

Determinación de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos mediante GC/MS usando cartuchos de extracción líquida con soporte Chem Elut S

Autor

Derick Lucas
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

Los productos de preparación de muestras Agilent Chem Elut S incorporan medios sintéticos para la extracción líquida con soporte (SLE). En este estudio, se utilizaron los cartuchos Chem Elut S para el análisis cuantitativo de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos conforme al método de la norma europea ISO 14362-1. Una solución de citrato sódico e hidróxido sódico que contenía aminas aromáticas se cargó en el cartucho y se retuvo en él durante 15 minutos; después, se eluyó con metil *terc*-butil éter (MTBE) para obtener un extracto y analizarlo por GC/MS. El método se usó para la medida de aminas con una concentración de 30 µg/ml con tres formatos distintos de cartuchos de SLE. En todos los casos se obtuvieron una alta recuperación (entre el 87 y el 119 %) y una excelente reproducibilidad (DER < 9 %). Los resultados demuestran que los productos Chem Elut S ofrecen un alto rendimiento para la determinación de aminas aromáticas por SLE.

Introducción

Los colorantes azoicos son los más utilizados a nivel industrial, ya que suponen las dos terceras partes de todos los colorantes sintéticos¹. Estos colorantes están presentes en muchos productos de uso común, como fibras textiles, alimentos, fármacos y productos cosméticos. Ciertos colorantes azoicos están prohibidos en la industria textil debido a los peligros medioambientales asociados a su degradación por reducción, que da lugar a aminas aromáticas carcinogénicas².

La cuantificación de aminas aromáticas derivadas de los colorantes azoicos correspondientes en productos textiles se describe en el método de la norma europea ISO 14362-1³. Los colorantes azoicos se extraen del material empleando un reflujo de clorobenceno, que posteriormente se seca. El residuo de extracción se trata con un tampón de citrato sódico e hidróxido sódico y una solución de ditionito sódico para reducir los colorantes azoicos a aminas aromáticas. En este estudio se evaluaron la recuperación y la reproducibilidad de la extracción con productos Chem Elut S añadiendo las aminas aromáticas oportunas a una solución de blanco de citrato sódico e hidróxido sódico.

En la SLE convencional, se carga una muestra acuosa en un lecho de material adsorbente que contiene tierra de diatomeas, de tal manera que la muestra acuosa recubre el material formando una fina capa. Después, se hace pasar un disolvente inmiscible con agua a través del lecho de SLE, que extrae los analitos de interés de la muestra con una elevada eficiencia y los eluye en un tubo de recogida para proceder a su análisis, ya sea con o sin tratamiento posterior. Esta característica permite ahorrar una importante cantidad de dinero y tiempo de mano de obra en comparación con la extracción líquido-líquido (LLE) convencional; además, también mejora la reproducibilidad entre usuarios.

Los productos Chem Elut S incluyen un medio sintético que elimina los problemas asociados al material adsorbente convencional (es decir, la tierra de diatomeas). A diferencia de las partículas de tierra de diatomeas, que presentan una forma irregular, variabilidad y una cantidad importante de finos, las partículas de los productos Chem Elut S tienen una distribución estrecha de tamaños de partícula y no contienen finos. Todo esto favorece unas características de flujo idóneas y mejora la reproducibilidad. Además, los productos Chem Elut S también ofrecen una mayor capacidad de retención de la muestra que los adsorbentes de tierras de diatomeas, lo que posibilita una adsorción eficiente de la muestra y reduce la probabilidad de que esta atraviese directamente el material. Los tres formatos grandes de cartuchos Chem Elut S (5 ml y 20 cm³; 10 ml y 60 cm³; y 20 ml y 60 cm³) funcionan mediante carga y elución por gravedad, lo que simplifica el flujo de trabajo.

Este estudio demuestra la alta recuperación y la elevada reproducibilidad del análisis de aminas aromáticas usando cartuchos Chem Elut S y detección por GC/MS (SIM).

Experimento

Todos los reactivos y disolventes fueron de calidad HPLC o calidad analítica. El MTBE se adquirió a VWR-BDH Chemicals (Radnor, PA, EE. UU.). El citrato sódico dihidratado, que se adquirió a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.), se utilizó para preparar un tampón de citrato 0,06 M en agua. El ditionito sódico se adquirió a Sigma-Aldrich para preparar diariamente una solución con una concentración de 200 mg/ml. El hidróxido sódico se adquirió a Sigma-Aldrich en forma de solución al 50 % en agua. Las aminas aromáticas y los patrones internos utilizados se adquirieron a Sigma-Aldrich y AccuStandard (New Haven, CT, EE. UU.) en forma de sólidos y líquidos puros para la preparación de soluciones madre. En la Tabla 1 se indican los tiempos de retención, los números CAS y los iones de GC/MS de las aminas de interés.

Patrones y soluciones

Se prepararon soluciones madre individuales para cada amina con una concentración de 10 mg/ml en agua o DMSO, según procediera. Después, estos patrones se combinaron para preparar patrones de trabajo que se usaron como calibrantes y se añadieron a las muestras.

Equipos y consumibles de preparación de muestras

- Agilent Chem Elut S, 5 ml y 20 cm³ (ref. 5610-2009)
- Agilent Chem Elut S, 10 ml y 60 cm³ (ref. 5610-2010)
- Agilent Chem Elut S, 20 ml y 60 cm³ (ref. 5610-2011)
- Botellas de recogida de vidrio de 40 y 150 ml
- Pipetas Eppendorf

Condiciones del instrumento

- Sistema GC Agilent 7890
- Sistema GC/MSD Agilent 5977

Parámetros del sistema GC/MSD Agilent 5977	
Columna GC	Agilent J&W DB-35ms, 30 m × 250 µm × 0,250 µm (ref. 122-3832)
Liner	Liner ultrainerte de una punta cónica, splitless, con lana de vidrio (ref. 5190-2293)
Volumen de inyección	1 µl
Temperatura del inyector	280 °C.
Flujo	Flujo constante de 2 ml/min
Temperatura del horno	100 °C y aumento de 10 °C/min hasta 320 °C
Temperatura aux.	320 °C
Fuente MS	250 °C
Temperatura del cuadrupolo	180 °C
Modo MS	SIM (los iones se indican en la Tabla 1)

Tabla 1. Aminas de interés y patrones internos, tiempos de retención, parámetros SIM y especificaciones de recuperación³.

Analito	N.º CAS	Tiempo de retención (min)	Ion de cuantificación (m/z)	Ion 1 de cualificación (m/z)	Ion 2 de cualificación (m/z)	Especif. recup. (%) ³
o-toluidina	95-53-4	2,783	106	107	89	> 50
4-cloroanilina	106-47-8	4,511	127	129	100	> 70
2,4,5-trimetilanilina	137-17-7	4,872	120	135	134	> 70
p-cresidina	120-71-8	5,224	122	137	94	No espec.
3-cloro-o-toluidina	87-60-5	5,585	141	106	140	> 70
4-cloro-o-toluidina	95-69-2	5,700	141	106	140	> 70
2,4-diaminotolueno	95-80-7	7,271	121	122	94	> 50
3-nitro-p-toluidina	119-32-4	9,268	152	107	135	> 70
2-naftilamina	91-59-8	9,326	143	115	116	> 70
2-aminobifenilo	90-41-5	9,427	169	168	167	> 70
4-aminobifenilo	92-67-1	11,591	169	168	170	> 70
Antraceno-d ₁₀	1719-06-8	11,784	188	184	189	Patr. int.
p-aminoazobenceno	60-09-3	15,200	197	92	120	> 70
4,4'-oxidianilina	101-80-4	15,836	200	171	108	No espec.
4,4'-diaminofenilmetano	101-77-9	15,937	198	197	106	> 70
Bencidina	92-87-5	16,012	184	185	92	> 70
3,3'-dimetil-4,4'-diaminodifenilmetano	838-88-0	17,363	226	211	120	No espec.
3,3'-dimetilbencidina	119-93-7	17,623	212	213	106	No espec.
4,4'-tiodianilina	139-65-1	18,520	216	184	215	> 70
4,4'-metilenbis(2-cloroanilina)	101-14-4	18,856	231	266	195	No espec.
3,3'-dimetoxibencidina	119-90-4	18,973	244	201	229	No espec.

Preparación de muestras

Procedimiento de pretratamiento de las muestras: Para determinar la eficiencia de la extracción de aminas aromáticas por SLE se siguieron las instrucciones del protocolo de comprobación E.4.6. de la norma ISO 14362-1³. Se preparó una solución de citrato sódico 0,06 M y se ajustó el pH a un valor de 6 con hidróxido sódico. Después, se añadieron aminas aromáticas a la muestra hasta alcanzar una concentración de 30 µg/ml y se mezcló bien el contenido antes de la extracción por SLE. Tras añadir las aminas, la solución adquirió un color naranja/amarillo intenso.

Procedimiento de SLE

1. Se prepararon los cartuchos Chem Elut S con tubos/botellas de recogida.
2. Se transfirió la muestra a un cartucho y se realizó la carga por gravedad (véanse los volúmenes en la Tabla 2).
3. Se retuvo la muestra en el medio durante 15 minutos.
4. Se llevó a cabo una elución por gravedad con metil *tert*-butil éter (véanse los volúmenes en la Tabla 2).
5. Se mezclaron el eluyente y una alícuota en viales para muestreador automático, para proceder al análisis por GC/MS (SIM).

Evaluación de la recuperación y la reproducibilidad

Se evaluaron la recuperación y la reproducibilidad del protocolo con productos Chem Elut S para aminas aromáticas. Para cada cartucho se realizaron tres réplicas con una concentración de 30 µg/ml, según se indica en el método de la norma EN³. Se añadió una concentración de 30 µg/ml de antraceno-d₁₀, empleado como patrón interno con marcaje isotópico, para garantizar que la corrección del volumen fuera correcta. Asimismo, se prepararon calibrantes con una concentración de 7,5 µg/ml en MTBE para considerar un factor de dilución 1:4, según se indica en el procedimiento de SLE.

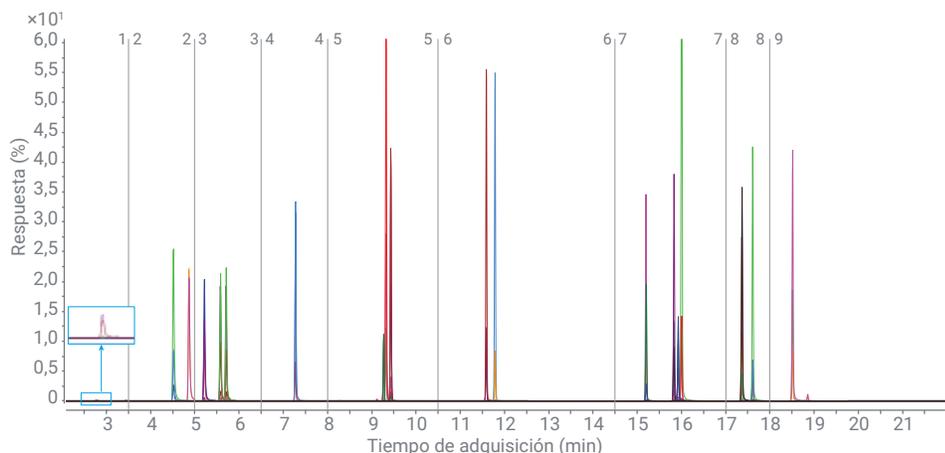


Figura 1. Cromatogramas superpuestos de 20 aminas y un patrón interno con una concentración de 7,5 µg/ml, obtenidos por GC/MS (SIM).

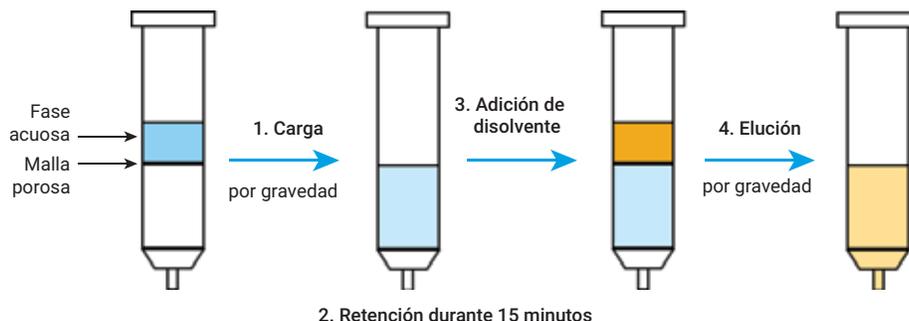


Figura 2. Diagrama del flujo de trabajo general de los productos Agilent Chem Elut S. Incluye los pasos siguientes: 1) carga de la muestra por gravedad; 2) retención de la muestra en el medio de SLE durante 15 minutos; 3) adición de un disolvente inmiscible con agua para extraer los analitos; y 4) elución del disolvente orgánico por gravedad.

Tabla 2. Volúmenes de carga y elución de los cartuchos para la extracción de aminas aromáticas por SLE.

Cartucho	Referencia	Volumen de carga (ml)	Volumen de elución (ml)
5 ml y 20 cm ³	5610-2009	5	20
10 ml y 60 cm ³	5610-2010	10	40
20 ml y 60 cm ³	5610-2011	20	80

Resultados y comentarios

Resultados de recuperación y reproducibilidad

Los resultados obtenidos en el estudio fueron excelentes, tal como se muestra en la Tabla 3. Los valores de recuperación estuvieron comprendidos entre el 87 y el 119 % para los tres formatos de cartuchos Chem Elut S estudiados, con un valor de DER < 9 %. La ampliación del tiempo de retención de la SLE a 15 minutos incrementó entre un 29 y un 38 % la recuperación de *p*-aminoazobenceno, 4,4'-metilénbis(2-cloroanilina) y 3,3'-dimetoxibencidina (Figura 3). Esta mejora de la recuperación se constató para todos los tubos de SLE, tanto para los de medios sintéticos como para los de tierra de diatomeas. El rendimiento fue excepcionalmente bueno con todos los formatos grandes de cartuchos; en particular, con el tubo de 10 ml y 60 cm³, que ofreció una excelente reproducibilidad.

Preparación de muestras con productos Chem Elut S

Los tubos Chem Elut S resultaron sencillos y rápidos de usar, y proporcionaron una elevada recuperación de analitos y una excelente precisión para las aminas aromáticas. El medio sintético se fabrica de forma minuciosa para conseguir que ofrezca una elevada capacidad de retención de muestras, un empaquetado uniforme, una reproducibilidad coherente entre lotes y unas características óptimas de flujo. Los cartuchos Chem Elut S (5 ml y 20 cm³; 10 ml y 60 cm³; y 20 ml y 60 cm³) están diseñados para facilitar el funcionamiento gracias a la carga y la elución por gravedad de las muestras. En esta aplicación se utiliza un tiempo de retención de 15 minutos para garantizar una recuperación excepcional de todos los analitos. Las características de rendimiento fueron uniformes al compararlas directamente con las de los adsorbentes de tierra de diatomeas. Todo esto permite obtener datos de excelente calidad, simplifica el uso y consigue una eliminación eficaz de matriz (es decir, de sales).

Tabla 3. Recuperación y reproducibilidad del análisis de aminas aromáticas carcinogénicas con los productos Agilent Chem Elut S.

Analito	Formato de producto Chem Elut S					
	5 ml y 20 cm ³		10 ml y 60 cm ³		20 ml y 60 cm ³	
	Rec. (%)	DER (%)	Rec. (%)	DER (%)	Rec. (%)	DER (%)
<i>o</i> -toluidina	96,8	5,7	91,9	2,4	91,3	4,5
4-cloroanilina	98,6	3,7	91,3	0,7	92,2	4,7
2,4,5-trimetilanilina	98,8	3,9	92,2	0,8	93,8	4,3
<i>p</i> -cresidina	96,9	4,3	90,6	0,8	91,3	3,9
3-cloro- <i>o</i> -toluidina	97,8	3,7	91,0	1,0	92,3	4,4
4-cloro- <i>o</i> -toluidina	96,4	3,9	89,8	0,6	90,7	4,7
2,4-diaminotolueno	96,7	4,4	90,7	0,7	90,6	4,2
3-nitro- <i>p</i> -toluidina	99,8	4,7	95,0	0,8	94,9	5,0
2-naftilamina	97,8	4,3	91,7	0,8	93,0	5,1
2-aminobifenilo	96,4	3,4	90,7	0,6	92,8	4,4
4-aminobifenilo	97,9	4,3	93,5	0,6	94,1	4,5
<i>p</i> -aminoazobenceno	98,9	6,2	96,2	0,5	95,3	4,1
4,4'-oxidianilina	112,9	6,5	109,5	0,8	107,7	5,8
4,4'-diaminofenilmetano	99,5	6,1	95,3	0,6	95,0	5,5
Bencidina	116,4	5,6	110,4	1,3	111,7	6,1
3,3'-dimetil-4,4'-diaminodifenilmetano	119,6	2,4	114,0	0,5	113,1	5,3
3,3'-dimetilbencidina	103,4	5,4	96,8	0,4	96,8	5,7
4,4'-tiodianilina	107,4	5,9	101,9	1,0	99,7	5,9
4,4'-metilénbis(2-cloroanilina)	107,2	5,8	101,6	1,0	99,6	5,7
3,3'-dimetoxibencidina	91,6	6,1	91,5	8,2	87,1	5,8

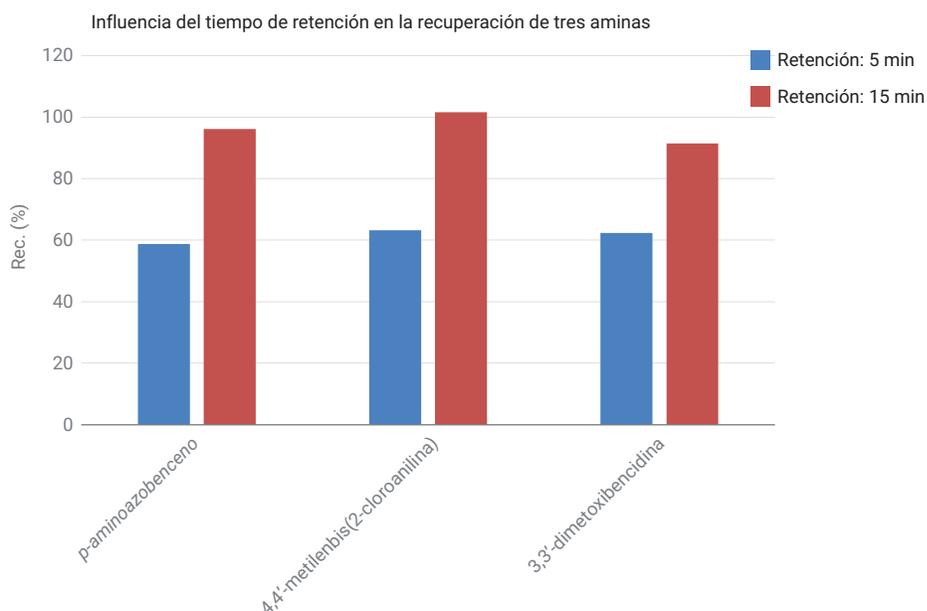


Figura 3. Experimento que demuestra la influencia del tiempo de retención en la recuperación de tres aminas aromáticas. Se utilizaron tubos Agilent Chem Elut S de 10 ml y 60 cm³ (n = 3) para llevar a cabo la extracción de muestras que contenían aminas con una concentración de 30 µg/ml.

Conclusión

Los productos Agilent Chem Elut S incorporan un medio sintético, diseñado para garantizar la uniformidad y una elevada capacidad de retención de muestras acuosas. En este estudio, los productos Chem Elut S ofrecieron una alta recuperación y una elevada reproducibilidad para las aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos, según lo descrito en la norma ISO 14362-1. Su excelente rendimiento quedó patente con los tres cartuchos grandes Chem Elut S estudiados, con los que se obtuvieron valores de recuperación de entre el 87 y el 119 % y una DER < 9 % para las 20 aminas aromáticas. Los productos de preparación de muestras Chem Elut S también ofrecen ventajas para muchos otros tipos de muestras y analitos, que se describen en otras aplicaciones de Agilent.

Referencias

1. Freeman, H. S. Aromatic Amines: Use in Azo Dye Chemistry. *Front. Biosci.* (Landmark Ed.). **2013**, *18*, 145–164.
2. Pielesz, A.; *et al.* Detection and Determination of Aromatic Amines as Products of Reductive Splitting from Selected Azo Dyes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2002**, *53(1)*, 42–47.
3. Textiles. Métodos para la determinación de ciertas aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos. Parte 1: Detección del uso de ciertos colorantes azoicos accesibles con y sin extracción de fibras. Norma EN 14362-1:2012, febrero de **2012**.

www.agilent.com/chem

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Impreso en EE. UU., 24 de junio de 2019
5994-0951ES