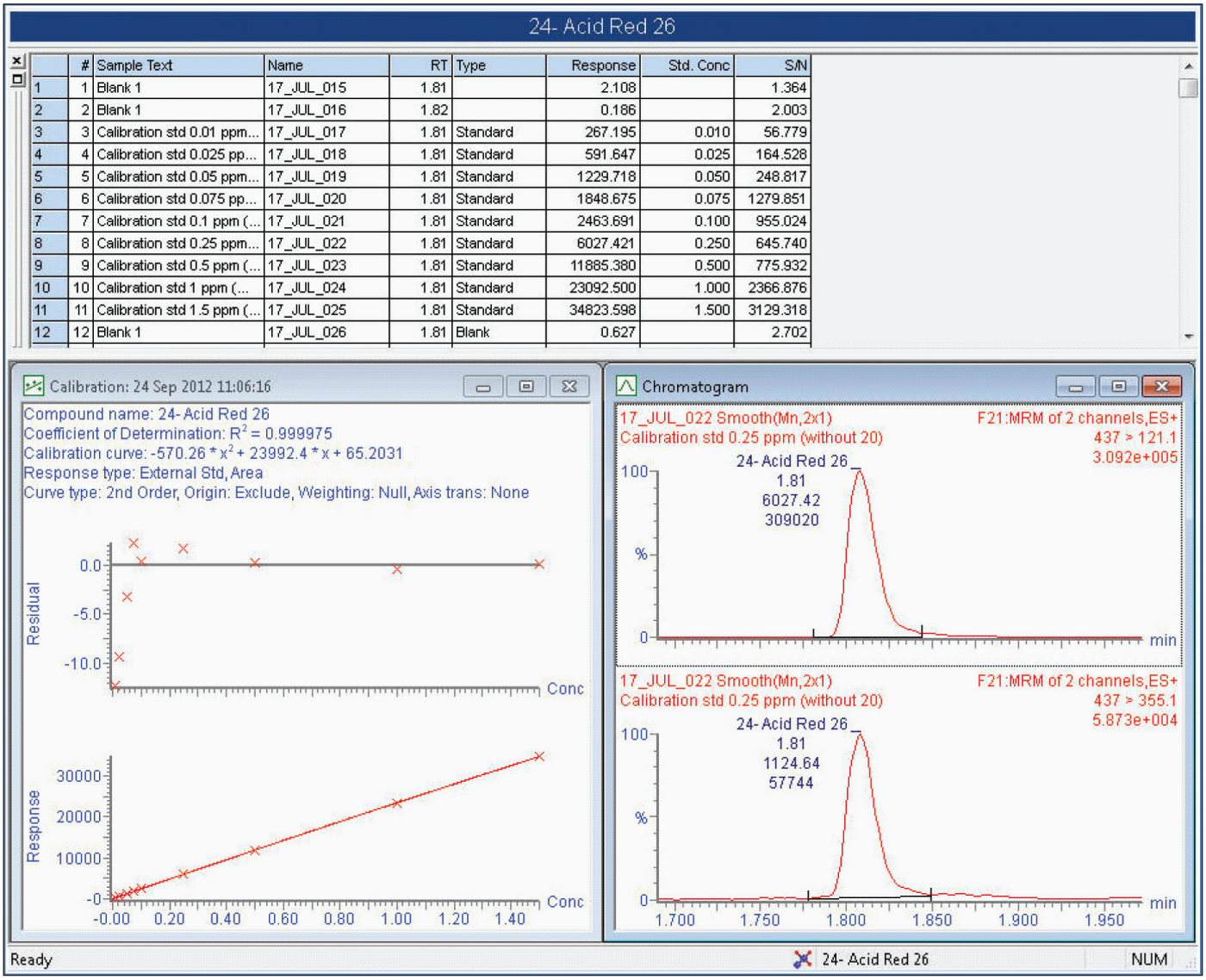


图2. HPLC和UPLC重叠1 ppm的色谱图，流动相A：水（5 mmol/L乙酸铵溶液），流动相B：乙腈（5 mmol/L乙酸铵溶液）。

制备浓度范围为0.01 ~ 1.5 μg/mL的混合校准标准品，并针对所有化合物（对应纺织品样品4 ~ 600μg/g的范围）进行分析。图3所示为酸性红26的TargetLynx Quantify的定量结果，图4所示为每种化合物的多反应监测色谱图。



	#	Sample Text	Name	RT	Type	Response	Std. Conc	S/N
1	1	Blank 1	17_JUL_015	1.81		2.108		1.364
2	2	Blank 1	17_JUL_016	1.82		0.186		2.003
3	3	Calibration std 0.01 ppm...	17_JUL_017	1.81	Standard	267.195	0.010	56.779
4	4	Calibration std 0.025 pp...	17_JUL_018	1.81	Standard	591.647	0.025	164.528
5	5	Calibration std 0.05 ppm...	17_JUL_019	1.81	Standard	1229.718	0.050	248.817
6	6	Calibration std 0.075 pp...	17_JUL_020	1.81	Standard	1848.675	0.075	1279.851
7	7	Calibration std 0.1 ppm (...	17_JUL_021	1.81	Standard	2463.691	0.100	955.024
8	8	Calibration std 0.25 ppm...	17_JUL_022	1.81	Standard	6027.421	0.250	645.740
9	9	Calibration std 0.5 ppm (...	17_JUL_023	1.81	Standard	11885.380	0.500	775.932
10	10	Calibration std 1 ppm (...	17_JUL_024	1.81	Standard	23092.500	1.000	2366.876
11	11	Calibration std 1.5 ppm (...	17_JUL_025	1.81	Standard	34823.598	1.500	3129.318
12	12	Blank 1	17_JUL_026	1.81	Blank	0.627		2.702

图3. TargetLynx定量结果的浏览程序显示酸性红26的校准定量结果、校准曲线和多反应监测示例色谱图。

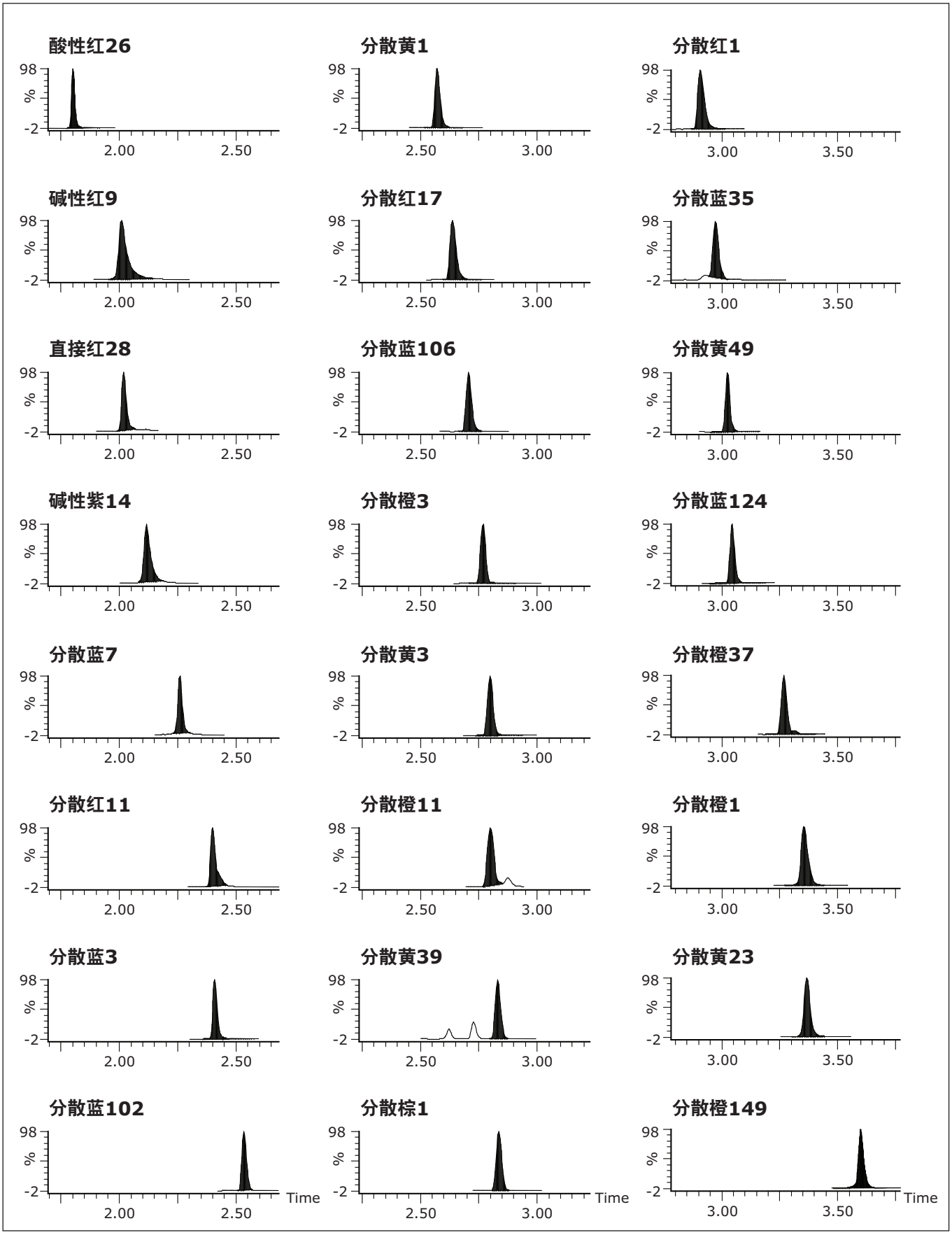


图4. 0.5 μg/mL校准标准品（相当于纺织品样品中的200μg/g）中分散染料、酸性染料、直接染料、碱性染料的多反应监测色谱图。

纺织品分析

如图1所示，多反应监测质量检测方法用于相应的样品制备操作后，以对染料进行定量分析。

使用详细给出的萃取方法（根据DIN 54231）[4]和仪器参数，对以浓度75 µg/g和30 µg/g加标的合成纺织品样品进行分析得到的结果如表4所示。许多实验室所用的分散染料的萃取方法都是以DIN 54231[4]为依据，并将75 µg/g作为实际的检测限。回收率通过将加标的纺织品样品进行萃取与校准标准品进行对比来计算得到。

染料	样品	平行进样结果（µg/g）			平均回收率（空白校正），%	RSD（%）
		1	2	3		
分散棕1	空白样品	ND	ND	ND	-	-
	75 µg/g	67.7	71.6	74.8	95.1	5.0
	30 µg/g	27.7	27.2	27.2	91.2	1.1
分散红1	空白样品	ND	ND	ND	-	-
	75 µg/g	75.3	75.0	78.8	102	2.8
	30 µg/g	33.2	31.8	33.7	110	3.3
分散黄1	空白样品	ND	ND	ND	-	-
	75 µg/g	77.1	80.9	82.2	107	3.3
	30 µg/g	28.0	30.4	29.5	97.7	4.1
分散黄39	空白样品	0.28	0.36	0.40	-	-
	75 µg/g	74.0	80.8	81.6	105	5.4
	30 µg/g	30.3	30.4	31.2	101	1.6
分散黄49	空白样品	ND	ND	ND	-	-
	75 µg/g	71.2	72.6	73.8	96.7	1.8
	30 µg/g	27.3	27.0	27.7	91.1	1.3

表4. 加入选定分散染料的纺织品样品的回收率数据。使用质谱检测得到的结果采用混合校准标准品进行定量。ND=未检出。

三次平行进样得到的回收率较高，范围是91%～110%。

相较于以往方法的其他优点包括：使用Xevo TQD和ACQUITY UPLC H-Class系统联用对染料进行分析时，提高了选择性和灵敏度，缩短了运行时间，从而节约了溶剂成本。

结论

通过Xevo TQD和ACQUITY UPLC H-Class系统联用，开发出一种用于分散染料、酸性染料、直接染料和碱性染料分析的方法，其具有快速、高选择性、高灵敏度的特点。

Xevo TQD配备的快速极性转换技术实现了在一次进样中同时对正离子染料和负离子染料进行UPLC分析。

与传统的标准方法相比，该方法具有如下优势：

- 将HPLC/UV与UPLC/MS分析相比时，使用UPLC分析带来更好的经济效益，包括样品处理量提高五倍，溶剂用量减少86%。
- Xevo TQD和ACQUITY UPLC H-Class系统联用提升了灵敏度和选择性，从而提高了鉴别和定量的置信度。
- 使用沃特世方法开发工具将HPLC方法快速转换为UPLC方法，这些工具包括：沃特世色谱柱选择性图表，帮助选择合适的UPLC色谱柱；ACQUITY UPLC色谱柱校准品，帮助开发UPLC条件。

参考文献

1. BS EN 71-9:2005+A1:2007 Safety of toys. Organic chemical compounds. Requirements.
2. Oeko-Tex Standard 1000, Oeko-Tex International, Ausgabe/Edition 01/2012. [cited 2012 September 20]. Available from: https://www.oeko-tex.com/xdesk/ximages/470/15540_1000-DEF.pdf
3. The Commission of the European Communities. Commission Decision of 9 July 2009 establishing the ecological criteria for the award of the Community Ecolabel for textile products (2009/567/EC). Of cial Journal of the European Union. L 197/70: 70-86, 9th Jul 2009. [cited 2012 September 20]. Available from: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:197:0070:0086:EN:PDF
4. German Institute for Standardization (DIN). Textiles – Detection of dispersed dyestuffs. DIN54231:2005.
5. Lord GA, Gordon DB, Tetler LW, Carr CM. Electrochromatography-electrospray mass spectrometry of textile dyes. J Chromatography A. 1995; 700:27-33.
6. Qiang M, Hua B, Qing Z, Wei M, et al. Determination of carcinogenic and allergenic dyestuffs in toys by LC coupled to UV/Vis spectrometry and tandem mass spectrometry. Chromatographia. 2010; 72:85-93.
7. Morgan S, Vann B, Baguley B, Stefan A. Advances in discrimination of dyed textile bers using capillary electrophoresis/mass spectrometry. Proceedings of the FBI Trace Evidence Symposium, Clearwater, FL, 15 August 2007. [cited 2012 September 20]. Available from: http://projects.nfstc.org/trace/docs/ nal/morgan_dyed_textiles_revised.pdf.
8. Ràfols C, Barceló D. Determination of mono- and disulphonated azo dyes by liquid chromatography–atmospheric pressure ionization mass spectrometry. J Chromatography A. 1997; 777:177-192.
9. Holčapek M, Jandera P, Přikryl J. Analysis of sulphonated dyes and intermediates by electrospray mass spectrometry. Dyes and Pigments. 1999; 43:127-137.
10. Socher G, Nussbaum R, Rissler K, Lankmayr E. Analysis of sulfonated compounds by ion-exchange high performance liquid chromatography-mass spectrometry. J Chromatography A. 2001; 912:53-60.
11. Waters reversed-phase column selectivity chart. [cited 2012 September 20]. Available from: http://www.waters.com/waters/promotionDetail.htm?id=10048475
12. Craven K. HPLC to UPLC Method Migration Using Acrylate Analysis as a Model. Application Note 720004105en. 2011 Sept.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters、ACQUITY UPLC、Xevo和MassLynx是沃特世公司注册商标。TargetLynx、XBridge和The Science of What's Possible是沃特世公司商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

©2012年 沃特世公司。印制于美国。

2012年12月 720004492ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com