

《纺织品 禁限用染料的测定 液相色谱-高分辨质谱法》 国家标准编制说明

一、工作简况

1. 任务来源和起草单位

根据国标委综合[2021]23号“关于下达2021年国家标准制修订计划的通知”，《纺织品禁限用染料的测定 液相色谱-高分辨质谱法》（计划编号：20213106-T-608）由全国纺织品标准化技术委员会归口管理，由青岛海关技术中心等单位负责起草。

2. 背景和意义

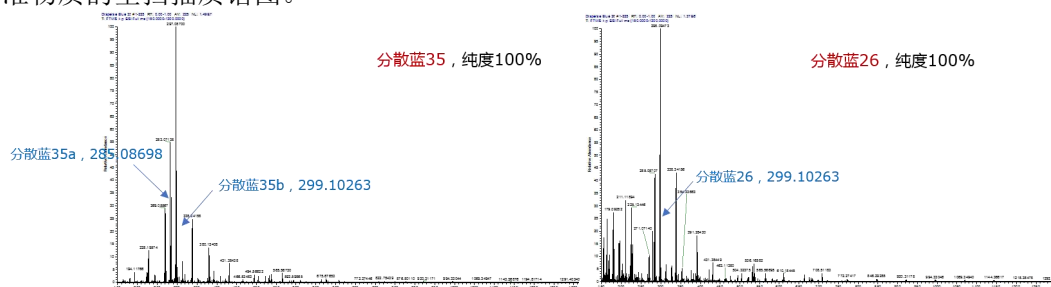
2.1 现有问题和难点

染料是纺织品印染加工环节不可缺少的染整助剂，除了可还原为致癌芳香胺而被禁用的偶氮染料之外，目前国内外在生态纺织品领域同时关注那些本身即具有致癌性、致敏性等危害的禁限用有害染料，其涉及到分散染料、酸性染料、碱性染料、溶剂染料等多种类别，在各种类型纺织纤维中均有存在风险。目前纺织品中染料的检测存在以下现状及难点：

2.1.1 亟需解决“检不对，检不准”

多种染料（如分散黄39、分散蓝3、分散蓝35等）在国内外限制法规中并未明确具体目标化合物信息，且由于合成工艺问题，多种染料甚至染料标准物质（如分散蓝26）通常都含有相当多的杂质，导致检测过程中易出现分析目标物不明甚至错误的情况，在化合物定性方面存在难点，采用传统的色谱法或低分辨质谱法分析的检测结果易出现假阳/阴性。

标准品纯度低于50%，或各品牌纯度、各批次纯度有较大差异的染料举例：Basic Violet 14（Dr.Ehrenstorfer, 30%）、Direct Blue 15（Sigma, 44%）、Direct Blue 38（Dr.Ehrenstorfer, 50%）、Disperse Blue 1（Dr.Ehrenstorfer, 30%；Sigma, 30%）、Disperse Blue 3（Dr.Ehrenstorfer, 20%~50%；Sigma, 20%）、Disperse Orange 1（Sigma, 25%）、Disperse Yellow 3（Dr.Ehrenstorfer, 30%；Sigma, 30%）、Navy Blue 018112（Dr.Ehrenstorfer, 50%）。而下图为标准品纯度显示为100%，但是实际其含有多种成分的化合物举例，分别给出了分散蓝35和分散蓝26标准物质的全扫描质谱图。



2.1.2 亟需解决“检不全，检不快”

近年，纺织品禁限用物质相关法规不断更新，新法规不断出台。目前国内外纺织品中染料的检测标准主要有ISO 16373系列标准、GB/T 20382《纺织品 致癌染料的测定》、GB/T 20383《纺织品 致敏性分散染料的测定》、GB/T 23345《纺织品 分散黄23和分散橙149染料的测定》等，但已有标准的化合物范围已不能覆盖法规规定，且在检测仪器上多采用高效液相色谱法、液相色谱-质谱法、液相色谱-串联质谱法等传统方法，在检测对象上均进行的

是染料分类分组检测（如致癌染料、致敏染料、其他染料），同一样品需进行多次检测，检测过程繁琐、周期长、成本高。如 GB/T 20382，其分析 9 种染料就需要 220min。

2.1.3 现行染料检测国际标准的局限性

ISO 16373-2: 70min 分离 35 个物质，分析时间长，通量一般；Disperse Orange 37 和 Disperse Orange 61 无法区分，Disperse Orange 3 和 Disperse Yellow 3 互相干扰；Direct Black 38、Disperse Blue 7、Disperse Red 17、Disperse Yellow 39、Navy Blue 018112、Acid Red 26，色谱出多峰，可能存在定性误判；LC/MS 法中绝大部分化合物的选择离子为分子离子峰和其 C₁₃ 同位素峰，丰度低、特异性差，无法准确定性。ISO 16373-3: 50min 分离 7 个物质，分析时间长，通量较低；LC/MS 法只给出了一个定性定量离子，定性能力不足；LC-MS/MS 法只给出了一个离子对，定性能力不足。

2.2 本标准的技术特点和优势

本标准涵盖 OEKO 等 12 个国内外法规、ISO 16373-2 等 8 个检测标准中的所有禁限用染料（5 类 53 种）。采用“文献资料 + 权威数据库 + 高分辨质谱鉴定”三重方式，对分散蓝 102 等十余种染料物质进行信息确认和更正。

本标准研究标准物质使用、标准溶液的配制、标准溶液分组等问题。在前处理条件优化方面，修改采用 ISO 16373-2 提取方式，采用阳性样品进行提取时间等因素深度优化。在液相色谱-高分辨质谱方法建立方面，采用“全扫描模式+数据依赖性和数据非依赖性二级扫描”模式，推导碎片离子理论质量数。

本标准开展方法学考察包括：回收率、精密度、线性、基质效应、测定低限等。与 ISO 16373 标准方法进行等效性评估（显著性检验）。进行多实验室的高分辨质谱筛查参数和确认参数的验证。

本标准在 30min 分离 53 个物质，每个化合物提供 1 个精确质量母离子及 1~3 个精确质量子离子（理论推导值），定性识别点（IP=5~10），大大优于法规对禁用物质的识别要求（5 分）。标准使用者无需复杂的质谱条件建立过程，可进行高通量检测、无标准品快筛，数据回溯分析。

2.3 本标准的研究意义和引领性

纺织品中禁限用染料类别多，数量多，法规限制一再增加——亟需一个高通量、无标准品筛查、数据可回溯的检测技术。染料物质本身具有“信息不明确乃至混淆错误”，“标准品纯度低、杂质干扰大”，“化合物色谱和质谱行为复杂”，定性和定量分析均有很高难度，已有方法存在定性能力差、耗时费力的问题——亟待一个选择性高、灵敏度高、可同时快速筛查和准确性的检测技术

本标准基于液相色谱-高分辨质谱技术可有效解决以上染料分析的问题，实现无标品筛查、未知物鉴定、数据可回溯分析。跟跑国际先进标准（如 ISO 20418-2:2018（纺织）、EN 15662:2018（食品）、FSIS CLG-MRM2-2017（食品））。本标准是针对纺织化学残留的难点领域，采用先进技术解决问题的引领性检测标准。

2.4 高分辨质谱技术（HRMS）标准化

HRMS 近 10 年在国内外小分子领域有普遍应用，拥有该类型仪器的机构和使用该技术的研究领域均分布广泛。HRMS 价格近 10 年有显著下降，目前普通的 LC-HRMS 价格与中

端或高端串联四极杆质谱相当，而串联四极杆质谱已是近 20 年残留分析的金标准。近 5 年，已制定发布了诸多基于 LC-HRMS 的标准，如纺织领域的 ISO 标准（ISO 20418-2:2018）、行业标准（SN/T 5236-2020、SN/T 5341-2021），食品环境毒物领域的欧洲标准（EN 15662:2018）、美国农业部标准（CLG-MRM2 FSIS 2017）、中国国家农业标准（农业农村部公告 197 号-9-2019、农业农村部公告第 312 号）、行业标准（SN/T 5493-2023）等。

综上所述，该技术不论是在日常分析，还是在标准化方面，都已具备充分的条件。而本标准，更是对纺织领域分析难度大、问题多的禁限用染料为对象，突出发挥 HRMS 的技术优势，体现标准化趋势。

3. 主要工作过程

2021 年 8 月~12 月，成立起草小组，查阅收集国内外有关标准和文献资料。

2022 年 1 月~12 月，对比分析国内外相关检测技术，确定实验方案，论证方法可行性，进行方法条件试验，形成标准草案。

2023 年 1 月~4 月，进行实验室间试验验证，对相关实验数据和验证结论进行整理，形成标准征求意见稿和编制说明。

2023 年 5 月，发委员及相关单位广泛征求意见。

二、标准编制原则

根据标准制订计划的要求，标准起草小组收集国内外关于测定染料类化合物的研究现状、相关分析方法及其存在的问题，制定了具体的技术路线，由专业技术人员对方法进行条件试验、验证工作、撰写标准文本和编制说明。依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则第 4 部分：试验方法标准》中的各项规定，力求编写的标准和编制说明符合规范化和标准化的要求。

三、主要内容的确定（包括主要试验分析）重点内容

1 禁限用染料的法规限制

Oeko-Tex Standard 100 对于染料的规定分为三部分，分别是“致癌染料及颜料（dyestuffs and pigments classified as carcinogenic）”、“致敏染料（dyestuffs classified as allergenic）”、“其他禁用染料（other banned dyestuffs）”。在 Oeko 的“致癌染料及颜料”部分，有 2 种无机铅盐致癌颜料，不在本节的讨论范围；在 Oeko 的致癌染料（16 种，已剔除颜料）和致敏染料（22 种，全部为分散染料）中，实际上有 2 种染料（分散蓝 1、分散黄 3）是重复出现的，即这 2 种分散染料既有致癌性，也有致敏性，并且对于分散橙 37/59/76（该物质的具体讨论见本节 2.2 部分），既列出了分散橙 37（=59/76），也单独分别列出了分散橙 59、分散橙 76，即这个染料多出现了 2 次；在 Oeko 的“其他禁用染料”部分，共有 4 种染料（碱性绿 4 的 3 种形式只计为一种染料）；此外，2020 版 Oeko 还增加了一种受监测的染料，为碱性黄 2（溶剂黄 34）；2022 版新增一种受监测的染料为分散红 60，但最新的 2023 版又将其删除，鉴于其具有一定危害性，且检出频率较高，本标准将其保留。因此目前 Oeko 中共含有禁限

用染料 39 种。Oeko 的附录 6 和附录 7 专为注重“去毒行动”的企业所开发，在“其他禁用染料”部分由 4 种染料增加到了 11 种，因此总数量提升至 46 种。

限用物质清单（RSL）的目的是要向供应商阐明成品中限制或禁止含有的化学物质，服装及鞋袜国际 RSL 管理工作组限用物质清单（AFRIM-RSL）限制了包括禁用染料、分散染料、海军蓝染料等共 40 种染料，其中分散蓝 35，分别列出了分散蓝 35a（CAS: 56524-77-7）、分散蓝 35b（CAS: 56524-76-6）

美国服装与鞋类协会限制物质清单（AAFA-RSL）与 Oeko 类似，有 2 种染料在列表中重复出现，其限制了共 19 种禁限用染料。另鉴于欧盟法规（EU）2018/1513 对 REACH 法规附件 XVII 的修订，AAFA-RSL 在染料分类中增加了 3 种物质：4-氯-邻甲苯胺盐酸盐、2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐、碱性紫 3，前两者为致癌芳香胺的盐形式。

欧盟生态标签（EU Ecolabel）中分别规定了 9 种具有 CMR（carcinogenic, mutagenic or toxic to reproduction）性质的染料，21 种具有致敏性的染料，与 Oeko 和 AAFA-RSL 相同，也有 2 种染料是重复出现的。另外对于分散橙 37 和分散橙 76，Ecolabel 计为 2 种染料，实际为同一种，因此 Ecolabel 限制了共 27 种染料。

REACH 法规候选清单中包含有 8 种禁限用染料，分别是：第七批发布清单中的 4 种染料：4,4'-二（二甲氨基）-4"-（甲氨基）三苯甲醇、碱性紫 3、碱性蓝 26、溶剂蓝 4（这 4 种物质被定义为高关注物质的前提是其中需含有 $\geq 0.1\%$ 质量分数的米氏酮或米氏碱，第八批发布清单中的 2 种染料：溶剂黄 1（4-氨基偶氮苯）、溶剂黄 3（邻氨基偶氮甲苯），第十批发布清单中的 2 种染料：直接红 28、直接黑 38；

REACH 法规限制清单中含有 13 种禁限用染料，包括有：条目 43（附录 9）中的海军蓝，其限制条件是：该物质或在混合物中含量大于 0.1%（以质量计），不允许投放市场或使用，用于纺织品和皮革的染色；以及条目 72（附录 12）中的分散蓝 1、碱性红 9、碱性紫 3、4-氯-邻甲苯胺盐酸盐、2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐，其限制条件是：自 2020 年 11 月 1 日起，含以上物质的服饰、鞋类产品不得投放市场，分散蓝 1、碱性红 9、碱性紫 3 的限量值是 50 mg/kg。此外，以下 11 种染料出现在条目 28 附录 2 中，列为第 1B 类致癌物质：碱性紫 3，直接黑 38，直接蓝 6，直接棕 95，直接红 28，分散蓝 1，分散橙 149，溶剂黄 1，溶剂黄 3，4-氯-邻甲苯胺盐酸盐，2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐；最后，在条目 75 附录 13 中也有多个染料，因该条目主要与纹身用途有关。

有害化学物质零排放计划生产物质限用清单（ZDHC-MRSL 2.0）中对碱性绿 4 规定了三个条目，分别是碱性绿 4、碱性绿 4 氯化物和碱性绿 4 草酸盐，对分散蓝 35 规定了两个条目，CAS 号分别是 12222-75-2 和 56524-77-7，因此 ZDHC-MRSL 2.0 共限制禁限用染料 32 种。MRSL 2.0 中还给出了另外两个清单，分别是候选清单和归档清单，其中共包括 5 种染料：碱性绿 4（隐性孔雀石绿）、溶剂黄 2、碱性紫 10（罗丹明 B）、溶剂黄 14、碱性黄 2，这几种染料属于目前暂未找到替代品或有证据证明其曾被使用的物质，在评估后也有可能被列入 MRSL 更新版中，其中溶剂黄 2、溶剂黄 14、碱性黄 2 在 Oeko 等法规中已有规定。

GB/T 18885-2020 将有害染料分为五类，分别是“可分解致癌芳香胺染料”、“苯胺”、“致癌染料”、“致敏染料”、“其他禁用染料”，其中“可分解致癌芳香胺染料”和“苯胺”不在标准讨论范围内。GB/T 18885-2020 “致癌染料”比 Oeko 中少 3 种（碱性蓝 26、碱性紫 3、

溶剂黄 3)，共 15 种（其中包括 2 种无机颜料），“致敏染料”与 Oeko 完全相同，共 22 种，其中 2 种分散染料在致癌和致敏染料中重复出现，而分散橙 37/59/76 也分别计为 3 种染料；“其他禁用染料”部分，共有 5 种染料（碱性绿 4 的三种形式分别计为 3 中染料），比 Oeko 少了海军蓝染料。总体来看，除了无机颜料，GB/T 18885-2020 共限制了 34 种染料。

T/CNTAC 8-2018 团体标准中分别规定了致癌染料 12 种，致敏性分散染料 20 种，其中有 2 种染料，它们的情况与 Oeko、AAFA-RSL、Ecolabel、GB/T 18885 相同，为重复项，因此共计 30 种。

从以上分析可以看出，国内外法规中，Oeko-Tex Standard 100 针对“去毒行动”的附录 6 和附录 7 对禁限用染料的数量限制最多，AFIRM-RSL 次之，而 REACH 法规相关清单和 T/CNTAC 8-2018 团体标准中的禁限用染料相对较少。

此外，在 AFIRM 2021 版的“AFIRM RSL 测试表”中，禁用及分散染料在合成纤维、天然和合成混合物以及人造革三种材质中属于 1 级（较高风险），在涂层与印花中属于 2 级（较低风险），而海军蓝染料在合成纤维、天然和合成混合物中属于 2 级（较低风险），以上两类染料在其他纺织品（主要指服装和鞋袜）中均属于 3 级（最低风险）。AFIRM 的风险分级，也为相关产品是否有必要进行染料测试提供了参考和依据。

表 1 禁限用染料的法规限制情况

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
1	酸性红 26 Acid Red 26	•	•	•	•	•			•	•	
2	酸性红 114 Acid Red 114	•	•							•	
3	酸性紫 49 Acid Violet 49		•								
4	碱性蓝 26 Basic Blue 26	•	•	•				•	•		•
5	碱性绿 4 Basic Green 4	•	•	•					•	•	
6	碱性红 9 Basic Red 9	•	•	•	•	•	•		•	•	•
7	碱性紫 1 Basic Violet 1		•								
8	碱性紫 3 Basic Violet 3	•	•	•	•		•	•			•
9	碱性紫 14 Basic Violet 14	•	•	•	•	•			•	•	•
10	碱性黄 2/溶剂黄 34 Basic Yellow 2/Solvent Yellow 34	•	•								
11	直接黑 38 Direct Black 38	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
12	直接蓝 6 Direct Blue 6	•	•	•	•	•	•		•	•	•
13	直接蓝 15 Direct Blue 15	•	•							•	
14	^c 直接蓝 218 Direct Blue 218		•								
15	直接棕 95 Direct Brown 95	•	•	•			•			•	•
16	直接红 28 Direct Red 28	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
17	分散蓝 1 Disperse Blue 1	•	•	•	•	•	•		•	•	•
18	分散蓝 3 Disperse Blue 3	•	•	•		•			•	•	•
19	分散蓝 7 Disperse Blue 7	•	•	•		•			•	•	•
20	分散蓝 26 Disperse Blue 26	•	•	•					•	•	•
21	分散蓝 35 Disperse Blue 35	•	•	•	•	•			•	•	•
22	分散蓝 102 Disperse Blue 102	•	•	•		•			•	•	•
a23	分散蓝 106 Disperse Blue 106	•	•	•	•	•			•	•	•

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
24	分散蓝 124 Disperse Blue 124	•	•	•	•	•			•	•	•
25	分散棕 1 Disperse Brown 1	•	•	•		•			•	•	•
26	分散橙 1 Disperse Orange 1	•	•	•		•			•	•	•
27	分散橙 3 Disperse Orange 3	•	•	•	•				•	•	•
28	分散橙 11 Disperse Orange 11	•	•	•	•	•			•	•	•
29	分散橙 37/59/76 Disperse Orange 37/59/76	•	•	•	•	•			•	•	•
30	^c 分散橙 61 Disperse Orange 61										
31	分散橙 149 Disperse Orange 149	•	•	•			•			•	•
32	分散红 1 Disperse Red 1	•	•	•	•	•			•	•	•
33	分散红 11 Disperse Red 11	•	•	•		•			•	•	•
34	分散红 17 Disperse Red 17	•	•	•		•			•	•	•

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
35	^d 分散红 60 Disperse Red 60										
36	分散红 151 Disperse Red 151			•							
37	分散黄 1 Disperse Yellow 1	•	•	•		•			•	•	•
38	分散黄 3 Disperse Yellow 3	•	•	•	•	•			•	•	•
39	分散黄 7 Disperse Yellow 7			•							
40	分散黄 9 Disperse Yellow 9	•	•	•		•			•	•	•
41	分散黄 23 Disperse Yellow 23	•	•	•						•	
42	分散黄 39 Disperse Yellow 39	•	•	•		•			•	•	•
43	分散黄 39 替代物 Disperse Yellow 39 surrogate										
44	分散黄 49 Disperse Yellow 49	•	•	•		•			•	•	•
45	分散黄 56 Disperse Yellow 56			•							

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
46	分散黄 56-甲基 Disperse Yellow 56-methyl										
47	溶剂蓝 4 Solvent Blue 4			•				•			
48	溶剂黄 1 Solvent Yellow 1	•	•			•	•	•	•	•	
49	溶剂黄 2 Solvent Yellow 2		•	•							
50	溶剂黄 3 Solvent Yellow 3	•	•			•	•	•	•		
51	溶剂黄 14 Solvent Yellow 14		•								
52	海军蓝 Blue Colorant (Navy Blue)	•	•	•	•		•		•		
53	米氏酮 Michler's Ketone	•	•					•			
54	米氏碱 Michler's Base	•	•					•			
55	4,4'-二(二甲氨基)-4''- (甲氨基)三苯甲醇 (溶剂紫 8) 4,4'-bis(dimethylamino)-4''-			•				•			

编号	名称	Oeko-Tex	Oeko-Tex (针对去毒行动)	AFIRM-RS L	AAFA-RSL	Ecolabel	^a REACH Annex XVII	^b REACH SVHC List	ZDHC-MRSL	GB/T 18885-20 20	T/CNTAC 8-2018
	(methylamino)trityl alcohol (Solvent Violet 8)										

^aREACH Annex XVII 是指 REACH 法规限制清单：Substances restricted under REACH。

^bREACH SVHC List 是指 REACH 法规候选清单：Candidate List of substances of very high concern for Authorisation。

^c分散橙 61 为 ISO 16373-2 标准中的检测染料之一。

^d分散红 60 为 2022 版 Oeko-Tex 中“受监控化合物”，2023 版已将其删除。

^e直接蓝 218 的质谱灵敏度低，不纳入本标准检测范围。

1.1 法规和标准的限制情况

Oeko-Tex Standard 100 的产品级别分为四大类，分别为产品级别 I：婴幼儿产品、产品级别 II：直接接触皮肤类产品、产品级别 III：非直接接触皮肤类产品、产品级别 IV：装饰材料。2023 版 Oeko 中，海军蓝规定为 not used（不得使用），其他禁限用染料在这四类产品中的限量值均相同，为 50 mg/kg；在 Oeko 针对“去毒行动”的附录 6 及附录 7 中，海军蓝的规定与附录 4 及附录 5 相同，但是其他致癌致敏染料的要求更为严格，限量值由 50 mg/kg 降低至 20 mg/kg。在 Oeko-Tex Standard 100 Testing Methods 中对禁限用染料的推荐测试方法为有机溶剂提取，色谱法定性定量分析。

AFRIM-RSL 的关注重点为服装和鞋袜，对禁限用染料的限值为 50 ppm，报告限值（应上报超过该限值的测试结果）为 15 ppm，推荐的检测方法为 DIN 54231:2005。

AAFA-RSL 旨在为服装和鞋类公司提供成品家纺、服装和鞋类产品中法律法规限制或者禁止使用的化学物质信息。其中 2 种染料：4-氯-邻甲苯胺盐酸盐、2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐的限值为 30 mg/kg，碱性紫 3 的限值为 50 mg/kg，这 3 种染料未给出测试方法；有 8 种分散染料的限制要求为不得检出（低于检出限），测试方法为 DIN 54231 等 3 个标准；另外有 9 种致癌染料（其中有 2 种染料与上述 8 种分散染料重复列出）的限制要求为禁用，测试方法为 DIN 54231 等 2 个标准；此外，蓝色素的规定为禁止，欧盟最大限值为 1000 mg/kg。

ZDHC-MRSL 2.0 规定了在纺织、服装和鞋类行业供应链在生产过程和相关流程中禁止有意使用的化学物质，并分为“A 组：供应商指南”和“B 组：制剂限值（在化学品供应商购买化学制剂时物质的浓度限值）”。对于致癌性或等效属性的染料，在纺织品、皮革、聚合物（指橡胶、泡沫和胶粘剂）中，“供应商指南”均为不得有意使用，“制剂限值”为 250 ppm，分析方法为 DIN 54231；对于致敏性分散染料，在纺织品中，“供应商指南”均为不得有意使用，“制剂限值”为 250 ppm，分析方法为 LC，而在皮革、聚合物中没有限制；对于海军蓝染料，在纺织品、皮革、聚合物中，“供应商指南”均为不得有意使用，“制剂限值”为 250 ppm，分析方法为 LC。

GB/T 18885-2020 适用于各类纺织品，包括纤维、纱线、织物、制品及其附件，按照产品（包括生产过程各阶段的中间产品）的最终用途分为四类：婴幼儿用品、直接接触皮肤用品、非直接接触皮肤用品、装饰用品。致癌、致敏和其他禁用染料的技术要求为“禁用”，合格限量值为 50 mg/kg。推荐的试验方法为：致癌染料的测定按照 GB/T 20382 执行，致敏染料的测定按照 GB/T 20383 执行，其他禁用染料的测定按照 GB/T 23345 执行。

T/CNTAC 8-2018 的适用范围为家用、装饰用和服用纺织产品，其中致癌染料的限制要求为 30 mg/kg，试验方法 GB/T 20382，致敏性分散染料的限制要求为 50 mg/kg，试验方法为 GB/T 20383。

综上，禁限用染料在国内外各大法规中的限制要求从 20 mg/kg ~ 250 mg/kg 不等。测试标准涉及到 DIN 54231、GB/T 20382、GB/T 20383、GB/T 23345 等。

1.2 法规中染料化合物信息的确认及更正

由于染料物质在法规中存在着信息不明确、不统一、混淆错误的情况，且部分染料的标准物质纯度低、杂质干扰大，进行该类化合物分析时首先需要明确检测对象，弄清其化学信息。通过文献检索对比，使用 SciFinder、PubChem、ChemSpider 等数据库，并借助高分辨

质谱技术，对染料化合物信息进行了确认及更正。

(1) 分散橙 37、分散橙 59 和分散橙 76

DIN 54231 和 ISO 16373-2 将分散橙 37、分散橙 59 和分散橙 76 表述成一种物质，给出的 CAS 号是 13301-61-6，分子式是 $C_{17}H_{15}Cl_2N_5O_2$ 。AAFA-RSL 与 DIN 54231 和 ISO 16373-2 中的规定一致，分散橙 37/59/76 的 CAS 号为 13301-61-6，从 Dr.E 和 Sigma 标准物质证书中获得的信息也是如此。Eco-Label 中分别规定了分散橙 37 (CAS: 12223-33-5) 和分散橙 76 (CAS: 13301-61-6)。Oeko-Tex Standard 100 将分散橙 37、分散橙 59 和分散橙 76 列为同一物质，给出了相同的 C.I. Structure number，但提供了三个 CAS 号，分别为：51811-42-8、13301-61-6、12223-33-5，AFIRM-RSL 与 OEKO 一样，对分散橙 37/59/76 给出了 3 个不同的 CAS 号。通过 SciFinder 数据库检索，51811-42-8、12223-33-5，这两个 CAS 号已被 13301-61-6 取代，即分散橙 37、分散橙 59 和分散橙 76 为同一物质，正确的 CAS 号应为 13301-61-6。

(2) 分散蓝 102、分散蓝 106、分散蓝 124、分散红 151

Oeko-Tex Standard 100、AFIRM-RSL、ISO 16373-2、GB/T 20383 中给出的分散蓝 102 的 CAS 编号均为 12222-97-8，而 Dr.E 标准物质证书中给出的是 69766-79-6，在 SciFinder 数据库中检索发现，分散蓝 102 原来的 CAS 编号 12222-97-8 已被 69766-79-6 取代。

对于分散蓝 106，Oeko-Tex Standard 100、AFIRM-RSL、AAFA-RSL、ISO 16373-2、DIN 54231、GB/T 20383 都给出 12223-01-7 的 CAS 编号，而 Dr.E 和 Sigma 标准物质证书中给出的 CAS 编号为 68516-81-4，在 SciFinder 数据库中检索发现，分散蓝 106 原来的 CAS 编号 12223-01-7 已被 68516-81-4 所取代。

分散蓝 124 在 Oeko-Tex Standard 100、AFIRM-RSL、AAFA-RSL、ISO 16373-2、DIN 54231、GB/T 20383 等法规标准，以及 Sigma 标准物质证书中均显示为 61951-51-7 的 CAS 编号，但是 Dr.E 标准物质证书中给出该物质的 CAS 编号为 15141-18-1。在 SciFinder 数据库中检索核实，61951-51-7 的编号已被 15141-18-1 所取代。

分散红 151 是 AFIRM-RSL 中限制的一种染料，法规中给出的 CAS 号为 61968-47-6，而 Dr.E 标准品厂商提供的该物质的 CAS 号为 70210-08-1，经 SciFinder 数据库检索核实，61968-47-6 的编号已被 70210-08-1 所取代。

(3) 分散黄 49

Oeko-Tex Standard 100 中未给出分散黄 49 的 CAS 编号，AFIRM-RSL、ISO 16373-2、GB/T 20383 给出的 CAS 编号为 54824-37-2，在 SciFinder 数据库中用该 CAS 号查得的化合物没有提供具体分子式和结构图信息，在 PubChem 数据库中用该 CAS 号查到的化合物分子式为 $C_{21}H_{22}N_4O_2$ 。而 Dr.E 标准物质证书中给出分散黄 49 的 CAS 编号为 6858-49-7，分子式为 $C_{22}H_{22}N_4O_2$ 。王建平等 (2009) 根据染料索引库提供了该化合物的结构图信息 (见表 3-1 中分散黄 49)，我们使用该结构图在 SciFinder 数据库查询对应化合物的 CAS 编号为 6858-49-7，分子式为 $C_{22}H_{22}N_4O_2$ 。该分子式与目前各个文献报道的分散黄 49 的质谱准分子离子峰 ($[M+H]^+$, $m/z=375$) 可以对应。

(4) 分散黄 39

Oeko-Tex Standard 100、AFIRM-RSL、ISO 16373-2、GB/T 20383 中提供的 CAS 编号

12236-29-2, 在 SciFinder 数据库中查询对应化合物的相关信息: 分子式是 $C_{17}H_{16}N_2O$, 相对分子质量为 264, 但现有文献报道分散黄 39 质谱分析得到的均为质荷比为 291 的准分子离子峰。

经过相关学者长时间的追踪调查发现: 目前相关资料上公布的分散黄 39 的化学结构与实际生产的染料分散黄 39 的化学结构并不一致。王建平等 (2009) 给出了该化合物的结构图 (见表 1 中分散黄 39), 在 SciFinder 数据库中我们通过该结构图查询其 CAS 编号为 56208-37-8, 分子式为 $C_{18}H_{14}N_2O_2$, 从结构上看, 该化合物与 CAS 编号 12236-29-2 对应的化合物并无明显关联。

将购入的分散黄 39 标准物质进行 Orbitrap 高分辨质谱分析, 其一级母离子实测值与理论值 ($m/z=291.11280$) 的质量偏差小于 5 ppm, 母离子的 C_{13} 同位素峰的质量数和丰度比也符合理论推导。使用 Mass Frontier 软件模拟推断该物质的二级碎片离子, 并与实际采集的二级碎片离子比对, 大部分吻合。因此, 基本确认文献给出的分散黄 39 的分子式和结构图是正确的。

此外, 目前 Dr.E 标准品公司可以提供两种不同的分散黄 39 标准物质, 名称分别为 Disperse Yellow 39 和 Disperse Yellow 39 surrogate。其中 Disperse Yellow 39 标准物质证书中给出的 CAS 号为 12236-29-2, 分子式为 $C_{17}H_{16}N_2O$, 分子量为 264.3。Disperse Yellow 39 surrogate 标准物质证书给出的 CAS 号为 56208-37-8, 分子式为 $C_{18}H_{14}N_2O_2$, 分子量为 290.3。从分散黄 39 染料的实际使用来看, 购置后者标准物质 (Disperse Yellow 39 surrogate) 进行分析检测更为合理一些。但从遵循法规规定角度出发, 检测分析分散黄 39 (Disperse Yellow 39) 也是合理的。因此, 本标准将两种染料均纳入了检测范围。

(5) 分散蓝 3

Oeko-Tex Standard 100、AFIRM-RSL、ISO 16373-2、和 GB/T 20383 中提供的分散蓝 3 的 CAS 编号为 2475-46-9, 在 SciFinder 数据库中用该 CAS 号查询的物质无具体分子式和结构图信息, 附件信息中显示该物质的 EC 编号为 219-604-2, 在欧洲化学物质信息系统 (ESIS) 中查询此 EC 编号, 也没有给出对应物质的分子式和结构图信息, 但显示该物质的名称为 “9,10-anthracenedione, 1,4-diamino-, N,N'-mixed 2-hydroxyethyl and methyl derivatives”。目前已发布的检测标准和报道文献中测定分散蓝 3 的分子式为 $C_{17}H_{16}N_2O_3$, 在 ESIS 系统中通过此分子式查询物质信息, 得到的化合物物质名称为 “1-[(2-hydroxyethyl)amino]-4-(methylamino) anthraquinone”, CAS 编号为 86722-66-9。该 CAS 号在 SciFinder 数据中进行查询, 得到的物质信息与 ESIS 系统中的信息一致。

从 ESIS 的物质命名可以看出, CAS 编号 2475-46-9 的物质应该为一系列化合物的混合物, 而 CAS 编号 86722-66-9 的物质为其中一种特定化合物。法规限定的是这类混合物, 而检测是以其中一种化合物为代表。目前, 各个标准品厂商提供的分散蓝 3 的标准物质, 标注的 CAS 号仍为 2475-46-9, 其中的主要成分为分子式 $C_{17}H_{16}N_2O_3$ 的化合物 (CAS: 86722-66-9)。

(6) 分散蓝 35 和分散蓝 26

分散蓝 35 的信息较为混乱, Oeko-Tex、AAFA-RSL 和 GB/T 20383 中提供的 CAS 编号为 12222-75-2, AFIRM-RSL 和 ISO 16373-2 对于分散蓝 35 给出两个 CAS 号, 分别为 56524-77-7 和 56524-76-6。SciFinder 数据库中对应 CAS 编号为 12222-75-2 的化合物无具体

分子式和结构图信息，在其他网站上查到对应该编号的物质是蒽醌的一种苯氧衍生物。而在 SciFinder 数据库中对应 CAS 编号为 56524-77-7 的分子式为 $C_{15}H_{12}N_2O_4$ ，CAS 编号为 56524-76-6 的分子式为 $C_{16}H_{14}N_2O_4$ 。

事实上，分散蓝 35 是十余种蒽醌衍生物组成的混合物，其中主要成分有三种，见图 1-1。图 1-1 (a) 为分散蓝 35 的合成原料，图 1-1 (b) 和图 1-1 (c) 分别对应分散蓝 35 的 CAS 编号 56524-77-7 和 56524-76-6 的结构图。分散蓝 35 的发明者将氨基甲基化设计为分散蓝 35 的强制合成步骤，因此分散蓝 35 是由残留的未反应完全的 (a)、生成的 (b) 和 (c) 及少量其他副产物组成。分散蓝 35 所包含的这些物质中 (a) 也是其他分散染料的起始原料（如非致敏性的分散蓝 56），(b) 和 (c) 是分散蓝 35 引起过敏反应的原因，又由于在其他染料中没有发现 (b) 和 (c)，仅在分散蓝 35 中有这两种物质，因此，STARINK 等 (2012) 建议将 (b) 和 (c) 作为分散蓝 35 的指示物质，即在做分散蓝 35 的定量检测时，将 (b) 和 (c) 之和作为分散蓝 35 的检测值。

分散蓝 26 在 Oeko-Tex 中没有提供 CAS 编号，但是在 AFIRM-RSL、ISO 16373-2、和 GB/T 20383 中给出了 CAS 编号为 3860-63-7。通过 SciFinder 数据库查询该编号所对应的分子式为 $C_{16}H_{14}N_2O_4$ 。根据染料索引，分散蓝 26 的结构图为图 1-2 (c)，其与图 1-1 (c) 互为同分异构体。市售的分散蓝 26 也通常为混合物，但是其中只有图 1-2 (c) 对应的物质被认为是致敏源，因此检测分析时，只分析该物质。

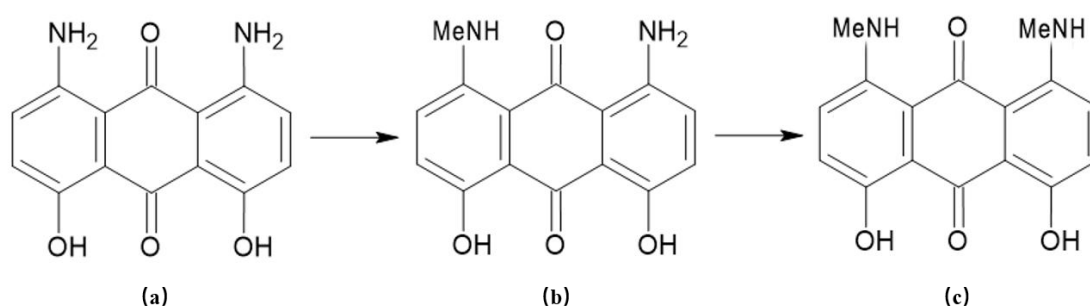


图 1-1 分散蓝 35 相关化合物的结构图

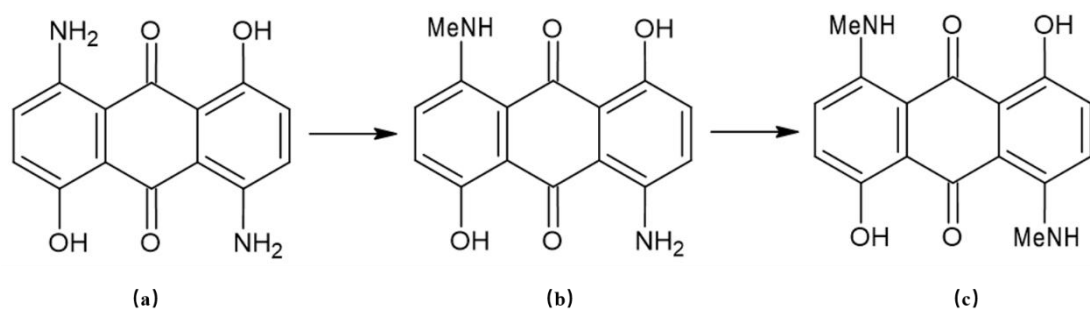


图 1-2 分散蓝 26 相关化合物的结构图

(7) 碱性绿 4 和碱性黄 2

法规 Oeko-Tex Standard 100 中规定了碱性绿 4 的三种形式，分别为 Basic Green 4 (chloride)、Basic Green 4 (free) 以及 Basic Green 4 (oxalate)。其中 Basic Green 4 (chloride) 为碱性绿 4 的氯化物（或称做盐酸盐），CAS 号为 569-64-2；Basic Green 4 (free) 为碱性绿 4 的游离碱形式，CAS 号为 10309-95-2；Basic Green 4 (oxalate) 为碱性绿 4 的草酸盐，Oeko

给出其两个 CAS 号，分别为 2437-29-8 和 18015-76-4。AFIRM-RSL 也给出了碱性绿 4 的三个 CAS 号，除没有碱性绿 4 草酸盐的 CAS 号 18015-76-4 之外，其它 3 个 CAS 号与 Oeko 相同。

通过 SciFinder 数据库查询核实碱性绿 4 草酸盐的两个 CAS 号，其中 CAS 号 2437-29-8 的分子式为 $C_{23}H_{25}N_2 \cdot C_2HO_4 \cdot 0.5C_2H_2O_4$ ，CAS 号 18015-76-4 的分子式为 $C_{23}H_{25}N_2 \cdot \text{Unspecified}$ 。另从 SciFinder 给出两者的名称，基本可以推断：CAS 号 2437-29-8 的物质，其中碱性绿 4 阳离子和草酸氢根离子及草酸的比例为 2:2:1，CAS 号 18015-76-4 的物质，其中碱性绿 4 阳离子所带的草酸或草酸根离子的具体组成或比例不确定，应是一类混合物。目前，购买的碱性绿 4 标准物质多为其盐酸盐（CAS: 569-64-2）或草酸盐（CAS: 2437-29-8）形式。碱性绿 4 盐酸盐和草酸盐在质谱分析的化合物形式均为： $[C_{23}H_{25}N_2]^+$ 。

法规 Oeko-Tex Standard 100 中给出碱性黄 2(溶剂黄 34)两个 CAS 号，分别为 2465-27-2、492-80-8。通过 SciFinder 数据库分别对这两个 CAS 号进行查询，CAS 号为 2465-27-2 所对应的分子式为 $C_{17}H_{21}N_3 \cdot HCl$ ，对应碱性黄 2 的盐酸盐形式，CAS 号为 492-80-8 所对应的分子式为 $C_{17}H_{21}N_3$ ，对应碱性黄 2 的游离碱形式。碱性黄 2 的游离碱和盐酸盐在质谱分析的化合物形式均为： $[C_{17}H_{21}N_3]^+$ 。

(8) 海军蓝

海军蓝 (Navy Blue) 染料，也称作蓝色素 (Blue colourant)，是一种混合物，属于偶氮染料范畴，它由两种成分组成，分子式分别为 $C_{39}H_{23}ClCrN_7O_{12}S \cdot 2Na$ 和 $C_{46}H_{30}CrN_{10}O_{20}S_2 \cdot 3Na$ 。海军蓝在 Oeko-Tex 中未给出 CAS 编号，在 REACH 法规限制清单（条目 43 附录 9）、AFIRM-RSL 和 ISO 16373-2 中给出了分子式为 $C_{39}H_{23}ClCrN_7O_{12}S \cdot 2Na$ 物质的 CAS 编号：118685-33-9，目前的检测标准以及能购买到的标准品均为该化合物，其又称为 Navy Blue 018112。

(9) 溶剂黄 1、溶剂黄 3、4-氯-邻甲苯胺盐酸盐、2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐

溶剂黄 1、溶剂黄 3、4-氯-邻甲苯胺盐酸盐和 2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐的 CAS 号分别为 60-09-3、97-56-3、3165-93-3、39156-41-7，这 4 个物质被法规列为禁用染料的同时，又被列为致癌芳香胺。其中溶剂黄 1 和溶剂黄 3 在芳香胺检测中通常叫做 4-氨基偶氮苯和邻氨基偶氮甲苯，而 4-氯-邻甲苯胺盐酸盐、2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐仅在 AAFA-RSL 法规中被列为染料，其来源是欧盟 REACH 法规限制清单条目 72（附录 12）。该附录中包括了 4 种芳香胺的盐，不清楚为何 AAFA 中仅从其中选出了 2 种作为染料列入 RSL，将这 4 种芳香胺的盐在染料索引数据库 (<https://colour-index.com/>) 通过 CAS 号进行检索，仅 2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐有匹配结果，其 C.I. Name（染料索引名）为“Oxidation Base N/A 12:1”。本标准没有将 4-氯-邻甲苯胺盐酸盐和 2,4-二氨基苯甲醚硫酸盐纳入检测范围。

(10) 溶剂蓝 4 及 4,4'-bis(dimethylamino)-4'-(methylamino)trityl alcohol (溶剂紫 8)

溶剂蓝 4 在 REACH-SVHC 中给出 CAS 号为 6786-83-0，分子式为 $C_{33}H_{33}N_3O$ ，在 AFIRM-RSL 中给出的 CAS 号为 6786-83-0，该 CAS 号在 SciFinder 数据库检索出的物质的分子式为 $C_{33}H_{33}N_3O$ 。购买 Sigma 的溶剂蓝 4 标准物质，其证书上提供的分子式为 $C_{33}H_{33}N_3$ ，另购买了 TRC (Toronto Research Chemicals) 的溶剂蓝 4 标准物质，其证书上提供的分子式为 $C_{33}H_{33}N_3O$ ，这两个不同的分子式对应的质谱准分子离子峰 ($[M+H]^+$) 的精确质量数分别

应为 472.27472 和 488.26964。

分别将 Sigma 和 TRC 的标准溶液进行 Orbitrap 高分辨质谱分析，发现两者的质谱信息一致。溶剂蓝 4 的一级质谱图中有单一特征离子，质荷比 (m/z) 为 470.25833，与碱性蓝 26 的质荷比 (m/z) 470.25907 接近，质量偏差小于 5 ppm，二级质谱图中的典型碎片离子为 454.22702、349.16910、333.13791 等，也与碱性蓝 26 的碎片离子和相对丰度一致。因此，推测目前市场上流通的溶剂蓝 4 实际成分为碱性蓝 26，分子式为 $C_{33}H_{31}N_3$ 。

4,4'-bis(dimethylamino)-4"- (methylamino)trityl alcohol (溶剂紫 8) 的情况与溶剂蓝 4 相似，法规 REACH-SVHC、标准品厂商 TRC 给出的 CAS 号和分子式相同，均为 561-41-1 和 $C_{24}H_{29}N_3O$ ，AFIRM-RSL 法规中给出的 CAS 号也为 561-41-1，而分子式为 $C_{24}H_{29}N_3O$ 的质谱准分子离子峰 ($[M+H]^+$) 的精确质量数应为 376.23834。

将来源为 TRC 的标准溶液进行 Orbitrap 高分辨质谱分析，溶剂紫 8 在一级质谱图中的特征离子的质荷比 (m/z) 为 358.22772，与碱性紫 1 的质荷比 (m/z) 358.22777 接近，质量偏差小于 5 ppm，二级质谱图中的典型碎片离子为 342.19647、237.13863 等，也与碱性紫 1 的碎片离子和相对丰度比一致。因此，推测目前市场上流通的 4,4'-bis(dimethylamino)-4"- (methylamino)trityl alcohol 实际成分为碱性紫 1。

(11) 碱性蓝 26 和碱性紫 3

Oeko-Tex Standard 100 对 2 种染料 (碱性蓝 26 和碱性紫 3)，REACH 法规候选清单中对 4 种染料 (溶剂紫 8、碱性紫 3、碱性蓝 26、溶剂蓝 4) 的限制均有一个前提条件，是该染料中需含有大于等于 0.1% 米氏酮和米氏碱，与此类似的是 REACH 法规限制清单、AAFA-RSL 对碱性紫 3 的限制是该染料中需含有大于等于 0.1% 米氏酮。米氏酮和米氏碱属于致癌类芳香胺化合物，本身也已被列入 REACH 法规候选清单，其主要用于三苯甲烷染料制造的中间体，而这类染料被用于羊毛、蚕丝、棉、腈纶、麻等纤维的染色。本标准将米氏酮和米氏碱纳入检测范围。

(12) ISO 16373 出现的问题分析

ISO 16373-2:2014 国际标准是目前国内外检测染料化合物数量较多，发布时间较新的一个标准，我们对该标准中的染料化合物信息进行了详细的核查，发现仍然存在混淆错误的问题，包括：分散蓝 102、106、124 三个物质的 CAS 号仍为 12222-97-8、12223-01-7 和 61951-51-7，分散蓝 102 原 CAS 号已被 69766-79-6 取代，分散蓝 106 原 CAS 号已被 68516-81-4 取代，而分散蓝 124 原 CAS 号已被 15141-18-1 所取代；直接黑 38 的 CAS 号有误，应为 1937-37-7，而不是 1937-37-1；溶剂黄 1 的 CAS 号有误，应为 60-09-3，而不是 60-09-4；分散黄 49 的分子式提供准确，但 CAS 号仍然有问题，应为 6858-49-7，而不是 54824-37-2。

ISO 16373-3:2014 国际标准是采用三乙胺/甲醇溶液提取致癌染料的检测标准，其列出了 11 种致癌染料，但是在该标准附录 A “色谱质谱条件” 中，HPLC/DAD 法、LC/MS 法、LC-MS/MS 法均只给出了其中 7 种染料的检测参数，缺少另外 4 种染料，分别为：Disperse Blue 1、Basic Violet 14、Direct Blue 6、Direct Brown 95。

2 纺织品中禁限用染料检测技术现状及进展

2.1 标准物质使用, 标准溶液的配制及分组

由于禁限用染料标准物质的溶解性影响定量的准确性, 所以标准溶液的配制就显得非常重要。目前, 大部分学者都采用甲醇配制标准溶液, 浓度在 100~1000 mg/L 之间不等, 配置浓度差别较大的原因可能如下: 第一, 染料的生产工艺不同可能会引起标准品纯度的差异; 第二, 部分学者在配制标准溶液时可能没有进行纯度的换算; 第三, 部分染料的溶液颜色较深, 可能无法观察其是否完全溶解。

尝试用甲醇来配制表 3 涉及的约 50 种染料的标准储备溶液, 浓度为 100 mg/L, 并放置在 -18 °C 下储存。按染料的不同类别来看, 酸性染料, 碱性染料, 溶剂染料等均可在甲醇中完全溶解, 并经长时间放置后无染料固体物析出; 分散染料大部分可以在甲醇中溶解, 但分散蓝 1、分散蓝 3、分散蓝 35、分散蓝 26、分散红 151 等, 在用甲醇配制后, 看似溶解, 但长时间放置后有固体沉淀出现。从报道的文献来看, 陈美娟等 (2006) 用 1%冰醋酸的水溶液 (内加 0.3%的三乙胺):乙腈=1:1 配制 8 种分散染料, García-Lavandeira 等 (2010) 用乙腈:水=6:4 配制了 23 种分散染料, ISO 16373-2 标准中用吡啶:水=1:1 配制了 35 种染料的标准溶液, 可以看出分散染料在含水的有机溶剂中更容易溶解。由于标准储备液常放在 -18 °C 下冷冻储存, 当水相比例较高时, 可能会出现低温结冰情况, 所以推荐使用有机相:水 \geq 1:1 的溶剂来配制染料。本标准经实验证明, 大部分在甲醇中溶解性较差的染料均可在甲醇水混合溶液或乙腈水混合溶液中溶解, 而分散红 151 仅可在吡啶水混合溶液中完全溶解。

表 3 染料标准溶液的配制情况

染料类别	溶剂	有效浓度	参考文献
35 种致癌致敏染料	吡啶:水=1:1	/	ISO 16373-2:2014
7 种致癌染料	甲醇	100~1000 mg/L	ISO 16373-3:2014
9 种致癌染料	甲醇	200 mg/L	GB/T 20382-2006
20 种致敏性分散染料	甲醇	200 mg/L	GB/T 20383-2006
分散黄 23、分散橙 149	甲醇	500 mg/L	GB/T 23345-2009
9 种致癌染料	甲醇	100 mg/L	SN/T 3227-2012
蓝色素 (海军蓝)	甲醇	1000 mg/L	SN/T 3333-2012
45 种禁限用染料	甲醇, 吡啶:水=1:1	100 mg/L	SN/T 5236-2020
8 种致敏性分散染料	二甲基甲酰胺	500 mg/L	黄芳等, 2006
8 种致敏性分散染料	1%冰醋酸的水溶液 (内加 0.3%的三乙胺):乙腈=1:1 碱性染料: 酸化乙腈 (pH=2.5):水 (pH=2.5)=50:50	100 mg/L	陈美娟等, 2006
15 种碱性染料和 14 种分散染料	分散染料: 酸化乙腈 (pH=2.5):水 (pH=2.5):甲醇 =45:45:10	100 mg/L	Petrick 等, 2006
9 种致癌染料	甲醇	1000 mg/L	丁友超等, 2008
9 种致癌染料	甲醇	200 mg/L	Ding 等, 2009

染料类别	溶剂	有效浓度	参考文献
16 种染料	甲醇	1000 mg/L	Ma 等, 2010
23 种染料	乙腈:水=60:40	/	García-Lavandeira 等, 2010
12 种分散染料	甲醇	100 mg/L	方慧文等, 2010
15 种工业合成染料	甲醇:水=1:1	1000 mg/L	刘敏等, 2011
22 种有害分散染料	甲醇	1000 mg/L	丁友超等, 2011
9 种致癌染料	甲醇	200 mg/L	著者, 2013
11 种致癌染料	甲醇	200 mg/L	毛叔禄等, 2013
17 种分散染料	甲醇	1000 mg/L	Zhou 等, 2014
22 种致敏性分散染料	甲醇	200 mg/L	著者, 2015
18 种酸性染料	水	/	李双等, 2020

Oeko-Tex Standard 100 禁用的禁限用染料分属酸性、碱性、直接和分散染料等, 性质差异较大, 因此, 一些学者对标样的分组问题进行了分析、比较和研究。王建平等(2009)在用 HPLC-DAD 法检测 9 种致癌染料时指出, 部分染料的 HPLC 出峰时间非常接近, 且两个带阳离子的碱性染料不能与含阴离子的直接和酸性染料混用, 商品化后的分散染料一般都含阴离子表面活性剂, 也不宜与碱性染料混合。两个碱性染料的化学结构差异很小, 且产品一般为混合物, 因此, 也必须单独配制, 最终将标准溶液分成 4 组。Ding 等(2009)则根据染料在溶液中的电荷状态不同及每种染料在 ESI 源中检测模式的不同, 将分析的 9 种致癌染料分成了酸性红 26、直接黑 38、直接蓝 6、直接红 28 和碱性红 9、碱性紫 14、分散蓝 1、分散橙 11、分散黄 3 这 2 组。Ma 等(2010)根据各化合物的性质及色谱行为将其分析的 16 种染料分为碱性紫 3、酸性紫 49、分散蓝 3、酸性红 26、分散蓝 106、分散黄 3、分散红 1 和碱性红 9、碱性紫 1、分散蓝 1、分散蓝 124、溶剂黄 1、分散橙 3、溶剂黄 3、溶剂黄 2、分散橙 37 这 2 组。在用 HPLC-DAD 法分析 20 种致敏分散染料时, 王建平等(2006)认为, 由于无法很好地解决杂质干扰和吸光度差异的问题, 即使在各分散染料的相对保留时间几乎没有重叠的情况下, 标准溶液分组仍是非常必要的。赵洁等(2011)用 HPLC-ESI-MS/MS 分析 26 种禁限用染料时将 26 种染料分成 2 组: 碱性红 9 和碱性紫 14 为一组, 剩下的其他染料为另一组。针对文献资料中报道的对于致癌染料要进行分组检测的问题, 本标准进行了较为简单的研究: 本实验配制 4 类的 9 种致癌染料进行了标准溶液稳定性实验, 结果表明, 在 4 mg/L 浓度水平下, 染料混合标准溶液于 4°C 下避光存放 45 d 内, 与各自的单标标准溶液的浓度变化差异不大, 比值范围在 87%~110%之间, 对定量无大的影响。

总体来说, 如采用 HPLC 检测, 在配制标准混合溶液时, 不但需要考虑染料之间的相互作用, 还需考虑色谱分离情况, 采用 LC-MS 检测, 需要考虑性质差异化合物对质谱离子化的影响。此外, 由于染料成品的纯度不高, 常会在染料标准物质中出现含有多个类似结构化合物的情况, 比如碱性紫 1 标准物质种可能含有与其本身相当含量的碱性紫 3, 而碱性紫 3 标准物质可能含有一定量的碱性紫 1。对于各类染料是否在溶液中存在相互反应, 反应程度与混合存放时间的关系, 混合溶液在质谱离子化过程中是否存在相互影响等问题, 都还有待于进一步研究。

2.2 样品前处理

从德国标准的定义来看,检测纺织品中禁限用染料的含量是指检测其中可萃取部分的含量而不是绝对量,但是 Oeko-Tex、AFIRM-RSL 等法规对部分染料的限制为“禁用”,样品提取效率的高低决定了能否可靠判定样品中是否含有禁用禁限用染料。样品前处理的主要目标是从样品中提取染料,提高分析的准确性并获取更低的检测限,而大部分染料与纤维之间结合紧密,染色牢度较高,不易从纤维上剥色;对于纺织品中含量较低的禁限用染料,若所采用提取方法的提取效率较低,可能会因提取量较低难以检出而导致结果的误判,给检测机构及相关企业带来一定的风险,因此如何更有效地提取纺织品纤维中的染料成为至关重要的一点。

2.2.1 样品剪碎程度

纺织品样品剪碎程度影响样品的代表性,有可能影响纺织品中禁限用染料提取效率的高低,目前 GB/T 20382-2006 和 GB/T 20383-2006, SN/T 5236-2020、SN/T 3227-2012 和 SN/T 3333-2012 均将纺织品样品剪碎至 5mm × 5mm 以下,而 2014 年发布的 ISO 16373-2 和 ISO 16373-3 则要求纺织品样品剪碎至 1 cm² 以下即可。

2.2.2 样品提取

法规中涉及的数十种禁限用染料在化学结构、组成和性质上差异较大;而且染色时,上染的纤维种类和染色机理也不同,因此,建立一个统一、简便、快速而有效的样品预处理方法有较大困难。目前, DIN 54231:2005、GB/T 20382-2006 和 GB/T 20383-2006 及众多学者普遍采用甲醇超声提取纺织品纤维中的致癌致敏禁限用染料,其存在的主要问题是对于不同类型的纺织样品和不同性质的染料化合物,无法保证有效的提取效率,国际实验室能力验证的数据报告也说明了 DIN 54231:2005 标准方法在全球各个实验室得到的回收率和再现性是比较差的。

García-Lavandeira 等(2010)考察了甲醇提取溶剂体积、连续提取次数及超声提取时间等因素对分散染料提取效率的影响,并设计了正交响应面试验设计(orthogonal response surface experimental design)确定提取过程的最佳条件。丁友超等(2008)研究了超声频率和超声时间对染料提取量的影响:在纤维存在时,超声时间太长或超声功率太大,致癌染料的提取率都会下降,其原因可能是在超声过程中,染料处于对纺织品纤维的解吸和吸附动态平衡过程中。王建平等(2006)在研究致癌染料分析方法的过程中尝试通过延长超声时间以提高回收率,结果显示延长萃取时间反而会促进某些染料向纤维内部的渗透。方慧文等(2010)研究了在相同超声提取时间下,乙腈、甲醇和乙醇的提取效率,结果表明,乙醇的提取效率稍高于甲醇,但都高于乙腈,由于甲醇可直接上机测定,故选用甲醇做提取溶剂。

为了获得更高的提取效率,丁友超等(2008)就不同类别纤维中致癌染料的提取条件进行了研究:采用甲醇超声提取的方法仅能提取各类纤维上的部分染料,而天然纤维上的直接染料和酸性染料、腈纶上的碱性染料及涤纶上的分散染料分别用吡啶/水(4/3, v/v)蒸汽剥色法、吡啶/甲酸/水(20/5/75, v/v/v)蒸汽剥色法及氯苯蒸汽剥色法才能够完全提取。而对于分散染料,丁友超等(2011)采用氯苯蒸汽剥色法能完全提取各类纤维上的分散染料,经氯苯蒸汽回流提取后,样品中分散染料的检测值为超声提取结果的 2.3~11 倍。赵珊红等(2010)分析比较了纺织品上 20 种分散致敏染料所适合的提取溶剂,并通过同一阳性样品分别进行超声提取和加速溶剂萃取来考察不同提取条件对提取效率的影响,实验结果表

明：甲醇超声提取的效率远低于加速溶剂萃取，在甲醇、甲醇+丙酮（1:1, v/v）和甲醇+丙酮（1:2, v/v）做提取溶剂时，甲醇+丙酮（1:2, v/v）的提取效率最好。

对于玩具纺织材料中禁限用染料的提取，目前标准（EN 71-10）和 Ma 等（2010）文献中多采用的是乙醇超声提取，提取液蒸干后再溶解上机测定，检测的染料包含了分散染料、酸性染料、碱性染料及溶剂染料等多种类别。此外，从国际纺织品致敏染料能力验证技术报告来看，部分实验室对 DIN 54231:2005 标准中的样品前处理方法进行了改进，如采用丙酮加速溶剂萃取的方式或用乙醇/氨来提取染料，还有部分实验室对提取液进行了固相萃取净化等，以减小杂质干扰。2014 年发布的 ISO 16373-2 标准使用吡啶：水=1:1 在 100±2 °C 下加热提取 35±5 min，适用于大多数禁限用染料。近年来，新兴的前处理技术在染料检测领域也有应用，Sultana 等（2018）自创自动微流体萃取装置（MSD），是一种简单、自动化染料提取系统，可节约时间，提高工作效率。

除了提取溶剂和提取方法会对检测结果产生影响，在采用质谱检测染料时，基质效应也是一个很重要的因素，有一些文献报道了采用甲醇超声提取方法的基质效应情况，如：García-Lavandeira 等（2010）的研究表明聚酯和棉质材料不会引起基质效应，而对皮革制品提取液则会出现抑制或增强的基质效应；Ding 等（2009）分别比较了棉纤维上直接黑 38、丙烯酸纤维上碱性紫 14 和聚酯纤维上分散黄 3 的基质匹配曲线与溶剂工作曲线的区别，各个曲线斜率几乎完全相同，表明方法中由纤维介质引起基质效应可以忽略。当然，提取方法的基质效应也与样品的稀释倍数有很大关系。

从样品提取的固液比（表 4）可以看出，各检测标准所给出的固液比有一定差异，面对不同材质的纺织品，特别是密度小、较为蓬松的样品，为了保证提取效率，首先应考虑提取液没过样品。本标准经过不同材质纤维的考察，确定以 1:20 为提取固液比进行纺织样品的提取。

表 4 禁限用染料检测标准的样品前处理条件汇总

染料	剪碎程度	提取试剂	固液比	提取方式	提取温度	提取时间	标准
35 种致癌致敏染料	不超过 1 cm ²	吡啶:水=1:1	1:7.5	加热提取	100±2 °C	35±5 min	ISO 16373-2:2014
7 种致癌染料	不超过 1 cm ²	三乙胺-甲醇	1:100	超声提取	50±2 °C	3 h	ISO 16373-3:2014
9 种分散染料	0.5 cm	甲醇	1:15	超声提取	70±2 °C	30 min	DIN 54231:2005
9 种致癌染料	5 mm × 5 mm	甲醇	1:10	超声提取	70 °C	30 min	GB/T 20382-2006
20 种致敏性分散染料	5 mm × 5 mm	甲醇	1:10	超声提取	70 °C	30 min	GB/T 20383-2006
分散黄 23 和分散橙 149	20 mm × 5 mm	氯苯或二甲苯	1:25	氯苯蒸汽提取	/	30 min	GB/T 23345-2009
9 种致癌染料	5 mm × 5 mm	甲醇	1:10	超声提取	70 °C	30 min	SN/T 3227-2012
蓝色素	5 mm × 5 mm	70%甲醇和 30% 磷酸二氢钾溶液	1:25	超声提取	60±2 °C	30 min	SN/T 3333-2012
45 种禁限用染料	5 mm × 5 mm	吡啶:水=1:1	1:40	加热提取	100±2 °C	35±5 min	SN/T 5236-2020

2.2.3 净化

为防止提取液中的纤维碎屑和杂质堵塞分析仪器，需要对提取后的样品进行净化，染料与其他物质不同，它具有很强的吸附能力，会吸附在过滤膜上导致其含量降低而出现误差，文献和相关检测标准中多采用 0.45 μm 的聚四氟乙烯滤膜。丁友超等（2008）对实验室常用的尼龙、聚四氟乙烯和聚丙烯有机滤膜对 9 种致癌染料提取样品进行过膜测试，聚四氟乙烯和聚丙烯对染料检测结果影响不大，而用尼龙膜过滤后，直接红 28、直接黑 38 和分散黄 3 的检测值显著下降，表明尼龙可能对这些染料产生强烈的吸附作用。原因是作为亚酰胺聚合体的尼龙（锦纶），其分子结构中的憎水性的亚甲基可与分散染料反应，而亲水性的氨基和亚氨基等基团则可吸附酸性染料和直接染料等水溶性染料，因此，尼龙滤膜不宜用于染料溶液的过滤。

2.3 分析测定方法

尽管 Oeko-Tex Standard 100 规定了纺织品中限用和禁用的染料种类, Oeko-Tex Standard 100 Testing Methods 并未对禁限用染料的检测方法做出详细的说明, 仅要求用色谱方法进行。德国虽然颁布了 DIN 54231:2005 标准, 但该标准只列入了 9 种分散染料, 且该标准发布时间较久, 有很多技术细节需要完善。目前, 相关检测标准中禁限用染料的仪器分析条件见表 5。

(1) TLC 法

TLC 法是 DIN 54231:2005 标准所介绍的一种方法, 这种方法需用 UV/VIS 光谱作补充鉴别手段, 必要时使用红外光谱 (IR) 作为定性手段。薄层扫描技术操作系统误差大, 特别是在含杂质较多的情况下, 样品中目标化合物的实际分离效果并不理想, 因此, 在对检出限要求较高的情况下, 不宜使用 TLC 法。

(2) HPLC-DAD 法

HPLC-DAD 法是早期检测致癌致敏等禁限用染料禁限用染料的一种常用方法, 早在 1996 年张竹霞等就采用高效液相色谱法对分散染料进行检测和分析。由于部分染料结构相似以及染料标准品普遍含杂质较多, 在用 HPLC-DAD 法检测染料时, 染料在液相色谱上的分离效果决定了检测结果的准确性, 因此流动相和色谱柱的选择比较重要。大部分学者采用乙腈作有机相, 丁友超等 (2008) 用甲醇取代乙腈作为流动相时, 4 种磺酸类染料都未从色谱柱上洗脱下来。其原因可能是: 相比较甲醇, 乙腈具有一定的碱性, 更适合对这些含有酸性基团的化合物的洗脱; 而无机相则根据所检测染料是致癌染料还是分散染料有所不同。由于致癌染料中的酸性和直接染料是离子型结构, 因此通常情况下会选择离子对试剂作无机相以增加阴离子染料的色谱保留; 由于分散染料在弱酸性条件下比较稳定, 因此, 丁友超等 (2008) 用 0.1% H_3PO_4 溶液作为 HPLC-DAD 液相分离的缓冲液, 取代其他分散染料检测中常用的乙酸-乙酸盐缓冲溶液, 分散黄 9 等 6 种分散染料在 HPLC 上取得较好的分离效果, 峰形较好, 且峰高比乙酸-乙酸盐缓冲液作流动相提高 2~3 倍。在色谱柱的选择上, 绝大部分学者采用 C_{18} 色谱柱进行分离。然而, 由于染料中常含有合成中间体、同分异构体和分散剂等, 成分复杂, 因此对检测方法的选择性和抗干扰能力要求比较高, 在实际检测过程中, 若存在假阳性, HPLC-DAD 法进行定性检测难以分辨, 而且该方法灵敏度也比较低。

(3) HPLC-MS 法

以质谱为检测器可以减小基质干扰, 降低检测限, 提高选择性, 因此越来越多的学者开始采用质谱技术对纺织品中的禁限用染料进行检测。GB/T 20383-2006、EN 71-11 和 DIN 54231:2005 标准以酸化的乙酸铵溶液和乙腈作流动相, 采用单级质谱对纺织品中的致敏性分散染料进行检测, 检测低限能达到 Oeko-Tex Standard 100 所规定的定量限。Petrick 等 (2006) 采用 HPLC-ESI-MS 法测定了丙烯酸纤维和聚酯纤维中的碱性染料和分散染料。

(4) LC-MS/MS 法

由于禁限用染料品种繁多、结构相似、标准品纯度不高, 且法规要求日益严格, 为了提高方法的选择性、灵敏度及分析速度, LC-MS/MS 法已逐渐成为各实验室的首选方法和常用方法, 通常采用采用乙腈 (或酸化乙腈) 和乙酸铵 (或甲酸铵或酸化水) 做色谱流动相。

2005 年, Varian 公司开发了用 LC-MS/MS 检测 27 种禁限用染料的方法; 赵洁等 (2011)

开发了 HPLC-ESI-MS/MS, 通过正负切换、一针进样同时检测纺织品中 26 种禁限用染料的方法; 吕凤兰等 (2011) 建立了固相萃取-超高效液相色谱-电喷雾三重四极杆质谱测定印染废水中 9 种致敏性分散染料的方法; 2011 年, 丁友超等采用液相色谱-二极管光谱检测器-串联四极杆质谱法同时快速测定纺织品中的 22 种有害分散染料, 测定低限在 0.8~5 mg/kg 之间, 从对实际样品的分析来看, 检出率较高的是分散黄 23 和分散橙 37/59/76。

采用质谱检测时, 找准分子离子峰是非常关键的。然而, 在用 ESI 源进行分析时, 分散蓝 1 的准分子离子峰 ($[M+H]^+$) 存在争议, 有的学者以 268 (m/z) 作为母离子, 有的学者将 269 (m/z) 作为母离子; 而从 SciFinder 获得的该化合物的分子式是 $C_{14}H_{12}N_4O_2$, 单一同位素精确分子量为 268.0960, 其 $[M+H]^+$ 峰应为 269 (m/z)。

由于检测时所用不同仪器厂家的离子源存在差异、检测时流动相的组成不同、部分化合物在离子化时为多电荷物质, 导致母离子的情况较为复杂, 如分散棕 1 在正离子模式下可以选 $[M+H]^+$ 即 433 做母离子, 在负离子模式下可以选 $[M+HCOO]^-$ 即 477 或 $[M-H]^-$ 即 431 作母离子; 分散黄 9 在负离子模式下, 母离子 ($[M-H]^-$) 为 273, 正离子模式下, 母离子 ($[M+H]^+$) 为 275; 酸性红 26 在负离子模式检测时, 母离子 ($[M-2Na]^{2-}/2$) 为 217, 正离子模式时, 母离子 ($[M-2Na+3H]^+$) 为 437; 直接黑 38 在负离子模式检测时母离子可能为 368 ($[M-2Na]^{2-}/2$) 或 736 ($[M-2Na+H]^-$)。

(5) 原位电离质谱法、高分辨质谱法

现阶段, 大部分实验室采用样品提取净化后, 色谱分离、质谱测定的流程进行纺织品中有害物质分析, 这一过程往往需要数小时, 而样品的前处理过程和色谱分离过程是制约分析效率的关键。2008 年, Lee 等用飞行时间-次级离子质谱仪 (TOF-SIMS) 对考古过程中发现的远古纺织品和天然染料进行无损定性分析。DeRoo 等 (2011) 在不对样品做任何前处理的情况下, 采用实时直接分析离子化技术 (DART) 与高分辨飞行时间质谱直接确证标准品、溶液及原位染色纤维上的各种有机染料, 而且染色纺织品的精确质量测定在一分钟之内即可完成。Kramell 等 (2015) 采用大气压固体分析探头离子源 (ASAP) -MS 原位电离技术直接鉴定古代历史织物中微量的靛蓝色素, 方法无需样品处理。可以预见, 随着直接离子化技术和小型便携质谱技术不断改进和商品化, 两者结合可使现场分析成为未来发展的重要趋势, 从而实现纺织品的原位、实时、在线分析检测技术。

除了样品无损检测质谱技术的发展, 近年来高分辨质谱技术在食品、消费品等领域中的应用也发展迅猛。可以利用高分辨质谱质量分辨率高, 能够测定精确分子量的特点, 得到化合物的元素组成 (分子式), 筛选和确证复杂背景中的痕量成份, 以及对未知化合物和生物大分子的辨析。Fang 等 (2005) 用液相色谱/飞行时间质谱仪对欧盟纺织品中禁用的 20 种分散染料进行了测定, 并以分散红 1 为例, 介绍了如何用飞行时间质谱的高质量精度进行确认和定量分析。Sultana 等 (2018) 用自动微流体系统结合 Q-TOF 可以快速、高效的分析纺织品中的有机染料。编者 (2013, 2015) 基于高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱高分辨质谱 (HPLC-LTQ/Orbitrap HRMS) 快速筛查确证生态纺织品中 9 种致癌染料及 22 种分散染料, 方法简便、快速, 选择性高, 抗干扰性能好, 结果准确可靠。

表 5 禁限用染料检测标准的分析条件汇总

染料	流动相	色谱柱	仪器方法	仪器分析时长	测定低限	标准
35种致癌致敏染料	2%磷酸二氢四丁基铵 (含 10%乙腈) - 乙腈	HALO-C ₁₈ (2.7 μm, 2.1 mm×150 mm)	UHPLC/DAD	35 min (35个物质)		
	2%磷酸二氢四丁基铵 (含 10%乙腈) - 乙腈	HALO-C ₁₈ (2.7 μm, 2.1 mm×100 mm)	HPLC/DAD	53 min (35个物质)		
	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	XDB-C ₁₈ (3.5 μm, 2.1 mm×100 mm)	HPLC/DAD/MS	18 min (22个物质)	/	ISO 16373-2:2014
	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	XDB-C ₁₈ (3.5 μm, 2.1 mm×100 mm)	HPLC/DAD/MS	18 min (12个物质)		
	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	Synergy polar-RP 80A(Silica) (4 μm, 2.0 mm×150 mm)	HPLC/DAD/MS	12 min (12个物质)		
7种致癌染料	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	Inertsil ODS-3 (5 μm, 3.0 mm×150 mm)	HPLC/DAD	50 min (7个物质)		
	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	Inertsil ODS-3 (5 μm, 3.0 mm×150 mm)	LC-MS	50 min (7个物质)	/	ISO 16373-3:2014
	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	Inertsil ODS-3 (5 μm, 3.0 mm×150 mm)	LC-MS/MS	50 min (7个物质)		
9种分散染料	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	C ₁₈ (5 μm, 2.1 mm×150 mm)	HPLC/DAD/MS	30 min	/	DIN 54231:2005
9种致癌染料	0.0025mol/L磷酸二	ZORBAX Eclipse XDB C ₁₈	HPLC/DAD	220 min	10 mg/kg	GB/T 20382-2006

染料	流动相	色谱柱	仪器方法	仪器分析时长	测定低限	标准
	氢四丁基铵溶液-乙腈	(5 μm, 4.6 mm×250 mm)		(分四组)		
20种致敏性分散染料	0.01mol/L 乙酸铵溶液-乙腈	ZORBAX Eclipse XDB C ₁₈ (3.5 μm, 2.1 mm×150 mm)	LC-MS	30 min	0.5 mg/kg	GB/T 20383-2006
	0.01mol/L 乙酸钠溶液-乙腈	Alltima C ₁₈ (5 μm, 4.6 mm×250 mm)	HPLC/DAD	180 min (分两组)	5 mg/kg	
分散黄23和分散橙149	0.1%甲酸-乙腈	Hypersil GOLD-C ₁₈ (5 μm, 2.1 mm×100 mm)	LC-MS/MS	16 min	0.5 mg/kg	GB/T 23345-2009
	0.1%磷酸-乙腈	Zorbax XDB-C ₁₈ (5 μm, 4.6 mm×150 mm)	HPLC/DAD	50 min	5 mg/kg	
9种致癌染料	10mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm, 2.1 mm×50 mm)	LC-MS/MS	6 min	1 mg/kg	SN/T 3227-2012
蓝色素	5g/L磷酸二氢钾溶液-乙腈	C ₁₈ (5 μm, 4.6 mm×250 mm)	HPLC/DAD	40 min	10 mg/kg	SN/T 3333-2012
45种有害染料	正离子模式: 5 mmol/L乙酸铵水溶液 (含0.01%甲酸) -乙腈 负离子模式: 5 mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈	CAPCELL PAK UG120 C ₁₈ (3 μm, 2.0 mm×100 mm)	HPLC-HRMS	30 min	0.01~10 mg/kg	SN/T 5236-2020

3 纺织品中禁限用染料高分辨质谱分析方法的建立

3.1 色谱条件

3.1.1 流动相的选择

已有文献多采用 C₁₈ 反相色谱分离染料,流动相使用乙腈和含缓冲盐的水相作为流动相。本标准分别考察不同 pH 值的水相-乙腈流动相体系对 53 种染料的分离情况,采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱分别考察了反相色谱常用有机溶剂乙腈与不同 pH 值的乙酸铵缓冲溶液组成的流动相体系,即乙腈-5 mmol/L 乙酸铵 (pH 约为 6.38),乙腈-5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01% 甲酸) (pH 约为 4.45) 和乙腈-5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.1% 甲酸) (pH 约为 3.26) 对 53 种染料的色谱行为和离子化程度的影响。结果表明,ESI⁺模式分析,对于 3 种不同 pH 值体系的乙酸铵缓冲溶液,5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.1%甲酸) 作为流动相,直接红 28 的峰面积最大,但峰拖尾严重,峰高最低,信噪比也较差,而 5 mmol/L 乙酸铵和 5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01%甲酸) 作为流动相,两者的色谱峰峰形基本一致,5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01%甲酸) 的质谱响应较高,直接黑 38 的情况与直接红 28 基本一致,碱性染料和分散染料在 3 种 pH 值的流动相中都能获得良好的峰形,但是 5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01%甲酸) 的质谱响应较高,故本实验选择 5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01%甲酸) 作为正离子模式的水相流动相;ESI⁻时,以 5 mmol/L 乙酸铵做水相时,酸性红 26 的峰面积和峰高最大,峰形较另两种流动相对称,其他负离子模式的染料情况与酸性红 26 类似,故选择 5 mmol/L 乙酸铵为负离子模式的水相流动相。

碱性绿 4 在不含酸体系下,出现多个杂峰,干扰到主峰的反应,但在含酸体系下几乎没有,原因可能为碱性绿 4 本身就是三种物质的混合物,或者受到混标中其他染料的影响,如图 2-4 和图 2-5 所示,其中图 2-4 和图 2-5 左边均为碱性绿 4 在流动相为 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈体系下提取的色谱图,右边均为碱性绿 4 在流动相为 5 mmol/L 乙酸铵 (含 0.01%甲酸)-乙腈体系下提取的色谱图。可以看出,碱性绿 4 单标在两种流动相下均有三个峰出现,且在不含酸的体系中响应值要更高一些,但都不会干扰到主峰。在混标中可以明显看到,在不含酸体系中,主峰的响应值受其他两个峰的影响较大,而在含酸体系中,几乎不受影响。由此,可以推断出,染料混标中的其他物质会增强碱性绿 4 种其他两个峰的响应值,但在酸性条件下受到抑制。

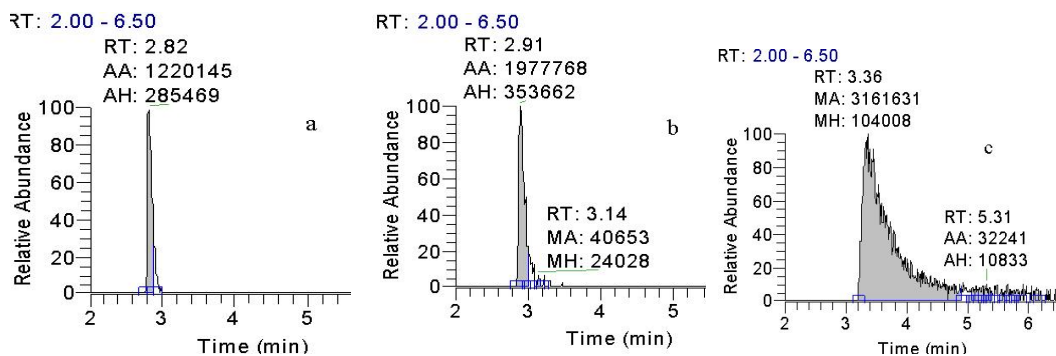


图 2-1 直接红 28 (ESI⁺) 在三种流动相情况下的色谱图

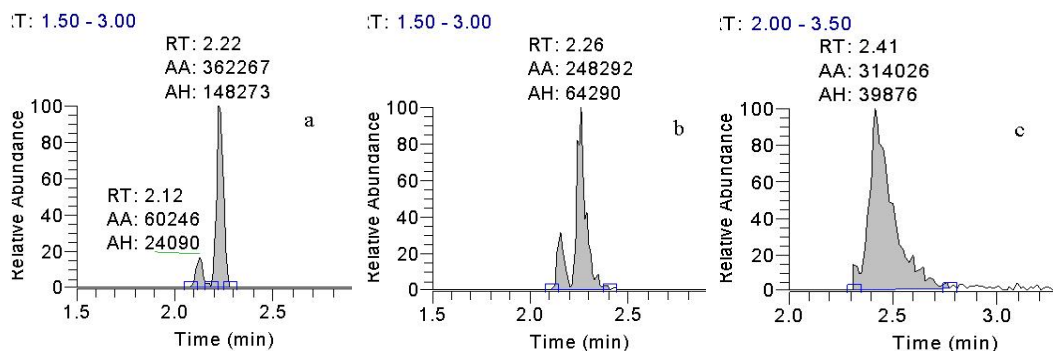


图 2-2 酸性红 26 (ESI) 在三种流动相情况下的色谱图

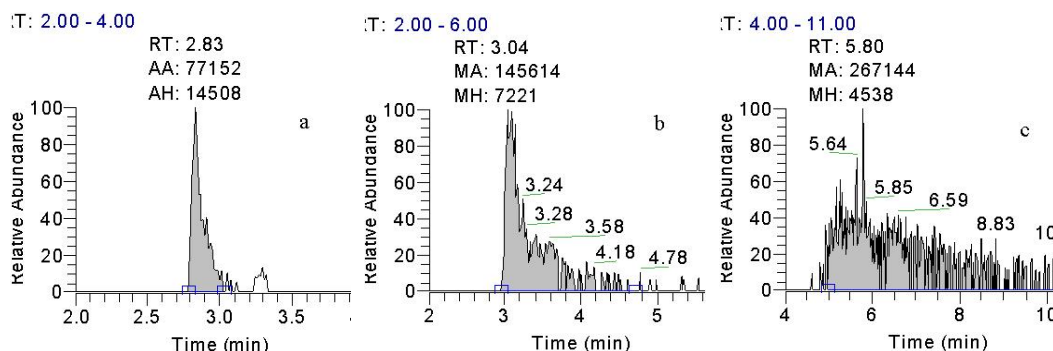


图 2-3 直接棕 95 (ESI) 在三种流动相情况下的色谱图

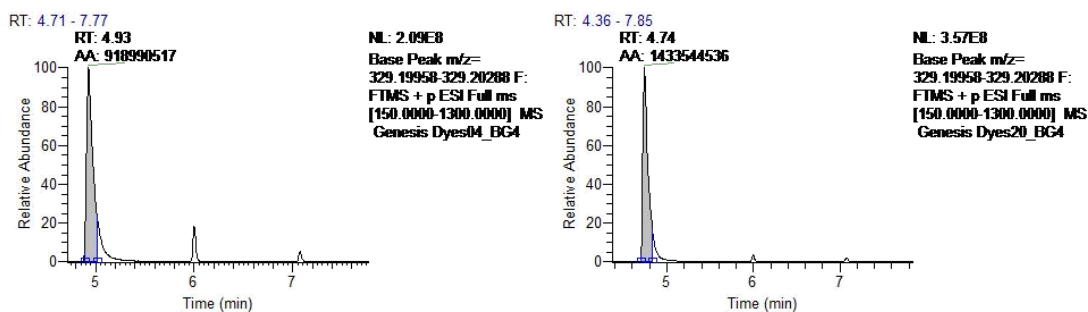


图 2-4 单标碱性绿 4 在两种流动相情况下的色谱图

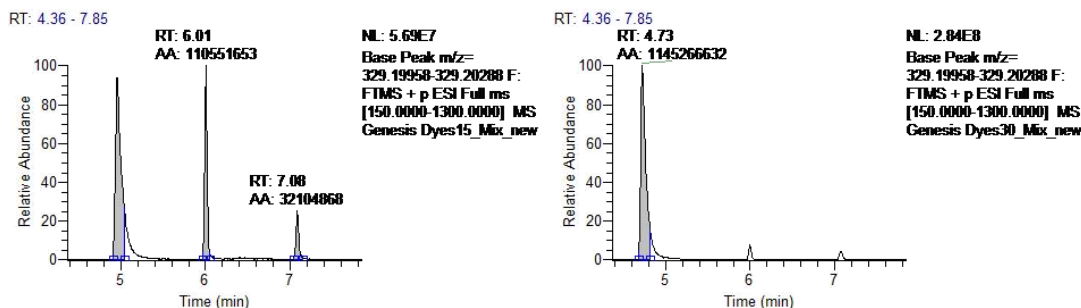


图 2-5 混标中的碱性绿 4 在两种流动相情况下的色谱图

*a、b和c分别为5 mmol/L乙酸铵-乙腈、5 mmol/L乙酸铵（含0.01%甲酸）-乙腈和5 mmol/L乙酸铵（含0.1%甲酸）-乙腈流动相体系的色谱图

3.2 色谱柱的选择

理论上,采用的色谱柱的粒径越小,一般能获得更高的分离度、样品通量和灵敏度,由于色谱分离速度需与高分辨质谱采集速度相适应,本文用乙腈-5 mmol/L 乙酸铵(含 0.01% 甲酸)和乙腈-5 mmol/L 乙酸铵作为正、负离子模式流动相分别考察了 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm)和 CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.0 mm, 3 μm)对 53 种染料的色谱分离行为和质谱兼容情况的影响。除直接棕 95 和分散蓝 1 仅在 CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱上获得较好的色谱峰外,其他染料在 3 个色谱柱上都能获得良好的峰形。

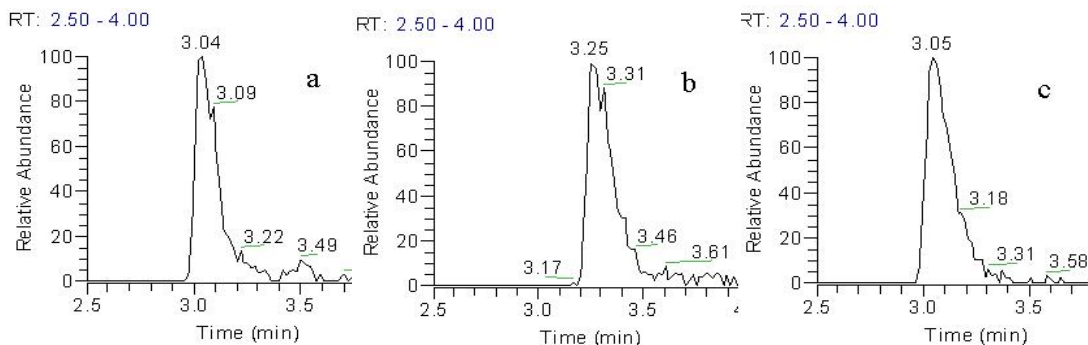


图 3-1 直接棕 95 在 3 根色谱柱上的色谱图

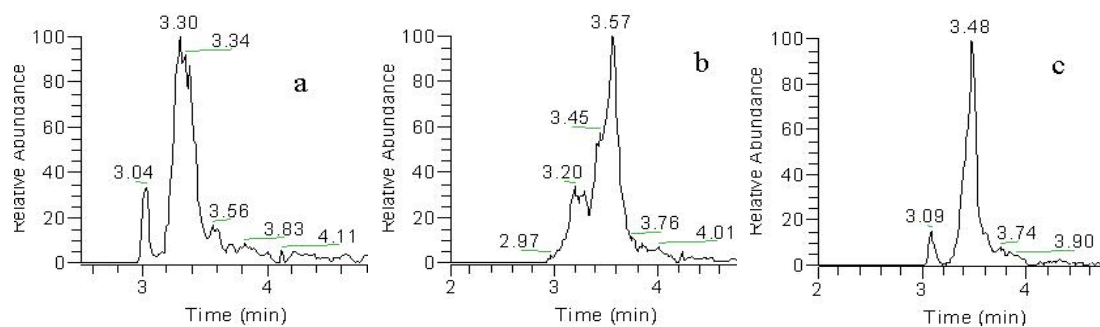


图 3-2 分散蓝 1 在 3 根色谱柱上的色谱图

*a、b 和 c 分别为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm)和 CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.0 mm, 3 μm)的色谱图

3.3 流速的选择

考虑到定量准确性和为使化合物能够有尽可能低的检测低限,色谱峰要有适当的峰宽。而流速会改变化合物在色谱柱填料中的传质过程,影响色谱峰宽。为此,分别考察了流速为 0.2 mL/min、0.25 mL/min 和 0.3 mL/min 对 53 种染料的色谱行为的影响。实验结果表明:流速为 0.3 mL/min 时,化合物的出峰比较快,色谱峰的峰宽最窄,峰面积和峰高都不如 0.25 mL/min 时;流速为 0.2 mL/min 时,化合物出峰太慢,峰高不如 0.25 mL/min,但峰面积要比 0.25 mL/min 大;综合考虑保留时间、峰面积、峰高和峰宽,选择 0.25 mL/min 为最佳流速。

3.4 分散蓝 35 和分散蓝 26 同分异构体的确认

有关分散蓝 35 和分散蓝 26 的物质信息的解读在本节第 2.2 部分中已有说明，本部分通过高分辨质谱对标准物质分析，开展判断印证。

在实验过程中发现：分散蓝 26 和分散蓝 35 的混合溶液在色谱上，提取精确质量数 285.08698（分散蓝 35a），出现 3 个色谱峰；提取精确质量数 299.10263（分散蓝 26/35b），也出现 3 个色谱峰；提取精确质量数 271.07133（分散蓝 26 和分散蓝 35 的合成原料），同样出现 3 个色谱峰。分别进样分散蓝 26 和分散蓝 35 的单个标准溶液，情况如下图 4-1、4-2 和 4-3：

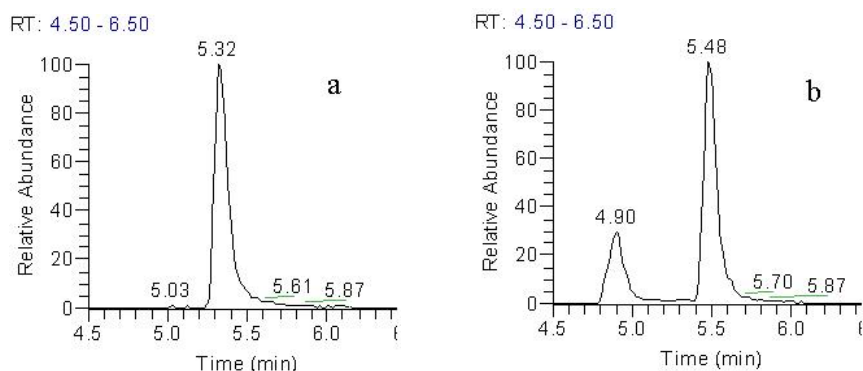


图 4-1 分散蓝 26 (a 图) 和分散蓝 35 (b 图) 单个标准溶液的 285.08698 提取色谱图

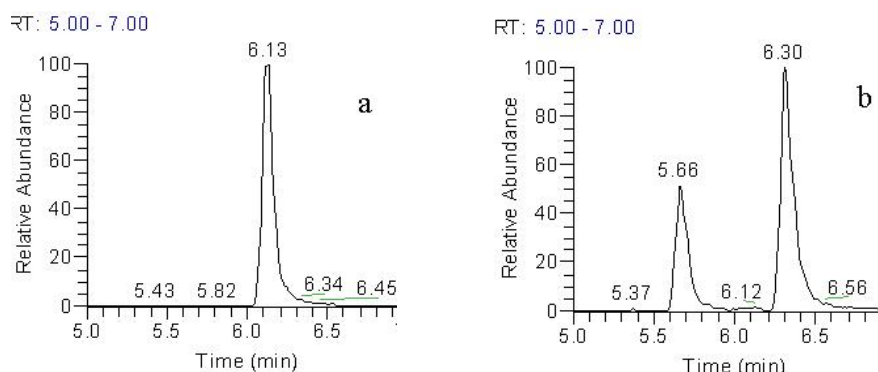


图 4-2 分散蓝 26 (a 图) 和分散蓝 35 (b 图) 单个标准溶液的 299.10263 提取色谱图

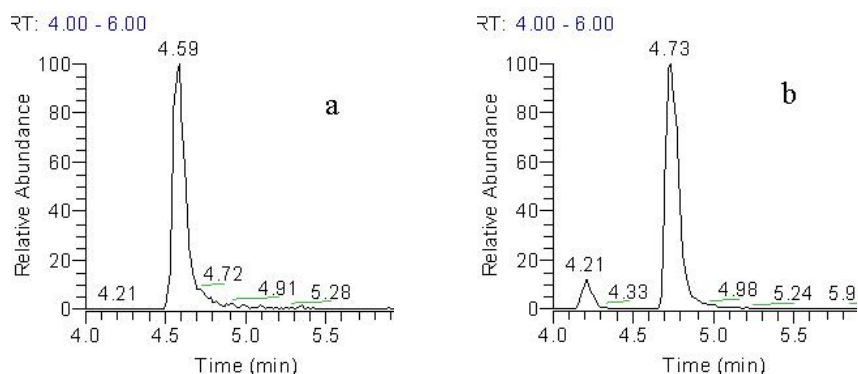


图 4-3 分散蓝 26 (a 图) 和分散蓝 35 (b 图) 单个标准溶液的 271.07133 提取色谱图

从图可以看出，分散蓝 35 标准品中除了分散蓝 35a 和分散蓝 35b 外，还分别有一种同分异构体存在，而且从提取的起始合成物的色谱图可以看出，分散蓝 26 和分散蓝 35 的合成起始物互为同分异构体，并且还有另外一种同分异构体存在，这种同分异构体存在于分散蓝

35 的标准品中，推测其结构为图 5。

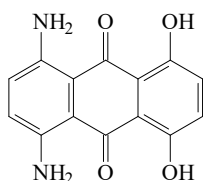


图 5 分散蓝 26 和分散蓝 35 合成原料的第三种同分异构体

由于分散蓝 26 标准品中除了含有分散蓝 26，分散蓝 35 标准品中除了分散蓝 35a（CAS 号为 56524-77-7）和分散蓝 35b（CAS 号为 56524-76-6）外，还各自含有一种同分异构体，而分散蓝 26 标准品中还有一种合成中间产物为分散蓝 35a 的同分异构体，其不是致敏源，应将其与分散蓝 35a 分离开，分散蓝 26 和分散蓝 35 的混合溶液出峰情况见标准文本附录 C。其中提取 285.08698 离子色谱峰中，保留时间最大的是分散蓝 35a，中间的为分散蓝 26 标准品中分散蓝 35a 的同分异构体；提取 299.10263 离子色谱峰中，保留时间最小的是分散蓝 26，保留时间最大的是分散蓝 35b，中间的为分散蓝 35b 的同分异构体。

3.5 质谱条件

3.5.1 母离子的选择

首先选取代表化合物分别采用 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈体系和 5 mmol/L 乙酸铵(含 0.01% 甲酸)-乙腈体系采集一级高分辨质谱谱图并进行比较：正离子主要比较 $[M+H]^+$ ， $[M+NH_4]^+$ ， $[M+Na]^+$ ，三种加合形式离子的强度；负离子主要比较 $[M-H]^-$ ， $[M+HCOO]^-$ ， $[M+CH_3COO]^-$ ，三种加合形式离子的强度。正负离子模式下均有响应的物质，选择强度更优的作为母离子。对于含磺酸基的多电荷物质，比较所有可能的多电荷母离子的强度，选择相对丰度最高的多电荷形式。此外，在不同加合形式母离子强度接近时，还比较了背景噪音的高低，以及比较了碎片离子响应的高低。单电荷染料不同加合形式母离子的情况见表 6。

表6 单电荷染料不同加合形式的母离子及强度

Dyes	ESI ⁺			ESI ⁻		
	$[M+H]^+$	$[M+NH_4]^+$	$[M+Na]^+$	$[M-H]^-$	$[M+CHO_2]^-$	$[M+C_2H_3O_2]^-$
Acid Violet 49	▲			△		
Basic Blue 26	▲					
Basic Green 4	▲					
Basic Red 9	▲					
Basic Violet 1	▲					
Basic Violet 3	▲					
Basic Violet 14	▲					
Basic Yellow 2	▲					
Direct Black 38	▲					
Disperse Blue 1	▲			△		
Disperse Blue 3	▲			△		

Dyes	ESI ⁺			ESI ⁻		
	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M+Na] ⁺	[M-H] ⁻	[M+CHO ₂] ⁻	[M+C ₂ H ₃ O ₂] ⁻
Disperse Blue 7	▲			△		
Disperse Blue 26	▲			△		
Disperse Blue 35a	▲			△		
Disperse Blue 35b	▲			△		
Disperse Blue 102	▲			△		◇
Disperse Blue 106	▲			△		◇
Disperse Blue 124	▲			△		◇
Disperse Brown 1	▲		◇			△
Disperse Orange 1	▲			△		
Disperse Orange 3	▲			△		
Disperse Orange 11	▲			△		
Disperse Orange 37//59/76	▲					
Disperse Orange 61	▲					
Disperse Orange 149	▲			△		
Disperse Red 1	▲					△
Disperse Red 11	▲			△		
Disperse Red 17	▲					
Disperse Red 60	▲			△		
Disperse Red 151	▲			△		
Disperse Yellow 1				▲		
Disperse Yellow 3	▲			△		
Disperse Yellow 7	▲			△		
Disperse Yellow 9				▲		
Disperse Yellow 23	▲			△		
Disperse Yellow 39	▲			△		
Disperse Yellow 39 surrogate	▲			△		
Disperse Yellow 56	▲		◇	△		
Disperse Yellow 56-methyl	▲		◇	△		
Solvent Yellow 3	▲			△		
Solvent Yellow 14	▲			△		
Michler's Ketone	▲					
Michler's Base	▲					

注：▲响应最强，△次之，◇偏弱

其中直接黑 38 的负离子响应高于正离子，但由于其测定低限和线性范围较差，所以选择正离子，分散棕 1 负离子下稍弱于正离子，但其测定低限和线性范围较差，所以选择正离

子，分散红 11 正离子模式下要高于负离子，但因正离子下受到杂质峰干扰严重，所以选择负离子模式。

正离子模式下，碱性紫 14、直接红 28 和溶剂黄 2 的母准分子离子分别为 $[M-Cl]^+$ 、 $[M-2Na+3H]^+$ 和 $[M+H]^+$ ，两种流动相体系对 3 种化合物准分子离子响应强度的影响不大，表明正离子模式所研究化合物的准分子离子峰的响应强度受流动相 pH 值影响较小；负离子模式下，5 mmol/L 乙酸铵-乙腈体系时，分散棕 1 出现 $[M+CH_3COO]^-$ 、 $[M+HCOO]^-$ 和 $[M-H]^-$ 三种情况的母离子，但 $[M+HCOO]^-$ 和 $[M-H]^-$ 响应强度很低，低于 $[M+CH_3COO]^-$ 的 10%，而 5 mmol/L 乙酸铵（含 0.1%甲酸）-乙腈体系时，分散棕 1 质谱图中 $[M+HCOO]^-$ 强度最高，其他两种加合离子基本看不到，而酸性红 114 在两种流动相体系下，其两种加合离子的比例不同，流动相 pH 低时， $[M-2Na+H]^-$ 响应较高，反之，则 $[M-2Na]^{2-}/2$ 响应较高，表明负离子模式所研究化合物的准分子离子峰的质谱响应受流动相中甲酸影响较大，含有甲酸时， $[M+HCOO]^-$ 或 $[M-nNa+(n-1)H]^-$ 形式的准分子离子峰出现的可能性比较大，不含甲酸时， $[M+CH_3COO]^-$ 或 $[M-nNa]^n/n$ 形式的准分子离子峰出现的可能性比较大。

在将各标准溶液依次注入质谱前，首先参考了已有文献资料对各类化合物可能加合离子情况的报道并进行计算：质谱厂家离子源设计的差异和流动相组成的不同可能导致了现有文献对一些多电荷物质如酸性红 26、直接黑 38、直接蓝 6 和直接红 28 的离子模式和加合离子的报道有所不同。此外，现有文献报道的含磺酸化化合物的典型离子化离子除 $[M-nNa]^n$ 和 $[M-nNa+(n-1)H]^-$ 外，还有诸如 $[M-xH-ySO_3]^{z-}$ 及 $[M-xH-ySO_3+zNa]^n$ 等形式。本实验分别在 ESI⁺和 ESI⁻离子化模式下，对 44 种染料进行全扫描以选择适当的电离方式和准分子离子峰。实验结果表明：碱性红 9、碱性紫 14、碱性紫 1、碱性紫 3 和碱性蓝 26 等含氯染料的母离子为 $[M-Cl]^+$ ；23 种分散染料和 3 种溶剂染料的母离子均为 $[M+H]^+$ 或 $[M-H]^-$ ，且均未出现 $[M+Na]^+$ 、 $[M+K]^+$ 及 $[M+NH_4]^+$ 等典型准分子离子峰；在负离子模式下，酸性红 26、直接黑 38、直接蓝 6、直接红 28、酸性紫 49、酸性红 114 和直接棕 95 等 7 种染料均有 2 种以上可以选择的母离子，通过不同加合方式得到的母离子及强度列于表 7，该情况下，选强度最高的母离子；而酸性红 26、直接黑 38、直接红 28、酸性紫 49 和酸性红 114 在正离子模式下也有较强响应，母离子为 $[M-nNa+(n+1)H]^+$ 。

表7 负离子模式下多电荷物质的母离子及强度

染料	理论精确质量数 (m/z)	百分比 (%)	离子形成
酸性红26	217.01267	100	$[M-2Na]^{2-}/2$
	435.03262	70	$[M-2Na+H]^-$
直接蓝6	280.33451	100	$[M-4Na+H]^{3-}/3$
	209.99856	50	$[M-4Na]^{4-}/4$
	421.00439	20	$[M-4Na+2H]^{2-}/2$
直接蓝15	300.34088	100	$[M-4Na+H]^{3-}$
	451.01495	60	$[M-4Na+2H]^{2-}$

	225.00384	38	[M-4Na]4-
直接红28	325.05266	100	[M-2Na] ²⁻ /2
	651.11260	18	[M-2Na+H] ⁻
酸性红114	392.04893	100	[M-2Na] ²⁻ /2
	785.10512	80	[M-2Na+H] ⁻
直接棕95	356.50815	100	[M-2Na] ²⁻ /2
	714.02357	15	[M-2Na+H] ⁻
海军蓝	450.01150	100	[M-2Na]2-
018112	901.03479	45	[M-2Na+H] ⁻

此外，现有标准和文献对分散蓝 1 的母离子的报道情况也不相同。目前基于单位质量分辨质谱的分析研究有选用 m/z 268 作为母离子的情况，也有的选用 m/z 269 作为母离子，显然对于唯一确定的物质，这两种情况互为矛盾。根据相关法规中分散蓝 1 的信息，通过 CAS 号在权威的 SciFinder 数据库中查询其化合物信息，得到该化合物的分子式为 $C_{14}H_{12}N_4O_2$ ，母离子 $[M+H]^+$ 的理论精确质量数应为 269.10330。针对部分学者将 268 作为分散蓝 1 母离子的问题，本实验将分散蓝 1 的标准溶液在 Orbitrap 高分辨质谱进行流动注射，一级全扫描质谱采集：发现杂质 268 的响应强度约为待测物分散蓝 1 的 5 倍，很容易导致指认化合物错误的情况，误将 268 认为是分散蓝 1 的 $[M+H]^+$ 峰，而认为 269 是分散蓝 1 的 $[M+H]^+$ 峰的 C_{13} 同位素峰。此外还发现，杂质 268 的 C_{13} 同位素峰 (269.09912) 与实际的分散蓝 1 的 $[M+H]^+$ 峰 (269.10330) 非常接近，只有在质谱分辨率 $R \geq 100000$ 时，这两种物质的质谱峰才能有效区分。从已有报道和本实验研究可以猜测，不论在工业染料成品，还是在标准物质纯品中，杂质 268 均伴随着分散蓝 1 的出现而出现，本标准使用 268 作为分散蓝 1 的母离子进行分析。

3.5.2 子离子的选择

采用 HCD 高能碰撞诱导解离进行碎片离子碰撞，碰撞能量选择 20%，40%，60%，三个归一化能量，并将三个能量碰撞得到的碎片离子在 C-Trap 阱富集后一并注入 Orbitrap 高分辨质谱采集。采用阶梯复合能量可以保证对不同结构、不同性质、不同分子量的物质均可以得到较为丰富的碎片信息。根据欧盟相关指令的要求，采用高分辨质谱进行化合物定性时，需要一个母离子和一个子离子，且质量偏差小于 5ppm。因此本文通过结合 Xcalibur 和 MassFrontier，ACD/Labs MS Fragmenter 两个裂解机理推断软件，推导出二级碎片图中丰度较强的碎片离子，并给出理论离子组成和理论质量数，确保定性鉴定的可靠性和准确性。各染料母离子提取离子色谱图见图 6，母离子和子离子的精确质量数及离子组成见表 8。

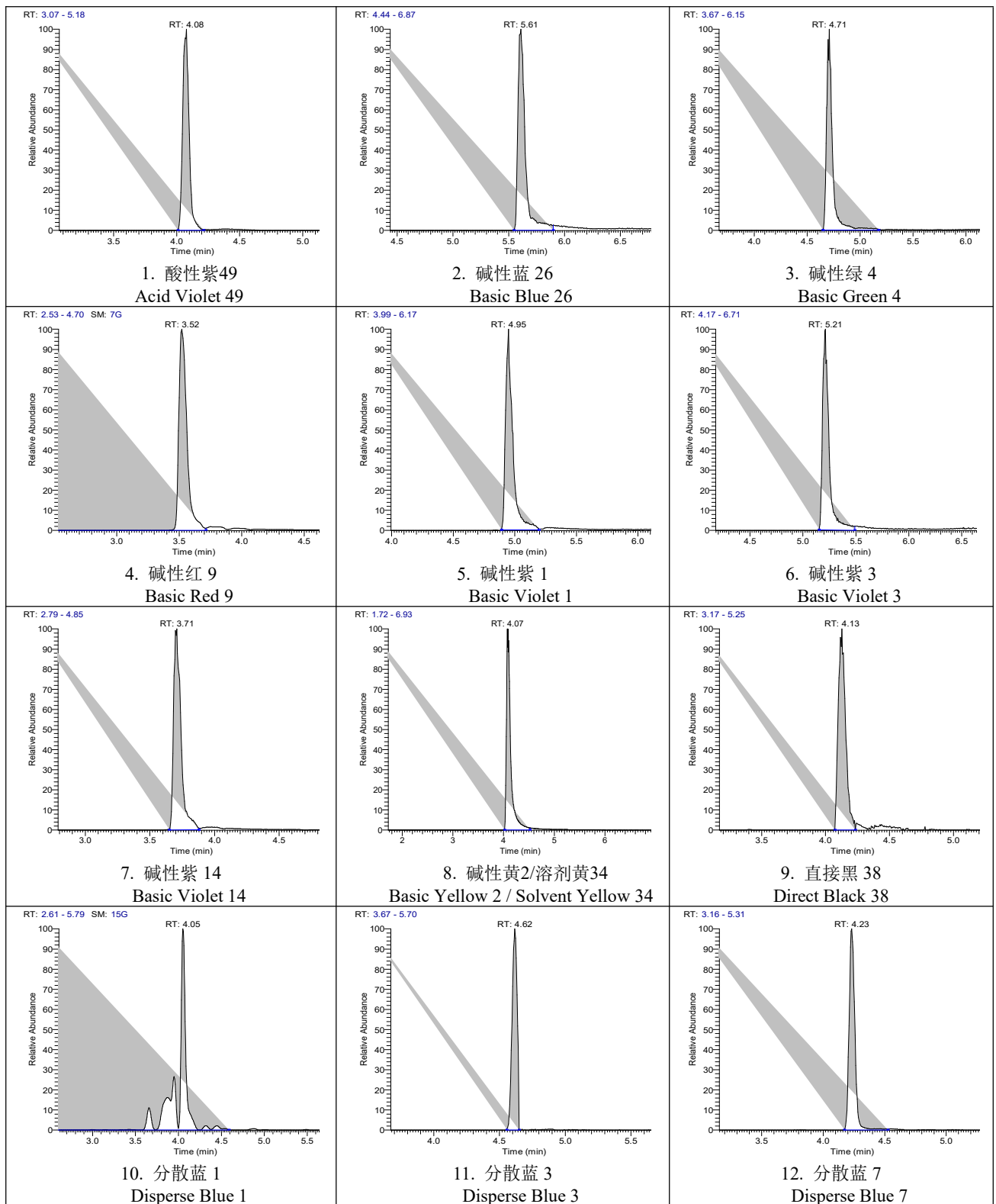


图6-1 染料标准溶液一级母离子提取离子色谱图（正离子模式）

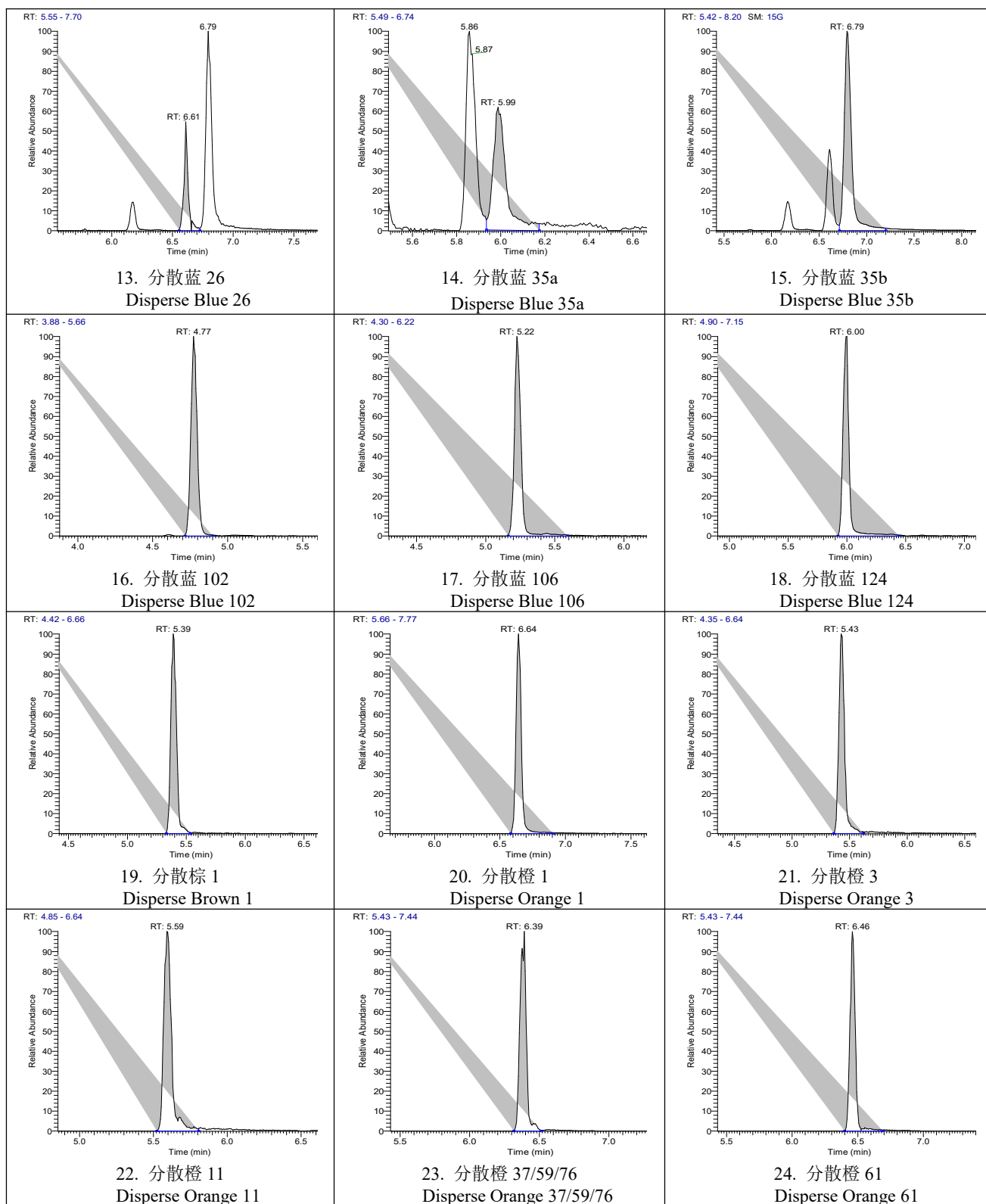


图6-1 (续)

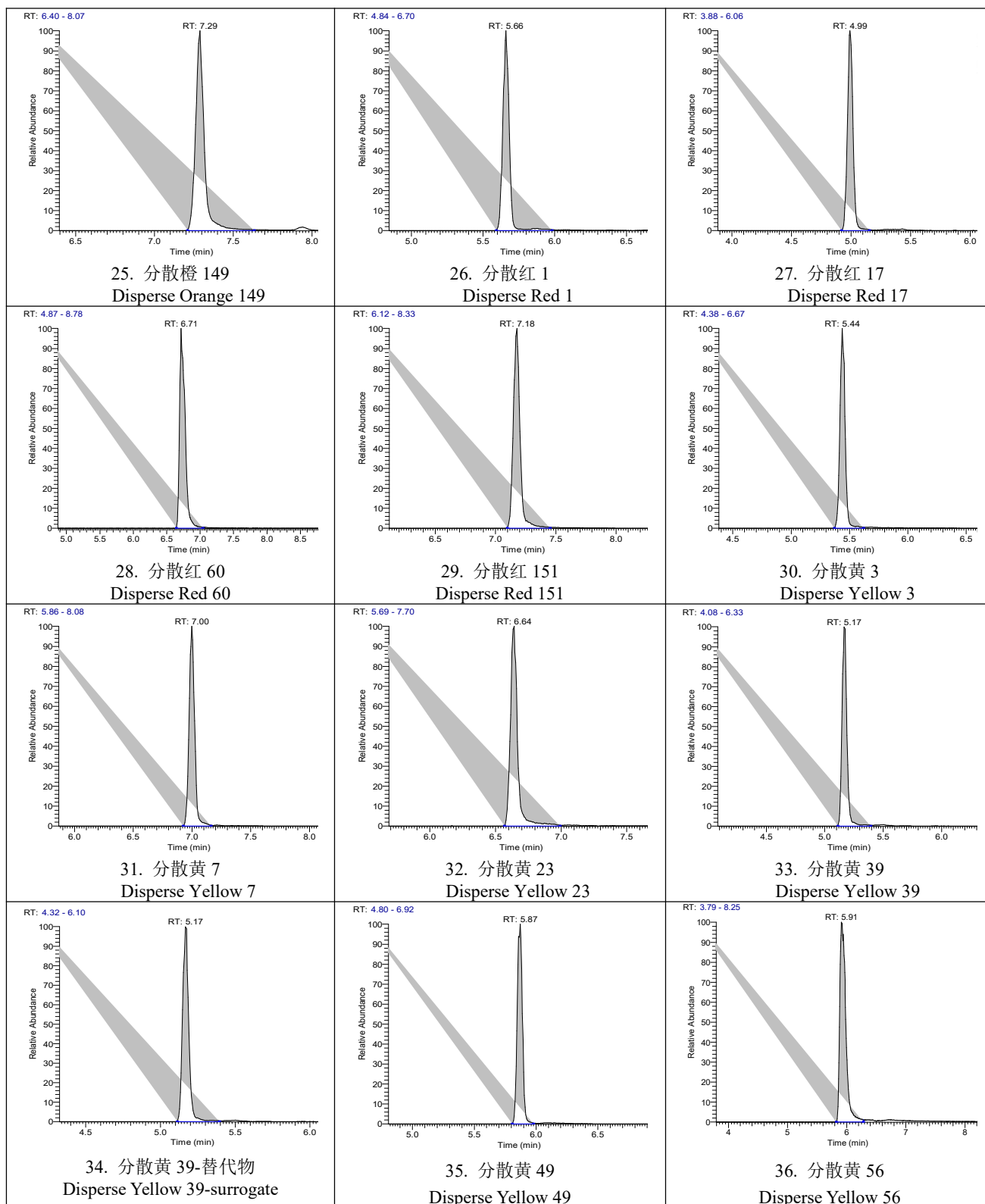


图6-1 (续)

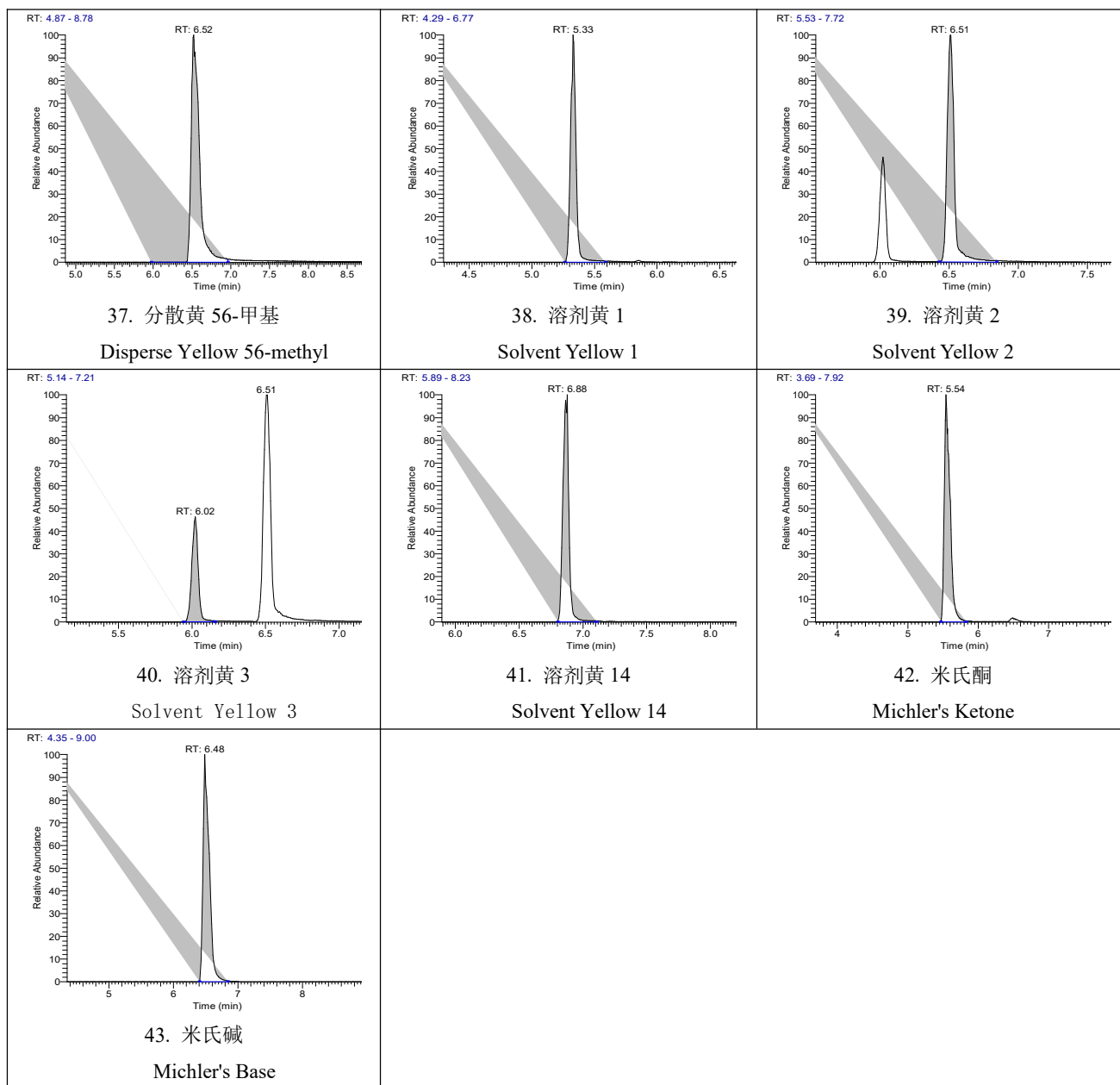


图6-1 (续)

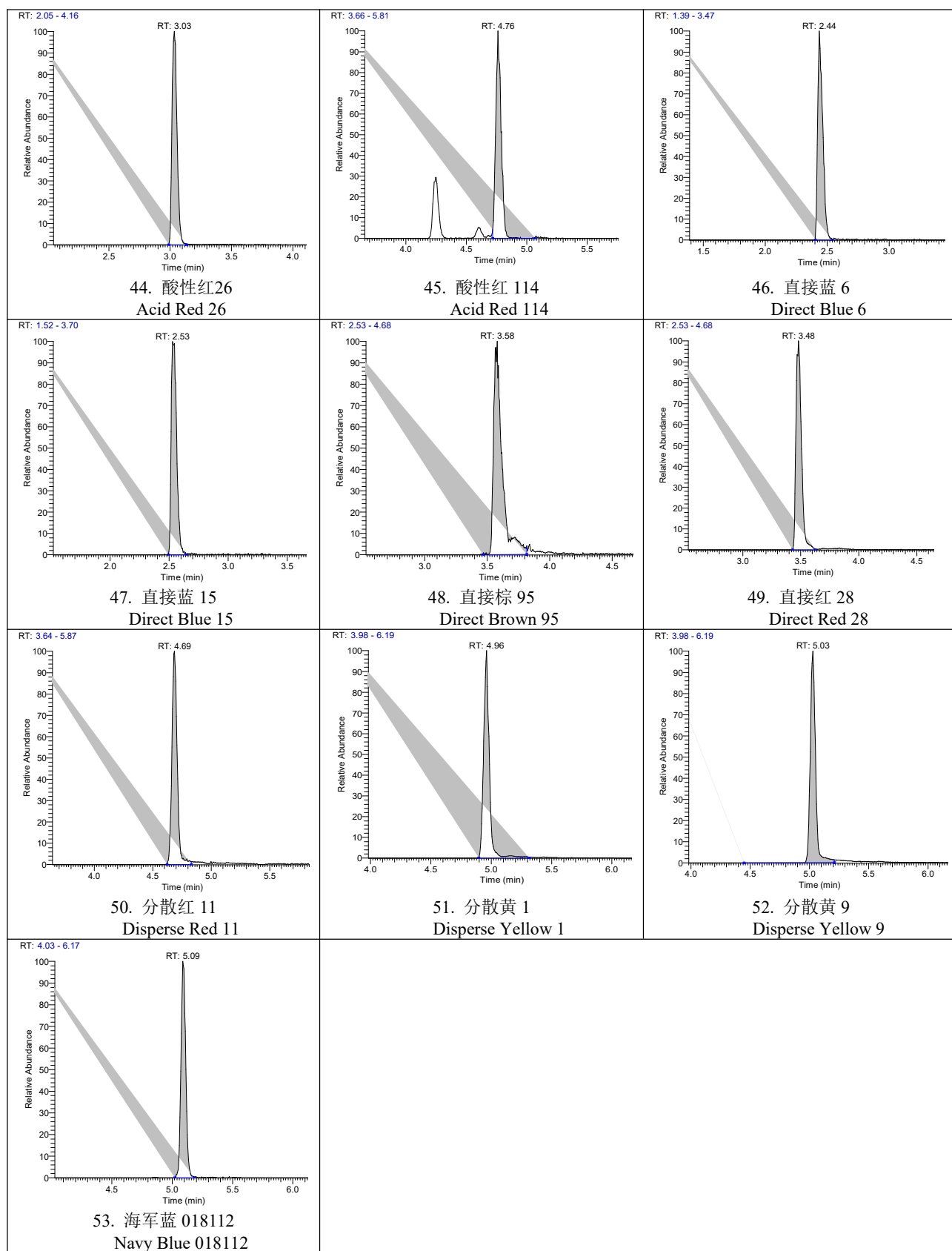


图6-2 染料标准溶液一级母离子提取离子色谱图（负离子模式）

表8 53种染料的保留时间、母离子及子离子等参数

序号	染料	电离模式	保留时间 (min)	母离子组成	母离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z
1	酸性红 26	ESI ⁻	3.03	[C ₁₈ H ₁₄ O ₇ N ₂ S ₂] ²⁻	217.01267	[C ₉ H ₅ O ₆ S ₂] ²⁻	136.47693	[C ₁₈ H ₈ O ₆ N ₂ S ₂] ²⁻	205.99174	[C ₁₀ H ₅ O ₇ S ₂] ²⁻	150.47438
2	酸性红 114	ESI ⁻	4.76	[C ₃₇ H ₂₈ O ₁₀ N ₄ S ₃] ²⁻	392.04893	[C ₁₀ H ₅ O ₇ S ₂] ²⁻	150.47438	[C ₁₀ H ₅ O ₅ S] ⁻	236.98632	[C ₃₆ H ₁₅ O ₃ N ₃] ²⁻	268.55622
3	酸性紫 49	ESI ⁺	4.08	[C ₃₉ H ₄₂ O ₆ N ₃ S ₂] ⁺	712.25095	[C ₂₃ H ₂₂ N ₃] ⁺	340.18082	[C ₃₁ H ₃₂ O ₃ N ₃ S] ⁺	526.21589	[C ₂₄ H ₂₄ N ₃] ⁺	354.19647
4	碱性蓝 26	ESI ⁺	5.61	[C ₃₃ H ₃₂ N ₃] ⁺	470.25907	[C ₃₂ H ₂₈ N ₃] ⁺	454.22777	[C ₂₅ H ₂₁ N ₂] ⁺	349.16993	[C ₂₄ H ₁₇ N ₂] ⁺	333.13863
5	碱性绿 4	ESI ⁺	4.71	[C ₂₃ H ₂₅ N ₂] ⁺	329.20123	[C ₂₂ H ₂₁ N ₂] ⁺	313.16993	[C ₁₅ H ₁₄ N] ⁺	208.11208	[C ₂₁ H ₁₉ N] ⁺	285.15120
6	碱性红 9	ESI ⁺	3.51	[C ₁₉ H ₁₈ N ₃] ⁺	288.14952	[C ₁₃ H ₁₁ N ₂] ⁺	195.09167	[C ₁₂ H ₁₀ N] ⁺	168.08078	[C ₁₉ H ₁₅ N ₂] ⁺	271.12298
7	碱性紫 1	ESI ⁺	4.95	[C ₂₄ H ₂₈ N ₃] ⁺	358.22777	[C ₂₃ H ₂₄ N ₃] ⁺	342.19647	[C ₁₆ H ₁₇ N ₂] ⁺	237.13863	[C ₂₂ H ₂₂ N ₂] ⁺	314.17775
8	碱性紫 3	ESI ⁺	5.21	[C ₂₅ H ₃₀ N ₃] ⁺	372.24342	[C ₂₄ H ₂₆ N ₃] ⁺	356.21212	[C ₁₇ H ₁₉ N ₂] ⁺	251.15428	[C ₂₃ H ₂₄ N ₂] ⁺	328.19340
9	碱性紫 14	ESI ⁺	3.71	[C ₂₀ H ₂₀ N ₃] ⁺	302.16517	[C ₁₄ H ₁₃ N ₂] ⁺	209.10732	[C ₁₃ H ₁₁ N ₂] ⁺	195.09167	[C ₁₉ H ₁₆ N ₃] ⁺	286.13387
10	碱性黄 2/溶剂黄 34	ESI ⁺	4.07	[C ₁₇ H ₂₂ N ₃] ⁺	268.18082	[C ₉ H ₁₁ N ₂] ⁺	147.09167	[C ₈ H ₁₂ N] ⁺	122.09643	[C ₁₆ H ₁₈ N ₃] ⁺	252.14952
11	直接黑 38	ESI ⁺	4.13	[C ₃₄ H ₂₈ O ₇ N ₉ S ₂] ⁺	738.15476	[C ₆ H ₇ N ₂] ⁺	107.06037	[C ₆ H ₇ N] ⁺	93.05730	[C ₅ H ₆ N] ⁺	80.04948
12	直接蓝 6	ESI ⁻	2.44	[C ₃₂ H ₂₁ O ₁₄ N ₆ S ₄] ³⁻	280.33383	[C ₁₀ H ₆ O ₇ N ₂ S ₂] ²⁻	164.98137	[C ₁₀ H ₅ O ₄ N ₂ S] ⁻	248.99755	/	/
13	直接蓝 15	ESI ⁻	2.53	[C ₃₄ H ₂₅ O ₁₆ N ₆ S ₄] ³⁻	300.34088	[C ₁₀ H ₆ O ₇ N ₂ S ₂] ²⁻	164.98137	[C ₁₀ H ₅ O ₄ N ₂ S] ⁻	248.99755	/	/
14	直接棕 95	ESI ⁻	3.58	[C ₃₁ H ₁₈ O ₉ N ₆ CuS] ²⁻	356.50815	[C ₆ H ₄ O ₄ NS] ⁻	185.98665	[C ₁₉ H ₁₂ O ₂ N ₃] ⁻	314.09350	[C ₃₀ H ₁₈ O ₇ N ₆ CuS] ²⁻	334.51323
15	直接红 28	ESI ⁻	3.48	[C ₃₂ H ₂₂ O ₆ N ₆ S ₂] ²⁻	325.05266	[C ₁₀ H ₆ O ₃ N ₂ S] ⁻	234.01046	/	/	/	/
16	分散蓝 1	ESI ⁺	4.04	[C ₁₄ H ₁₂ O ₂ N ₄] ⁺	268.09548	[C ₁₃ H ₁₂ ON ₄] ⁺	240.10056	[C ₁₄ H ₁₀ O ₂ N ₃] ⁺	252.07675	[C ₁₃ H ₉ ON ₃] ⁺	223.07401
17	分散蓝 3	ESI ⁺	4.62	[C ₁₇ H ₁₇ O ₃ N ₂] ⁺	297.12337	[C ₁₅ H ₁₂ O ₂ N ₂] ⁺	252.08933	[C ₁₆ H ₁₃ O ₂ N ₂] ⁺	265.09715	[C ₁₅ H ₁₁ ON ₂] ⁺	235.08659
18	分散蓝 7	ESI ⁺	4.23	[C ₁₈ H ₁₉ O ₆ N ₂] ⁺	359.12376	[C ₁₅ H ₁₁ O ₄ N ₂] ⁺	283.07133	[C ₁₆ H ₁₄ O ₅ N ₂] ⁺	314.08972	[C ₁₇ H ₁₅ O ₅ N ₂] ⁺	327.09755

表 B.1 (续)

序号	染料	电离模式	保留时间 (min)	母离子组成	母离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z
19	分散蓝 26	ESI ⁺	6.61	[C ₁₆ H ₁₅ O ₄ N ₂] ⁺	299.10263	[C ₁₅ H ₁₂ O ₄ N ₂] ⁺	284.07916	[C ₁₅ H ₁₀ O ₃ N ₂] ⁺	266.06859	[C ₁₄ H ₁₀ O ₂ N ₂] ⁺	238.07368
20	分散蓝 35a	ESI ⁺	5.99	[C ₁₅ H ₁₃ O ₄ N ₂] ⁺	285.08698	[C ₁₄ H ₁₀ O ₄ N ₂] ⁺	270.06351	/	/	/	/
21	分散蓝 35b	ESI ⁺	6.79	[C ₁₆ H ₁₅ O ₄ N ₂] ⁺	299.10263	[C ₁₅ H ₁₂ O ₄ N ₂] ⁺	284.07916	[C ₁₅ H ₉ O ₄ N] ⁺	267.05261	[C ₁₄ H ₉ O ₃ N] ⁺	239.05769
22	分散蓝 102	ESI ⁺	4.77	[C ₁₅ H ₂₀ O ₄ N ₅ S] ⁺	366.12305	[C ₁₂ H ₁₈ O ₂ N] ⁺	208.13321	[C ₁₀ H ₁₂ ON] ⁺	162.09134	[C ₁₀ H ₁₃ N] ⁺	147.10425
23	分散蓝 106	ESI ⁺	5.22	[C ₁₄ H ₁₈ O ₃ N ₅ S] ⁺	336.11249	[C ₁₁ H ₁₆ ON] ⁺	178.12264	[C ₁₁ H ₁₈ O ₂ N] ⁺	196.13321	[C ₁₀ H ₁₂ ON] ⁺	162.09134
24	分散蓝 124	ESI ⁺	6.00	[C ₁₆ H ₂₀ O ₄ N ₅ S] ⁺	378.12305	[C ₁₃ H ₂₀ O ₃ N] ⁺	238.14377	[C ₁₁ H ₁₄ N] ⁺	160.11208	[C ₁₁ H ₁₆ ON] ⁺	178.12264
25	分散棕 1	ESI ⁺	5.39	[C ₁₆ H ₁₆ O ₄ N ₄ Cl ₃] ⁺	433.02316	[C ₇ H ₆ N ₂ Cl] ⁺	153.02140	[C ₁₃ H ₈ O ₂ N ₄ Cl ₃] ⁺	356.97074	[C ₆ H ₂ O ₂ N ₃ Cl ₂] ⁺	217.95186
26	分散橙 1	ESI ⁺	6.64	[C ₁₈ H ₁₅ O ₂ N ₄] ⁺	319.11895	[C ₆ H ₄ O ₂ N ₃] ⁺	150.02980	[C ₁₂ H ₁₁ N] ⁺	169.08860	[C ₁₂ H ₉ N ₂] ⁺	181.07602
27	分散橙 3	ESI ⁺	5.43	[C ₁₂ H ₁₁ O ₂ N ₄] ⁺	243.08765	[C ₆ H ₄ O ₂ N ₃] ⁺	150.02980	[C ₆ H ₄ O] ⁺	92.02567	[C ₁₂ H ₁₁ O ₂ N ₃] ⁺	229.08458
28	分散橙 11	ESI ⁺	5.59	[C ₁₅ H ₁₂ O ₂ N] ⁺	238.08626	[C ₁₄ H ₉ O ₂ N] ⁺	223.06278	[C ₁₃ H ₉ ON] ⁺	195.06787	[C ₉ H ₆ O ₂ N] ⁺	160.03930
29	分散橙 37/59/76	ESI ⁺	6.39	[C ₁₇ H ₁₆ O ₂ N ₅ Cl ₂] ⁺	392.06756	[C ₁₅ H ₁₃ O ₂ N ₄ Cl ₂] ⁺	351.04101	[C ₁₃ H ₉ O ₂ N ₄ Cl ₂] ⁺	323.00971	[C ₉ H ₁₁ N] ⁺	133.08860
30	分散橙 61	ESI ⁺	6.46	[C ₁₇ H ₁₆ O ₂ N ₅ Br ₂] ⁺	481.96448	[C ₉ H ₁₁ O ₂ N] ⁺	165.07843	[C ₁₅ H ₁₃ O ₂ N ₄ Br ₂] ⁺	440.93793	[C ₁₅ H ₁₄ O ₂ N ₄ Br] ⁺	361.02946
31	分散橙 149	ESI ⁺	7.29	[C ₂₅ H ₂₇ O ₃ N ₆] ⁺	459.21392	[C ₂₂ H ₁₉ O ₂ N ₆] ⁺	399.15640	[C ₂₂ H ₂₁ O ₃ N ₆] ⁺	417.16697	[C ₆ H ₆ N ₃] ⁺	120.05562
32	分散红 1	ESI ⁺	5.66	[C ₁₆ H ₁₉ O ₃ N ₄] ⁺	315.14517	[C ₉ H ₁₂ N] ⁺	134.09643	[C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N ₄] ⁺	255.08765	[C ₆ H ₄ O ₂ N ₃] ⁺	150.02980
33	分散红 11	ESI ⁻	4.69	[C ₁₅ H ₁₁ O ₃ N ₂] ⁻	267.07752	[C ₁₄ H ₈ O ₃ N ₂] ⁻	252.05404	[C ₁₃ H ₇ O ₃ N] ⁻	225.04314	[C ₁₄ H ₉ O ₂ N ₂] ⁻	237.06695
34	分散红 17	ESI ⁺	4.99	[C ₁₇ H ₂₁ O ₄ N ₄] ⁺	345.15573	[C ₁₀ H ₁₄ ON] ⁺	164.10699	[C ₁₀ H ₁₃ ON ₂] ⁺	177.10224	[C ₁₄ H ₁₃ O ₂ N ₄] ⁺	269.10330
35	分散红 60	ESI ⁺	6.71	[C ₂₀ H ₁₄ O ₄ N] ⁺	332.09173	[C ₁₄ H ₉ O ₃ N] ⁺	239.05769	[C ₂₀ H ₁₂ O ₃ N] ⁺	314.08117	[C ₁₃ H ₈ O ₃ N] ⁺	226.04987
36	分散红 151	ESI ⁺	7.18	[C ₂₇ H ₂₆ O ₅ N ₅ S] ⁺	532.16492	[C ₂₂ H ₁₅ ON ₄] ⁺	351.12408	[C ₁₆ H ₁₀ ON ₂] ⁺	246.07876	[C ₂₅ H ₂₂ O ₃ N ₅ S] ⁺	472.14379
37	分散黄 1	ESI ⁻	4.96	[C ₁₂ H ₈ O ₅ N ₃] ⁻	274.04694	[C ₁₂ H ₈ O ₄ N ₂] ⁻	244.04896	[C ₁₂ H ₈ O ₂ N ₃] ⁻	226.06220	[C ₆ H ₄ O ₃ N ₃] ⁻	166.02581

表 B.1 (续)

序号	染料	电离模式	保留时间 (min)	母离子组成	母离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z	子离子组成	子离子理论质量数 m/z
38	分散黄 3	ESI ⁺	5.44	[C ₁₅ H ₁₆ O ₂ N ₃] ⁺	270.12370	[C ₆ H ₇ N ₂] ⁺	107.06037	[C ₈ H ₁₀ ON ₂] ⁺	150.07876	[C ₇ H ₈ ON] ⁺	122.06004
39	分散黄 7	ESI ⁺	7.00	[C ₁₉ H ₁₇ ON ₄] ⁺	317.13969	[C ₆ H ₅ N ₂] ⁺	105.04472	[C ₆ H ₇ O] ⁺	95.04914	[C ₁₂ H ₉ N ₂] ⁺	181.07062
40	分散黄 9	ESI ⁻	5.03	[C ₁₂ H ₉ O ₄ N ₄] ⁻	273.06293	[C ₁₂ H ₈ O ₂ N ₃] ⁻	226.06220	[C ₁₂ H ₈ O ₃ N ₃] ⁻	242.05711	[C ₁₂ H ₉ O ₂ N ₂] ⁻	213.06695
41	分散黄 23	ESI ⁺	6.64	[C ₁₈ H ₁₅ ON ₄] ⁺	303.12404	[C ₆ H ₅ N ₂] ⁺	105.04472	[C ₆ H ₇ O] ⁺	95.04914	[C ₁₂ H ₉ N ₂] ⁺	181.07602
42	分散黄 39	ESI ⁺	5.17	[C ₁₇ H ₁₇ ON ₂] ⁺	265.13354	[C ₁₆ H ₁₄ ON ₂] ⁺	250.11006	[C ₁₆ H ₁₃ ON ₂] ⁺	249.10224	[C ₁₅ H ₁₀ ON] ⁺	220.07569
43	分散黄 39 替代物	ESI ⁺	5.62	[C ₁₈ H ₁₅ O ₂ N ₂] ⁺	291.11280	[C ₈ H ₄ ON] ⁺	130.02874	[C ₁₆ H ₁₁ O ₂ N ₂] ⁺	263.08150	[C ₁₅ H ₁₀ ON] ⁺	220.07569
44	分散黄 49	ESI ⁺	5.87	[C ₂₂ H ₂₃ O ₂ N ₄] ⁺	375.18155	[C ₁₅ H ₁₆ N ₃] ⁺	238.13387	[C ₁₃ H ₁₀ N ₃] ⁺	208.08692	[C ₉ H ₁₀ O ₂ N] ⁺	164.07061
45	分散黄 56	ESI ⁺	5.91	[C ₂₁ H ₁₆ O ₂ N ₅] ⁺	370.12985	[C ₆ H ₆ N ₃] ⁺	120.05562	[C ₁₂ H ₁₁ N ₃] ⁺	197.09475	[C ₆ H ₆ N] ⁺	92.04948
46	分散黄 56-甲基	ESI ⁺	6.52	[C ₂₂ H ₁₈ O ₂ N ₅] ⁺	384.14550	[C ₆ H ₆ N ₃] ⁺	120.05562	[C ₆ H ₆ N] ⁺	92.04948	[C ₁₂ H ₁₁ N ₃] ⁺	197.09475
47	溶剂黄 1	ESI ⁺	5.33	[C ₁₂ H ₁₂ N ₃] ⁺	198.10257	[C ₆ H ₅ N ₂] ⁺	105.04472	[C ₆ H ₇ N] ⁺	93.05730	[C ₆ H ₅] ⁺	77.03858
48	溶剂黄 2	ESI ⁺	6.51	[C ₁₄ H ₁₆ N ₃] ⁺	226.13387	[C ₆ H ₅ N ₂] ⁺	105.04472	[C ₈ H ₁₁ N] ⁺	121.08860	[C ₈ H ₁₀ N ₂] ⁺	134.08385
49	溶剂黄 3	ESI ⁺	6.02	[C ₁₄ H ₁₆ N ₃] ⁺	226.13387	[C ₇ H ₇] ⁺	91.05423	[C ₇ H ₉ N] ⁺	107.07295	[C ₇ H ₉ N ₂] ⁺	121.07602
50	溶剂黄 14	ESI ⁺	6.88	[C ₁₆ H ₁₃ ON ₂] ⁺	249.10224	[C ₆ H ₇ N] ⁺	93.05730	[C ₁₀ H ₆ ON] ⁺	156.04439	[C ₁₆ H ₁₂ N ₂] ⁺	232.09950
51	海军蓝 018112	ESI ⁻	5.09	[C ₃₉ H ₂₃ O ₁₂ N ₇ ClCrS] ²⁻	450.01150	[C ₃₈ H ₂₀ O ₁₂ N ₇ ClCrS] ²⁻	442.49976	[C ₃₈ H ₂₀ O ₁₀ N ₇ ClCr] ²⁻	410.51881	[C ₃₅ H ₁₃ O ₁₀ N ₇ ClCrS] ²⁻	404.97746
52	米氏酮	ESI ⁺	5.54	[C ₁₇ H ₂₁ ON ₂] ⁺	269.16484	[C ₉ H ₁₀ ON] ⁺	148.07569	[C ₁₆ H ₁₈ ON ₂] ⁺	254.14136	[C ₁₄ H ₁₂ ON] ⁺	210.09126
53	米氏碱	ESI ⁺	6.48	[C ₁₇ H ₂₃ N ₂] ⁺	255.18558	[C ₁₆ H ₂₀ N ₂] ⁺	240.16210	[C ₁₆ H ₁₉ N ₂] ⁺	239.15428	[C ₁₄ H ₁₄ N] ⁺	196.11208

注：表中子离子按照相对丰度由高至低排序

3.6 定容溶剂的优化

样品提取液（吡啶-水, 1:1, v/v）经甲醇-水（1:1, v/v）稀释 10 倍后进样，所以最终溶剂中包含了少量的吡啶，体系实际为吡啶-甲醇-水（5:45:50, v/v/v）混合溶液，因此考察了 5%（体积比，下同）的吡啶对标准溶液中目标化合物的影响。吡啶对含磺酸基化合物离子化的影响：在用甲醇/水（1/1, v/v）定容时，直接红 28、直接黑 38、酸性红 26、酸性紫 49 和酸性红 114 等 5 种含磺酸基的化合物在正、负离子模式下均有响应；但是当定容溶剂中含有 5% 的吡啶时，该 5 种化合物在正离子模式下的响应会骤降，甚至没有响应，需要在负离子模式下测定。另外，其它染料化合物在含 5% 的吡啶时定容的响应情况见表 9：

表9 定容液中吡啶对染料峰面积的影响

染料名称	Area1/Area2 (%)	染料名称	Area1/Area2 (%)	染料名称	Area1/Area2 (%)
酸性红 26 (ESI ⁻)	103.64	分散红 11	75.94	分散橙 37	115.08
酸性紫 49 (ESI ⁻)	96.68	分散红 17	90.15	溶剂黄 2	117.61
酸性红 114 (ESI ⁻)	94.84	分散蓝 102	71.47	分散黄 23	163.69
酸性紫 49	/	分散蓝 106	99.88	分散橙 1	193.38
酸性红 114	/	溶剂黄 1	89.36	分散橙 149	156.10
碱性红 9	83.91	分散黄 39	88.69	分散蓝 3	82.83
碱性紫 14	87.27	分散黄 3	86.78	分散蓝 35a	201.15
碱性紫 1	91.83	分散橙 3	98.78	分散蓝 1	94.69
碱性紫 3	92.07	分散蓝 35b	198.37	分散棕 1	110.13
碱性黄 2	77.03	分散红 60	61.42	分散蓝 26	168.39
直接红 28 (ESI ⁻)	108.29	分散橙 11	97.30	分散黄 1	107.00
直接黑 38 (ESI ⁻)	112.33	分散红 1	102.94	分散黄 9	101.82
直接红 28	/	分散黄 49	106.33	直接棕 95	119.39
直接黑 38	/	分散蓝 124	87.81	米氏酮	80.14
分散蓝 7	100.39	溶剂黄 3	99.46	米氏碱	115.02
分散黄 56	84.73	分散黄 56-甲基	86.38		

注：Area1 为用吡啶-甲醇-水（5:45:50, v/v/v）定容时各染料的峰面积；

Area2 为用甲醇/水（1/1, v/v）定容时各染料的峰面积；

未注明离子模式的均为正离子模式下获得的数据。

由表 9 可知，定容溶剂中一定量的吡啶不仅影响含磺酸基染料在质谱上的响应，也会影响其他分散染料的响应强度，因此，在实际样品检测过程中，必须考虑吡啶对染料化合物响应的的影响，配制标准溶液时，根据样品的稀释倍数加入相同比例的吡啶，消除可能由吡啶引起的抑制或增强效应，保证定量准确。

3.7 样品提取条件

3.7.1 提取方式的选择

由于 53 种禁限用染料分属 5 个不同的类别，其上染的纤维种类和上染原理都各不相同。为寻找一种能同时提取所有染料的方法，本标准参照现有文献资料及标准的前处理方法，分

别对比了 5 种提取方法。

4.7.1.1 加标回收实验

日常生活中棉布和涤纶应用最广，所以选择纯棉和纯涤纶空白样品作为添加回收的空白样品，选取酸性紫 49、碱性红 9、直接红 28、分散棕 1 和溶剂黄 1 作为代表性化合物分别添加至上述空白样品，做添加回收实验对 5 种前处理方法进行考察；此外，还选用了上染直接红 28 的棉坯布和上染分散黄 23 的纯涤纶真实阳性样品考察 5 种前处理方法的提取效率。对比了甲醇超声提取法、烘箱加热法、水浴振荡提取法、加速溶剂萃取法和微波萃取法五种提取方法对代表化合物的添加回收率和阳性样品的提取效率。

甲醇超声提取方法，参照国家标准 GB/T 20383-2006：取 0.5 g 样品，加入 20 mL 甲醇，70 °C 水浴全功率超声 30 min，冷却至室温，将提取液稀释适当倍数，过 0.22 μm PTFE 膜上机测定。

烘箱加热法，参照 ISO 16373-2:2014：取 0.5 g 样品，加入 20 mL 吡啶/水 (1/1, v/v)，100 °C 左右加热 30 min，冷却至室温，将提取液稀释适当倍数，过 0.22 μm PTFE 膜上机测定。

水浴振荡提取法，参照 ISO 16373-2:2014：取 0.5 g 样品，加入 20 mL 吡啶/水 (1/1, v/v)，95 °C 左右以 150 r/min 振荡 30 min，冷却至室温，将提取液稀释适当倍数，过 0.22 μm PTFE 膜上机测定。

加速溶剂萃取法 (ASE)，参照赵珊红等 (2010) 文献资料的方法：准确称取 0.5 g 样品，按以下设定程序运行：温度 100 °C，压力 1500 psi，预热 2 min，加热 5 min，用甲醇/丙酮 (1/2, v/v) 静态萃取 5 min，60% 的溶剂快速冲洗样品，60 s 氮气吹扫收集全部提取液，静态萃取运行 2 个周期。提取完成后，将提取液稀释适当倍数，用 0.22 μm PTFE 膜过滤至样品瓶中，待分析。

微波萃取法：取 0.5 g 样品置于反应瓶中，加入搅拌子和 15 mL 吡啶+水 (1:1, v/v)，盖紧盖子，将反应瓶置于微波萃取仪架子上，按设定的程序运行：预搅拌 30 s，在 65 W、100 °C 条件下，保温 10 min，冷却后稀释适当倍数，过 0.22 μm PTFE 膜至样品瓶中上机分析。

代表化合物在纯棉布和涤纶上的添加回收实验回收率结果见图 7-1 和 7-2。

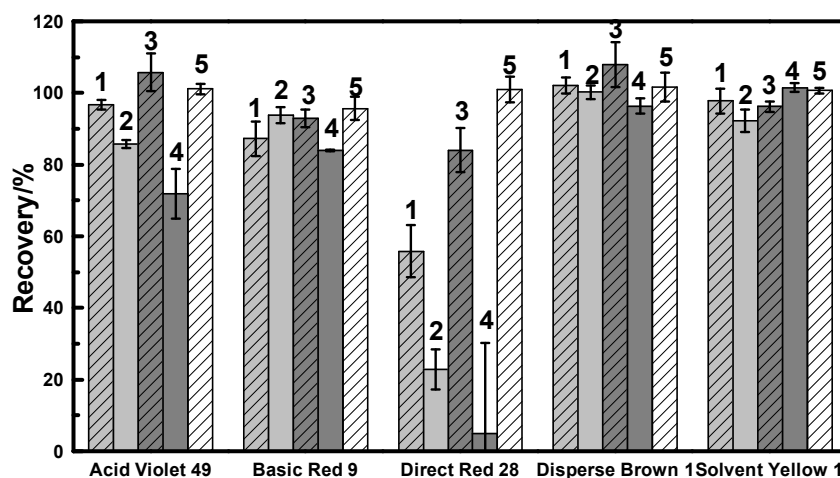


图7-1 不同前处理方法纯棉布上代表化合物的添加回收率比较

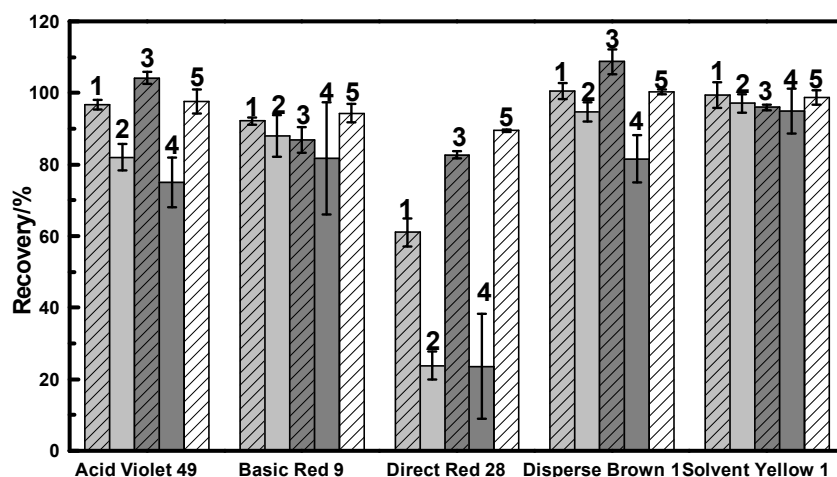


图7-2 不同前处理方法涤纶上代表化合物的添加回收率比较

1、甲醇超声提取法，2、烘箱加热提取法，3、水浴振荡提取法，4、快速溶剂萃取法，5、微波萃取法

从图可以看出，两种基质上获得的结果基本一致：酸性紫 49、碱性红 9、分散棕 1 和溶剂黄 1 等 4 种化合物经过上述 5 种前处理方法在棉布和涤纶上的添加回收率均在 70~110% 之间，表明 5 种前处理方法对该四类化合物均能得到较好的回收率，且相差不大；直接染料对棉织物染色，无需高温，就可以很容易地上染到纤维内部，故甲醇超声提取法和快速溶剂萃取法的回收率较低，而直接染料结构中含有多个磺酸基，极性可能较强，需用极性较强的提取溶剂提取，水浴加热法和微波萃取法使用极性强的提取溶剂，稍剧烈的提取方式，得到的回收效率比较理想。烘箱加热法回收率偏低的主要原因是由于空气导热较慢，导致 30min 中的提取中，有较长一段时间提取液并未达到提取温度，影响提取效率，而与之对比，水浴加热，传热较快，经过温度测量，通常可以在 3min 内，保证提取液温度达到 95℃。

4.7.1.2 阳性样品实验

此外，选用上染直接红 28 的纯棉布和上染分散黄 23 的涤纶样品作为阳性样品，比较 5 种提取方法的提取效率。5 种不同提取方法对两种不同基质的阳性样品的提取测定结果，两种基质的实验结果一致：对于直接红 28，甲醇超声提取和 ASE 提取的效率远不如其它三种方法，原因可能是直接染料一般在中性或弱酸性浴中直接上染纤维，不经过高温高压的步骤，脱色相对比较容易，故提取方式的影响不是主要影响因素，而提取试剂对其提取效率的影响比较大，所以选择极性较强并能提供质子的吡啶/水 (1/1, v/v) 做提取溶剂的另外 3 种方法对直接红 28 的提取效率相差不大，由此吡啶/水 (1/1, v/v) 可能更适合天然纤维中直接染料的提取；对于分散黄 23，分散染料经过高温高压等方法与纤维紧密结合，相对不容易脱色，根据表的试验结果可以看出：烘箱加热法和甲醇超声提取法对分散黄 23 的提取效率很低，不及水浴加热提取法和微波提取法的 1/3，而 ASE 的提取效率虽然比甲醇超声提取和烘箱加热提取的效率高，但其不及水浴加热提取和微波萃取法的提取效率。因此将甲醇超声提取法、烘箱加热法和 ASE 法排除。

表 10 5 种不同提取方式的实验结果 (阳性样品)

阳性样品	提取方法	测得值 (mg/kg)	平均值	相对标
------	------	-------------	-----	-----

		1	2	3	(mg/kg)	准偏差 RSD(%)
上染直接红 28 的棉坯布	甲醇超声提取法	574.30	581.82	596.86	584.33	1.90
	水浴振荡提取法	7053.85	6980.01	6818.59	6950.82	1.73
	烘箱加热法	6643.01	6737.60	6945.45	6775.35	2.28
	ASE	651.06	590.87	663.97	635.30	6.14
	微波萃取法	8012.48	8262.94	7932.68	8069.37	2.14
上染分散黄 23 的涤纶	甲醇超声提取法	10.35	12.38	9.78	10.84	12.57
	水浴振荡提取法	38.27	40.83	38.59	39.23	3.56
	烘箱加热法	8.43	8.86	8.91	8.73	3.02
	ASE	25.02	28.04	29.95	27.67	8.99
	微波萃取法	36.39	37.85	39.21	37.82	3.73

在此基础上，选择上染碱性紫 14 的腈纶和上染酸性红 26 的毛坯布为试验用阳性样品，比较水浴振荡提取法和微波萃取法对两种染料的提取效率。根据实验结果，对于腈纶上的碱性染料和毛坯布上的酸性染料的提取效率水浴振荡法比微波萃取法相当，在提取效率上，微波萃取法没有明显的提高，考虑到仪器设备的成本及普遍性，最终选用水浴提取法提取纤维上的化学染料。

表 11 2 种不同提取方式的实验结果（阳性样品）

阳性样品	提取方法	测得值 (mg/kg)			平均值 (mg/kg)	相对标 准偏差 RSD(%)
		1	2	3		
上染碱性紫 14 的腈纶	水浴振荡提取法	3409.30	3294.88	3125.39	3276.52	4.36
	微波萃取法	3152.89	3226.40	3126.17	3168.49	1.64
上染酸性红 26 的毛坯布	水浴振荡提取法	34292.18	30702.65	30105.05	31699.96	7.14
	微波萃取法	29047.66	31595.45	30683.39	30442.16	4.24

3.7.2 提取温度的优化

确定使用水浴加热法提取样品上的化学染料后，对影响纺织品纤维上化学染料提取效率的主要因素（温度和时间）进行了单因素实验。

首先，在其他条件不变情况下，降低温度至 85 °C，仍用上染直接红 28 的棉坯布和上染分散黄 23 的涤纶作为实验用阳性样品进行研究，实验结果见图 8。由图可以看出，温度降低 10 °C 对直接红 28 的提取效率影响不大，对实验结果做 t 检验，不同温度对提取效率的影响不显著。然而当温度降低 10 °C 时，涤纶上的分散黄 23 的提取效率降低了约 25%，可能是

由于分散染料是在高温高压条件下上染于涤纶等纤维，与纤维间通过氢键结合，结合比较紧密，提高温度有助于其氢键断裂，从而获得稍高的提取效率。为获得多种纺织品纤维上不同种类化学染料的较高提取效率，将提取温度设定为 95 °C。

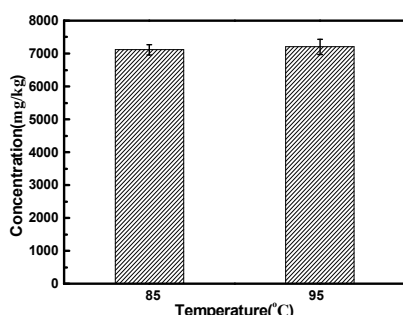


图 8-1 不同温度对直接红 28 提取效率的影响

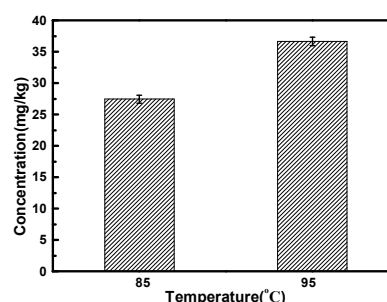


图 8-2 不同温度对分散黄 23 提取效率的影响

3.7.3 提取时间的优化

将温度设为 95 °C，振荡频率不变情况下，仍用上染直接红 28 的棉坯布和上染分散黄 23 的涤纶作为实验用阳性样品研究提取时间对提取效率的影响，考察 15 min、30 min、60 min、90 min 和 120 min 对直接红 28 提取效率的影响，对分散黄 23 分别考察 15 min、30 min 和 60 min 对其提取效率的影响，图 9-1 可以看出提取时间大于 60 min 时，直接红 28 的提取效率提高不明显，对直接红 28 的 5 组不同时间的提取结果用 SPSS 做单因素方差分析，结果表明 60 min、90 min 和 120 min 的提取效率没有显著性差异，但 30 min 和 60 min 的提取效率有显著性差异。图 9-2 可以看出 3 组不同提取时间 15 min、30 min 和 60 min 对涤纶上分散黄 23 的提取效率影响不大，对 3 组数据做单因素方差分析，结果显示 3 组数据间没有显著性差异。因此，在提取时间的选择上，考虑到适应多种基质上多种类型染料的提取效率，选择 60 min 为最佳提取时间。

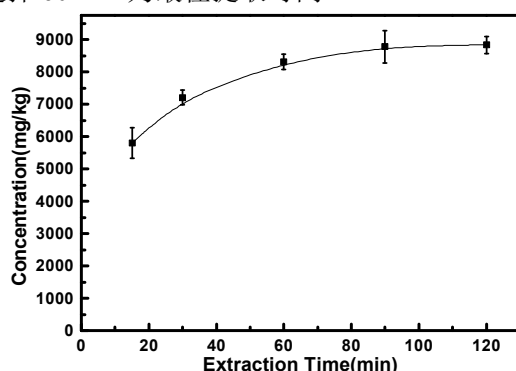


图 9-1 不同提取时间对直接红 28 提取效率的影响

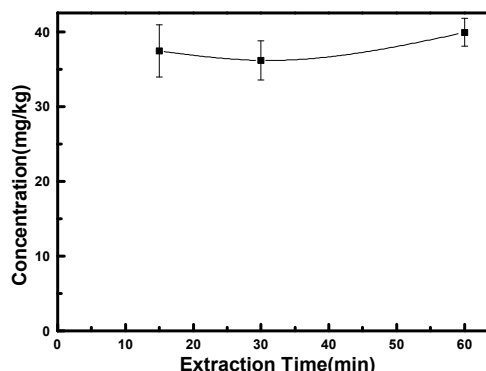


图 9-2 不同提取时间对分散黄 23 提取效率的影响

3.8 方法学评价

3.8.1 基质效应

查阅相关文献资料，发现相关学者研究表明常用基质对染料没有明显的基质效应。选 5 个代表化合物在 10-50 μg/L 范围内考察其基质效应，得到的试剂标准曲线与棉基质标准曲线、

涤纶基质标准曲线及棉涤混纺标准曲线的系数比均在 90-110%之间，基质效应不明显，其可能是样品处理过程稀释倍数较大的原因。在实际样品测定过程中，不需要配制基质标准曲线。

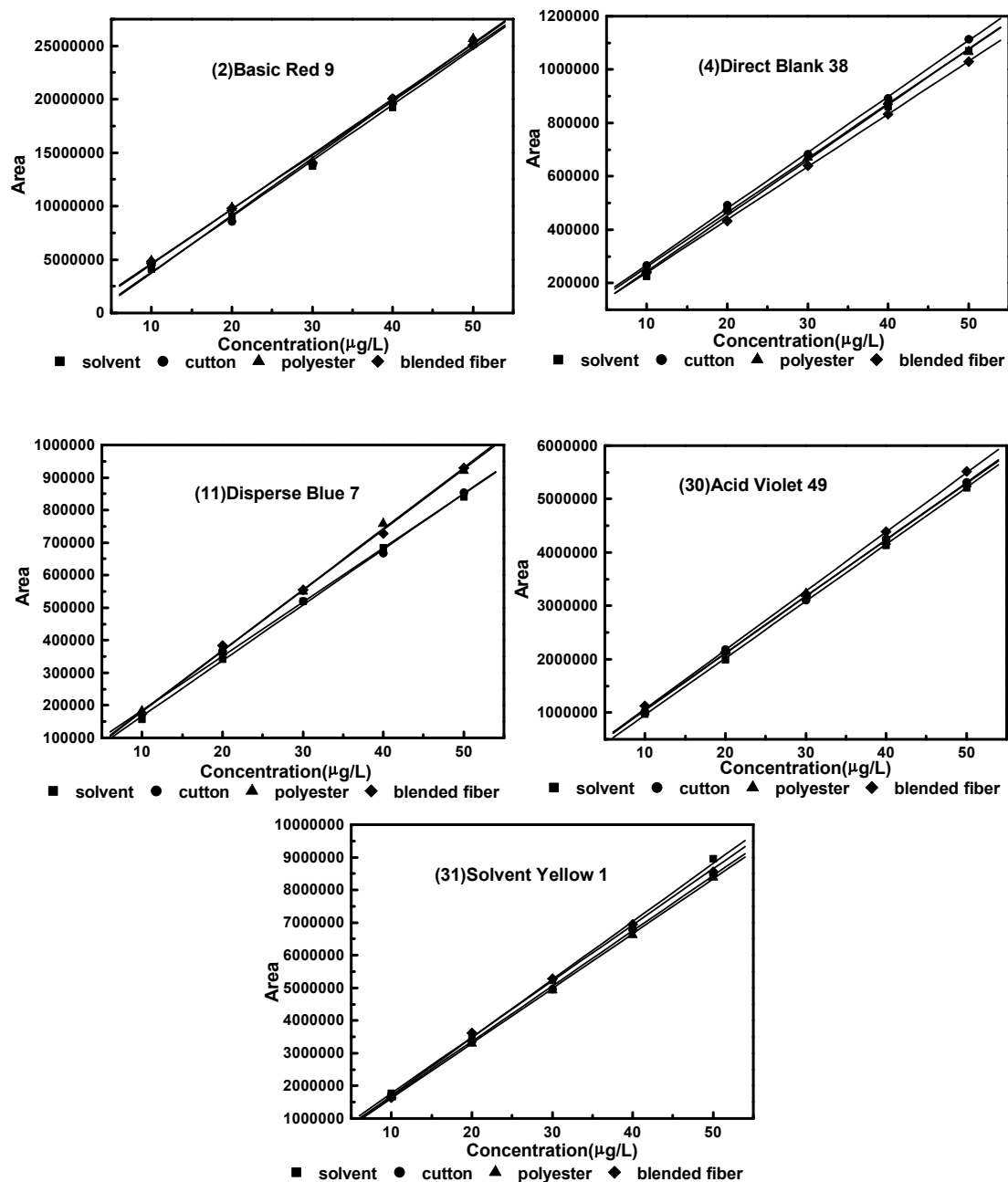


图 10 代表化合物的溶剂标准工作曲线和基质标准工作曲线

3.8.2 线性范围

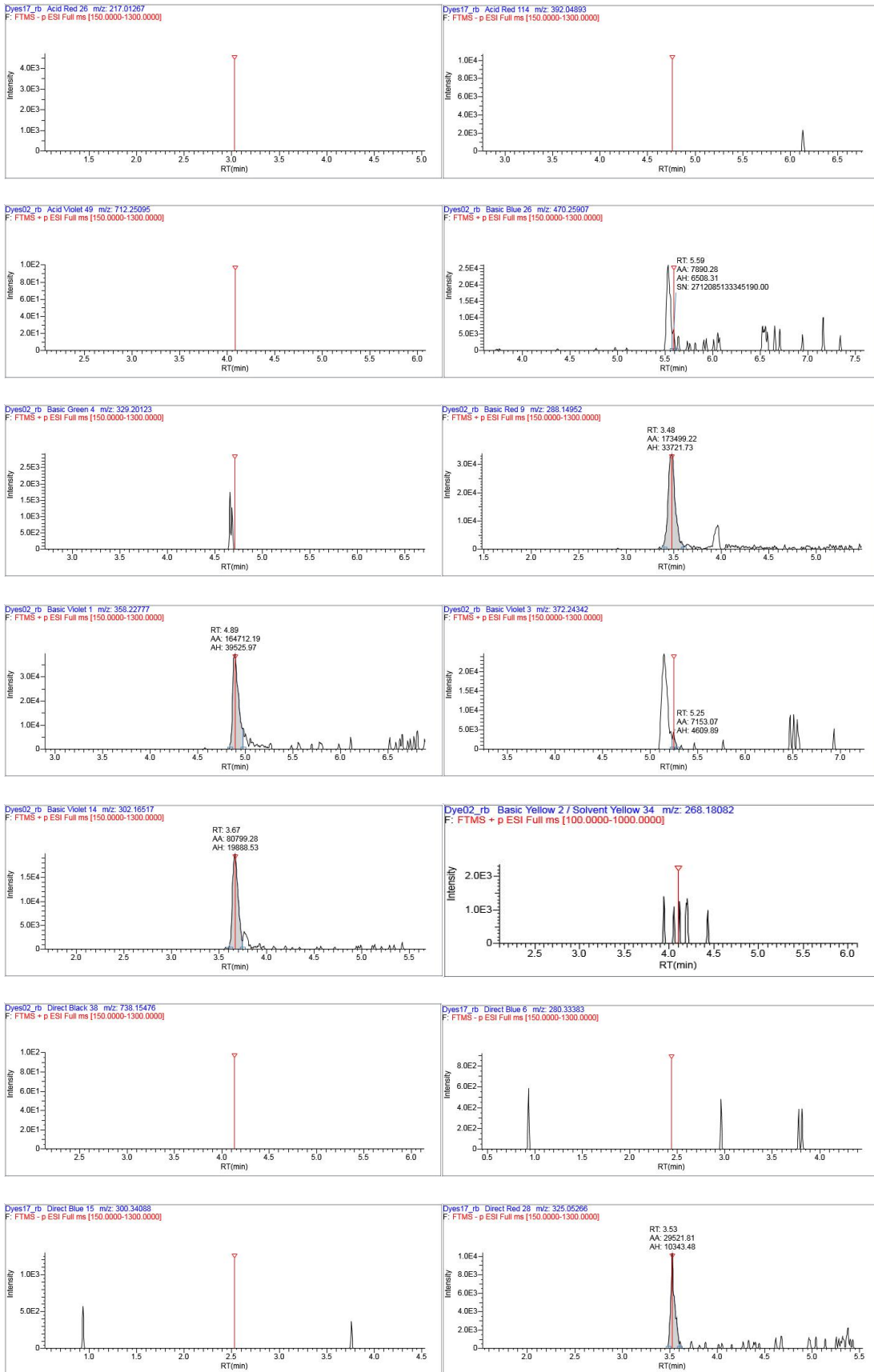
取染料的标准溶液，用甲醇/水（1/1，v/v）逐级稀释成合适的浓度，采用建立的分析方法进行进样，以峰面积（Area）为纵坐标 y，浓度（µg/L）为横坐标 x 绘制工作曲线并计算回归方程。当基质效应不明显，且回收率较高时，根据样品的稀释倍数，方法的线性范围可由仪器的线性范围推导得出，各化合物的线性范围如下表，其相关系数 R^2 均大于 0.99。

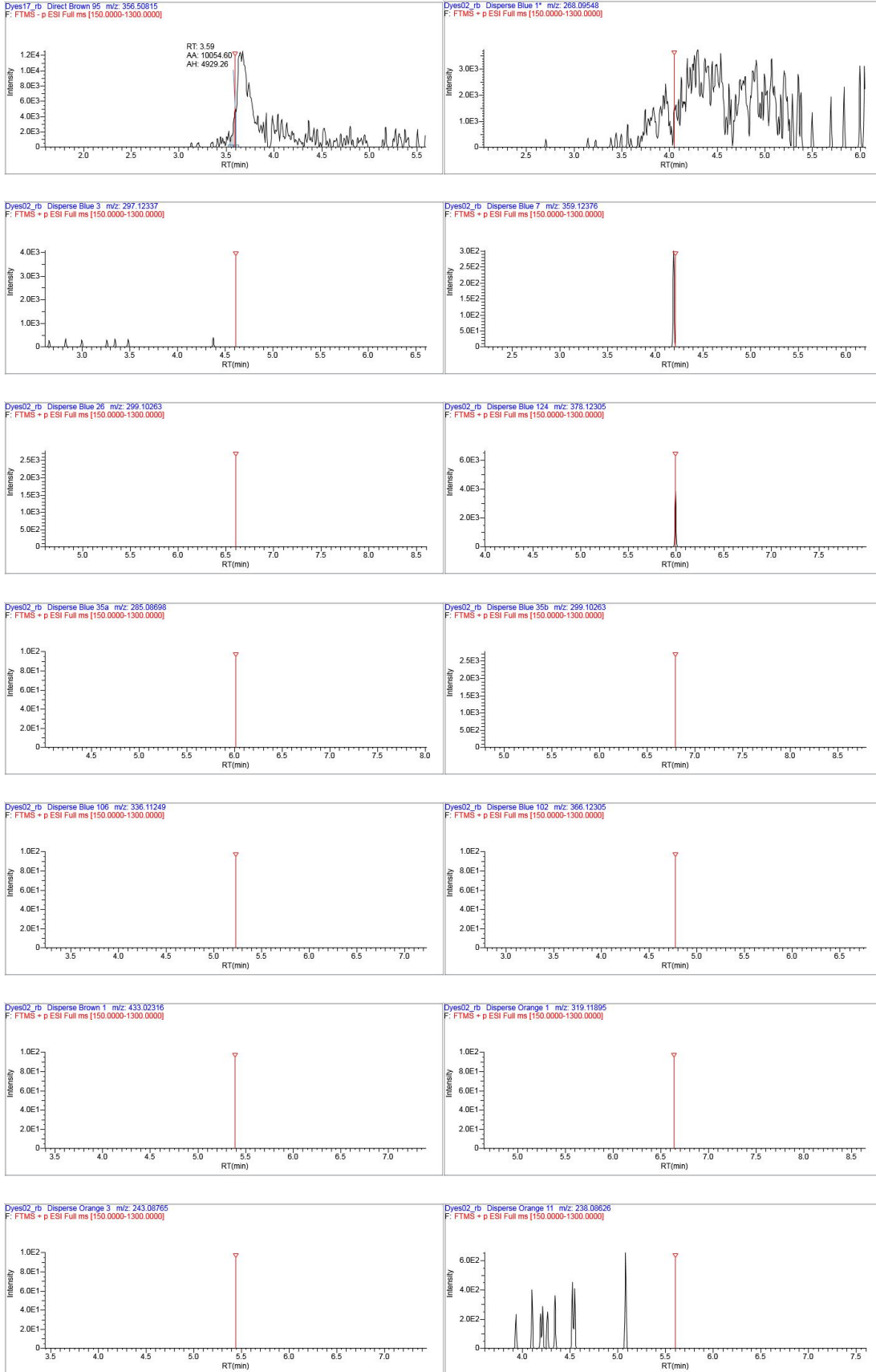
表 12 53 种染料的线性范围

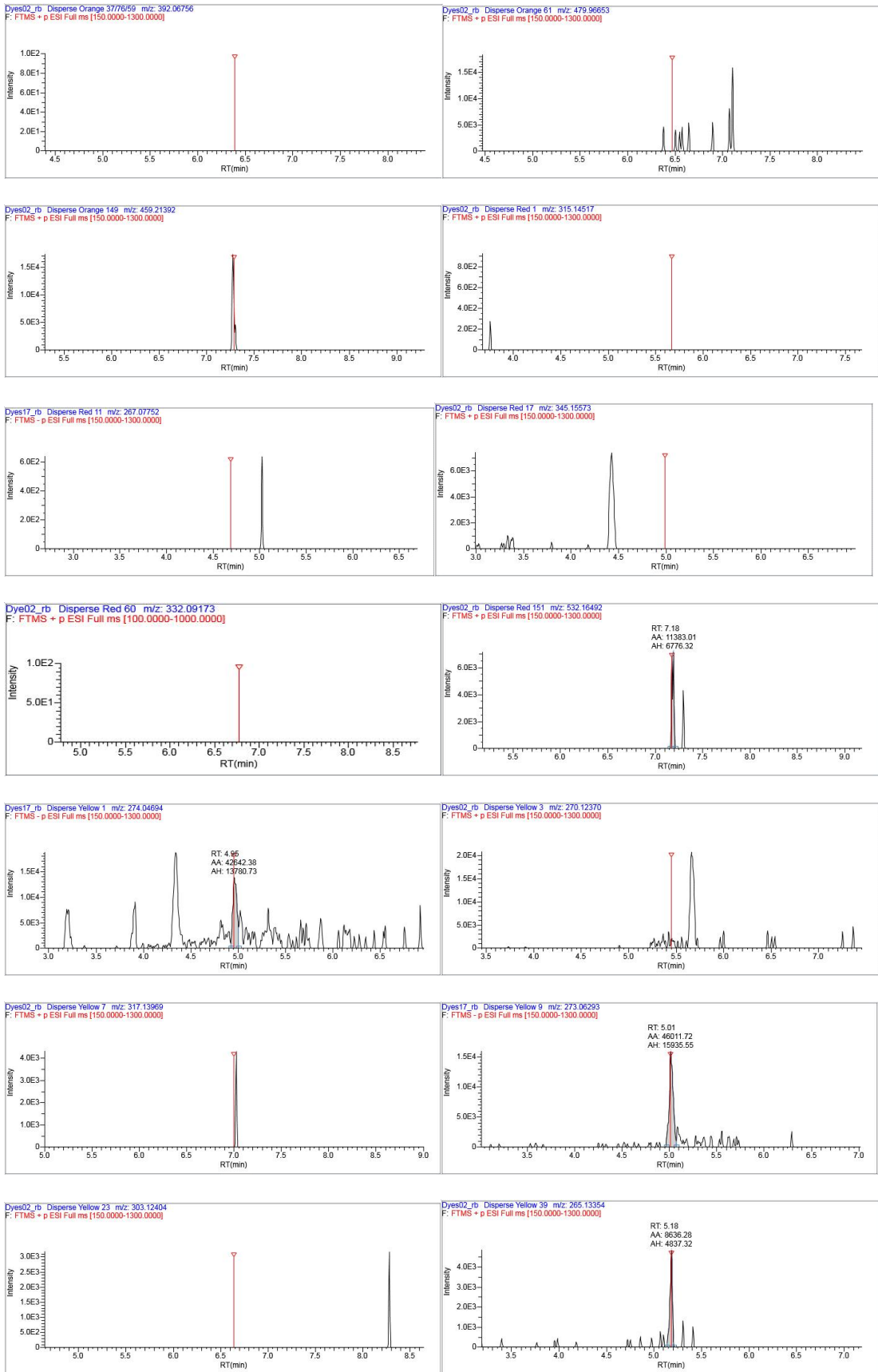
染料名称	离子模式	线性范围 (mg/kg)	染料名称	离子模式	线性范围 (mg/kg)
酸性红 26	ESI ⁻	1~40	分散橙 11	ESI ⁺	0.2~40
酸性红 114	ESI ⁻	1~40	分散橙 37/76/59	ESI ⁺	0.1~40
酸性紫 49	ESI ⁺	0.5~40	分散橙 61	ESI ⁻	0.4~40
碱性蓝 26	ESI ⁺	0.2~40	分散橙 149	ESI ⁺	0.02~20
碱性绿 4	ESI ⁺	0.2~40	分散红 1	ESI ⁺	0.04~100
碱性红 9	ESI ⁺	0.04~40	分散红 11	ESI ⁻	0.4~40
碱性紫 1	ESI ⁺	0.02~40	分散红 17	ESI ⁺	0.04~1
碱性紫 3	ESI ⁺	0.02~40	分散红 60	ESI ⁺	0.02~200
碱性紫 14	ESI ⁺	0.02~40	分散红 151	ESI ⁺	0.04~40
碱性黄 2/ 溶剂黄 34	ESI ⁺	0.02~200	分散黄 1	ESI ⁻	0.02~10
直接黑 38	ESI ⁺	1~20	分散黄 3	ESI ⁺	0.04~100
直接蓝 6	ESI ⁻	10~100	分散黄 7	ESI ⁺	0.04~100
直接蓝 15	ESI ⁻	10~100	分散黄 9	ESI ⁻	0.1~10
直接棕 95	ESI ⁻	2~20	分散黄 23	ESI ⁺	0.1~20
直接红 28	ESI ⁻	0.4~14	分散黄 39	ESI ⁺	0.01~10
分散蓝 1	ESI ⁺	10~40	分散黄 39 surrogate	ESI ⁺	0.05~20
分散蓝 3	ESI ⁺	0.2~40	分散黄 49	ESI ⁺	0.04~100
分散蓝 7	ESI ⁺	0.4~40	分散黄 56	ESI ⁺	0.02~200
分散蓝 26	ESI ⁺	2~140	分散黄 56-甲基	ESI ⁺	0.02~200
分散蓝 35a	ESI ⁺	1~20	溶剂黄 1	ESI ⁺	0.04~200
分散蓝 35b	ESI ⁺	1~100	溶剂黄 2	ESI ⁺	0.01~40
分散蓝 102	ESI ⁺	0.1~100	溶剂黄 3	ESI ⁺	0.02~40
分散蓝 106	ESI ⁺	0.02~4	溶剂黄 14	ESI ⁺	0.05~100
分散蓝 124	ESI ⁺	0.01~20	海军蓝 018112	ESI ⁻	0.2~10
分散棕 1	ESI ⁺	0.2~200	米氏酮	ESI ⁺	0.02~200
分散橙 1	ESI ⁺	0.4~40	米氏碱	ESI ⁺	0.02~200
分散橙 3	ESI ⁺	0.2~40			

3.8.3 方法回收率与精密度

选取日常生活中常见的纯棉布、纯涤纶布作为天然纤维、化学纤维的代表基质，依据 Oeko-Tex Standard 100 对纺织品中染料检测定量限的规定 (50 mg/kg)，在空白样品中进行了 25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg 共 3 个浓度水平的加标回收实验，每个水平进行 6 次重复实验，测定结果表明：大部分化合物的回收率均为 62%~120%，相对标准偏差 RSD < 10% (n=6)。从纯棉样品、涤纶样品的空白图可以看出高分辨质谱的背景噪音很低，且在目标化合物色谱峰附近没有干扰峰存在。图 11 为空白纯棉样品各染料化合物的提取离子色谱图。







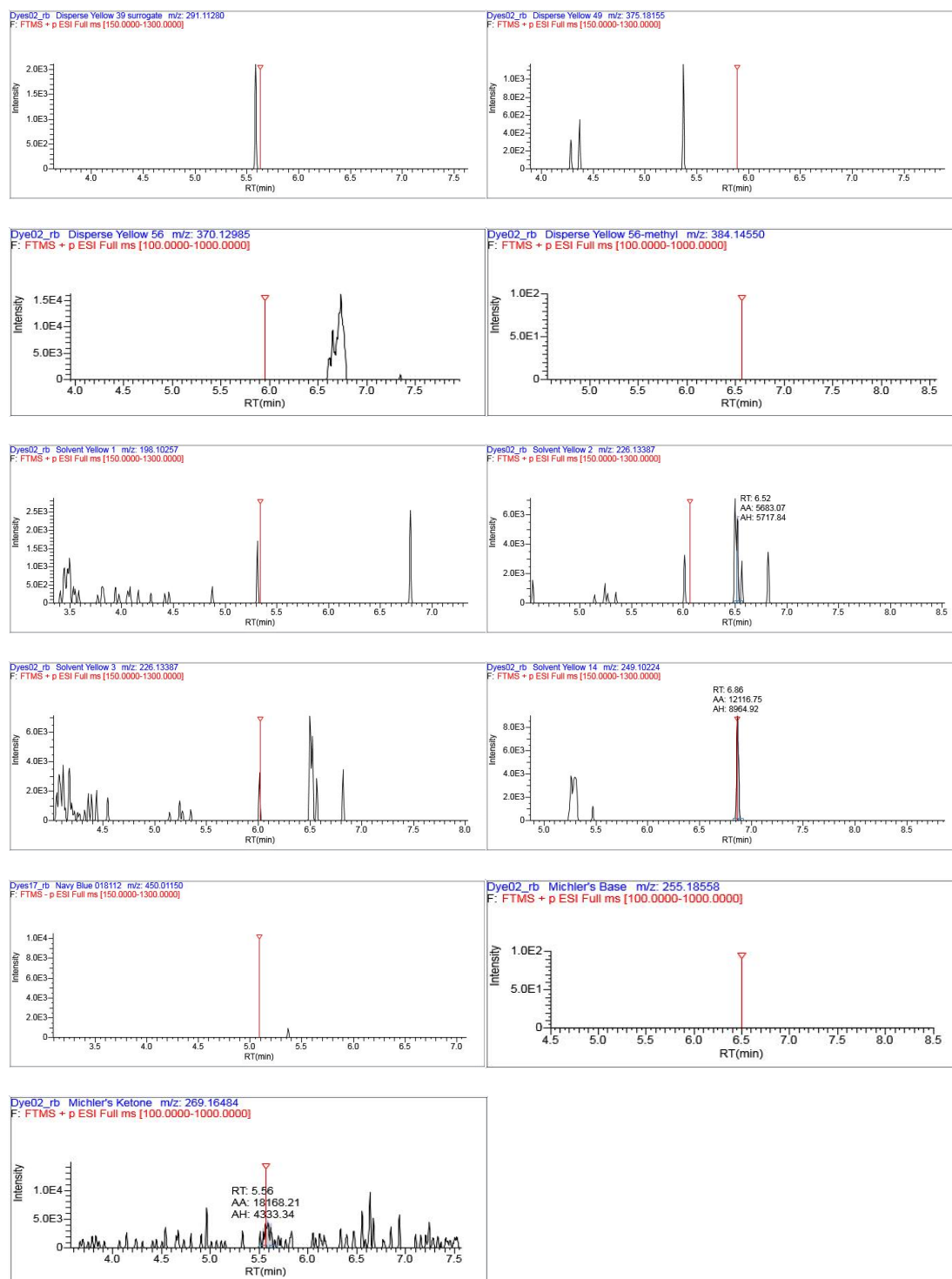


图 11 空白纯棉样品的各染料化合物提取离子色谱图

表 13-1 纯棉布基质中染料的回收率和精密度

染料名称	添加水平 (mg/kg)	回收率/%						平均值	RSD
		1	2	3	4	5	6	/%	/%
酸性红 26	25	94.08	90.29	94.30	93.86	97.08	95.16	94.13	2.36

	50	97.23	101.54	103.94	99.62	88.66	100.23	98.54	5.40
	100	101.23	103.54	99.94	101.62	76.66	96.23	96.54	10.40
	25	90.16	89.08	92.92	92.03	89.44	93.53	91.19	2.07
酸性红 114	50	88.22	85.10	89.36	90.00	94.12	83.82	88.44	4.17
	100	103.66	102.24	95.01	107.10	104.26	98.73	101.83	4.24
	25	90.38	91.19	94.90	92.10	90.17	89.45	91.36	2.14
酸性紫 49	50	97.99	94.75	100.12	103.10	99.30	101.29	99.43	2.89
	100	96.66	100.75	102.12	99.10	97.30	93.29	98.20	3.22
	25	95.42	100.71	103.50	104.61	103.65	101.74	95.42	3.31
碱性蓝 26	50	95.50	97.53	100.15	97.05	99.30	99.93	98.24	1.88
	100	98.15	107.54	96.12	105.21	101.46	99.00	101.25	4.33
	25	92.41	90.42	91.10	90.54	89.00	87.24	90.12	1.99
碱性绿 4	50	83.04	81.86	79.25	78.43	75.66	75.12	78.90	4.05
	100	74.71	77.26	78.87	77.32	80.53	79.13	77.97	2.58
	25	97.21	118.15	110.53	111.81	108.36	112.35	109.73	6.33
碱性红 9	50	85.58	85.66	88.86	79.94	91.07	85.53	86.11	4.38
	100	87.95	89.45	91.16	86.33	90.31	87.55	88.79	2.06
	25	87.16	82.08	77.65	89.85	75.24	82.85	82.47	6.69
碱性紫 1	50	86.82	84.79	89.49	87.99	86.33	88.71	87.35	1.96
	100	80.87	77.16	79.43	79.23	76.90	73.89	77.91	3.17
	25	86.64	78.31	74.61	87.42	71.91	83.31	80.37	8.00
碱性紫 3	50	84.55	80.12	87.09	87.27	86.79	80.75	84.43	3.85
	100	79.22	84.86	78.25	83.31	81.72	78.82	81.03	3.32
	25	106.75	108.44	102.64	115.10	120.86	104.66	109.74	6.30
碱性紫 14	50	82.09	76.79	86.11	83.10	79.91	88.21	82.70	4.99
	100	84.01	85.22	88.62	87.86	85.41	87.78	86.48	2.13
	25	6.93	5.95	7.1	6.53	5.83	6.88	6.54	7.46
碱性黄 2/ 分散黄 34	50	6.49	5.74	5.22	6.25	5.69	5.27	5.78	8.07
	100	6.32	6.88	6.62	6.26	6.8	6.54	6.57	3.43
	25	80.20	86.99	81.10	103.25	85.54	93.76	88.47	9.85
直接黑 38	50	87.29	94.46	84.48	89.85	92.33	96.42	90.81	4.94
	100	91.17	90.46	90.48	85.85	96.33	90.42	90.79	3.67
	25	84.03	85.57	86.80	94.52	97.53	99.47	91.32	7.29
直接蓝 6	50	77.39	69.67	86.00	82.22	75.99	86.05	79.55	8.07
	100	75.39	61.67	82.00	80.22	59.99	64.05	70.55	13.89

	25	76.78	77.60	73.84	71.84	76.48	75.44	75.33	2.85
直接蓝 15	50	73.05	73.82	71.38	72.49	73.83	75.16	73.29	1.77
	100	71.40	72.85	70.52	71.00	75.19	74.85	72.63	2.77
	25	117.38	110.54	114.73	109.78	104.46	112.24	111.52	3.99
直接棕 95	50	99.43	104.49	109.62	101.21	113.28	106.91	105.82	4.91
	100	105.43	120.49	107.62	113.21	103.28	120.91	111.82	6.83
	25	79.73	92.13	93.40	89.91	91.85	93.97	90.16	5.88
直接红 28	50	91.88	103.98	94.41	119.31	92.83	96.80	99.87	10.48
	100	97.88	99.98	98.41	105.31	80.83	106.80	98.20	9.44
	25	67.45	90.77	92.55	83.46	70.48	81.94	81.11	12.69
分散蓝 1	50	80.75	69.85	72.73	72.03	69.81	70.02	72.53	5.81
	100	90.01	91.37	99.13	100.41	93.83	94.78	94.92	4.36
	25	83.65	87.15	86.72	84.91	74.29	83.93	83.44	5.64
分散蓝 3	50	99.93	95.59	100.79	102.16	98.63	99.15	99.38	2.25
	100	94.88	95.36	98.18	99.12	101.36	99.29	98.03	2.54
	25	76.48	91.24	113.26	94.11	84.74	89.81	91.61	13.41
分散蓝 7	50	111.54	111.54	105.38	116.57	109.50	108.98	110.58	3.35
	100	90.02	78.69	80.00	71.68	81.49	84.74	81.10	7.58
	25	86.83	101.74	95.91	95.33	97.03	98.41	95.88	5.20
分散蓝 26	50	86.82	92.05	91.39	87.76	88.15	87.21	88.90	2.52
	100	95.51	100.42	94.59	107.82	98.45	102.42	99.87	4.88
	25	104.00	94.49	88.49	108.38	101.89	86.63	97.32	9.05
分散蓝 35a	50	96.69	96.69	102.97	102.99	98.40	100.72	99.74	2.92
	100	104.28	108.24	107.11	107.67	108.26	108.46	107.34	1.47
	25	99.53	91.03	99.94	112.67	103.80	92.24	99.87	7.96
分散蓝 35b	50	95.86	104.52	105.87	102.23	102.43	100.41	101.89	3.45
	100	110.00	117.09	116.63	121.51	118.72	120.72	117.44	3.51
	25	88.17	91.31	95.33	96.80	92.08	96.80	93.41	3.72
分散蓝 102	50	81.71	77.65	83.44	77.87	81.98	84.70	81.22	3.56
	100	91.16	92.56	91.60	92.53	99.48	90.63	92.99	3.51
	25	88.77	91.24	97.23	94.91	90.69	83.14	91.00	5.40
分散蓝 106	50	87.00	89.30	92.68	87.67	86.64	87.64	88.49	2.54
	100	91.44	98.89	94.53	91.93	95.58	96.59	94.83	2.99
	25	61.55	65.99	70.07	68.97	69.46	64.60	66.77	4.99
分散蓝 124	50	56.77	51.12	54.79	64.75	50.99	69.29	57.95	12.94

	100	52.98	62.22	59.71	53.49	61.59	61.97	58.66	7.32
	25	98.54	97.69	99.07	97.27	96.18	77.66	94.40	8.75
分散棕 1	50	90.13	90.43	93.47	94.93	90.12	92.31	91.90	2.19
	100	93.46	97.56	98.44	99.22	96.73	97.13	97.09	2.06
	25	122.57	117.79	109.15	116.14	124.69	94.01	114.06	9.84
分散橙 1	50	109.74	115.62	116.23	107.57	111.84	105.61	111.10	3.86
	100	92.07	94.92	102.67	108.73	99.76	100.37	99.75	5.88
	25	99.37	110.03	108.54	101.39	106.92	78.58	100.81	11.56
分散橙 3	50	94.16	98.22	106.78	103.03	97.62	98.98	99.80	4.46
	100	95.42	92.79	102.08	96.88	99.07	101.37	97.94	3.66
	25	111.67	108.31	114.73	117.60	120.79	98.91	112.00	6.93
分散橙 11	50	100.12	96.74	85.29	97.20	94.01	88.04	93.57	6.15
	100	90.56	83.60	110.02	105.79	99.07	106.55	99.26	10.40
分散橙	25	94.96	98.41	103.00	106.55	103.88	79.45	97.71	10.09
37/76/59	50	114.10	101.21	123.77	116.67	115.37	114.54	114.28	6.41
	100	92.50	95.08	98.41	97.65	98.25	95.75	96.27	2.38
	25	86.22	80.90	82.74	83.68	79.66	89.32	83.76	4.24
分散橙 61	50	89.86	86.29	81.01	76.42	84.00	90.60	84.70	6.39
	100	87.27	88.73	85.08	84.74	83.08	83.98	85.48	2.48
	25	96.26	115.21	111.69	115.50	117.87	84.05	106.76	12.71
分散橙 149	50	114.04	109.76	117.66	118.11	115.55	116.54	115.28	2.67
	100	106.19	88.61	108.94	97.94	98.89	93.44	99.00	7.70
	25	91.29	87.39	89.32	92.52	90.95	80.98	88.74	4.73
分散红 1	50	85.20	87.10	91.01	91.74	87.06	87.32	88.24	2.90
	100	109.14	106.98	108.98	104.35	107.42	108.42	107.55	1.66
	25	88.95	89.09	92.12	91.41	96.74	80.69	89.83	5.90
分散红 11	50	90.63	88.40	94.84	96.74	92.67	91.72	92.50	3.22
	100	103.65	104.22	97.70	105.08	105.84	97.67	102.36	3.61
	25	90.02	84.95	95.75	95.64	94.80	86.11	91.21	5.37
分散红 17	50	91.37	88.43	95.83	97.74	95.68	94.06	93.85	3.63
	100	103.90	106.38	109.80	105.17	105.12	108.45	106.47	2.11
	25	84.65	83.48	89.84	84.34	80.19	86.24	84.78	3.42
分散红 60	50	84.13	87.81	81.07	85.77	82.18	79.47	83.41	3.38
	100	85.10	94.47	100.03	86.745	96.35	101.74	94.07	6.64
分散红 151	25	82.05	75.38	77.23	73.89	86.58	77.33	78.74	6.27

	50	76.96	69.03	74.79	71.94	81.48	86.28	76.75	8.63
	100	75.71	79.17	80.74	79.18	82.85	80.54	79.64	3.15
	25	75.46	65.81	79.82	80.40	70.37	66.74	73.10	8.76
分散黄 1	50	91.66	95.99	87.74	92.73	85.98	96.39	91.75	4.62
	100	95.66	91.99	101.74	96.73	77.98	98.39	93.75	8.92
	25	88.42	96.22	94.27	91.98	93.86	79.97	90.79	6.52
分散黄 3	50	89.63	89.34	92.41	90.86	88.30	86.95	89.58	2.13
	100	100.59	108.27	108.51	108.86	103.95	113.25	107.24	4.10
	25	82.05	90.00	77.23	73.89	72.16	87.12	80.41	9.58
分散黄 7	50	81.46	73.04	74.79	71.94	77.48	86.28	77.50	7.50
	100	75.71	80.52	82.54	79.18	78.52	80.54	79.50	3.19
	25	94.04	98.53	104.08	102.20	96.00	117.07	101.99	8.12
分散黄 9	50	95.48	100.74	98.43	103.84	97.81	104.76	100.18	3.61
	100	91.48	102.74	102.43	102.12	81.81	106.76	97.89	9.59
	25	90.20	96.76	96.17	105.85	109.26	87.41	97.61	8.76
分散黄 23	50	102.68	106.58	107.38	106.83	107.08	106.05	106.10	1.64
	100	103.73	108.38	103.79	108.69	110.61	115.54	108.46	4.10
	25	109.55	109.14	110.13	111.66	111.78	73.05	104.22	14.69
分散黄 39	50	100.24	103.69	100.15	107.14	101.90	95.32	101.41	3.90
surrogate	100	109.63	111.95	122.52	117.77	118.23	126.67	117.79	5.40
	25	85.54	86.23	77.37	78.50	81.75	87.14	82.76	5.05
分散黄 39	50	84.60	85.74	86.66	80.66	84.72	85.24	84.60	2.45
	100	87.69	85.73	82.74	88.74	82.47	87.33	85.787	3.09
	25	6.35	8.22	7.96	7.95	9.20	7.86	7.92	11.55
分散黄 49	50	7.64	7.91	7.30	5.90	7.23	6.32	7.05	11.06
	100	6.72	9.17	7.10	7.50	8.86	9.86	8.20	15.44
	25	81.22	81.40	80.32	76.78	84.38	77.60	80.28	3.45
分散黄 56	50	73.05	75.94	72.56	71.10	72.24	72.06	72.83	2.32
	100	70.00	71.38	73.19	74.58	70.45	70.43	71.67	2.58
	25	75.94	79.34	88.7	80.67	76.17	85.41	81.04	5.76
分散黄 56-甲	50	77.98	80.30	76.17	76.39	78.22	80.55	78.27	2.17
基	100	83.80	88.46	90.92	81.67	86.99	91.22	87.18	4.02
	25	105.08	93.00	87.67	97.60	84.85	84.42	92.10	8.83
溶剂黄 1	50	90.21	89.68	94.16	92.00	102.32	101.54	94.99	5.90
	100	100.74	103.61	106.71	103.99	100.48	96.19	101.95	3.57

溶剂黄 2	25	93.51	101.36	103.31	100.59	98.61	100.80	99.70	3.39
	50	92.46	100.15	102.23	102.28	102.79	102.32	100.37	3.97
	100	114.39	110.56	111.21	109.47	111.49	110.28	111.23	1.53
溶剂黄 3	25	95.35	85.80	108.97	87.72	90.72	78.80	91.23	11.27
	50	94.16	92.50	96.83	96.91	94.50	93.75	94.77	1.86
	100	95.40	94.40	94.26	95.68	95.39	90.92	94.34	1.88
溶剂黄 14	25	82.42	85.22	77.58	82.76	82.06	86.26	82.71	3.66
	50	88.63	87.59	77.98	82.60	95.22	90.98	87.17	7.01
	100	90.83	95.40	98.51	92.44	94.74	97.20	94.85	3.03
海军蓝 018112	25	95.37	102.99	95.10	98.62	104.22	104.48	100.13	4.34
	50	104.37	102.66	108.44	108.47	102.35	103.90	105.03	2.62
	100	95.34	97.42	105.88	103.98	90.45	90.08	97.86	6.08
米氏酮	25	160.29	158.64	148.22	152.81	153.3	156.66	154.99	2.6
	50	142.44	151.92	158.49	145.8	153.38	161.57	152.27	4.36
	100	166.42	165.54	171.56	163.83	172.39	174	170.62	2.27
米氏碱	25	89.65	90.94	76.44	75.87	83.15	80.44	82.75	7.1
	50	80.78	89.73	105.88	97.97	86.14	97.74	93.04	8.99
	100	89.46	83.52	86.7	80.34	87.91	83.26	85.2	3.64

表 13-2 纯涤纶基质中染料的回收率和精密度

染料名称	添加水平 (mg/kg)	回收率/%						平均值 /%	RSD /%
		1	2	3	4	5	6		
酸性红 26	25	102.96	105.41	105.78	97.19	102.27	103.94	102.93	3.03
	50	97.13	100.07	103.97	97.43	107.53	105.98	102.02	4.35
	100	105.13	102.07	105.97	107.43	111.53	113.98	107.68	4.06
酸性红 114	25	93.07	92.52	96.10	90.77	98.28	90.27	93.50	3.34
	50	103.05	101.33	98.11	103.17	116.84	108.82	105.22	6.34
	100	101.58	100.06	102.62	117.21	113.78	111.68	107.82	6.75
酸性紫 49	25	82.03	79.00	69.87	76.90	83.38	82.73	78.98	6.46
	50	99.65	106.40	104.74	101.31	102.95	98.35	102.23	2.99
	100	101.09	110.40	100.74	107.31	108.95	112.35	106.81	4.55
碱性蓝 26	25	95.84	103.48	100.66	109.83	98.75	118.60	104.53	8.02
	50	97.01	99.62	98.71	99.07	100.30	99.24	98.99	1.12
	100	102.86	97.32	107.89	95.92	105.65	102.50	102.02	4.55
碱性绿 4	25	91.35	90.05	90.85	89.68	100.05	98.38	93.46	5.04

	50	87.98	88.27	90.28	90.20	95.00	97.49	91.53	4.21
	100	90.25	87.97	85.76	87.85	92.55	93.31	89.61	3.29
	25	111.00	105.46	113.20	104.76	107.93	113.95	109.38	3.59
碱性红 9	50	83.56	91.86	86.06	82.67	80.37	89.57	85.68	5.09
	100	89.67	96.53	100.16	96.29	93.57	96.53	95.46	3.69
	25	83.65	94.72	96.52	89.68	85.95	91.30	90.30	5.48
碱性紫 1	50	88.17	85.14	86.25	82.36	83.10	82.99	84.67	2.67
	100	90.07	86.64	86.46	83.14	85.13	87.25	86.45	2.66
	25	78.18	89.56	86.82	86.82	82.18	89.80	85.56	5.31
碱性紫 3	50	86.75	84.31	86.83	80.75	87.53	82.92	84.85	3.14
	100	88.58	87.21	93.84	86.71	90.59	90.25	89.53	2.93
	25	108.21	111.74	108.12	107.82	109.83	107.97	108.95	1.42
碱性紫 14	50	92.57	95.27	89.83	93.14	95.73	96.66	93.87	2.69
	100	79.87	94.68	95.60	88.17	93.22	91.94	90.58	6.46
	25	6.61	7.32	7.35	7.58	7.14	7.92	7.32	5.46
碱性黄 2/ 溶剂黄 34	50	6.95	6.11	6.9	6.83	6.3	6.78	6.64	4.81
	100	8.66	8.17	8.73	8.46	8.18	7.8	8.33	3.81
	25	78.24	77.21	82.36	61.13	83.12	72.93	75.83	10.68
直接黑 38	50	96.14	105.62	100.65	101.63	105.77	107.83	102.94	4.17
	100	84.85	85.62	80.65	81.63	85.77	87.83	84.39	3.23
	25	90.19	110.98	78.37	86.21	95.32	76.02	89.52	14.24
直接蓝 6	50	82.55	89.45	95.80	85.03	90.49	93.45	89.46	5.58
	100	83.87	93.45	79.80	77.03	72.49	93.02	83.28	10.28
	25	87.30	87.28	90.43	113.61	107.05	105.66	98.56	11.74
直接蓝 15	50	103.69	99.62	100.25	116.28	126.12	99.17	107.52	10.38
	100	107.57	100.09	99.45	94.46	90.83	83.80	96.03	8.59
	25	103.35	99.38	112.65	115.10	109.37	117.38	109.54	6.37
直接棕 95	50	106.92	115.32	118.84	108.78	120.37	122.51	115.46	5.51
	100	120.92	119.32	114.84	122.78	118.54	120.51	119.48	2.26
	25	94.57	93.66	93.01	89.96	95.46	92.95	93.27	2.02
直接红 28	50	99.32	105.15	107.97	110.18	100.45	103.10	104.36	4.06
	100	105.32	107.15	109.97	114.18	104.45	107.10	108.03	3.30
	25	77.60	78.33	77.65	66.74	70.36	67.86	73.09	7.33
分散蓝 1	50	70.54	71.65	71.85	72.72	71.99	72.83	71.93	1.16
	100	83.48	93.82	100.50	102.35	96.00	97.32	95.58	6.98

	25	87.59	90.21	89.63	79.34	90.59	84.60	86.99	5.01
分散藍 3	50	94.81	93.04	93.47	93.56	94.04	96.96	94.31	1.51
	100	95.14	98.24	97.84	98.36	98.58	99.41	97.93	1.49
	25	93.96	83.02	68.41	83.76	83.64	75.01	81.30	10.73
分散藍 7	50	102.41	101.56	98.46	97.40	97.78	103.19	100.13	2.54
	100	92.58	92.30	91.31	89.54	93.59	91.14	91.74	1.53
	25	96.59	95.33	97.72	98.73	90.82	104.64	97.30	4.65
分散藍 26	50	101.64	104.12	109.88	103.88	102.25	105.69	104.58	2.84
	100	102.73	115.99	107.22	116.39	112.39	106.06	110.13	5.11
	25	91.02	95.54	88.37	77.86	72.91	85.44	85.19	9.90
分散藍 35a	50	82.80	82.23	79.87	78.20	78.21	79.61	80.15	2.45
	100	114.53	116.27	118.97	114.72	117.63	112.52	115.77	2.01
	25	86.70	93.59	91.67	69.29	84.12	83.98	84.89	10.13
分散藍 35b	50	101.31	94.50	94.42	91.91	92.23	96.12	95.08	3.61
	100	110.09	114.60	113.73	109.46	107.95	113.08	111.49	2.40
	25	91.53	88.28	87.21	86.60	88.64	86.13	88.06	2.21
分散藍 102	50	77.04	79.90	77.56	81.19	75.69	76.42	77.97	2.73
	100	93.15	98.21	101.83	100.31	100.34	102.55	99.40	3.43
	25	89.61	89.04	93.15	86.13	88.22	90.94	89.52	2.67
分散藍 106	50	86.49	90.10	85.59	88.59	85.29	85.92	87.00	2.21
	100	92.03	103.55	104.67	102.40	103.31	103.14	101.52	4.64
	25	65.68	63.61	64.79	58.45	63.73	63.71	63.33	3.98
分散藍 124	50	63.64	78.25	64.35	78.36	57.39	61.97	67.33	13.13
	100	57.71	77.59	87.36	76.89	87.94	84.95	78.74	14.42
	25	84.73	83.42	80.80	78.36	84.91	84.62	82.81	3.22
分散棕 1	50	90.79	93.07	92.57	90.18	91.98	91.71	91.72	1.18
	100	101.71	98.37	99.30	109.87	113.18	110.50	105.49	6.10
	25	99.93	100.25	98.51	97.22	97.03	102.69	99.27	2.15
分散橙 1	50	112.96	119.03	115.12	113.43	109.79	113.68	114.00	2.65
	100	106.13	107.52	109.43	108.28	114.91	110.25	109.42	2.79
	25	75.01	91.08	81.46	77.82	85.24	85.02	82.61	6.99
分散橙 3	50	97.75	94.32	103.04	87.46	101.73	92.50	96.13	6.13
	100	102.49	102.32	109.27	111.68	108.09	112.72	107.76	4.14
	25	57.58	62.28	62.72	66.81	62.20	61.20	62.13	4.76
分散橙 11	50	91.19	88.00	90.25	85.60	86.98	88.55	88.43	2.33

	100	115.93	101.41	122.51	105.02	102.09	114.20	110.19	7.81
	25	83.79	80.38	80.11	75.41	81.27	72.11	78.84	5.42
分散橙	50	82.06	85.16	82.49	78.09	85.32	84.41	82.92	3.29
37/76/59	100	75.93	75.65	83.05	81.41	87.86	85.78	81.61	6.16
	25	99.84	99.69	95.58	102.14	94.20	100.92	98.73	3.17
分散橙 61	50	76.05	75.90	86.64	79.69	89.54	97.18	74.17	10.07
	100	77.60	79.51	72.13	74.12	81.18	81.03	77.59	4.84
	25	79.28	79.74	76.60	81.12	77.76	80.28	79.13	2.11
分散橙 149	50	71.90	71.68	72.04	68.03	72.79	71.27	71.29	2.34
	100	92.80	82.28	82.22	79.16	92.43	76.78	84.28	8.04
	25	79.76	83.10	81.76	76.21	79.60	80.25	80.11	2.92
分散红 1	50	81.95	79.56	81.54	81.93	79.99	80.15	80.85	1.33
	100	90.73	96.55	98.56	96.81	94.64	95.70	95.50	2.80
	25	86.70	87.35	89.21	76.62	89.33	86.58	85.97	5.51
分散红 11	50	88.77	87.44	91.82	87.24	85.75	92.29	88.89	2.97
	100	97.21	98.82	98.67	100.53	98.45	100.57	99.04	1.31
	25	95.04	91.45	91.01	81.36	94.39	89.15	90.40	5.47
分散红 17	50	89.55	90.33	90.20	88.28	88.30	89.89	89.42	1.03
	100	101.15	104.48	105.64	109.02	103.98	104.79	104.84	2.43
	25	80.01	79.18	72.05	80.82	72.49	69.02	75.6	6.04
分散红 60	50	73.15	70.71	74.28	72.17	70.37	69.71	71.73	2.25
	100	74.08	70.33	79.7	73.66	73.73	69.72	73.54	4.41
	25	71.92	82.15	73.89	84.71	87.12	74.79	79.12	8.42
分散红 151	50	81.46	74.28	74.79	77.03	72.00	73.08	75.44	4.65
	100	75.71	79.32	82.54	79.18	80.52	78.95	79.37	3.08
	25	78.35	85.98	64.23	65.53	72.70	69.89	72.78	11.32
分散黄 1	50	97.83	93.36	88.01	94.82	85.58	99.20	93.13	5.78
	100	105.83	105.36	106.01	106.03	107.58	105.20	106.00	0.80
	25	85.45	93.92	90.24	84.90	91.82	93.18	89.92	4.32
分散黄 3	50	88.62	86.72	90.10	83.79	89.62	86.95	87.63	2.66
	100	98.54	94.75	98.98	99.87	99.22	101.43	98.80	2.25
	25	74.95	72.20	82.15	71.92	84.71	74.15	76.68	7.19
分散黄 7	50	83.58	74.28	74.79	74.79	72.00	73.82	75.54	5.56
	100	75.18	79.32	79.37	79.18	80.52	79.75	78.89	2.59
分散黄 9	25	100.45	107.13	111.34	108.27	106.33	106.27	106.63	3.34

	50	95.65	100.38	99.65	97.85	89.24	86.50	94.88	6.05
	100	100.14	106.96	107.65	105.85	105.62	106.50	105.45	2.57
	25	91.13	94.13	84.61	85.99	83.35	79.84	86.51	6.07
分散黄 23	50	92.62	90.82	87.94	88.76	86.11	92.45	89.78	2.91
	100	114.16	117.46	118.90	115.52	120.96	120.72	117.95	2.34
分散黄 39	25	91.98	88.13	92.89	89.28	96.15	94.51	92.16	3.32
surrogate	50	88.34	87.83	98.44	101.46	103.92	103.64	92.27	7.55
	100	97.44	103.92	84.23	88.06	97.84	94.84	94.39	7.57
	25	77.63	78.84	85.56	78.08	85.62	79.54	80.88	4.59
分散黄 39	50	97.65	100.03	101.78	97.32	91.40	102.62	98.47	4.13
	100	107.17	100.29	108.86	102.52	102.50	103.44	104.13	3.10
	25	7.64	7.21	8.13	9.68	6.73	8.42	7.97	13.00
分散黄 49	50	7.36	9.03	7.15	8.36	6.28	6.60	7.46	14.08
	100	10.69	9.42	8.26	8.76	7.46	9.84	9.07	12.72
	25	76.55	75.38	72.20	72.29	76.54	77.33	75.05	3.00
分散黄 56	50	74.39	73.48	68.96	71.94	78.38	73.03	73.36	4.23
	100	71.40	75.14	70.52	79.18	75.19	77.20	74.77	4.57
分散黄 56-甲	25	85.12	80.34	75.68	92.25	76.09	82.8	82.05	6.91
基	50	83.78	90.58	86.61	82.49	85.43	86.74	85.94	2.98
	100	90.63	79.79	94.09	90.16	78.33	94.52	87.92	7.37
	25	83.85	83.96	84.39	73.16	103.43	82.19	85.16	11.63
溶剂黄 1	50	82.75	86.94	96.08	102.97	98.06	88.86	92.61	8.26
	100	95.85	99.46	99.66	96.02	99.40	103.60	99.00	2.88
	25	104.52	103.98	104.40	100.61	104.83	104.26	103.77	1.51
溶剂黄 2	50	96.94	94.96	96.83	93.69	94.37	97.93	95.79	1.75
	100	100.29	110.38	111.21	110.29	111.10	110.20	108.91	3.90
	25	71.61	82.98	84.38	78.21	91.43	77.79	81.07	8.37
溶剂黄 3	50	92.81	92.82	91.18	91.56	91.20	91.98	91.93	0.81
	100	95.73	100.18	101.20	99.14	100.99	99.88	99.52	2.01
	25	86.26	82.42	85.22	77.58	82.76	82.06	82.71	3.66
溶剂黄 14	50	88.63	87.59	77.98	82.60	95.22	90.98	87.17	7.01
	100	90.83	95.40	98.51	92.44	97.74	97.20	94.85	3.03
海军蓝	25	95.84	96.22	96.54	96.08	109.52	106.01	100.04	6.09
018112	50	94.30	88.25	86.38	87.31	99.64	92.53	91.40	5.57
	100	77.79	79.40	75.54	76.21	76.44	76.17	76.92	1.85

	25	181.17	169.87	161.21	140.08	144.99	145.16	157.08	9.5
米氏酮	50	152.86	157.13	156.94	154.67	154.59	155.91	155.35	0.95
	100	161.37	161.26	158.72	160.26	154.6	162.92	159.85	1.67
	25	87.79	89.93	78.39	81.09	72.19	71.09	80.08	8.87
米氏碱	50	72.99	71.61	72.32	72.13	71.93	70.24	71.87	1.17
	100	68.02	79.84	81.97	68.89	77.34	75.38	75.23	6.94

实验发现，分散黄 49 在两个代表性基质中的添加回收率为 $7.95 \pm 1.14\%$ 。以直接向提取液中加入一定量标准溶液的方式分别考察了分散黄 49 在甲醇超声法、吡啶/水超声法、甲醇水浴振荡法和本方法的添加回收率，其中超声法的温度控制在 70°C ，水浴振荡法的温度控制在 95°C ，提取完毕后，观察提取液的颜色变化，甲醇超声提取法、吡啶/水超声法和甲醇水浴振荡法的提取液颜色为淡黄色，而水浴振荡法的提取液变为无色。

根据图 12，分散黄 49 在甲醇高温条件下，回收率在 115% 左右，在 70°C 的吡啶/水溶液条件下，回收率在 90% 以上，而温度升为 95°C 时，分散黄 49 在吡啶/水溶液中仅能回收 6% 左右，表明分散黄 49 在温度为 95°C 的吡啶/水溶液中可能发生分解或转化。

由于分散黄 49 的测定低限远低于法规要求的测定低限，因此，若在 95°C 条件下检出分散黄 49，则可以采用温度为 70°C ，提取溶剂为吡啶/水 (1/1, v/v) 在水浴振荡条件下复验得到准确可靠的定量结果。

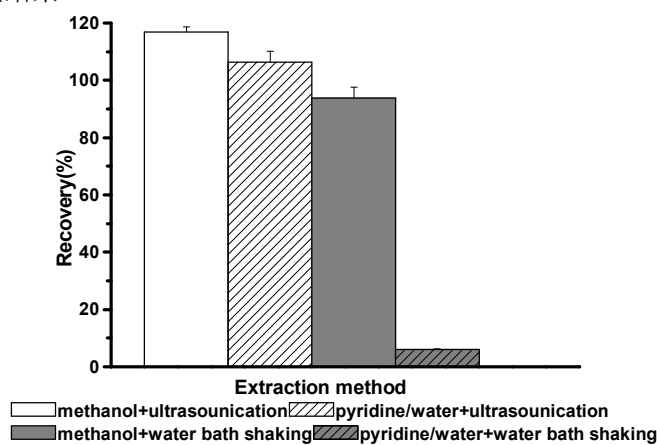


图 12 分散黄 49 在 4 种不同条件下的回收率

此外，添加回收实验发现碱性黄 2 回收率偏低、米氏酮回收率偏高，两者在两个代表性基质中的添加回收率分别为 $6.86 \pm 0.88\%$ 和 $158.36 \pm 8.95\%$ 。通过单标准溶液的高分辨质谱扫描发现，碱性黄 2 中含有 2% 左右的米氏酮，原因是米氏酮是合成碱性黄 2 的中间产物，因此在碱性黄 2 标准物质中残留了少量未完全反应的米氏酮。这两种染料的回收率异常，可能是在提取过程中发生了分解转化。

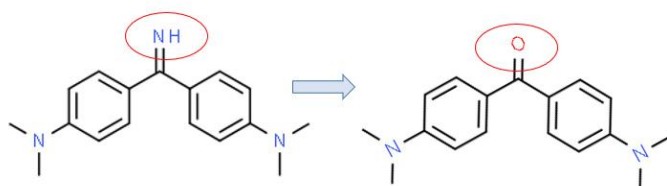


图 13 碱性黄 2 转化为米氏酮路径

单独对这两种染料进行溶剂加标回收试验，选择 95℃下吡啶：水（1:1）提取、95℃下甲醇提取、70℃下吡啶：水（1:1）提取、70℃下甲醇提取以及 50℃下吡啶：水（1:1）提取，对比五种条件下两种染料的回收率。结果如图 14-1 所示，在五种提取条件下米氏酮单个标准溶液的回收率均在 100%左右，且没有检出碱性黄 2。如图 14-2 所示，使用吡啶：水（1:1）作为提取溶剂在 95℃水浴条件下会造成碱性黄 2 分解转化，因此碱性黄 2 的回收率明显降低（5.9%），其单标标准溶液的添加实验中均出现了米氏酮（84.7%），从二者结构式和回收率判断，碱性黄 2 以 1:1 转化为米氏酮。使用吡啶：水（1:1）在 70℃提取以及使用甲醇在 95℃提取两种条件下，碱性黄 2 的回收率升高，但仍存在一定的转化，该条件下结果仍会影响样品的定性定量。在 50℃下吡啶：水（1:1）提取以及 70℃下甲醇提取时，两种染料的回收率均在 100%左右。通过查阅资料发现，碱性黄 2 在 70℃以上会分解，这也印证了本节实验的结果。

虽然使用吡啶：水（1:1）作为提取溶剂在 95℃下碱性黄 2 的回收率在 6%左右，但考虑到 2023 版 OEKO-TEX 对碱性黄 2 的限量要求为 20 mg/kg，该条件下仍能达到该标准的限量要求，为了能同时测定更多种染料，样品仍采用已建立的前处理方法一并检测所有目标物，当检测到这两种化合物时，采用吡啶：水（1:1）50℃复测，以获得相对准确的定量结果。

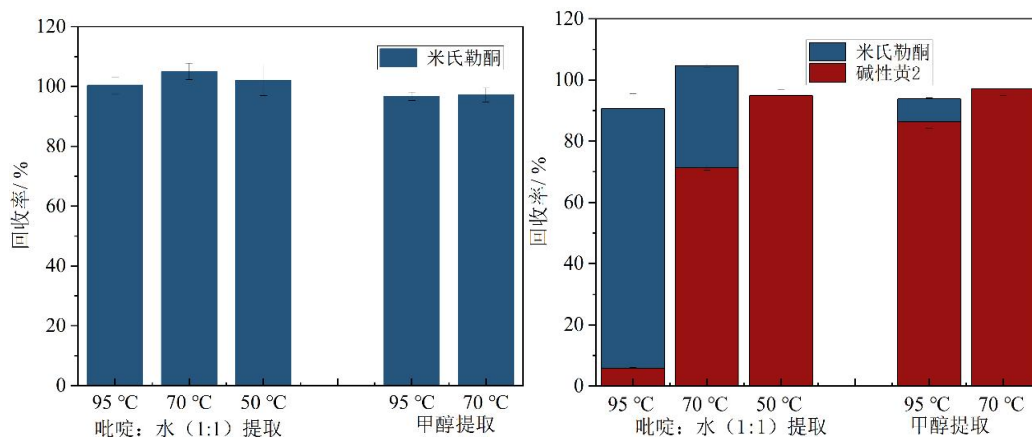


图 14-1 不同提取条件下米氏酮的回收率 图 14-2 不同提取条件下碱性黄 2 的回收率

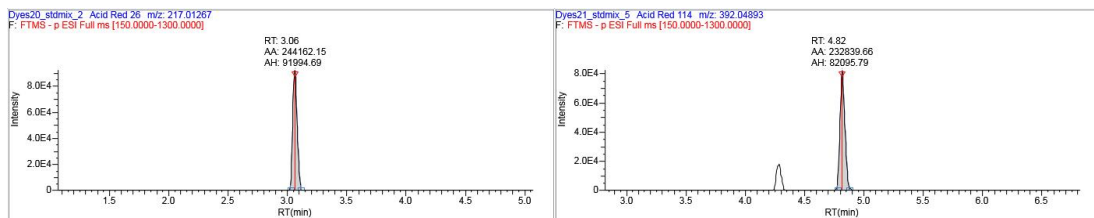
3.8.4 测定下限

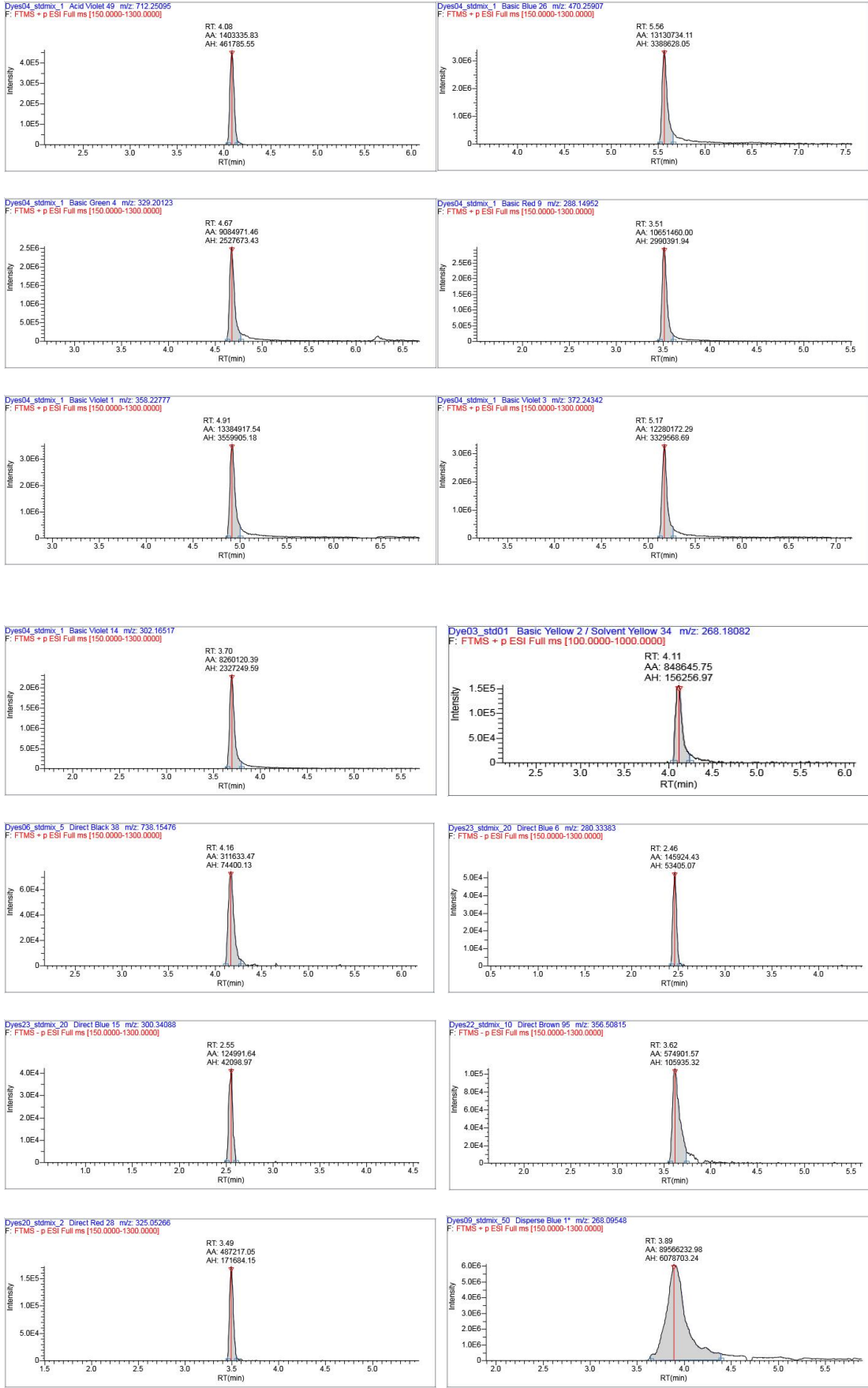
由于高分辨质谱提取精确质量数，大部分化合物基线噪音极低，以 S/N 计算出的测定下限与方法的真实性能可能存在差距。本标准采用空白基质的提取液逐级稀释染料的标准溶液至仪器所能检出的最低浓度（峰高大于 $1E^5$ ，无明显的采集漏点，且同时满足 S/N 大于 10），并换算为方法的测定下限。各化合物测定下限范围为 0.01 mg/kg ~10 mg/kg，能够满足国内外各大纺织品法规关于染料限值的规定。各化合物测定下限水平的标准溶液提取离子色谱图

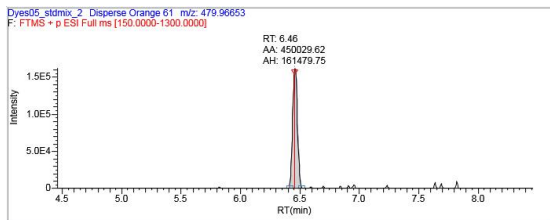
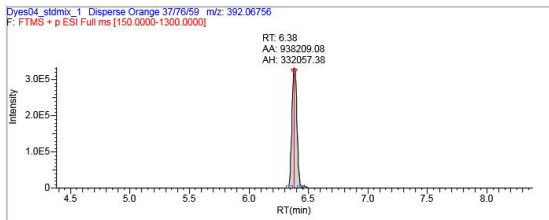
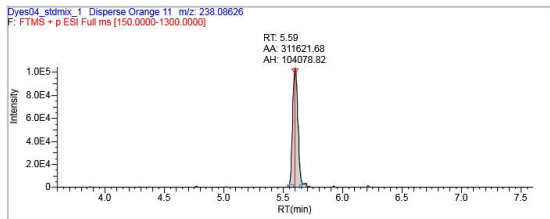
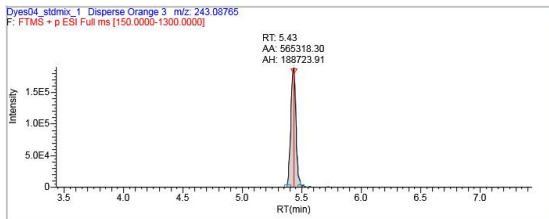
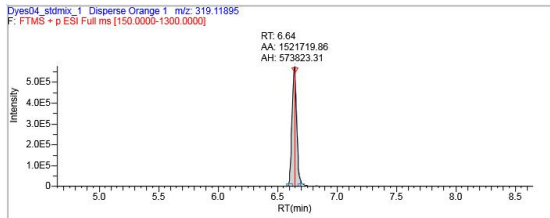
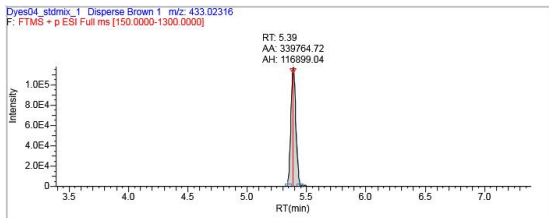
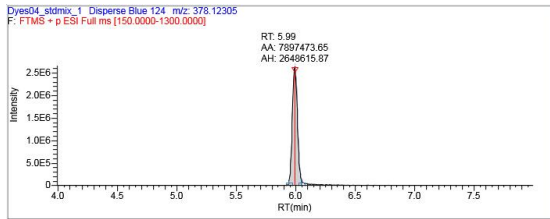
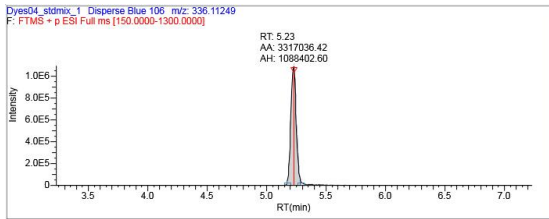
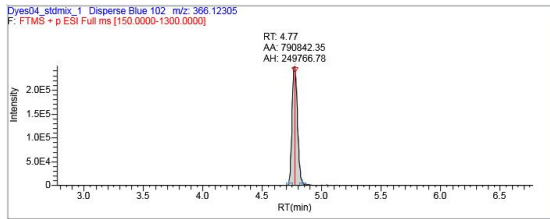
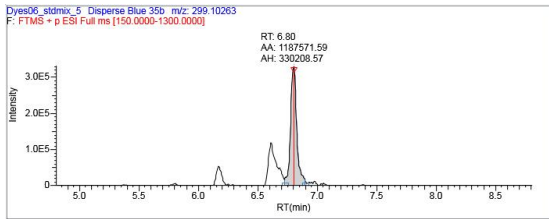
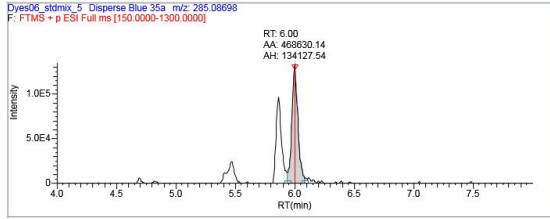
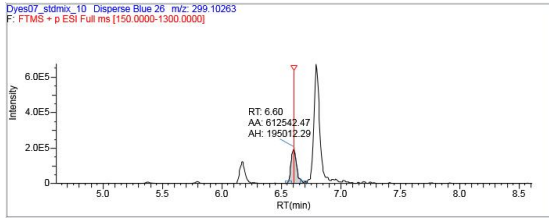
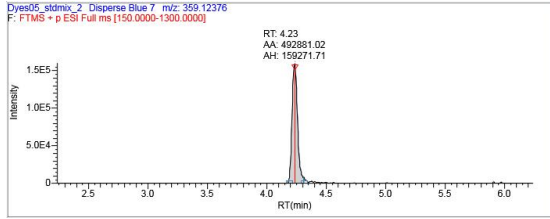
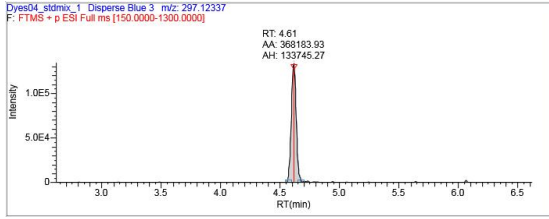
见图 15。

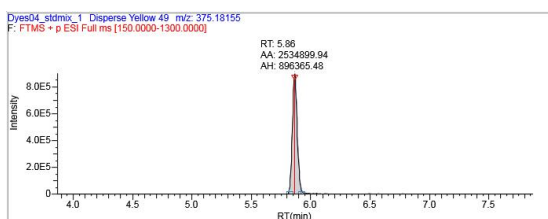
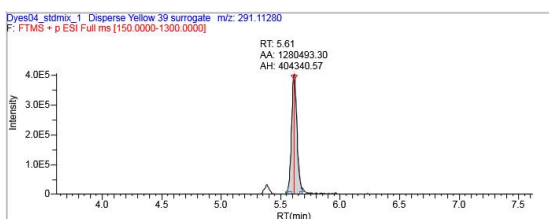
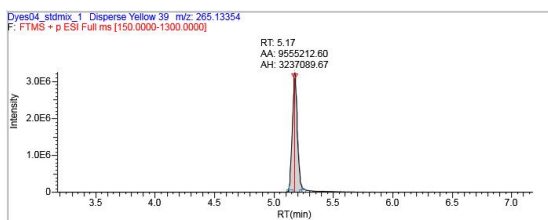
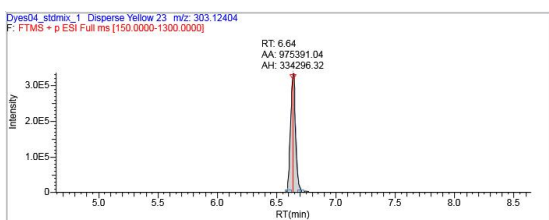
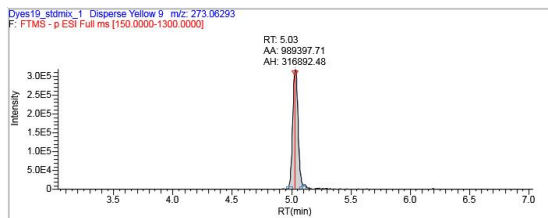
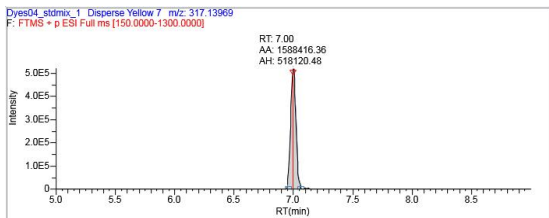
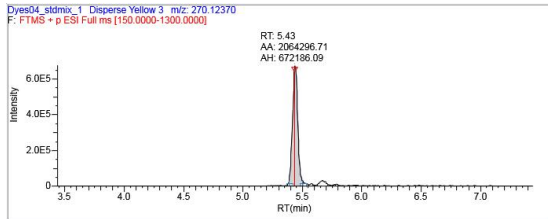
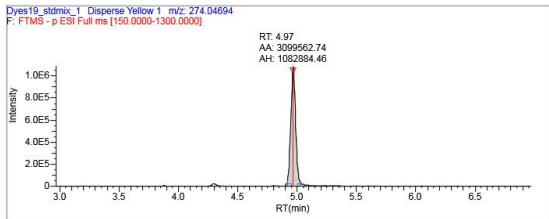
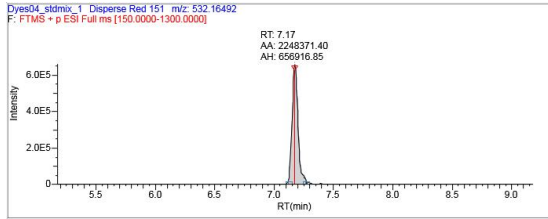
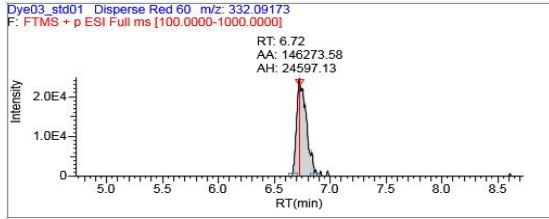
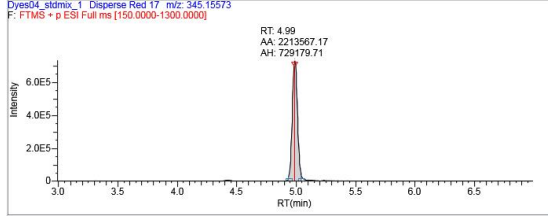
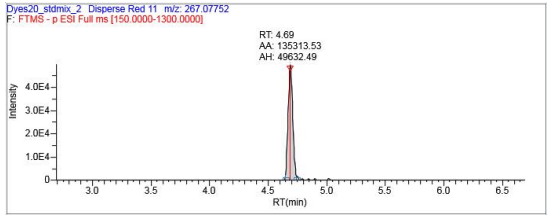
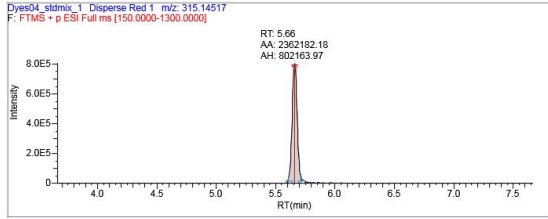
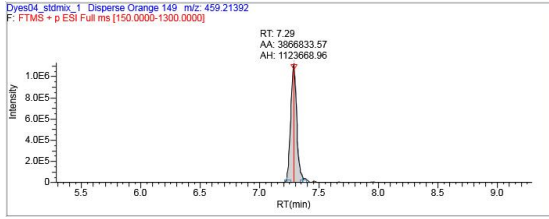
表 14 53 种有害化学染料的测定低限

染料名称	离子模式	测定低限 (mg/kg)	染料名称	离子模式	测定低限 (mg/kg)
酸性红 26	ESI ⁻	1	分散橙 11	ESI ⁺	0.2
酸性红 114	ESI ⁻	1	分散橙 37/76/59	ESI ⁺	0.1
酸性紫 49	ESI ⁺	0.5	分散橙 61	ESI ⁻	0.4
碱性蓝 26	ESI ⁺	0.2	分散橙 149	ESI ⁺	0.02
碱性绿 4	ESI ⁺	0.2	分散红 1	ESI ⁺	0.04
碱性红 9	ESI ⁺	0.04	分散红 11	ESI ⁻	0.4
碱性紫 1	ESI ⁺	0.02	分散红 17	ESI ⁺	0.04
碱性紫 3	ESI ⁺	0.02	分散红 60	ESI ⁺	0.02
碱性紫 14	ESI ⁺	0.02	分散红 151	ESI ⁺	0.04
碱性黄 2/ 溶剂黄 34	ESI ⁺	0.02	分散黄 1	ESI ⁻	0.02
直接黑 38	ESI ⁺	1	分散黄 3	ESI ⁺	0.04
直接蓝 6	ESI ⁻	10	分散黄 7	ESI ⁺	0.04
直接蓝 15	ESI ⁻	10	分散黄 9	ESI ⁻	0.1
直接棕 95	ESI ⁻	2	分散黄 23	ESI ⁺	0.1
直接红 28	ESI ⁻	0.4	分散黄 39	ESI ⁺	0.01
分散蓝 1	ESI ⁺	10	分散黄 39 surrogate	ESI ⁺	0.05
分散蓝 3	ESI ⁺	0.2	分散黄 49	ESI ⁺	0.04
分散蓝 7	ESI ⁺	0.4	分散黄 56	ESI ⁺	0.02
分散蓝 26	ESI ⁺	2	分散黄 56-甲基	ESI ⁺	0.02
分散蓝 35a	ESI ⁺	1	溶剂黄 1	ESI ⁺	0.04
分散蓝 35b	ESI ⁺	1	溶剂黄 2	ESI ⁺	0.01
分散蓝 102	ESI ⁺	0.1	溶剂黄 3	ESI ⁺	0.02
分散蓝 106	ESI ⁺	0.02	溶剂黄 14	ESI ⁺	0.05
分散蓝 124	ESI ⁺	0.01	海军蓝 018112	ESI ⁻	0.2
分散棕 1	ESI ⁺	0.2	米氏酮	ESI ⁺	0.02
分散橙 1	ESI ⁺	0.4	米氏碱	ESI ⁺	0.02
分散橙 3	ESI ⁺	0.2			









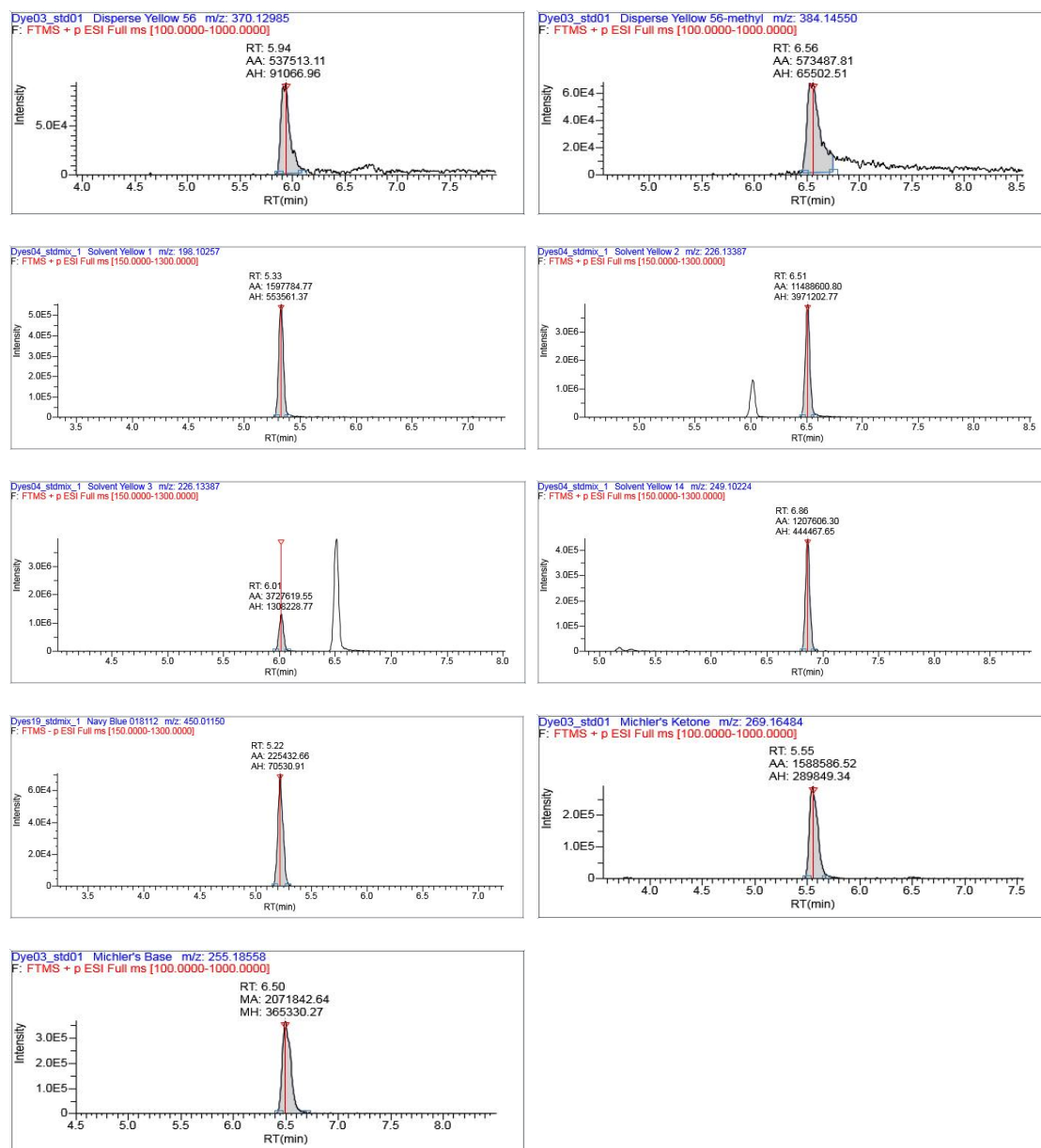


图 15 各化合物测定低限水平的标准溶液提取离子色谱图

3.9 实际样品测试及高分质谱定性

用所建立的方法对棉布、涤纶及混纺纤维等40件实际样品进行了筛查和确证检测，筛查检测结果见表15。

表 15 实际样品的检测结果

序号	样品名称	型号规格	样品材质	筛查检测结果
1	梭织面料	彩条	91.4 棉, 8.6 粘纤	未检出
2	针织面料	彩条	100 棉	未检出
3	摇粒绒	桔色 100 涤	100 涤纶	未检出
4	针织面料	白色 棉/涤	66 棉 34 涤	未检出
5	梭织面料	深灰色 100 毛	100 羊毛 (装饰线除外)	未检出
6	针织婴儿袜	黑色 100 尼龙	100 锦纶	未检出

7	针织面料	黑色	50.4 粘纤, 45.0 棉, 4.6 氨纶	未检出
8	蓝色牛津布	***	预处理: 水洗	未检出
9	梭织面料	棕色 100 棉	100 棉	未检出
10	针织面料	灰色 棉/粘胶/氨纶	45.2 棉, 52.5 粘纤, 2.3 氨纶	未检出
11	针织面料	桔色 95 棉 5 氨纶	95.7 棉, 4.3 氨纶	未检出
12	牛仔布	蓝色	100 棉	未检出
13	婴儿套头衫	***	100 棉	未检出
14	梭织面料	灰色 100 毛	100 羊毛	未检出
15	针织面料	紫色	100 棉	分散橙 37 15.81 mg/kg
16	针织面料	黑色 腈纶/棉/粘胶	45 腈纶, 45 棉, 10 粘胶	未检出
17	针织面料	彩条	100 棉	未检出
18	针织面料	黑蓝色 棉/涤	75.7 棉, 24.3 涤	未检出
19	针织面料	黑色 80%棉 20%涤	74.3 棉 25.7 涤	未检出
20	起绒布	深蓝色 棉/涤	67.4 涤纶, 32.6 棉	未检出
21	梭织布	黑色 100 涤	100 涤纶	未检出
22	梭织面料	蓝色 93%涤 5%粘胶 2%氨纶	93.7%涤纶 3.8%粘纤 2.5%氨纶	未检出
23	75D 仿记忆	黑色 100 涤	100 涤	未检出
24	摇粒绒	黑色 100 涤	100 涤	未检出
25	机织布	蓝色	100 涤	未检出
26	针织面料	红色 棉/氨纶	96 棉, 4 氨纶	未检出
27	面料	玫红 100%棉	100 棉	未检出
28	梭织面料	蓝色 100 棉	100 棉	未检出
29	梭织面料	灰色 棉	100 棉	未检出
30	针织布	粉色 棉/涤/氨纶	52.3 涤纶, 45.4 棉, 2.3 氨纶	未检出
31	针织面料	红色 100 棉	100 棉	未检出
32	梭织面料	印花 棉/氨纶	97.8 棉 2.2 氨纶	未检出
33	针织浴袍	灰色	100 棉	未检出
34	针织汗布	黄色 100 棉	100 棉	未检出
35	针织面料	粉色 100 锦纶	100 锦纶	未检出
36	童装	粉红 100%棉	100 棉	未检出
37	机织面料	兰色印花 100 棉	100 棉	未检出
38	针织面料	藏青 棉/涤	78.0 棉, 22.0 涤纶	未检出
39	棉制针织婴儿袜	粉色 87%棉 11%涤纶 1%氨纶 1%其它	84.2 棉, 8.8 涤纶, 3.9 锦纶, 3.1 氨纶	未检出
40	针织面料	黄色 100 棉	100 棉	未检出

一个样品检出分散橙 37, 含量为 15.81 mg/kg。检出的染料含量水平并不高, 原因可能是纺织品染色时所用的工业品染料中含有禁限用染料等杂质而导致纺织品被污染, 并非生产者故意使用该种染料。标准制标小组应用本标准方法, 还开展 53 件婴童纺织品的禁限用

染料检测（篇幅原因，详细内容未列入本编制说明），检出了分散蓝 3、分散黄 1、分散红 60、分散红 1、溶剂黄 14、分散橙 61、碱性紫 1 等 7 种化合物，其中分散红 60 的检出率较高（35.8%），含量范围在 0.86~570.05 mg/kg，中位值含量为 16.11 mg/kg。虽然 OEKO 标准 2023 版将分散红 60 已删除，但是已有的研究表明（Meireles G, 2018），分散红 60 对鱼类生命早期存在潜在毒害作用，诱导胚胎的生化参数改变，说明该染料对人体健康和生态环境有可能具有一定的危害性，因此本标准保留了该化合物。

本标准采用液相色谱-高分辨质谱技术对化合物进行定性定量分析。标准在编制过程中，充分借鉴和比较了已发布的基于高分辨质谱的检测标准，包括：中国农业农村部公告第 197 号-9-2019、中国农业农村部公告第 312 号、美国农业部官方方法 CLG-MRM2.00 等，以及现行的国内外有关色谱质谱（特别是高分辨质谱）对化合物鉴定的导则，包括：欧盟 SANTE/11312/2021 导则、欧盟(EU) 2021/808 法规、国际食品法典委员会 CXG 90-2017 文件、美国食品药品监督管理局 CVM-GFI-118 文件等。综合上述标准和文件较为合理的设置了定量定性方式，且通过实验室间验证，证明设置的参数具有通用性。

定量方式：一级母离子定量，提取窗口 5ppm。定性方式：当同时满足以下条件时，可判定样品中存在对应的禁限用染料：（1）样品溶液的色谱峰保留时间与染料标准工作溶液一致（容许偏差在 ± 0.1 min 以内）；（2）样品溶液中检出化合物的诊断离子包含其前体离子和至少一个产物离子，且质量准确度 ≤ 5 ppm（当质荷比小于 200 时，质量准确度 < 1 mDa）；（3）样品溶液中检出化合物的色谱峰的 $S/N \geq 3$ （如果不存在噪音，则色谱峰内至少包含 5 个连续扫描）。

15#样品的一级提取色谱图见图 16-1，二级质谱图见图 16-2。色谱峰的保留时间偏差小于 0.1 min，一级母离子的质量偏差小于 5ppm，二级质谱图中相对丰度较高的二级碎片离子（ m/z 351.04105、 m/z 323.00958、 m/z 133.08864）与理论质量数的偏差小于 5ppm。检出色谱峰的信噪比大于 3。

根据欧盟（EU）2021/808 法规：当使用液相色谱-高分辨质谱作为确证技术时，色谱分离获得 1 个识别点，高分辨质谱的母离子获得 1.5 个识别点，高分辨质谱的每个子离子获得 2.5 个识别点，因此检出的物质共获得了 10 个识别点，充分满足（EU）2021/808 法规对禁用物质识别点的要求（需大于等于 5）。

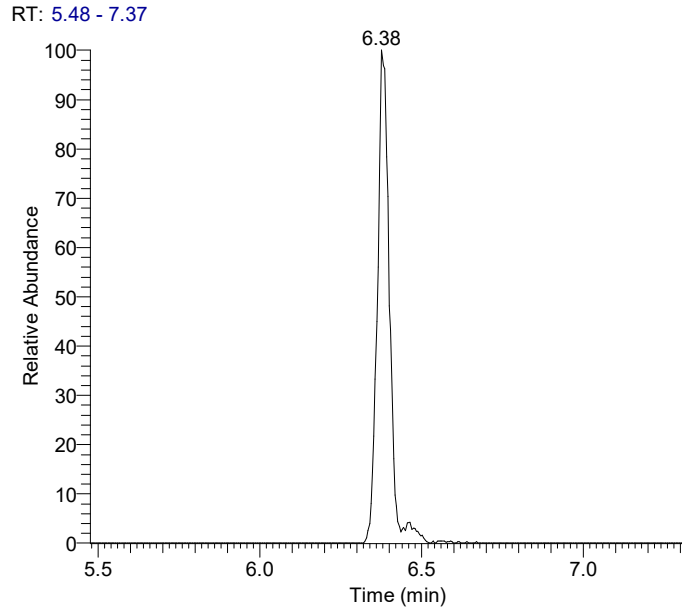


图 16-1 15#样品的提取离子色谱图

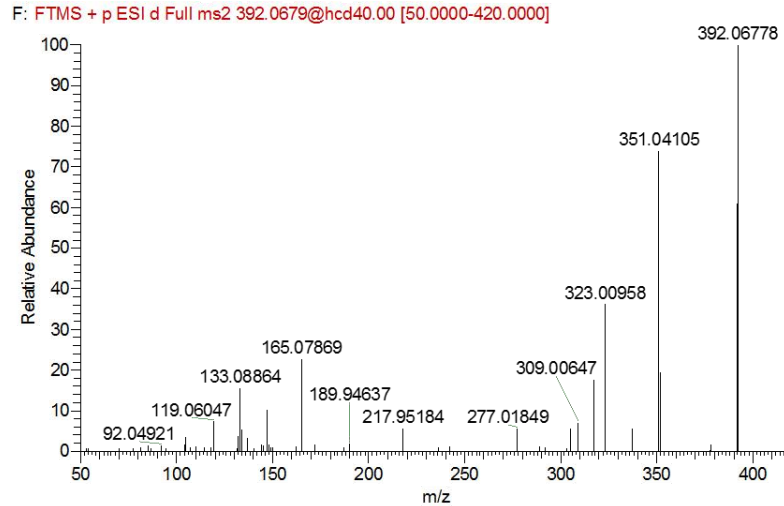


图 16-2 15#样品的二级 HCD 质谱图

4 验证实验

委托中国检验检疫科学研究院、深圳海关工业品检测技术中心、长春海关技术中心、济宁海关综合技术服务中心、中国海洋大学等 5 家单位，按照本标准建立的方法对腈纶中碱性紫 14、棉布中直接红 28、毛胚布中酸性红 26 及涤纶中分散黄 23 进行了阳性样品验证实验，测得原始数据、平均值及相对标准偏差见表 16。测试结果表明，该实验技术准确可靠，精密度好，方法稳健。

表 16 各实验室测定数据

基质	样品		测定值 (mg/kg)					平均值 (mg/kg)	相对标准偏差 (%)
	样品颜色	化合物	实验室 A	实验室 B	实验室 C	实验室 D	实验室 E		
腈纶	紫红色	碱性紫 14	5296	5261	5486	5162	5915	5443	4.58
		紫 14	5408	5218	5608	5307	5766		

棉布	大红 色	直接 红 28	7086	6961	7046	7343	7797	7249	4.19
			6893	6996	7279	7484	7602		
涤纶	灰色	分散 橙 37	3413	3225	3620	3252	3515	3402	4.97
			3341	3217	3715	3319	3406		
毛坯 布	红色	酸性 红 26	12003	12610	12489	11832	12314	12312	3.47
			12559	12885	12362	11463	12598		

4.1 实验室间测试结果的一致性和离群值检查

参照 GB/T 6379.2-2004/ISO5725-2:1994《测量方法与结果的准确度 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》，对实验室间的验证数据进行离群值检查。实验室间验证数据的单元平均值及标准差结果见表 17、表 18。

表 17 实验室间验证数据的单元平均值

样品			单元平均值 (mg/kg)				
基质	样品颜色	化合物	实验室 A	实验室 B	实验室 C	实验室 D	实验室 E
腈纶	紫红色	碱性紫 14	5352	5240	5547	5235	5841
棉布	大红色	直接红 28	6990	6979	7163	7414	7700
涤纶	灰色	分散橙 37	3377	3221	3668	3285	3460
毛坯布	红色	酸性红 26	12281	12748	12426	11648	12456

表 18 实验室间验证数据的标准差

样品			标准差				
基质	样品颜色	化合物	实验室 A	实验室 B	实验室 C	实验室 D	实验室 E
腈纶	紫红色	碱性紫 14	79.20	30.41	86.27	102.53	105.36
棉布	大红色	直接红 28	136.47	24.75	164.76	99.70	137.89
涤纶	灰色	分散橙 37	50.49	5.69	67.24	48.05	76.93
毛坯布	红色	酸性红 26	393.15	194.45	89.80	260.92	200.82

(A) 柯克伦 (Cochran) 检验

$n=2$, $p=5$, 柯克伦检验 5%临界值为 0.841; 1%临界值为 0.928。

对腈纶中碱性紫 14 样品,

实验室 E 的 s 最大, 柯克伦统计检验量 $C=0.306$;

对棉布中直接红 28 样品,

实验室 C 的 s 最大, 柯克伦统计检验量 $C=0.360$;

对涤纶中分散橙 37 样品,

实验室 E 的 s 最大, 柯克伦统计检验量 $C=0.386$;

对毛坯布中酸性红 26 样品,

实验室 A 的 s 最大, 柯克伦统计检验量 $C=0.500$;

检验结果表明, 所有单元均无歧离值和离群值。

(B) 格拉布斯 (Grubbs) 检验

将格拉布斯检验应用于单元平均值, 表 19 给出了这些平均值。没有单个的歧离值或离群值。

表 19 实验室间验证数据对单元平均值的格拉布斯检验

样品			单个低值	单个高值	检验类型
基质	样品颜色	化合物			
腈纶	紫红色	碱性紫 14	0.794	1.554	格拉布斯检验统计量
棉布	大红色	直接红 28	0.877	1.467	
涤纶	灰色	分散橙 37	1.043	1.528	
毛坯布	红色	酸性红 26	1.628	1.069	
	歧离值			1.715	格拉布斯检验临界值
	离群值			1.764	

4.2 实验室间测试结果的重复性 (r) 和再现性 (R)

参照 GB/T 6379.2-2004/ISO5725-2:1994 《测量方法与结果的准确度 第 2 部分: 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》, 计算 m, Sr, SR, 结果见表 5-16。

表 20 实验室间验证的精密度数据 (单位 mg/kg)

样品			m	Sr	r	SR	R
基质	样品颜色	化合物					
腈纶	紫红色	碱性紫 14	5443	85.15	238.42	262.91	736.15
棉布	大红色	直接红 28	7249	122.75	343.69	319.43	894.40
涤纶	灰色	分散橙 37	3402	55.36	155.00	178.18	498.92
毛坯布	红色	酸性红 26	12312	248.54	695.90	444.22	1243.83

5 与 ISO 标准方法的比较

分别用上染直接红 28 的大红色棉布和上染分散橙 37 的灰色涤纶作为实验的阳性样品, 将本标准建立的纺织品中 53 种禁限用染料的分析测定方法与 ISO 16373-2 的标准方法进行比较, 每个方法设 6 组平行实验。在 95% 的置信区间内, 对两组数据进行双边 T 检验, 结果见表 21。

表 21 本标准与 ISO 16373-2:2014 比较

化合物	方法	测定值						均值	t 值
		1	2	3	4	5	6		
直接红 28	ISO 标准	3045	3259	3163	3351	3486	3328	3332±112	2.2
	本标准	3359	3520	3362	3413	3441	3438		
分散橙 37	ISO 标准	382	392	331	407	376	376	377±26	1.2
	本标准	394	381	437	409	3364	437		

由表可知, 本标准对致癌染料分散红 28 和致敏染料分散橙 37 的提取效率与 ISO 标准方法相当, 将两种方法获得的两组数据进行 t 检验, 得到 t 值均小于 t 查表值, 表明无显著性差异。

四、与国际、国外同类标准水平的对比情况

国内外尚无一个选择性强, 灵敏度高, 前处理简便快速, 检测物质涵盖范围广的多类别染料同时测定的方法标准, 也尚无一个可以进行无标准品快速筛查和准确性的染料检测标准。本标准的先进性主要体现在:

(1) 检的全(类别全, 信息全), 检的快

已有文献和标准对染料均采用分类检测模式分析, 由于上述物质在相关法规中均有限制, 提取条件可以统一, 采用“多类别一同分析”模式对 5 大类 53 种染料进行同时测定, 大幅压缩检测流程。该标准既可以最大化满足法规要求, 并且高分辨质谱全扫描模式也可以根据法规变化随时增加检测对象而无需进行复杂方法优化, 此外该方法还具有样品回溯功能, 对已检测过的样品可以根据需要重新进行数据分析, 扩展分析对象, 从而大幅降低样品检测成本。

(2) 检的准, 无标准品准确筛查定性

高分辨质谱技术具有不亚于串联四极杆质谱的定量灵敏度, ppm 级的离子提取窗口, 可显著降低背景噪音, 简化样品前处理过程, 同时筛查分析多类别物质。高分辨质谱技术具有低分辨质谱无法实现的非目标物检测分析的特点, 无需标准品, 利用化合物母离子精确质量数及同位素丰度比, 结合模拟推断的二级碎片精确质量数, 可以准确定性。以上特点, 既可保证方法的准确性, 也可在目前纺织品中染料检出率不高的情况下, 采用非实体标物筛查定性的方式, 大幅降低检测成本。

(3) 高分辨质谱技术进行残留分析标准化的几点优势和意义

①价格: Q-Orbitrap, Q-TOF 等主流高分辨质谱的价格目前已与中高端 LC-MS/MS 基本持平, 高分辨质谱仪器已从传统的高端科研设备逐渐成为主流的常规检测设备。

②配备: 海关系统、质检系统、公安系统等政府实验室及国际知名第三方实验室近年大批量采购和安装高分辨质谱仪器, 仅中国国内统计, 一年安装的高分辨质谱仪器超过百套, 说明其在检测领域已具有很好的普及性。

③性能: 随着高分辨质谱技术本身的不断发展, 包括硬件方面的仪器灵敏度、扫描速度不断提高及软件方面的功能强大化、易用化, 该技术在小分子方面检测的优势已得到国内外学者的普遍认可, 著名分析化学类期刊《Analytica Chimica Acta》的编辑曾对高分辨质谱技术发表过如下评价: “Orbitrap instruments have become state-of-the art in high-resolution MS. It is quite clear that an Orbitrap MS will provide much better results than previous low resolution MS instruments.”, 充分表明高分辨质谱技术在分析化学领域已显出其强大优势。

④日常化、标准化: 除了每年不断增多的有关高分辨质谱技术的文献报道, 目前越来越多的机构组织采用高分辨质谱进行日常分析检测并进行标准化, 如著名的第三方检测公司欧陆检测 (Eurofins), 美国农业部, ISO 国际标准化组织等, 相关的检测标准有: USDA 官

方方法 CLG-MRM2.00, Screening and Confirmation of Animal Drug Residues by UHPLC-HRMS-MS, ISO 国际标准 ISO 20418-2:2018 Textiles--Qualitative and quantitative proteomic analysis of some animal hair fibres--Part 2: Peptide detection using MALDI-TOF MS, 农业农村部公告 197 号-9-2019《畜禽血液和尿液中 150 种兽药及其他化合物鉴别和确认 液相色谱-高分辨串联质谱法》等。

⑤总体趋势：二十一世纪以来，残留分析技术经历了由色谱向质谱检测发展的历程，而现在和未来的趋势必然是低分辨质谱向高分辨质谱的跨越式发展。

五、与有关标准的关系

本团队已制定发布了类似技术内容的行业标准（SN/T 5236-2020）。本标准是根据近年法规的变化，由该行业标准进一步扩充检测化合物，补充高分辨质谱二级扫描检测模式，细化高分辨质谱定性定量依据，并开展方法学研究和验证，制定的国家标准。

本标准与现有的国家标准相比，可进行多类别和高通量筛查，前处理方式与国际接轨，更为优化合理。并大幅解决了现有国家标准检测耗时、定性不准的问题。此外，现有纺织品中染料检测的国家标准相比与本标准的关系为：单残留和多残留、单类别和多类别的关系，既不重复，也不冲突，是化学残留分析类国家标准体系普遍的做法。

与现有的国际标准相比，本标准具有高通量分析、无标准品筛查，和样品可回溯优势，解决了染料物质法规限制数量不断增多的问题。同时，也一并解决了检测耗时，定性不准的问题，非常适合染料这类信息混乱、标准品纯度低、色谱质谱行为复杂的物质的残留分析。本标准完成国家标准制定后，也有良好的升级转化为国际标准的前景。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

七、国家标准作为推荐性国家标准的建议

本标准作为推荐性国家标准上报。

八、贯彻国家标准的要求和措施建议

建议本标准批准发布6个月后实施，作好标准的宣贯和咨询解答工作。

九、废止现行有关标准的建议

本标准为新制定标准，不代替任何标准。

十、其他应予说明的事项

不涉及国内外相关专利和知识产权问题。