测试·分析

气相色谱法测定橡胶中的苯胺类物质含量

尹洪雷[1,2],戴金兰[2*],程立军[2],涂满娣[2],周 磊[3],俞凌云[4],陈学灿[1]

(1.榕城海关综合技术服务中心,福建 福清 350300;2.福州海关技术中心,福建 福州 350003;3.天津海关,天津 300041;4.成都海关技术中心,四川 成都 610041)

摘要:研究气相色谱法测定橡胶中的苯胺、邻苯二胺、N-乙基苯胺和N,N-二乙基对苯二胺的含量。优化测定步骤如下:准确称取2.0 g试样,加入10 mL乙醇,在25～30 ℃下涡旋振荡10 min,再超声提取20 min,过滤,重复提取1次,合并滤液,用固相萃取柱净化滤液,净化液旋转蒸发至约0.5 mL,用正己烷定容至2 mL,用孔径0.45 μm有机相滤膜过滤;采用HP-5色谱柱,在初始温度50 ℃保持2 min后,以4 ℃·min^{-1}速率升温至170 ℃并保持5 min,再以40 ℃·min^{-1}速率升温至280 ℃并保持2 min的升温程序下进行滤液的气相色谱测试。该方法苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺的检出限分别为0.005,0.260,0.005和0.005 mg·kg^{-1},加标回收率为89.00%～110.51%,相对标准偏差为1.61%～9.94%。

关键词:气相色谱;橡胶;苯胺类物质;含量;测定

中图分类号:TQ330.7;O657.7 **文章编号**:1000-890X(2022)08-0629-06

文献标志码:A **DOI**:10.12136/j.issn.1000-890X.2022.08.0629

OSID开放科学标识码
(扫码与作者交流)

苯胺类物质因为含有—NH官能团,具有较强的质子给予能力,其本身能与橡胶中的自由基反应,阻止自由基对橡胶分子链的破坏;同时苯胺类物质反应生成的中间产物不仅结构稳定,而且具有很强的自由基捕获能力,与自由基反应可生成稳定产物,阻止自由基进一步反应。因此,苯胺类物质被作为橡胶加工中性能优异的抗氧老化剂,对氧、臭氧、热老化、疲劳老化以及变价金属离子等都有优良的防护效果,被广泛应用于橡胶制品中。

多数苯胺类化合物是由苯胺或乙基苯胺酚衍生物合成的,其中会残留少量N-乙基苯胺。N-乙基苯胺可经呼吸道吸入或经皮肤吸收进入人体,其毒性与苯胺相似,能在血液中形成高铁血红蛋白,造成人体组织缺氧,引起中枢神经系统、心血管系统及其他脏器的损坏[1-3]。含有N-乙基苯胺的废弃橡胶会污染水体和土壤,影响水生生物的生长和繁殖[4-6]。当水体中的污染物达到一定浓度时,水生物会引起一系列中毒反应,如行为异常、生理功能紊乱、组织细胞病变,直至死亡。目前ISO/TR 16178:2012《鞋类 鞋类和鞋类部件中潜存的关键物质》的清单中将N-乙基苯胺分为第4类(高度怀疑对穿着者有危害的物质)或第5类(怀疑对穿着者有危害的物质)。

虽然已经有一些苯胺含量的检测方法,用来检测纺织品、饮用和环境水、工作场所、汽油和化妆品中的苯胺含量[7-15],但是国内外暂时还没有橡胶中的苯胺类物质含量检测的标准方法。为了保护消费者的身体健康和生命安全及应对国外技术壁垒,有必要制订橡胶中的苯胺类物质含量的相关检测方法。

本工作研究气相色谱法测定橡胶中的苯胺类物质含量。

1 实验

1.1 试剂

苯胺(标准物质)、N-乙基苯胺(标准物质)、邻

基金项目:国家质量监督检验检疫总局科研项目(2016IK038);福州海关科研项目(FK2020-27);福建出入境检验检疫局科技项目(FK2013-42)

作者简介:尹洪雷(1979—),男,河北宁晋县人,榕城海关综合技术服务中心高级工程师,硕士,主要从事工业品和消费品检测工作。

*通信联系人(29171239@qq.com)

引用本文:尹洪雷,戴金兰,程立军,等.气相色谱法测定橡胶中的苯胺类物质含量[J].橡胶工业,2022,69(8):629-634.

Citation:YIN Honglei,DAI Jinlan,CHENG Lijun,et al.Determination of aniline content in rubber by gas chromatography[J].China Rubber Industry,2022,69(8):629-634.

苯二胺(标准物质)和N,N-二乙基对苯二胺(标准物质),美国CATO公司产品;无水乙醇(优级纯)、二氯甲烷(优级纯)、甲醇(优级纯)和丙酮(优级纯),国药集团有限公司产品。

1.2 主要仪器

DC 300型涡旋振荡器,杭州瑞诚仪器有限公司产品;Agilent 7890A型气相色谱仪,美国安捷伦仪器公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 提取溶剂的选择

准确称取试样2.0 g(无特别说明,试样颗粒的长度×宽度为3 mm×3 mm),加入10 mL提取溶剂,在25 ℃下涡旋振荡10 min后再用微波提取20 min,用制备的固相萃取柱净化,将净化液旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容至2.0 mL,测定目标物苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺含量。分别考察提取溶剂乙醇、二氯甲烷、甲醇和丙酮的提取效果。

1.3.2 提取方式选择

准确称取试样2.0 g,加入甲醇10 mL,在25 ℃下分别考察索氏提取(240 min)、超声提取(20 min)、振荡提取(60 min)方式对橡胶中N-乙基苯胺的提取效果。用聚-β-环糊精固相萃取柱净化,将净化液旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容至2.0 mL,测定目标物。

为进一步优化提取方式,考察了涡旋振荡20 min、涡旋振荡10 min加超声提取20 min和超声提取30 min对目标物含量测定结果的影响。

1.3.3 提取次数优化

准确称取试样2.0 g,加入甲醇10 mL,在25 ℃下涡旋振荡10 min加超声提取20 min,过滤后收集滤液,用制备的固相萃取柱净化,将净化液旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容至2.0 mL,测定目标物含量;在滤渣中加入10 mL甲醇,重复提取操作,测定提取液中目标物含量;再次在滤渣中加入10 mL甲醇,重复上述操作,测定提取液中目标物含量。

1.3.4 提取温度优化

准确称取试样2.0 g,加入甲醇10 mL,分别在20,25,30,35,40,45和50 ℃下涡旋振荡10 min加超声提取20 min,用聚-β-环糊精固相萃取柱净化,将净化液旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容至2.0 mL,测定目标物含量。

1.3.5 超声提取时间优化

准确称取试样2.0 g,加入甲醇10 mL,在25 ℃下分别涡旋振荡10 min加超声提取10,20,30,40,50和60 min,用聚-β-环糊精固相萃取柱净化,将净化液旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容至2.0 mL,测定目标物含量。

1.3.6 试样颗粒大小

将制备的样品(厚度3 mm)裁剪成长度和宽度分别为1 mm×3 mm,2 mm×3 mm,3 mm×3 mm和5 mm×3 mm的1#—4#试样颗粒。称取2.0 g试样,加入甲醇10 mL,在25 ℃下涡旋振荡10 min加超声提取20 min,用聚-β-环糊精固相萃取柱净化,旋转蒸发净化液至0.5 mL左右,用正己烷定容到2.0 mL,测定目标物含量。

1.4 检测方法准确性

1.4.1 检出限和标准曲线

配制质量浓度为0.05 mg·L^{-1}的4种目标物标准溶液,在优化的仪器条件下,通过测定目标物的信噪比,以3倍噪声计算检测限,检出低限以10倍信噪比计算。

苯胺标准溶液质量浓度分别为13,26,52,104,130和208 μg·mL^{-1};N-乙基苯胺标准溶液质量浓度分别为25,50,100,200,250和400 μg·mL^{-1};邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺标准溶液质量浓度分别为10,20,40,80,100和160 μg·mL^{-1},在优化的仪器条件下制作苯胺含量(Y)-标准溶液质量浓度(X)标准曲线。

1.4.2 加标回收率

在4种不同的试样中加入3种梯度浓度的苯胺类衍生物,加入10 mL甲醇,在25 ℃下涡旋振荡10 min加超声提取20 min,过滤并收集滤液;加入10 mL甲醇至滤渣,重复上述操作步骤,将2次的滤液合并,用制备的固相萃取柱净化,旋转蒸发至0.5 mL左右,用正己烷定容到2.0 mL,在优化仪器条件下测定目标物含量。

1.4.3 样品测定

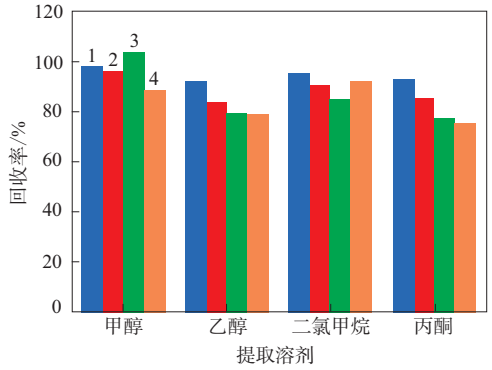
在优化条件下进行样品中目标物含量测定。

2　结果与讨论

2.1　提取条件的优化

2.1.1　提取溶剂

不同提取溶剂对苯胺类物质的提取效果对比如图1所示。从图1可以看出，相比于二氯甲烷、乙醇和丙酮，甲醇对于4种目标物都有很高的提取效率，因此可以选取甲醇作为提取溶剂。



1—苯胺；2—N-乙基苯胺；3—邻苯二氨；4—N,N-二乙基对苯二胺。

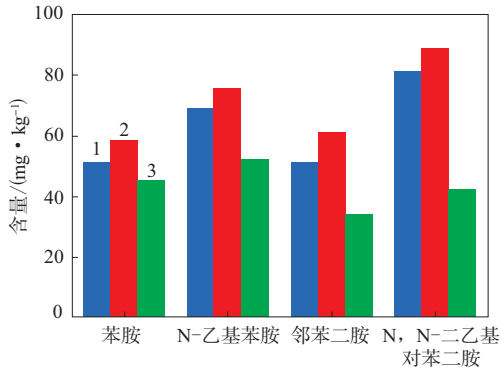
图1　不同提取溶剂对目标物提取效果对比

Fig. 1　Comparison of extraction effects of different extraction solvents on target substances

2.1.2　提取方式

不同提取方式的苯胺类物质含量测定结果对比如图2所示。从图2可以看出，超声提取效果最好、振荡提取效果最差，索氏提取效果居中，而其提取时间最长。结合实验室条件和提取效率，选取振荡提取和超声提取为提取目标物的主要方式。

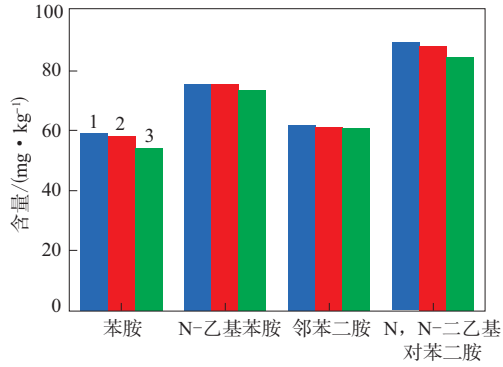
优化提取方式的目标物含量测定结果对比如图3所示。从图3可以看出，3种提取方式测定目标



1—索式提取(240 min)；2—超声提取(20 min)；3—振荡提取(60 min)。

图2　不同提取方式的目标物含量测定结果对比

Fig. 2　Comparison of determination results of target subtance contents by different extraction methods



1—涡旋振荡(20 min)；2—涡旋振荡(10 min)加超声提取(20 min)；3—超声提取(30 min)。

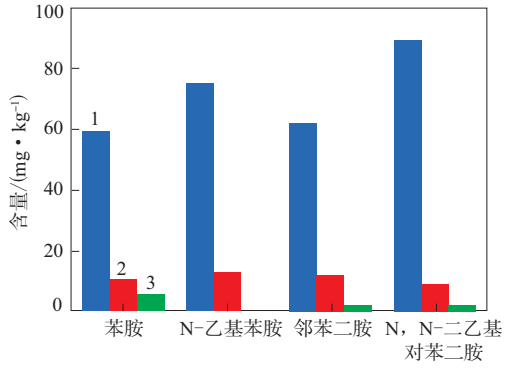
图3　优化提取方式的目标物含量测定结果对比

Fig. 3　Comparison of determination results of target substance contents for optimization extraction methods

物含量的结果都很好，旋涡振荡提取效率最高，考虑到实验室操作的效率，选取涡旋振荡(10 min)加超声提取(20 min)的提取方式。

2.1.3　提取次数

不同提取次数的目标物含量测定结果对比如图4所示。从图4可以看出，经过2次提取后，已经提取出目标物总量的90%以上，因此采取2次提取。



1—第1次；2—第2次；3—第3次。

图4　不同提取次数的目标物含量测定结果对比

Fig. 4　Comparison of determination results of target substance contents with different extraction times

2.1.4　提取温度

不同提取温度下目标物含量测定结果对比如图5所示。从图5可以看出：随着提取温度的升高，苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺的含量测定结果都有不同程度的减小；20～30 ℃提取温度范围内目标物含量测定结果的稳定性较好。考虑到实验室的操作性，提取温度选取20～30 ℃。

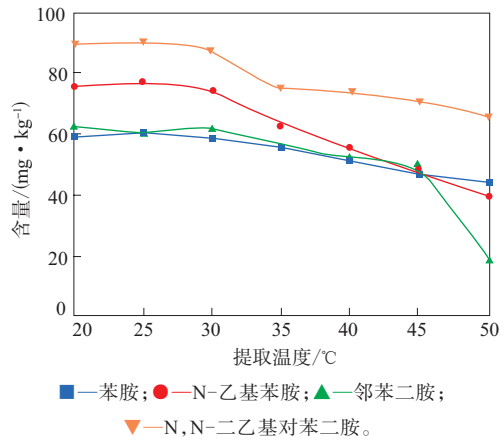
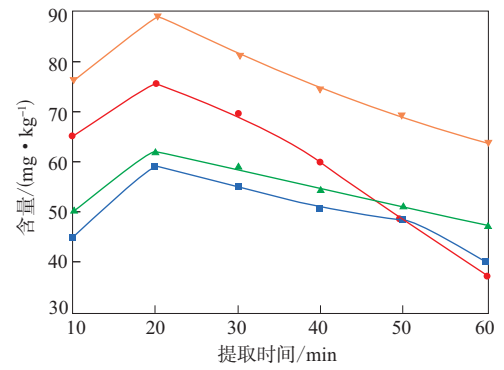


图5 不同提取温度下目标物含量测定结果对比

Fig. 5 Comparison of determination results of target substance contents at different extraction temperatures

2.1.5 超声提取时间

不同超声提取时间下目标物含量测定结果对比如图6所示。从图6可以看出:随着超声提取时间的延长,苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺含量测定结果均先增大后减小;在超声提取时间为20 min时,目标物含量测定结果最大。因此选取超声提取时间为20 min。



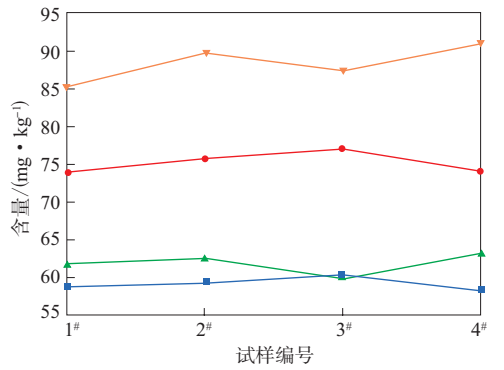
注同图5。

图6 不同超声提取时间下目标物含量测定结果对比

Fig. 6 Comparison of determination results of target substance contents at different ultrasonic extraction time

2.1.6 试样颗粒大小

不同试样颗粒大小的目标物含量测定结果对比见图7。在4种试样颗粒尺寸情况下,苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺含量的检测结果相对标准偏差(RSD)分别为3.25%,4.74%,2.81%和3.34%。从图7可以看出,试样颗粒大小对于测定结果没有显著影响。为了提高制样效率,采用5 mm×3 mm试样颗粒尺寸即可。



注同图5。

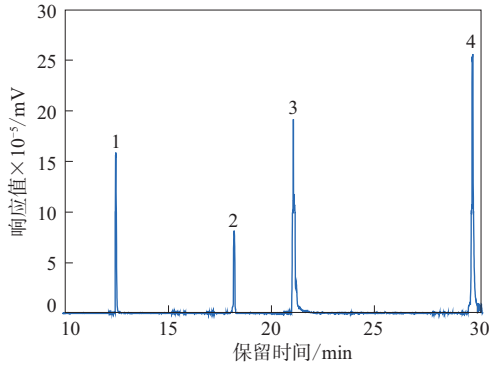
图7 不同试样颗粒大小的目标物含量测定结果对比

Fig. 7 Comparison of determination results of target substance contents with different sample particle sizes

2.2 色谱条件优化

2.2.1 色谱柱的选择

固定相为质量分数5%二苯基聚硅氧烷加质量分数95%二甲基聚硅氧烷的HP-5,DB-5,SPE-5和AT-5色谱柱均能使目标物很好地分离,采用HP-5色谱柱的典型气相色谱如图8所示。在分离30 min内,分析计算各目标物的典型色谱峰面积,4种目标物的质量浓度分别为104,200,80和80 mg·L^{-1}。



1—苯胺;2—N-乙基苯胺;3—邻苯二氨;4—N,N-二乙基对苯二胺。

图8 4种目标物分离的典型气相色谱

Fig. 8 Typical gas chromatogram for separation of four target substances

2.2.2 升温程序

考察柱箱的升温程序对目标物的分离效果,初始温度在50 ℃下保持2 min,随后优化阶升温度,分别以4,10和15 ℃·min^{-1}的升温速率阶升到170 ℃,然后以40 ℃·min^{-1}的升温速率阶升到280 ℃,保持2 min。

结果表明,各阶升温下,对目标物都能够很

好地分离。考虑保留时间及试验的时效性，试验选择4 ℃·min^{-1}作为阶升1的升温速率阶升到170 ℃，再以40 ℃·min^{-1}的升温速率阶升到220 ℃。色谱柱升温程序见表1。

表1　色谱柱升温程序

Tab. 1　Column temperature program

阶　升	升温速率/(℃·min^{-1})	温度/℃	保持时间/min
初始值		50	2
阶升 1	4	170	0
阶升 2	40	280	2

2.3　方法的准确性

2.3.1　检出限和标准曲线

方法的标准曲线线性方程和检出限见表2。从表2可以看出，各目标物测定标准曲线的线性相关因数均大于0.998，线性相关性良好。

2.3.2　加标回收率

目标物加标回收率见表3。由表3可见，各目标物的加标回收率在89.00%～110.51%范围内，RSD均在1.61%～9.94%范围内，符合一般检测的精密度要求。

表2　方法的标准曲线线性方程和检出限

Tab. 2　Standard curve linear equations and detection limits of methods

目标物	标准曲线线性方程	相关因数	检出限/(mg·kg^{-1})	RSD/%	回收率/%
苯胺	$Y=2.113\times10^{7}X-2.5\times10^{5}$	0.999 2	0.005	3.62	90.1～103.4
N-乙基苯胺	$Y=1.031\times10^{6}X-3.6\times10^{4}$	0.998 7	0.260	7.64	92.6～110.5
邻苯二胺	$Y=1.336\times10^{8}X-2.8\times10^{6}$	0.999 8	0.005	1.61	90.4～94.0
N,N-二乙基对苯二胺	$Y=7.968\times10^{7}X-1.8\times10^{4}$	0.999 2	0.005	2.12	92.7～98.9

表3　目标物加标回收率($n=6$)

Tab. 3　Spiked recoveries of target objects($n=6$)

目标物	添加量/(mg·L^{-1})	测定值[1)]/(mg·L^{-1})	回收率/%	RSD/%
苯胺	0.018 2	0.017 2	94.32	3.62
	0.045 0	0.040 6	90.11	9.18
	0.100 0	0.103 4	103.40	8.67
N-乙基苯胺	0.052 0	0.057 5	110.51	7.64
	1.100 0	0.093 9	93.98	6.98
	0.250 0	0.231 6	92.64	9.94
邻苯二胺	0.025 0	0.022 6	90.40	1.61
	0.035 0	0.031 1	89.00	3.80
	0.075 0	0.069 6	92.80	7.81
N,N-二乙基对苯二胺	0.026 0	0.025 7	98.91	2.21
	0.035 0	0.032 4	92.67	2.61
	0.070 0	0.066 7	93.48	7.08

注：本底测定值均未检出；1)平均值。

表4　样品测定结果($n=6$)　　mg·kg^{-1}

Tab. 4　Sample test results($n=6$)

目标物	测定次数						RSD/%
	1	2	3	4	5	6	
苯胺	4.38	4.97	5.34	6.01	5.01	5.39	9.55
	23.7	24.7	23.8	22.5	25.8	26.9	5.91
	48.3	49.1	47.5	50.9	51.3	55.0	4.91
N-乙基苯胺	39.2	43.6	47.9	51.1	41.2	50.6	10.7
	95.4	84.9	106.2	85.7	103.6	94.8	10.4
	176.1	184.9	210.9	196.4	179.2	201.9	9.47
邻苯二胺	4.35	5.27	4.48	4.69	5.19	5.22	8.42
	17.9	21.4	20.6	18.5	19.6	21.2	7.28
	35.9	42.6	41.5	37.8	39.2	41.1	6.36
N,N-二乙基对苯二胺	4.35	5.39	5.27	4.94	4.57	5.12	8.24
	18.5	17.9	21.6	19.9	20.6	18.5	7.37
	35.9	42.7	36.9	39.4	37.4	38.2	6.27

2.3.3　样品测定

样品测定结果见表4。由表4可见，样品测定的RSD为4.91%～10.7%，符合一般检测的精密度要求。

3　结论

(1)采用固相萃取-气相色谱法测定橡胶中苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺，优化测定步骤为：准确称取2.0 g试样，加入10 mL乙醇，在25～30 ℃涡旋振荡10 min，再超声提取20 min，过滤，收集滤液，重复提取操作1次，2次滤液合并，用制备的固相萃取柱净化，旋转蒸发至约0.5 mL，用正己烷定容至2 mL，用孔径为0.45 μm有机相滤膜过滤；采用HP-5色谱柱，在初始温度50 ℃保持2 min后，以4 ℃·min^{-1}速率升温至170 ℃并保持5 min，再以40 ℃·min^{-1}速率升温至280 ℃并保持2 min的升温程序下进行滤液的气相色谱测试。

(2)在优化提取条件下，苯胺、N-乙基苯胺、邻苯二胺和N,N-二乙基对苯二胺的测定标准曲线的线性相关因数均大于0.998，检出限分别为0.005，0.260，0.005和0.005 mg·kg^{-1}，加标回收率为89.00%～110.51%，相对标准偏差为1.61%～9.94%。

参考文献：

[1] 付乐乐. 微量苯胺类化合物在纳滤膜过程中的分离机理研究[D]. 上海：东华大学，2013.

[2] 胡爱生，陶小美，熊海瑶. 气相色谱-质谱联用快速测定玩具及儿童用品中4种多环芳烃[J]. 橡胶工业，2021，68(5)：380-384.
HU A S，TAO X M，XIONG H Y.Rapid determination of four PAHs in toys or children's products by GC-MS[J].China Rubber Industry，2021，68(5)：380-384.

[3] 于文昊. 新型超高交联树脂的制备及其对苯胺类化合物吸附性能研究[D]. 青岛：青岛科技大学，2019.

[4] 陶楠. 苯胺对水稻的毒性及其残留分析[D]. 哈尔滨：哈尔滨师范大学，2021.

[5] 叶倩. 亚硫酸氢钠强化高锰酸钾原位修复苯胺污染地下水[D]. 常州：常州大学，2021.

[6] 常亚红. 改性PVA载体对苯胺废水生物强化处理特性研究[D]. 兰州：兰州交通大学，2021.

[7] 全国石油产品和润滑剂标准化技术委员会. 车用汽油中含氧化合物和苯胺类化合物的测定 气相色谱法：GB/T 33649—2017[S]. 北京：中国标准出版社，2017.

[8] 国家认证认可监督管理委员会. 塑料餐具中苯胺和4，4-亚甲基二苯胺迁移量的测定 高效液相色谱法：SN/T 2038—2007[S]. 北京：中国标准出版社，2007.

[9] 生态环境部. 水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法：HJ 1014—2019[S]. 北京：中国标准出版社，2019.

[10] 国家认证认可监督管理委员会. 车用汽油中苯胺及甲基苯胺含量测定 气相色谱法：SN/T 4303—2015[S]. 北京：中国标准出版社，2015.

[11] 陈加伟，方绍敏，宋洲，等. 超声萃取-气相色谱-质谱法测定土壤中13种苯胺类化合物[J]. 化学分析计量，2021，30(4)：28-32.
CHEN J W，FANG S M，SONG Z，et al. Determination of 13 aniline compounds in soil by ultrasonic extraction-gas chromatography-mass spectrometry[J].Chemical Analysis and Meterage，2021，30(4)：28-32.

[12] 谌佳佳，严雪伟，张晶晶. 浅谈环境样品中苯胺类化合物的测定方法[J]. 河南化工，2021，38(10)：10-14.
CHEN J J，YAN X W，ZHANG J J. Determination method of aniline compounds in environmental samples[J].Henan Chemical Industry，2021，38(10)：10-14.

[13] 李婧，高翔宇，高文旭，等. 液液萃取-气相色谱-质谱法测定水中19种苯胺类化合物[J]. 化学分析计量，2021，30(2)：25-31.
LI J，GAO X Y，GAO W X，et al.Determination of 19 anilines in water by liquid-liquid extraction-gas chromatography-mass spectrometry[J].Chemical Analysis and Meterage，2021，30(2)：25-31.

[14] 刘畅. 固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中苯胺类[J]. 绿色科技，2021，23(6)：53-55.
LIU C. SPE-HPLC determination of aniline in drinking water[J]. Journal of Green Science and Technology，2021，23(6)：53-55.

[15] 赵云芝，何吉明. 水中苯胺类化合物分析的难点[J]. 中国环境监测，2020，36(6)：134-142.
ZHAO Y Z，HE J M. Difficulties in the determination of aniline compounds in water[J].Environmental Monitoring in China，2020，36(6)：134-142.

收稿日期：2022-03-02

Determination of Anilines Content in Rubber by Gas Chromatography

YIN Honglei[1,2]，*DAI Jinlan*[2]，*CHENG Lijun*[2]，*TU Mandi*[2]，*ZHOU Lei*[3]，*YU Lingyun*[4]，*CHEN Xuecan*[1]

（1. Rongcheng Customs Comprehensive Technical Service Center，Fuqing 350300，China；2. Fuzhou Customs Technology Center，Fuzhou 350003，China；3. Tianjin Customs，Tianjin 300041，China；4. Chengdu Customs Technology Center，Chengdu 610041，China）

Abstract：The contents of aniline，N-ethylaniline，o-phenylenediamine and N，N-diethyl-p-phenylenediamine in rubber was determined by gas chromatography. The optimized determination steps were as follows：accurately weighed 2.0 g of the sample was firstly mixed with 10 mL of ethanol；the mixture was vortex oscillated for 10 min at 25～30 ℃，the obtained solution was ultrasonic extracted for 20 min and filtered，and the extraction procedure was repeated one more time；the filtrates were then combined，purified with the solid-phase extraction column；the purified solution was condensed to about 0.5 mL by rotary evaporation，diluted to 2 mL with n-hexane，and filtered with the organic phase filter film having an average pore diameter of 0.45 μm；the filtered solution was tested by gas chromatography using a HP-5 chromatographic column，the initial temperature was kept at 50 ℃ for 2 min，and then the temperature was raised to 170 ℃ at a rate of 4 ℃ • min^{-1} and held for 5 min，and then heated to 280 ℃ at a rate of 40 ℃ • min^{-1} and maintained for 2 min. The detection limits of aniline，N-ethylaniline，o-phenylenediamine and N，N-diethyl-p-phenylenediamine in this method were 0.005，0.260，0.005 and 0.005 mg • kg^{-1} respectively，the spiked recovery rate was 89.00%～110.51%，and the relative standard deviation was 1.61%～9.94%.

Key words：gas chromatography；rubber；anilines；content；determination