



中华人民共和国国家标准

GB/T 33392—2016

皮革和毛皮 化学试验 禁用偶氮染料中 4-氨基偶氮苯的测定

Leather and fur—Chemical tests—Determination of 4-aminoazobenzene
derived from azo colorants

(ISO 17234-2:2011, Leather—Chemical tests for the determination of
certain azo colorants in dyed leathers—Part 2: Determination of
4-aminoazobenzene, MOD)

2016-12-30 发布

2017-07-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
皮革和毛皮 化学试验
禁用偶氮染料中 4-氨基偶氮苯的测定
GB/T 33392—2016

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 26 千字
2017 年 1 月第一版 2017 年 1 月第一次印刷

*

书号: 155066 • 1-55219 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用重新起草法修改采用 ISO 17234-2:2011《皮革 染色皮革中部分偶氮染料测定试验 第 2 部分:4-氨基偶氮苯的测定》。

本标准与 ISO 17234-2:2011 相比结构上有调整,技术上存在差异,附录 D 中给出了结构变化和技术性差异及其原因的一览表以供参考。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国皮革工业标准化技术委员会(SAC/TC 252)归口。

本标准起草单位:国家皮革质量监督检验中心(浙江)、海宁蒙努皮业有限公司、浙江通天星集团股份有限公司、海宁森德皮革有限公司、台州李林皮革有限公司、浙江格莱美服装有限公司、浙江省标准化研究院。

本标准主要起草人:黄新霞、徐寿春、兰莉、祝妙凤、傅文荣、杨镇蔚、郭彬、马贺伟、王玲霞。

皮革和毛皮 化学试验

禁用偶氮染料中 4-氨基偶氮苯的测定

1 范围

本标准规定了皮革和毛皮中某些偶氮染料分解出的以及以游离形式存在的 4-氨基偶氮苯(CAS 号:60-09-3)的气相色谱-质谱及高效液相色谱的检测方法。

本标准适合于各种皮革、毛皮及其制品。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和实验方法(ISO 3696:1987,MOD)

QB/T 1267 毛皮 化学、物理和机械、色牢度试验 取样部位

QB/T 1272 毛皮 化学试验样品的准备

QB/T 2706 皮革 化学、物理、机械和色牢度试验取样部位(QB/T 2706—2005,ISO 2418:2002,MOD)

QB/T 2716 皮革 化学试验样品的准备(QB/T 2716—2005,ISO 4044:1997,MOD)

3 原理

试样经过脱脂后置于一个密闭的容器,在 40℃ 温度下,在碱性介质中用连二亚硫酸钠还原,然后用叔丁基甲醚将还原裂解出的 4-氨基偶氮苯萃取出。萃取液经净化处理后,采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)或具有二极管阵列检测器的高效液相色谱仪(HPLC-DAD)进行测定。

由于少量胺的存在就可能导致实验的失败,因此 REACH 法规 1907/2006 的附录 XVII 规定用于分析用的皮革试样中胺的含量限值为 30 mg/kg,该限值仅适用于同质的分析试样,并不适用于混合均匀后的异质试样。

若检测结果显示 4-氨基偶氮苯的含量高于 30 mg/kg,则可判定该皮革在生产过程中使用了偶氮类染料,若含量低于 30 mg/kg,则无法判定该皮革在生产过程中是否使用了偶氮类染料,可对其染料类型、纯度以及所使用的其他原料进行进一步的分析测定。

注:4-氨基偶氮苯的测定可采用具有二极管阵列检测器的高效液相色谱(HPLC/DAD)、高效液相色谱/质谱(HPLC/MS)、气相色谱/质谱(GC/MS)、带有二极管阵列检测器的毛细管电泳(CE/DAD)、薄层色谱(TLC, HPTLC)测定。其他色谱法参见附录 C。

如果用一种色谱法检测出 4-氨基偶氮苯,可用一种或多种可替代的方法确认。胺的定量通过具有二极管阵列检测器的高效液相色谱(HPLC/DAD)来完成。

4 试剂

除另有规定外,仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 规定的三级水。

GB/T 33392—2016

4.1 正己烷。

4.2 氢氧化钠溶液, 20 g/L。

4.3 连二亚硫酸钠, 200 mg/mL。称取连二亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 含量 $\geq 85\%$), 用适量水溶解, 置于密闭容器中, 即配即用。

4.4 叔丁基甲醚, 色谱纯。

注: 如无叔丁基甲醚, 可用新鲜乙醚代替。新鲜乙醚制备方法如下: 取 500 mL 乙醚置于 1 000 mL 分液漏斗中, 加入 100 mL 质量浓度 5% 的硫酸亚铁溶液, 剧烈振摇, 弃去水层, 置于全玻璃装置中蒸馏, 收集 33.5 $^{\circ}\text{C}$ ~34.5 $^{\circ}\text{C}$ 馏分。

4.5 氯化钠。

4.6 甲醇, 色谱纯。

4.7 乙腈, 色谱纯。

4.8 4-氨基偶氮苯, 标准品, 纯度 $\geq 98\%$, 化学文摘号: 60-09-3。

4.9 磷酸二氢铵。

4.10 磷酸氢二钠。

4.11 蒎-d10, 内标物, 用于 GC-MS 分析, 纯度 $\geq 98\%$, 化学文摘号: 1719-06-8。

4.12 标准溶液。

4.12.1 蒎-d10 标准溶液, 2.0 $\mu\text{g/mL}$, 内标物溶液, 用叔丁基甲醚(4.4)配制。

注: 根据需要可以配制其他适当的浓度。

4.12.2 4-氨基偶氮苯标准储备液, 500 mg/L, 用叔丁基甲醚(4.4)或其他合适的溶剂配制。

注: 此溶液保存在棕色瓶中, 并可加入少量的无水硫酸钠, 于低于 -18 $^{\circ}\text{C}$ 下保存, 保存期 1 个月。

4.12.3 4-氨基偶氮苯标准工作溶液, 30 mg/L, 用叔丁基甲醚(4.4)或其他合适的溶剂配制。

注: 根据需要可以配制其他适当的浓度。

5 仪器和设备

5.1 分析天平, 分度值为 0.1 mg。

5.2 玻璃反应器, 管状, 耐高温, 可密封。

5.3 超声波浴, 有控温装置, 功率至少 160 W。

5.4 恒温水浴或适当的加热器, 精度为 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

5.5 聚乙烯或聚丙烯注射器, 2 mL。

5.6 机械振荡器, 转速 ≥ 300 r/min。

5.7 离心机, 转速 ≥ 300 r/min。

5.8 真空旋转蒸发器。

5.9 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS), 带电子轰击离子源(EI)。

5.10 液相色谱仪(HPLC), 二极管阵列(DAD)检测器。

6 试样制备

6.1 取样

6.1.1 标准部位取样

皮革按 QB/T 2706 的规定进行, 毛皮按 QB/T 1267 的规定进行。

6.1.2 非标准部位取样

如果不能从标准部位取样(如直接从鞋、服装上取样), 应在可利用面积内的任意部位取样, 样品应

具有代表性,并在试验报告中详细记录取样情况。

对于皮革样品上附着的有多种图案、多种颜色的织物,每种材料、每种颜色应尽可能地单独取样、分别测试。

6.2 试样的制备

皮革按 QB/T 2716 的规定进行制备,毛皮按 QB/T 1272 的规定进行制备,取样过程应避免毛被损失。

应尽可能干净地除去样品上面的胶水、附着物。

7 分析步骤

7.1 脱脂

用分析天平(5.1)称取样品 1.0 g 于玻璃反应器中(5.2),加入 20 mL 正己烷(4.1),盖上塞子,置于 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的超声波浴(5.3)中处理 20 min,滗出正己烷(小心不要损失试样),再用 20 mL 正己烷(4.1)按同样方法处理一次;然后将处理的样品放置于该玻璃反应器中,敞口,使正己烷挥发干(过夜)。

注:非常柔软的皮革样品,如绵羊服装革,可称取样品 0.5 g。

7.2 还原裂解

向玻璃反应器中加入 9.0 mL 氢氧化钠溶液(4.2),密闭后用力振摇,使样品浸于液体中;用注射器加入 1.0 mL 连二亚硫酸钠溶液(4.3),密闭后用力振摇,使溶液充分混匀,然后置于 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的恒温水浴锅中(5.4)连续处理 30 min,取出玻璃反应器,置于冷水浴(或冰水混合浴或盐水浴)中快速冷却至室温($20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$) 1 min。

7.3 目标物的萃取

向上述玻璃反应器中快速加入 5.0 mL 叔丁基甲醚(4.4)或 5.0 mL 内标溶液(4.11)以及 7 g 氯化钠(4.5),将反应器密闭,用力振摇混匀后置于机械振荡器(5.6)上振摇 45 min,静置,待两相分层后,取上清液过 $0.45\ \mu\text{m}$ 有机滤膜后进行 GC-MS 分析。

注 1: 样液冷却至室温后应及时进行萃取处理,间隔时间不宜超过 5 min。

注 2: 如两相分离不好,可进行离心处理。

注 3: 必要时,在不高于 50°C 的真空旋转蒸发器(5.8)中[真空度 $50\ 000\ \text{Pa} \pm 10\ 000\ \text{Pa}$ ($500\ \text{mbar} \pm 100\ \text{mbar}$)]将叔丁基甲醚萃取液浓缩至近 1 mL(不要全干),残留的叔丁基甲醚用惰性气体流缓慢吹干。直接加入 2 mL 甲醇溶解残渣,该溶液用于仪器分析。

7.4 色谱分析

7.4.1 GC-MS 分析条件(推荐)

毛细管色谱柱: DB-5 ms, $30\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm} \times 0.25\ \mu\text{m}$, 或相当者

进样口温度: 250°C

程序升温: 50°C 保持 0.5 min, $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 260°C , 保持 5 min

色谱质谱接口温度: 280°C

进样方式: 不分流

载气: 氦气, 纯度 $\geq 99.999\%$

载气流量: $1.0\ \text{mL}/\text{min}$

进样体积: $1\ \mu\text{L}$

GB/T 33392—2016

电离方式:EI
电离能量:70 eV
质量扫描范围:(45 amu~300 amu)
检测方式:选择离子监测(SIM), $m/z=92,197,120$ (丰度比 $\approx 100:75:27$)

7.4.2 HPLC-DAD 分析条件(推荐)

色谱柱:反相 C18,5 μm ,250 mm $\times$ 4.6 mm,或相当者
流速:0.8 mL/min~1.0 mL/min
柱温:40 $^{\circ}\text{C}$
检测器:DAD
检测波长:240 nm、280 nm、305nm、380 nm
流动相 A:甲醇
流动相 B:0.575 g 磷酸二氢铵+0.7 g 磷酸氢二钠,溶于 1 000 mL 水中,pH=6.9
进样量:10 μL
梯度:见表 1

表 1 流动相梯度

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0	100
5	10	90
10	10	90
27	68	32
29	100	0

7.4.3 定性和定量分析

标准工作溶液和样品测试溶液等体积穿插进样,按照上述色谱条件进行测试,通过比较试样与标样的保留时间、光谱图或质谱图进行定性。

确认样品中 4-氨基偶氮苯呈阳性后,根据标准工作溶液和样品测试溶液中的 4-氨基偶氮苯的峰面积值,进行定量计算。混合标准工作溶液和样品测试溶液中 4-氨基偶氮苯和内标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。

4-氨基偶氮苯的 HPLC-DAD 色谱图参见附录 A 图 A.1,光谱图参见附录 A 图 A.2。4-氨基偶氮苯及蒎-d10(内标物)的 GC-MS 色谱图参见附录 B 图 B.1,质谱图参见附录 B 图 B.2、图 B.3,其他色谱分析方法参见附录 C。

8 结果计算

8.1 HPLC 法(外标法)

根据 HPLC 分析结果,按照式(1)计算样品中 4-氨基偶氮苯的含量。

$$X = \frac{A \times c \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中分解出的 4-氨基偶氮苯的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——样品测试溶液中 4-氨基偶氮苯的峰面积;

A_s ——标准工作溶液中 4-氨基偶氮苯的峰面积;

c ——标准工作溶液中 4-氨基偶氮苯的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样液最终体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g)。

8.2 GC-MS 法(内标法)

根据 GC-MS 分析结果,按照式(2)计算样品中 4-氨基偶氮苯的含量。

$$X = \frac{A \times c \times V \times A_{isc}}{A_{is} \times m \times A_{iss}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X ——试样中分解出的 4-氨基偶氮苯的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——样品测试溶液中 4-氨基偶氮苯的峰面积;

c ——标准工作溶液中 4-氨基偶氮苯的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样液最终体积,单位为毫升(mL);

A_{isc} ——标准工作溶液中内标物的峰面积;

A_{is} ——标准工作溶液中 4-氨基偶氮苯的峰面积;

A_{iss} ——样品测试溶液中内标物的峰面积;

m ——试样质量,单位为克(g)。

9 检测限和回收率

本方法对样品中 4-氨基偶氮苯的检测限为 5 mg/kg。方法的回收率应不低于 60%。

10 结果表示

两次独立测定结果的相对偏差应小于 10%。4-氨基偶氮苯的含量以两次平行试验结果的算术平均值表示,单位为 mg/kg,结果保留至小数点后 1 位。

11 试验报告

试验报告应包含如下内容:

- a) 本标准编号;
- b) 样品来源及描述;
- c) 采用的试样前处理方法;
- d) 采用的定量方法;
- e) 4-氨基偶氮苯的检测结果;
- f) 试验过程中所出现的异常现象;
- g) 实测方法与本标准不同之处。

附录 A
(资料性附录)
HPLC-DAD 色谱图及光谱图

HPLC-DAD 色谱图及光谱图分别见图 A.1 和图 A.2。

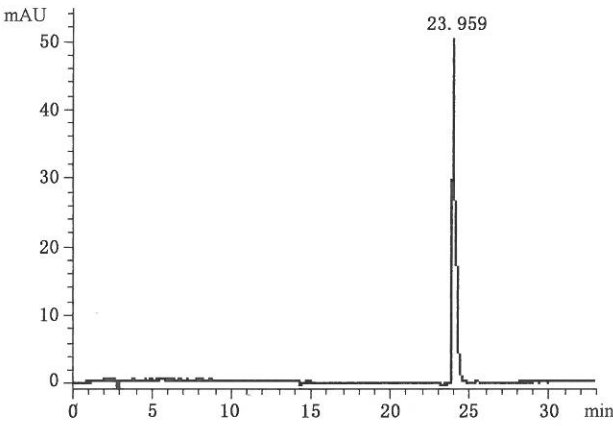


图 A.1 4-氨基偶氮苯的 HPLC-DAD 色谱图

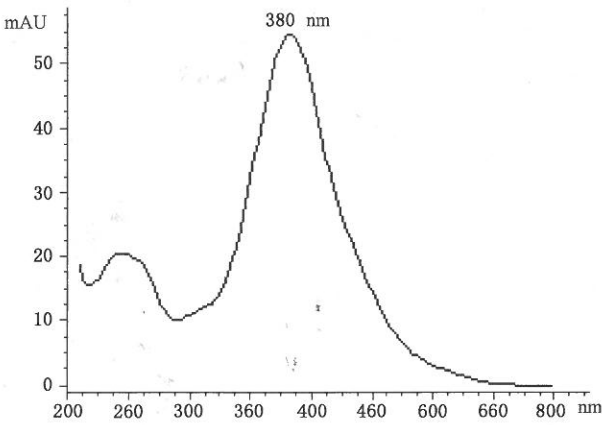


图 A.2 4-氨基偶氮苯的 HPLC-DAD 光谱图

附 录 B
(资料性附录)
GC-MS 色谱图及质谱图

GC-MS 色谱图及质谱图见图 B.1～图 B.3。

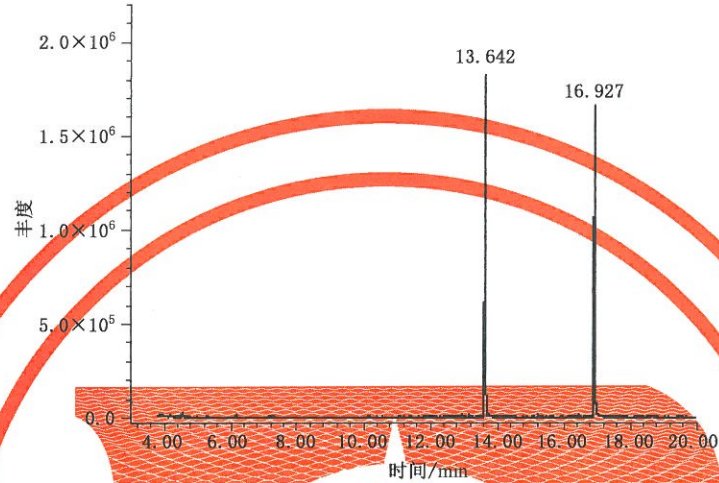


图 B.1 4-氨基偶氮苯及蒽-d10(内标物)标准品的 GC-MS 色谱图

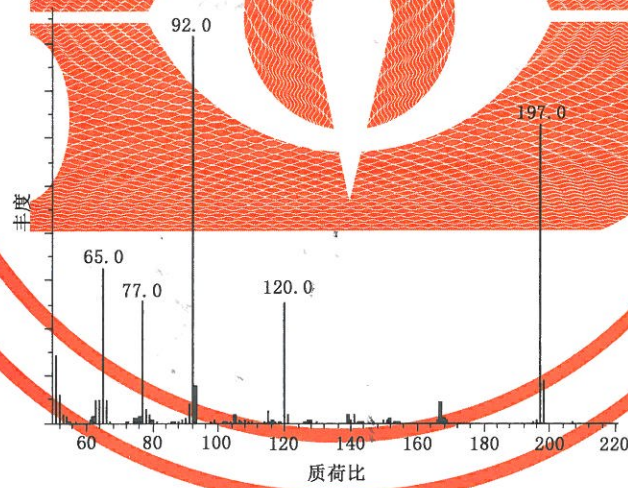


图 B.2 4-氨基偶氮苯的 GC-MS 质谱图

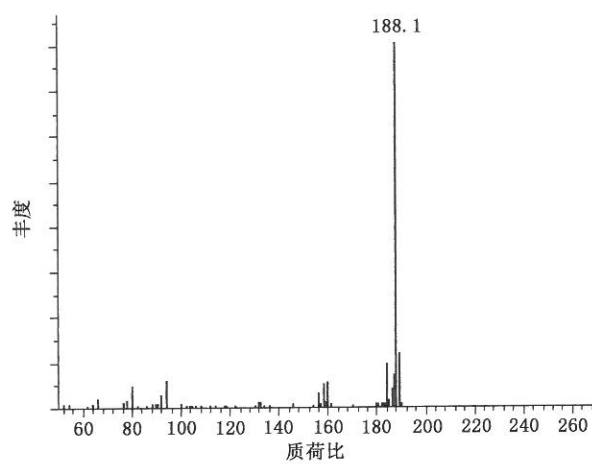


图 B.3 蒎-d10(内标物)的 GC-MS 质谱图

附 录 C
(资料性附录)
其他色谱分析方法

C.1 总则

对于皮革、毛皮样品中 4-氨基偶氮苯的检测,以下色谱方法、条件可供参考和使用。

C.2 高效液相色谱/二极管阵列检测/质谱(HPLC/DAD/MS)

流动相 1:乙腈
流动相 2:5 mmol 醋酸铵溶于 1 000 mL 水中,pH 3.0
色谱柱:Zorbax Eclipse XDB C18 (3.5 μm);(50 $\times$ 2.1)mm
流速:300 $\mu\text{L}/\text{min}$
梯度:见表 C.1

表 C.1 梯度配表

时间/min	流动相 1/%	流动相 2/%
0	10	90
1.5	20	80
7.5	90	10

柱温:40 $^{\circ}\text{C}$
进样量:2.0 μL
检测:四极杆和/或离子阱质谱检测器,扫描模式和/或质谱检测仪,二极管阵列检测器(DAD)
量化:在波长 240 nm,280 nm,305 nm 和 380 nm 处检测
载气:氮气(瓶装或反应发生器)
离子化:API 电极,120 V 条件下诱导解离

C.3 毛细管电泳(CE/DAD)(定量方法)

200 μL 样品溶液(7.3)与 50 μL HCl($c=0.01\text{ mol/L}$)混合后通过膜过滤系统(0.2 μm),所得溶液通过毛细管电泳仪进行分析检测。

毛细管 1:56 cm,无包覆,内径 50 μm ,配有延长的光程
毛细管 2:56 cm,包覆有聚乙烯醇,内径 50 μm ,配有延长的光程
缓冲溶液:磷酸盐缓冲液($c=50\text{ mmol/L}$),pH=2.5
柱温:25 $^{\circ}\text{C}$
电压:30 kV
进样时间:4 s
流动时间:5 s

检测器:二极管阵列检测器(DAD),214 nm,254 nm,光谱仪

C.4 薄层色谱仪(TLC)或高效薄层色谱仪(HPTLC)(定量分析),薄层色谱法和高效薄层色谱法仅适用于半定量分析

C.4.1 薄层色谱板(高效薄层色谱法):二氧化硅凝胶 60,含有荧光指示剂 F254,20 cm×10 cm

进样量:2 μ L~5 μ L,滴加方式

流动相 1:三氯甲烷:醋酸=90:10(体积比)

C.4.2 薄层色谱板(薄层色谱法):二氧化硅凝胶 60,含有荧光指示剂 F254,20 cm×20 cm

进样量:10.0 μ L,注入方式

流动相 2:三氯甲烷:烷基醋酸盐:醋酸=60:30:10(体积比)

流动相 3:三氯甲烷:甲醇=95:5(体积比)

流动相 2 和流动相 3:连续通过板材,中间不需要干燥

C.4.3 检测:1.紫外光谱

2.依次通过试剂 1 和试剂 2 处理,反应时间约 5 min

试剂 1:0.1%的 NaNO_2 的 HCl 溶液($c=1$ mol/L)

试剂 2:0.2%的 α -萘的 KOH 溶液($c=1$ mol/L)

附 录 D

(资料性附录)

本标准于 ISO 17234-2: 2011 技术性差异及其原因

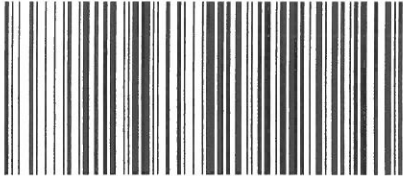
表 D.1 给出了本标准与 ISO 17234-2: 2011 的技术性差异及其原因的一览表。

表 D.1 本标准与 ISO 17234-2:2011 的技术性差异及其原因

本标准的章条编号	技术性差异	原因
标准名称	将标准名称改为《皮革和毛皮 化学试验 禁用偶氮染料中 4-氨基偶氮苯的测定》	根据中文习惯和我国的实际情况进行修改,并增加对“毛皮”产品的应用
1	增加了标准的适用范围,增加了“毛皮”样品的检测,扩大了标准的使用范围,并简化了阐述方式	符合 GB/T 1.1 的编写规定,并适合我国需要,符合我国的用语习惯
2	将引用的 ISO 标准,改写为引用我国的相关标准,并增加了对毛皮行业标准的引用	便于我国使用
—	删除了原国际标准中“3 总则”对 4-氨基偶氮苯的情况介绍	4-氨基偶氮苯的化学信息已被熟知
3	原国际标准中“4 原理”的内容,并将原国际标准中附录 C 中的部分内容(对检测结果的评介)调整至本标准“3 原理”中	方便相关方对标准的使用、检测结果的判定易于理解
3	将原国际标准中“4 原理”中对相关色谱方法的介绍调整为“注”的内容	为参考性内容
4	原国际标准“7 试剂”的相关内容,并增加了对试验用水的规定(GB/T 6682 规定的三级水)	根据实际情况考虑,避免不同地区水质不同对实验结果的影响
4.3	将原国际标准“7.2 连二亚硫酸钠溶液”中“在密闭容器中放置并于 1 h 内使用”改为“即配即用”	符合我国标准的用语习惯
4.4	增加了可用新鲜乙醚代替叔丁基甲基醚的注,并具体说明了新鲜乙醚的制备方法	拓宽了试验操作的试剂范围,便于使用
4.11	只选择萘-d10 作为内标物,并在附录 B 中给出相应的 GC-MS 色谱图及质谱图	根据实际情况考虑,便于使用和操作
4.12.1	将原国际标准中内标准溶液浓度改为 2.0 $\mu\text{g/mL}$,并增加了可根据需要配制合适浓度的注	增强试验检测的灵活性和可操作性,便于使用
4.12.2	增加了对 4-氨基偶氮苯标准储备液贮存方法的注	避免因试剂贮存不当对实验结果造成的影响
4.12.3	增加了 4-氨基偶氮苯标准工作溶液的配制方法,并增加了可根据需要配制合适浓度的注	进一步规范试验用溶液的配制方法,避免因溶液配制方法的差异对试验结果造成的影响

表 D.1 (续)

本标准的章条编号	技术性差异	原因
—	删除了原国际标准中“5 安全防护”	我国标准中一般不包括该项的相关内容,安全防护通常以“实验室安全规则”的形式体现
5	原国际标准中“6 仪器设备”的相关内容,并增加了“5.1 分析天平”	我国分析天平的种类繁多,需具体规范
5.6	将原国际标准“6.7 机械振荡器”的振频(5 s^{-1})改为转速($\geq 300\text{ 转/min}$)	转速由频率换算得到,符合我国使用习惯
6	将原国际标准“8 取样”进行了细化,分为“取样”和“试样制备”,同时增加对“毛皮”产品的要求	便于操作和使用
7.1、7.2、7.3	原国际标准中“9 试验步骤”的9.1、9.2、9.3	基本操作与原标准相对应
7.4	原国际标准附录 A 中的“色谱条件”内容调整至本标准“7.4 色谱条件”中	符合我国标准编写规定,便于使用和操作
7.4.1	对程序升温作了适当调整	不同型号的仪器,试验条件有差异
7.4.2	对流速作了适当调整	不同型号的仪器,试验条件有差异
7.4.3	增加了对定性和定量测定的说明	便于操作者使用
9	增加了对检测限的说明	是对标准方法的说明
10	增加了对结果表示的说明	规范检测结果
附录 A	列举了 4-氨基偶氮法的 HPLC-DAD 色谱图及光谱图,将原国际标准中附录 A 的部分内容调整至“7.4 色谱条件”、“附录 B GC-MS 色谱图及质谱图”和“附录 C 其他色谱分析方法”中	符合我国标准编写规定,便于使用和操作
附录 B	将原国际标准中附录 A 的部分内容调整至“附录 B GC-MS 色谱图及质谱图”,列举了 4-氨基偶氮苯及 葱-d10 (内标物)标准品的 GC-MS 色谱图及质谱图	本标准中只选择了 葱-d10 作为内标物
—	删除了原国际标准中“附录 B 可靠性分析”	国际标准提供的是国外实验室的试验情况,与我国不同;国内相关的检测方法目前已比较成熟
附录 C	原国际标准中附录 A 中除 HPLC-DAD 和 GC-MS 外其他的色谱分析方法	符合我国习惯,便于理解
—	删除了原标准附录 C 中测定结果表述的部分内容	原国际标准附录 C 中结果表述的部分内容调整至本标准中的“3 原理”中。删除了不符合我国标准编写规定的参考性内容



GB/T 33392-2016

版权专有 侵权必究

*

书号:155066 · 1-55219

定价: 18.00 元