

橡胶及橡胶制品中 4 种酚类防霉剂的高效液相色谱法测定

王卉卉¹, 叶曦雯², 于世涛¹, 牛增元², 李 静², 李晶莹¹, 钱 翌¹

(1 青岛科技大学 环境与安全工程学院, 山东 青岛 266042

2 山东出入境检验检疫局, 山东 青岛 266002)

摘 要: 建立了橡胶及其制品中硝基苯酚 (PNP)、20305062四氯苯酚 (TeCP)、五氯苯酚 (PCP)、邻苯基苯酚 (OPP) 4 种酚类防腐剂的高效液相色谱测定方法。样品冷冻粉碎后, 经甲醇超声提取, 在 Venus i2XBP C₁₈ 色谱柱 (250 mm @416 mm, 5 Lm) 上以 10 mmol/L 醋酸铵和甲醇为流动相梯度洗脱, 采用二极管阵列检测器, PCP、TeCP、OPP 的检测波长为 220 nm, PNP 的检测波长为 320 nm。4 种酚类防霉剂的质量浓度在 015~ 250 mg/L 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 相关系数大于 01999 4。丁苯橡胶、硅橡胶基体的加标回收实验结果表明: TeCP、PCP、OPP、PNP 在不同基质中的平均加标回收率分别为 82%~ 93%、68%~ 90%、83%~ 98%、87%~ 98%, 相对标准偏差小于 5%。

关键词: 酚类防腐剂; 橡胶; 硝基苯酚; 20305062四氯苯酚; 五氯苯酚; 邻苯基苯酚; 高效液相色谱

中图分类号: O657172 O625131 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004- 4957(2010)03- 0226- 06

doi: 1013969/jl issnl 1004- 4957120101031003

Determination of Four Phenolic Antiseptics in Rubber and Rubber Products by High Performance Liquid Chromatography

WANG Hu¹hui, YE Xi²wen, YU Shi¹tao, NIU Zeng²yuan,

LI Jing², LI Jing²ying, QIAN Yi¹

(1 School of Environment and Safety Engineering Qingdao University of Science and Technology Qingdao 266042 China 2 Shandong Entry- Exit Inspection and Quarantine Bureau Qingdao 266002 China)

Abstract A high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for the determination of four phenolic antiseptics including nitrophenol (PNP), 20305062tetrachlorophenol (TeCP), pentachlorophenol (PCP), o2phenylphenol (OPP) in rubber and rubber products. After freeze grinding the samples were ultrasonically extracted with methanol. The separation and quantification of four phenolic antiseptics were achieved by an Venus i2XBP C₁₈ (250 mm @416 mm, 5 Lm) using a mixture of 10 mmol/L NH₄Ac and methanol as the mobile phase and detecting with diode array detector (DAD) at 220 nm for PCP, TeCP, OPP, and 320 nm for PNP. There were good linear relationship between the chromatographic peak areas and the concentrations of four phenolic antiseptics in the range of 015- 250 mg/L with correlation coefficients more than 01999 4. The recoveries of spiked samples in different matrix were 82%- 93% for TeCP, 68%- 90% for PCP, 83%- 98% for OPP and 87%- 98% for PNP, respectively. The relative standard deviations (n = 6) were lower than 5%. The results showed that the method was simple, rapid and accurate, and was successfully applied in the analysis of phenolic antiseptics in rubber and rubber products.

Key words: phenolic antiseptics; rubber; nitrophenol; 20305062tetrachlorophenol; pentachloro2phenol; o2phenylphenol; high performance liquid chromatography (HPLC)

橡胶及其制品广泛应用于人们的日常生活。霉菌的生长和蔓延, 使橡胶制品的内部分子结构遭到破坏, 物理性能受到影响, 甚至丧失使用功能。为提高橡胶的抗霉能力, 必须采取一定的防霉工艺。

收稿日期: 2009- 11- 10 修回日期: 2010- 01- 03

基金项目: 国家质检公益性行业科研专项基金资助项目 (10- 66)

第一作者: 王卉卉 (1984-), 女, 河北唐山人, 硕士研究生

通讯作者: 叶曦雯, Tel: 0532- 80885722 E- mail: yexiwen@1631.com

橡胶防霉处理的技术途径主要是添加和浸涂防霉剂。常用的橡胶防霉剂有五氯酚、水杨酰苯胺、对硝基苯酚、磷酸乙基汞、五氯酚苯汞等^[1-3]。

酚类防霉剂由于其在生物体中的高累积性、危害性及在环境中的持久性,被包括我国在内的许多国家列入优先污染物和持久性有机污染物的黑名单。对酚类的生物监测已引起人们的关注,许多国家已制定有关酚类使用的限值。我国水中优先控制污染物中的 6 种酚类化合物涉及五氯酚、对硝基酚;国家质量监督检验检疫总局发布的 GB/T 18885-2002 生态纺织品技术要求 6 以及国际纺织生态学研究协会颁布的 OekoTex standard 100 对纺织品中五氯苯酚、四氯苯酚、邻苯基苯酚的限量均做了明确规定^[4]。欧盟发布的 1991/173/EEC 指令规定五氯苯酚及其盐和酯类在市售的物质或制剂中的质量分数不得超过 0.1%。德国、法国、荷兰、瑞士等国也规定了产品中五氯苯酚、四氯苯酚的限量。

目前国内外研究的含酚类样品有水体、木材、生物、涂料等^[5-8],尚未见有关橡胶及其制品中酚类防霉剂的检测报道。本文利用甲醇提取,高效液相色谱法测定橡胶及其制品中的对硝基苯酚、四氯苯酚、五氯苯酚、邻苯基苯酚。该方法无需繁琐的衍生化处理,方法选择性好、干扰小,可用于橡胶及其制品中上述 4 种酚类防霉剂的检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); 4 kHz 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 离心机 (日本日立公司)。

五氯苯酚 (PCP)、2,3,5-三氯苯酚 (TCP) (纯度 99.9%, Supelco 公司), 邻苯基苯酚 (OPP)、对硝基苯酚 (PNP) (纯度 99.9%, Sigma 公司), 五氯苯酚钠 (Na-PCP) (纯度 97%, 中国上海五联化工厂), 邻苯基苯酚钠 (Na-OPP) (纯度 99.9%, 盐城旌旗源化工有限公司)。甲醇 (HPLC 级); 醋酸铵 (分析纯)。

1.2 标准储备液的配制

准确称取五氯苯酚、2,3,5-三氯苯酚、邻苯基苯酚、对硝基苯酚标准品各 0.025 g 用甲醇溶解并定容至 25 mL, 即得 1 g/L 的混合标准储备液。临用时用甲醇稀释为标准系列工作溶液。

1.3 橡胶试样的制备

根据防霉剂在橡胶中的实际用法及用量自制天然橡胶阳性样品,用于方法的条件实验和精密度实验;同时选取有代表性的丁苯橡胶、硅橡胶制备空白基体,用于方法的回收率实验。

采用直接混炼的方式制备橡胶试样。

天然橡胶阳性样品: 天然橡胶 100 份, 白矿油 6 份, ZnCO_3 3 份, 硬脂酸 1 份, PEG 4000 2.5 份, 硫磺 2 份, 促进剂二硫化二苯并噻唑 (DM) 1.18 份, 促进剂二硫化四甲基秋兰姆 (TT) 0.13 份, 白炭黑 50 份, 防霉剂 PNP 和 PCP (天然橡胶 1# 各 0.15 份, 天然橡胶 2# 各 0.175 份, 天然橡胶 3# 各 0.15 份)。

丁苯橡胶: 丁苯橡胶 100 份, 矿油 6 份, ZnCO_3 3 份, 硬脂酸 1 份, PEG 4000 2.5 份, 硫磺 2 份, DM 1.18 份, TT 0.13 份, 白炭黑 50 份。

硅橡胶: 硅橡胶 100 份, 白炭黑 43 份, 羟基硅油 4~6 份, 硬脂酸钙 0.5 份, 硫化剂 (DCP) 2 份。

1.4 色谱分析条件

色谱柱: Venusil XBP C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , Agela 科技公司); 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 10 mmol/L 醋酸铵 (A) 和甲醇 (B); 梯度洗脱: 0~11 min 30% A, 11~10 min 30%~9% A, 11~10~21 min 9% A, 21~10~21 min 9%~30% A, 21~10~30 min 30% A; 流速为 0.8 mL/min; 进样体积 10 μL ; 检测波长 220、320 nm。

1.5 样品处理方法

将样品冷冻粉碎后, 称取约 0.5 g 于 40 mL 棕色样品瓶中, 加入 25 mL 甲醇混匀后, 40 $^{\circ}\text{C}$ 超声提取 20 min 以 3000 r/min 离心 5 min 上清液置于 100 mL 容量瓶。再分别用 25 mL 甲醇按上述步骤超声提取 2 次, 提取液并入容量瓶, 用甲醇定容至 100 mL, 溶液经 0.2 μm 四氟乙烯 (PTFE) 过滤头过滤, 按 1.4 色谱条件进行 HPLC/DAD 测定。

2 结果与讨论

211 色谱条件的优化

21111 4种酚的光谱特征及检测波长的选择 以甲醇和醋酸铵为流动相，DAD 为检测器，将 PNP、PCP、TeCP、OPP 的混合标准品溶液进样，4 种组分的紫外光谱图如图 1 所示。图 1 表明，PCP 和 TeCP 约在 220 nm 处有最大吸收值，而 OPP 约在 200 nm 处有最大吸收值，由于甲醇的最大吸收波长为 195 nm，若选择检测波长为 200 nm，则甲醇吸收值将产生干扰；PNP 的最大吸收峰值在 320 nm 处，在 220 nm 处的吸收弱，出峰面积只有 320 nm 处的 1/3。综合考虑，实验选择 TeCP、PCP、OPP 的检测波长为 220 nm，PNP 的检测波长为 320 nm。

在相同的色谱条件下进样，Na- PCP 单标溶液的保留时间和混标中的 PCP 一致，光谱图与 PCP 的光谱图完全重合。Na- OPP 单标溶液的保留时间和混标中的 OPP 一致，光谱图与 OPP 的光谱图完全重合。因此，采用本方法，PCP 与 Na- PCP 以及 OPP 与 Na- OPP 分别以同一形式被测定。

21112 流动相的优化 以 70% 甲醇和 30% 10 mmol/L 醋酸铵为流动相进行等度洗脱，可将 PNP、PCP、TeCP、OPP 混合标准品在 11 min 内完全分离。但在实际样品的测定过程中发现，在此色谱条件下，橡胶及其制品提取的杂质出峰靠后，无法在 25 min 的总运行时间内被完全洗脱，干扰下一个样品的检测。为此，实验采用梯度洗脱，在 11 min 待标准品出峰完毕后，用 99% 甲醇洗脱杂质 10 min。在最佳色谱条件下，4 种标准品的液相色谱图见图 2。

212 样品提取条件的优化

21211 样品粉碎方式的选择 分别将自制天然橡胶阳性样品(添加了 PNP 和 PCP)剪碎至 5 mm @5 mm 以下，冷冻粉碎，按本方法提取，每种处理方法平行测定 2 个样品(见表 1)。样品冷冻粉碎后提取效率比样品剪碎后提取效率高 2 倍，且剪碎样品后提取结果平行性较差，冷冻粉碎后提取结果平行性好，有利于制备均一的样品，提高提取效率及结果的准确性。

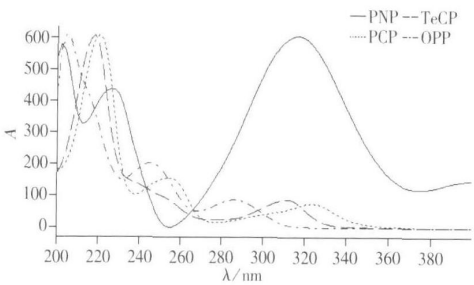


图 1 PNP、PCP、TeCP、OPP 的紫外光谱图
Fig. 1 UV - Vis spectra of PNP, PCP, TeCP and OPP

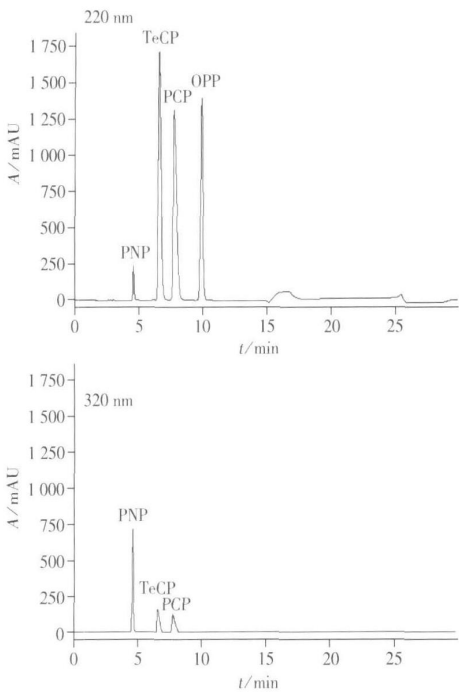


图 2 PNP、TeCP、PCP、OPP 混合标准溶液的液相色谱图(250 mg/L)
Fig. 2 HPLC chromatograms of mixture standard(250 mg/L)

表 1 样品剪碎与冷冻粉碎提取的结果对比

Table 1 Comparison of analytical result of samples treated with cutting and freeze grinding method w %

Phenolic compound	Cutting method			Freeze grinding method		
	1	2	Average	1	2	Average
PNP	01 150	01 124	01 137	01 411	01 405	01 402
PCP	01 120	01 106	01 113	01 405	01 398	01 408

21212 提取剂的选择 分别选择甲醇、丙酮、乙腈、正己烷为提取剂，对自制天然橡胶阳性样品(添加了 PNP 和 PCP)进行提取效果对比实验，平行测定 2 个样品。甲醇、乙腈提取液过滤后直接进样；正己烷、丙酮提取液取 015 mL 氮气吹干，用 015 mL 甲醇溶解混匀后测定(结果见表 2)。结果表明，正

己烷对硝基苯酚的提取效果差，乙腈提取效果不如丙酮和甲醇，但选用丙酮提取，提取液上机测定前需更换溶剂，而甲醇提取液则可直接进样。因而，实验选取甲醇为提取试剂。

表 2 不同溶剂提取效果对比

Table 2 Comparison of analytical result of samples extracted with different reagents

w /%

Phenolic compound	Methanol		Hexane		Acetone		Acetonitrile	
	1	2	1	2	1	2	1	2
PNP	01 41	01 40	- *	-	01 41	01 38	01 38	01 38
PCP	01 41	01 40	01 26	01 26	01 39	01 36	01 33	01 33

* no detected

21213 提取方法的选择 目前，对于木材、水产品、土壤、纺织品、皮革中酚类防霉剂的提取方法，主要有液液提取法、柱提取、索氏提取、振荡提取、固相微萃取、超声提取以及加速溶剂萃取等。传统的索氏提取法耗时长，溶剂使用量大，但这种方法是目前公认的极限提取法，提取效果好。超声提取法具有快速、简单、回收率高的优点，已有应用于木材及木制品中酚类残留检测的报道。加速溶剂萃取 (ASE)使用的溶剂量少，可快速完成一次提取过程，安全、全自动。本实验选取自制天然橡胶阳性样品 (添加了 PNP 和 PCP)，考察了索氏提取、加速溶剂萃取和超声提取 3种提取方式对提取效率的影响，结果表明：3种方法的提取结果无显著区别 (见表 3)，但从提取时间、溶剂用量、操作步骤上考虑，超声提取为最佳方式。故本实验采用超声提取法。

表 3 不同提取方法提取结果对比*

Table 3 Comparison of analytical result of sample with different extraction methods*

w /%

Phenolic compound	Soxhlet extraction			ASE extraction			Ultrasonic extraction		
	1	2	Average	1	2	Average	1	2	Average
PNP	01 416	01 428	01 422	01 447	01 426	01 436	01 427	01 431	01 429
PCP	01 411	01 426	01 418	01 418	01 372	01 395	01 409	01 408	01 408

* soxhlet extraction: extracted for 16 h ASE extraction: static cycle for 3 times ultrasonic extraction: 25 mL methanol for 20 min per time 3 times

213 方法评价

21311 方法的线性范围与检出限 在最佳色谱条件下，4种酚类化合物的线性回归方程、相关系数及检出限见表 4。4种酚类防霉剂的质量浓度 (x, mg/L)在 015~ 250 mg/L 范围内与峰面积 (y)呈良好的线性关系，相关系数大于 01999 4。

21312 方法的精密度与回收率 选取天然橡胶、通用橡胶丁苯橡胶及特种橡胶硅橡胶为基体进行方法的精密度和回收率实验。

橡胶的防霉剂一般在天然橡胶、顺丁橡胶、丁苯橡胶、丁腈橡胶、丁基橡胶、硅橡胶、乳胶制造工业橡胶制品、日用及医用橡胶制品中使用。用法是在配炼时直接加入胶料或浸渍胶浆，用量一般为 015~ 115份^[9]。因此，实验选取在天然橡胶中加入五氯苯酚和对硝基苯酚各 0115、0175、115份混炼制备天然橡胶制品 (见 / 1130)，进行方法的精密度实验；同时选取丁苯橡胶、硅橡胶为基质进行 011%、013%、110% 3水平的标准添加回收实验，每个添加水平平行测定 6次。回收率和精密度数据见表 5~ 6。结果表明：TeCP、PCP、OPP、PNP的平均加标回收率分别为 82%~ 93%、68%~ 90%、85%~ 98%、87%~ 98%，相对标准偏差均小于 3%。方法准确度高、精密度好，能够满足实际样品的检测。

表 4 4种酚类防霉剂的线性方程、相关系数及检出限

Table 4 Linear equations, correlation coefficients and detection limits of 4 phenolic antiseptics

Phenolic compound	Linear equation	Correlation coefficient r	LOD Q/(mg# L ⁻¹)
PNP	y= 191 65x+ 51 973	01 999 9	01 03
TeCP	y= 1081 5x+ 1831 0	01 999 4	01 03
PCP	y= 1001 2x+ 721 50	01 999 8	01 05
OPP	y= 711 40x+ 551 76	01 999 8	01 05

表 5 丁苯橡胶的回收实验结果 (n= 6)
Table 5 Recovery result of styrene butadiene rubber(n= 6)

Phenolic compound	Added w _A /%	Found w _F /%						Average content w /%	Average recovery R /%	RSD s _r /%
TdCP	01 100	01 086	01 081	01081	01 081	01 084	01080	01 082	82	21 8
	01 500	01 445	01 452	01450	01 439	01 417	01439	01 440	88	21 8
	11 00	01 939	01 933	01959	01 967	01 959	01959	01 953	95	11 4
PCP	01 100	01 080	01 076	01074	01 074	01 080	01073	01 076	76	41 2
	01 500	01 420	01 428	01417	01 421	01 386	01392	01 411	82	41 2
	11 00	01 893	01 876	01905	01 916	01 888	01898	01 896	90	11 6
OPP	01 100	01 089	01 085	01086	01 084	01 085	01084	01 085	85	21 4
	01 500	01 460	01 467	01472	01 466	01 439	01472	01 463	93	21 7
	11 00	01 966	01 961	01987	01 991	11 001	01989	01 982	98	11 6
PNP	01 100	01 091	01 087	01087	01 086	01 087	01087	01 087	87	21 2
	01 500	01 467	01 475	01478	01 473	01 446	01477	01 469	94	21 6
	11 00	01 959	01 957	01980	01 986	01 992	01981	01 976	98	11 5

表 6 硅橡胶的回收实验结果 (n= 6)
Table 6 Recovery result of silica rubber(n= 6)

Phenolic compound	Added w _A /%	Found w _F /%						Average content w /%	Average recovery R /%	RSD s _r /%
TdCP	01 100	01 086	01 083	01084	01 087	01 085	01083	01 084	84	11 6
	01 500	01 458	01 447	01439	01 457	01 473	01452	01 454	91	21 5
	11 00	01 923	01 932	01960	01 952	01 934	01942	01 941	94	11 4
PCP	01 100	01 070	01 065	01068	01 070	01 069	01068	01 068	68	21 4
	01 500	01 423	01 389	01400	01 405	01 425	01382	01 404	81	41 4
	11 00	01 812	01 840	01858	01 889	01 842	01859	01 850	85	31 0
OPP	01 100	01 096	01 094	01095	01 095	01 096	01094	01 095	95	11 0
	01 500	01 475	01 473	01470	01 484	01 493	01490	01 480	96	21 0
	11 00	01 969	01 974	01940	01 973	01 974	01976	01 968	97	11 4
PNP	01 100	01 097	01 095	01095	01 095	01 096	01094	01 095	95	11 1
	01 500	01 479	01 475	01472	01 488	01 496	01492	01 484	97	21 0
	11 00	01 968	01 971	01960	01 970	01 970	01973	01 968	97	01 49

214 实际样品检测

以热水袋、水鞋、奶嘴、密封圈等 15种以天然橡胶、硅胶、热塑性橡胶等材质的日用橡胶制品为实际样品，采用本方法测定其中的 4种酚类防霉剂及其钠盐防霉剂。结果表明： 12种日用橡胶制品中未检出酚类防霉剂， 3个天然橡胶压片中分别检出 PCP、 PNP(见表 7)。3#样品的色谱图如图 3所示。本方法可用于实际橡胶及橡胶制品中酚类防霉剂的检测。

表 7 天然橡胶的检测结果 (n= 6)
Table 7 Analytical result of nature rubber(n= 6)

Nature rubber	Phenolic compound	Found w _F /%						Average content w /%	RSD s _r /%
1#	PCP	01 072	01079	01 075	01 075	01 072	01 072	01 074	31 9
	PNP	01 083	01084	01 081	01 079	01 079	01 084	01 082	21 9
2#	PCP	01 385	01409	01 408	01 382	01 396	01 392	01 396	21 8
	PNP	01 422	01427	01 431	01 420	01 421	01 424	01 424	11 0
3#	PCP	01 701	01712	01 715	01 743	01 675	01 702	01 708	31 1
	PNP	01 844	01839	01 846	01 861	01 860	01 857	01 851	11 1

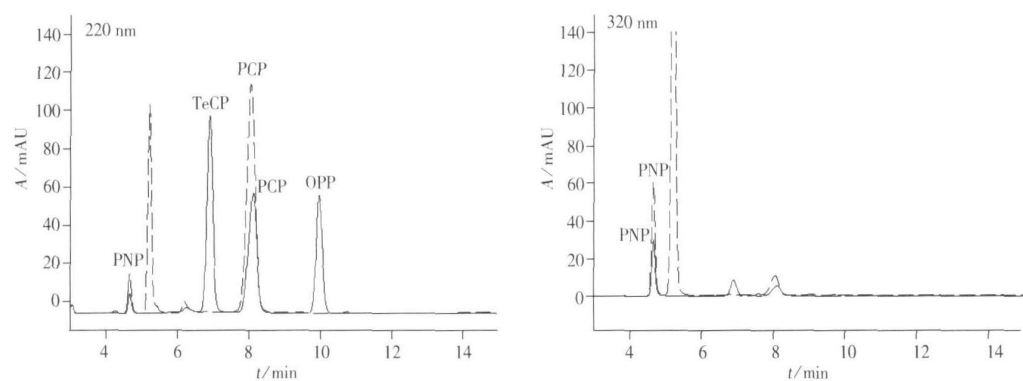


图 3 3#天然橡胶制品的色谱图
Fig 3 Chromatograms of natural rubber product(3#)
solid line standard; dashed line sample

参考文献:

[1] 刘新良, 向前. 橡胶材料防霉效果的研究 [J]. 橡胶工业, 2005, 52(1): 30- 32

[2] 郭建华, 罗权焜, 曾幸荣. 橡胶防霉技术研究现状及进展 [J]. 广东橡胶, 2008, (1): 10- 14

[3] 吴利英. 橡胶制品的防霉工艺研究 [J]. 橡胶工业, 2001, 48(2): 107- 108

[4] 全国纺织品标准化技术委员会. GB/T 18885- 2002 生态纺织品技术要求 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003

[5] 范云场, 胡正良, 陈梅兰, 等. 离子液体液 - 液萃取 - 高效液相色谱测定水中酚类化合物 [J]. 分析化学, 2008, 36(9): 1157- 1161

[6] 廖林川, 颜有仪, 林岚, 等. 高效液相色谱法检测生物样品中五氯酚 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2004, 35(3): 427- 428

[7] 黄惠玲, 何志贵, 李渺, 等. 木材及木制品中残留五氯苯酚的气相色谱测定法 [J]. 分析化学, 2007, 35(9): 1369- 1372

[8] 牛增元, 包艳, 叶曦雯, 等. 高效液相色谱法测定水性涂料中的酚类防霉剂 [J]. 分析试验室, 2008, 27(3): 48- 51

[9] 于清溪. 橡胶原材料手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007, 502- 505