

# 《玩具及儿童用品中苯酚的测定 高效液相色谱法》

## 编制说明

### 1 任务来源

《玩具及儿童用品中苯酚的测定 高效液相色谱法》标准制订，是根据全国玩具标准化技术委员会下发“国玩标委字〔2023〕14号”文而制定。国家计划编号为 20230305-T-607。

本标准的标准性质为推荐性。由广州海关技术中心、上海海关机电产品检测技术中心、中国海关科学技术研究中心、深圳市计量质量检测研究院、华测检测认证集团股份有限公司、亿科检测认证有限公司、中家院（北京）检测认证有限公司、莱茵技术（上海）有限公司、万代玩具（深圳）有限公司、奥飞娱乐股份有限公司、广东省汕头市质量计量检测所、宝钜（中国）儿童用品有限公司、山东省产品质量检验研究院、河北贝多奇儿童玩具有限公司、北京中轻联认证中心有限公司等单位共同起草。

本标准是首次制定的国家推荐性标准。

### 2 制定本标准的背景

#### 2.1 苯酚危害及法规要求

苯酚又名石炭酸、羟基苯，是最简单的酚类有机物，是一种弱酸，化学式为  $C_6H_6O$ 。苯酚具有特殊气味，常温下为一种无色晶体。在潮湿空气中，吸湿后，由结晶变成液体。常温下微溶于水，易溶于有机溶液；但当温度高于  $65^{\circ}C$  时，能跟水以任意比例互溶。其暴露在空气中呈粉红色。苯酚化学性质稳定，对多数革兰氏阳性/阴性菌、真菌、霉菌都有杀灭功效，因此苯酚可作为防腐剂成分应用于玩具中的泡泡水、橡皮泥等产品。

苯酚具有一定的毒性和腐蚀性，对皮肤、粘膜有强烈的腐蚀作用。除了接触的部位发生化学品灼伤，人体吸收后会有一系列的中毒效应。全身的中毒效应症状包括：恶心、呕吐、腹泻、高铁血红蛋白症、溶血性贫血、大汗，血压过低、心率失常、心动过速和肺水肿等。此外，苯酚的慢性毒性主要在于对肝、肾的损伤。美国有毒物质和疾病登记局（ATSDR, The Agency for Toxic Substances and Disease Registry）关于苯酚的资料显示：苯酚的气味特别，比较容易使人觉察。它的嗅阈值大约是接触限值的百分之一。苯酚在中国的接触限值是 8 小时加权平均浓度（TWA） $10mg/m^3$  (GBZ 2.1-2007)，美国接触限值是 TWA: 5ppm（美国 ACGIH），约合  $19mg/m^3$ 。

欧盟玩具安全指令 2009/48/EC 已对苯酚作为防腐剂的限量要求建立检测方法标准，该指令在 2017 年发布了修订指令 EU 2017-774。EU 2017-774 的附录 A 中指出苯酚作为防腐剂时，含量应 $\leq 10$  mg/kg，作为单体时，聚合物材料中苯酚的迁移量应 $\leq 5$  mg/L。国家标准 GB/T 39498-2020 《消费品中重点化学物质使用控制指南》同样规定了苯酚作为防腐剂和单体时的限量要求，与欧盟标准要求一致。此外，AS NZS 8124.9-2008《有机化合物要求》禁止使苯酚作为防腐剂。

本标准针对的是防腐剂苯酚。

## 2.2 高风险材料

当苯酚作为防腐剂时，通常出现在一些容易滋生微生物的玩具材料中，如泡泡水、玩具墨水或染料色素水等，一些半液体或粘性材料中亦容易添加苯酚作为防止细菌滋生的防腐剂，在金属、聚合物等材料中无须添加防腐剂，即不会出现防腐剂苯酚。聚合物中的苯酚多为单体苯酚。




防腐剂苯酚的高风险材料具体如下：

指画颜料是一种为儿童特别设计的涂料玩具，通过用手或手指蘸取进行绘画使用。指画颜料一般由水、着色剂、黏合剂、防腐剂和苦味剂组成，同时根据不同产品特征要求还可能包含有稀释液、润滑剂和表面活性剂等成分。绘画过程不仅能够锻炼儿童手指灵活度还可以丰富其想象力和创造力。但统计近年来中国出口欧盟的玩具中均有指画颜料被召回的案例，召回原因为存在防腐剂、重金属等有毒有害物质；而苯酚是防腐剂的重点检测对象，因此泡泡水是高风险材料。

软泥玩具在狭义上是指有一定色彩、具有良好可塑性的黏性泥土玩具、广义上也包括用这类材料制作出来的玩具，是一类色彩丰富、可以发挥自己无限创造力的弹性玩具。目前市场上，软泥玩具主要包括水晶泥（史莱姆）、超轻黏土、彩泥。下表 2-1 为 3 种软泥玩具的描述及对应的实物图。为保持其良好的可塑性，防腐剂的加入必不可少。据江苏省质监局发布的 2015 年彩泥产品风险监测质量报告显示，超 6 成产品不合格，其中 51% 的样品中防腐剂超出欧盟相关标准。因此软泥玩具也是高风险材料。

表 2-1 软泥玩具分类

软泥玩具分类	成分描述	实物图
--------	------	-----

水晶泥（史莱姆）	一般由豆科植物提取物配以硼砂，白胶浆混合而成的果冻状玩具	
超轻黏土	主要是运用高分子材料发泡粉（真空微球）进行发泡，再与聚乙醇、交联剂、甘油、颜料等材料按照一定的比例物理混合制成。	
彩泥	1、由面粉、防腐粉、色素等制成 2、由普通黏土与膨润土等混合而成,主要化学成分是水合硅酸铝的细微颗粒	

除此之外，泡泡水、墨水、胶水等也存在一定风险。下表 2-2 为近年来为欧盟 REPAK 因防腐剂不合格的软泥、指画颜料等玩具产品典型召回案例。

表 2-2 欧盟 REPAK 防腐剂不合格玩具产品典型召回案例

召回发布日期	玩具产品类别	产地	样品图片
2022.5.27	指画颜料	波兰	
2021.1.29	水晶泥	中国	
2021.1.22	水晶泥	中国	
2021.10.1	指画颜料	中国	

2021.1.22                      水晶泥                      德国



2021.12.17                      指画颜料                      中国



---

欧盟玩具安全标准 EN 71-9 的条款 4.4 中的表一中指出，对防腐剂苯酚提出限量要求的材料分为：皮革、彩色液体、无色液体、造型黏土、胶合剂。

本标准适用的材料范围即为上述几种材料，即皮革、液体材料、造型黏土、胶合剂。

### 2.3 苯酚含量检测方法概述

方法标准方面，国家标准有 GB/T 30696-2014《硬质酚醛泡沫制品 游离苯酚的测定》、GB/T 29609-2013《橡胶 苯酚和双酚 A 的测定》、GB/T 30773-2014《气相色谱法测定 酚醛树脂中游离苯酚含量》、GB/T 18932.7-2002《鞋类 鞋类和鞋类部件中存在的限量物质 苯酚的测定》，这些标准中检测的对象为聚合物或皮革类，采用的萃取试剂均为甲醇、丙酮或甲苯，萃取时间至少半小时以上。实际上在玩具安全领域，防腐剂多应用在液体、半液体材料中，欧盟指令 2009/48/EC 仅对液体、黏合剂、柔韧造型材料玩具提出苯酚（防腐剂）的限制要求，这类材料易萃取，无需半小时以上的萃取时间。欧盟 EN 71-10:2005 提供了液体和软泥类材料中苯酚的快速检测方法，但其为针对数十种有机物的通用前处理方法，除了写明要用水作为萃取剂和少量简单参数，欧盟标准并没有详细的前处理步骤，操作不便。

苯酚的检测方法主要可分为气相色谱法和液相色谱法。对于气相色谱法，常用方法为用苯酚与溴产生衍生化反应，形成 2,4,6-三溴苯酚衍生物，之后经电子俘获检测器（ECD）检测。但为保证衍生化完全，需要加入过量的溴试剂，因此后续需要立即去除体系中溴，步骤繁琐。相较于气相色谱法，液相色谱法的优势在于可直接测定苯酚，无需衍生，进而前处理步骤大幅简化。适用于苯酚的液相色谱方法包括 HPLC-UVD，HPLC-FLD、HPLC-DAD 和 HPLC-MS。HPLC-MS 检测限低，但仪器价格昂贵，在多数企业或公司并不普遍。传统 HPLC 法常配置紫外或二极管阵列检测器，仪器操作简单、便捷，且仪器价格便宜，大部分企业或制造公司均配备 HPLC。但与 HPLC-DAD 相比，HPLC-FLD 的检出限更低，综合考量，HPLC-FLD 是检测玩具中苯酚的最优方法。

基于上述分析，本标准拟建立一种玩具中液体和柔韧造型材料中防腐剂苯酚含量的快速检测方法。

### 3 编制依据

1) 本标准方法是根据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》的要求以及 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则第4部分：试验方法标准》中的各项规定进行编写，力求符合规范化与标准化的要求。

2) 本标准的制定是为了满足国家标准 GB/T 39498-2020 和欧盟 2009/48/EC 对玩具及儿童用品中液体、黏合剂和柔韧造型等材料中防腐剂苯酚的限量要求。本标准的前处理主要参照 Safety of toys — Part 10: Organic chemical compounds — Sample preparation and extraction (EN 71-10:2005)。本标准的检测部分主要参考了 Safety of toys — Part 11: Organic chemical compounds — Methods of analysis (EN 71-11:2005) 标准，经研究、优化和验证后制定。

### 4 标准方法概述

本标准规定了玩具及儿童用品液体、柔韧造型材料、黏合剂和皮革中防腐剂苯酚含量的高效液相色谱的测定方法。

本标准适用于玩具及儿童用品液体、柔韧造型材料、黏合剂和皮革中防腐剂苯酚含量的测定。

本标准方法采用甲醇快速萃取试样中的苯酚，将所得萃取液通过 HPLC-FLD 进行测定。进行检出限、回收率试验、精密度试验等方法验证，各项结果表明，本标准方法的分析性能指标能够符合分析要求，可以满足玩具及儿童用品液体、柔韧造型材料、黏合剂和皮革中苯酚含量的测定要求。

### 5 标准方法论证

#### 5.1 样品处理步骤

取样方法参考 EN 71-10:2005 条款 8.2.3, 8.5.3 及 8.7.3。

样品制备时，从样品中取代表性试样，不同颜色的材料应分别取样。

液体样品取样前应充分混均。对于指画颜料、墨水等含有悬浊物的液体样品，应充分振摇，并在悬浊物均匀分布在溶液中的状态下取样。固体样品应使用合适的工具将样品制成不大于 5 mm×5 mm×5 mm 尺寸的颗粒。在甲醇溶液中无法均匀分散的柔韧造型材料应当成固体样品。

液体材料和黏合剂。采用分析天平称取测试试样约 1 g (精确到 0.0001 g), 置于 50 mL 提取瓶中, 加甲醇至 15 mL。在室温条件下以 1000 r/min 的频率在振荡器上提取 5 min, 或  $(60 \pm 5)$  °C 条件下在超声波水浴 (6.5) 中超声 5 min。必要时, 移取部分提取液至 10 mL 具塞塑料离心管中, 以 10000 r/min 的转速离心 10 min 去除杂质, 取上清液。提取液经微孔滤膜过滤, 所得滤液供 HPLC-FLD 测定。

柔韧造型材料。采用分析天平称取测试试样约 1 g (精确到 0.0001 g), 置于 50 mL 提取瓶中, 准确加入 15 mL 甲醇, 轻摇预混。必要时, 用玻璃棒捣碎并搅拌辅助预混, 为避免柔韧造型材料粘附在玻璃棒上, 采用的玻璃棒宜细小光滑, 当使用玻璃棒混匀时, 可先加入 10 mL 甲醇, 而后用 5 mL 甲醇冲洗玻璃棒。在室温条件下以 1000 r/min 的频率在振荡器上提取 5 min, 或  $(60 \pm 5)$  °C 条件下在超声波水浴中超声 5 min。必要时, 移取部分提取液至 10 mL 具塞塑料离心管中, 以 10000 r/min 的转速离心 10 min 去除杂质, 取上清液。提取液经微孔滤膜过滤, 所得滤液供 HPLC-FLD 测定。

固体材料。采用分析天平称取测试试样约 1 g (精确到 0.0001 g), 置于 50 mL 提取瓶中, 准确加入 15 mL 甲醇。在室温条件下以 1000 r/min 的频率在振荡器上提取 60 min, 或  $(60 \pm 5)$  °C 条件下在超声波水浴中超声  $(60 \pm 2)$  min。必要时, 移取部分提取液至 10 mL 具塞塑料离心管中, 以 10000 r/min 的转速离心 10 min 去除杂质, 取上清液。提取液经微孔滤膜过滤, 所得滤液供 HPLC-FLD 测定。

## 5.2 阳性样品制备

本标准选用的样品包含了自制样品和检测剩余阳性样品两种类型。

皮革为检测剩余阳性样品。因为是检测剩余样品, 故每一种样品的数量不多, 因此不同参数优化实验当中用的可能是不同的样品, 苯酚含量数据各异。

泡泡水、液体指画颜料、棉花泥、液体黏合剂、水晶泥、水性涂料、造型黏土为自制样品。制备流程如下: 从市场上购买泡泡水、液体指画颜料、棉花泥、液体黏合剂、水晶泥、水性涂料、造型黏土样品, 往样品中添加一定浓度的苯酚标准溶液, 混均, 形成目标阳性样品。

泡泡水、液体指画颜料、棉花泥、液体黏合剂、水性涂料在添加一定浓度的苯酚标准溶液后, 使用斡旋振荡器高速震荡 5 小时, 再使用水平往复振荡器震荡 24 小时, 静置 24 小时, 然后使用水平往复振荡器再次震荡 24 小时。取样进行均匀性检测, 确保样品的均匀性。水晶泥和造型黏土在添加一定浓度的苯酚标准溶液后, 采用搅拌和搓捏的方式反复混合, 取样进行均匀性检测, 确保苯酚在样品在混合均匀。

样品泡泡水、液体指画颜料、棉花泥、液体黏合剂、水晶泥、水性涂料、造型黏土的样品见图 5-1 所示。上述样品配置后的常用理论浓度分别为 15 mg/kg, 6 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 5 mg/kg, 5 mg/kg, 5 mg/kg 的阳性基质样品。除此之外, 个别类型的样品还制备了多个其他浓度水平的样品, 具体章节另有介绍。

图 5-1 展示了部分样品的图片。



图 5-1 阳性样品

### 5.3 前处理条件的影响

#### 5.3.1 前处理条件概述

本标准主要是应对欧盟 2009/48/EC 对防腐剂苯酚的限制要求而建立的检测方法。欧盟 2009/48/EC 制定的检测方法是 EN 71-10 (前处理方法) 和 EN 71-11 (仪器检测方法)。除此之外, 当前苯酚萃取标准中, 常见的有: GB/T 30696-2014、GB/T 29609-2013、GB/T 39113-2020。

这些标准的前处理条件对比如表 5-1 所示:

表 5-1 不同苯酚含量测定标准的前处理条件对比

序号	标准编号	标准名称	前处理条件			
			萃取试剂	萃取试剂的体积/mL	提取方式	萃取时间

1	EN 71-10	Organic chemical compounds - Sample preparation and extraction	水	15	振荡	30 s
2	SN/T 2407-2009	玩具中苯酚和双酚 A 的测定	水	15	超声	20 min
3	GB/T 30696-2014	硬质酚醛泡沫制品 游离苯酚的测定	丙酮	15-20	超声	30 min
4	GB/T 29609-2013	橡胶 苯酚和双酚 A 的测定	甲醇	250	索式抽提	3 h
5	GB/T 39113-2020	鞋类 鞋类和鞋类部件中存在的限量物质 苯酚的测定	甲苯/丙酮体积比为 80/20 的混合液	10	超声	60 min

### 5.3.2 萃取试剂的选择

本标准主要是应对欧盟 2009/48/EC 对防腐剂苯酚的限制要求而建立的快速检测方法。欧盟 2009/48/EC 制定的检测方法是 EN 71-10（前处理方法）和 EN 71-11（仪器检测方法）。苯酚的化学结构式中都含有羟基，因此具有一定的极化率，可溶于水、甲醇等大部分极性溶剂。当前苯酚萃取标准中，常见的有：EN 71-10 采用水为萃取试剂；GB/T 30696-2014 采用丙酮为萃取试剂；GB/T 29609-2013 采用甲醇为萃取试剂；GB/T 39113-2020 为甲苯/丙酮为萃取试剂。

为考察玩具及儿童用品的液体材料、黏合剂、柔韧造型、皮革等材料中苯酚的萃取能力，分别采用水、甲醇、丙酮、甲苯/丙酮（体积比为 8/2）四种试剂作为萃取剂，对比萃取能力。试验样品分别为泡泡水、水性涂料、指画颜料、蓝色棉花泥、黏合剂、皮革。试验结果如下图 5-2、图 5-3 所示。如下图 5-2，对于泡泡水样品，水萃取效率约为 90% 左右，其他试剂的萃取效率均在 95% 以上。对于黏合剂样品，丙酮的回收率仅为 82%，其他试剂均在 90% 以上，甲醇的萃取效果最好。对于指画颜料样品，水的萃取效果较差，丙酮和甲醇溶剂较好。对于蓝色棉花泥样品，甲醇、丙酮和甲苯/丙酮（体积比为 8/2）溶剂的萃取效果较好。对于水性涂料样品，甲醇和甲苯/丙酮（体积比为 8/2）溶剂的萃取效果较好，水较差，用丙酮试剂萃取干扰大，无法准确定量。由于皮革样品是从市场购买的阳性样品，不知道具体的苯酚含量，因此通过比较相同萃取时间下萃取出苯酚的量来判断不同试剂对其萃取效率的影响，如下图 5-3，对于皮革样品，甲醇的萃取效果是最好的。综合上述结论，考虑到实验的统一性和简便性，本标准方法选择甲醇作为最优的萃取溶剂。



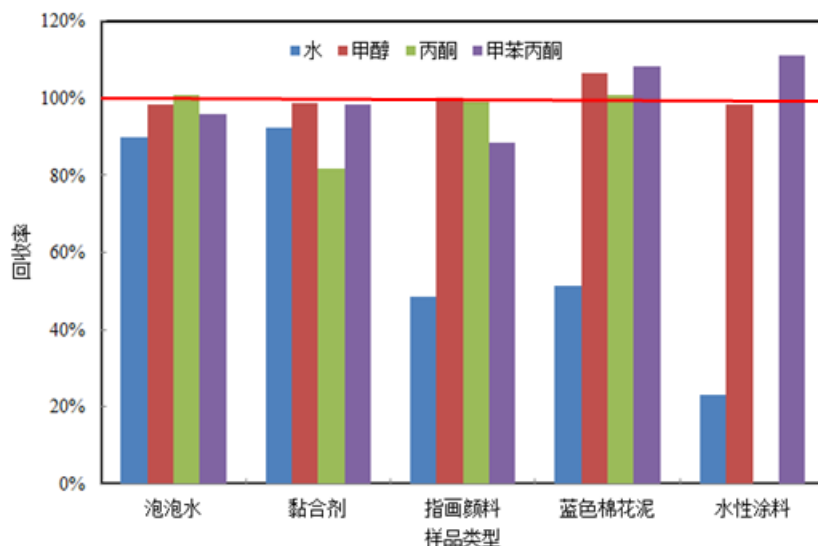


图 5-2 不同萃取试剂对不同基质样品的萃取效果

(注：丙酮萃取水性涂料时出现峰干扰，无法定量)

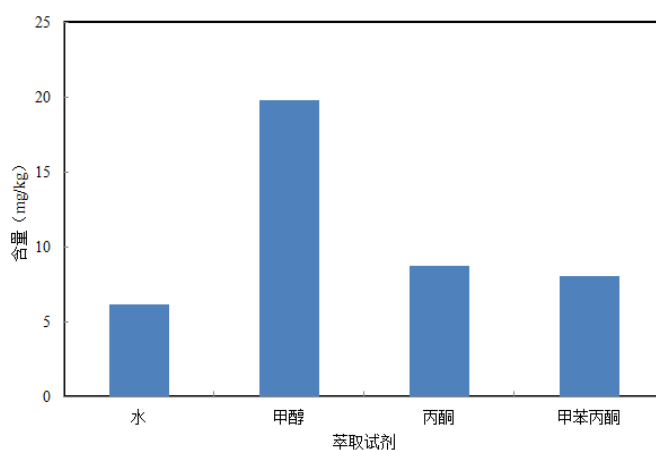


图 5-3 不同萃取试剂对皮革样品的萃取效果

### 5.3.3 振荡时间

取典型的泡泡水、水性涂料、指画颜料、造型黏土、棉花泥、水晶泥、黏合剂、皮革作为代表性玩具材料，按 5.1 方法取样并加入等量甲醇后，在振荡器上分别提取 1、2、5、10、20、30、60、120 min，经 0.22 μm 的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定。如图 5-4、图 5-5。实验发现，不同的振荡时间对不同类型样品中苯酚的提取结果有差异。

对于诸如泡泡水、墨水、指画颜料、黏合剂等这些液体、半液体材料，在加入萃取剂（甲醇）之后，会快速地和溶剂充分融合，形成均匀溶液或均匀悬浊物，作为防腐剂的苯

酚会很容易被萃取出来。由图 5-4 得出，泡泡水、水性涂料和指画颜料样品，在不同的时间萃取效率均大于 95%，即即便只摇荡 1min 的萃取效果也非常好。黏合剂在萃取时间大于等于 2 min 后，其萃取效率均大于 95%。

除去液体和半液体，还有造型黏土这类偏向固体性质的材料，这一类材料中不一定是亲水易溶材料。在本标准的前处理条款中，要求将这类材料在萃取前尽可能混均，这会加速造型黏土中苯酚的萃取速度，为了进一步验证 5 min 的时间对于这一类难溶材料的萃取是否足够，采用蓝色棉花泥、紫色水晶泥和黄色造型黏土进一步开展了试验。结果见图 5-4。实验发现，时间大于 2 min 后，蓝色棉花泥的萃取效率均大于 95%，而对于紫色水晶泥和黄色造型黏土这类固体性质样品，萃取时间在 60 min 及以上时，苯酚的萃取效果更好，萃取效率能大于 97%。由此得出不同的振荡时间对不同类型的造型黏土样品中苯酚的提取结果有差异。

皮革类样品也会含有一定的防腐剂。本实验选择 3 种阳性皮革（白色皮革、淡棕皮革和米白皮革），通过萃取出苯酚的量来判断不同时间对其萃取效率的影响。如图 5-5，实验发现，萃取时间在 60 min 及以上时，苯酚的萃取效果更好。

考虑到振荡时间过长，耗时长，影响实验周期。本标准旨在建立一种准确可靠、且快速的防腐剂苯酚萃取方法。为了保证测试试样萃取的充分性和快速性，综合考虑，对于液体和半液体（泡泡水、水性涂料、指画颜料、黏合剂、墨水和易分散的棉花泥），实验中选择振荡时间为 5 min。对于固体或半固体（不溶于水的造型黏土）样品，萃取时间为 1 小时。

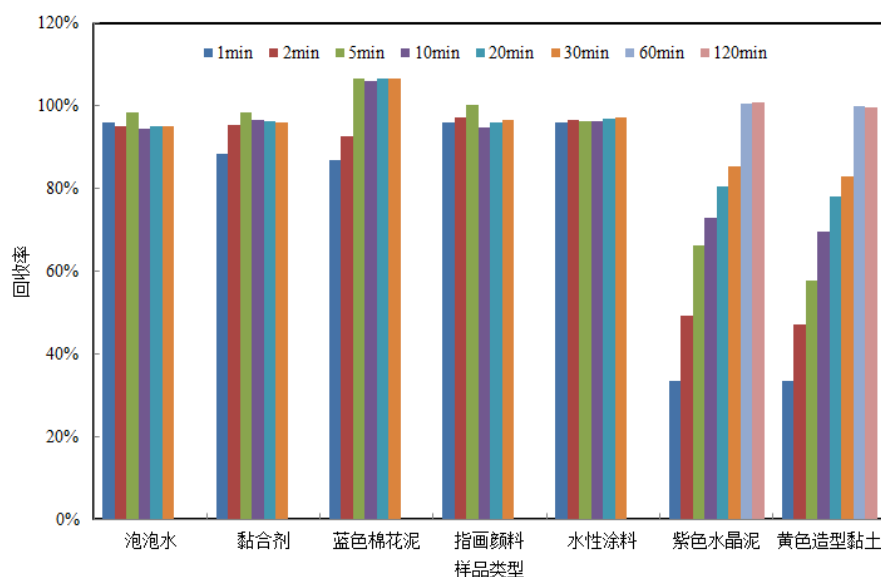


图 5-4 不同振荡时间对不同基质样品的萃取效果

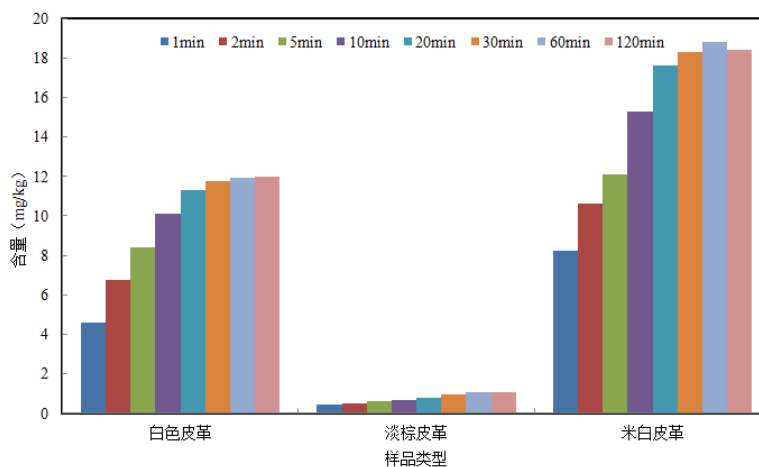


图 5-5 不同振荡时间对皮革样品的萃取效果

### 5.3.4 振荡频率

取较难萃取的固体样品（不溶于水的黄色造型黏土、紫色水晶泥和皮革）作为代表性样品，按 5.1 方法取样并加入等量甲醇后，在室温条件下分别以 500、1000、1300、1500 转/分钟的频率在振荡器上提取 60 min，经 0.22  $\mu\text{m}$  的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定，如图 5-6、图 5-7。实验发现，在 1000 转/分钟的频率以上使用，不同的振荡频率对样品中苯酚的提取结果差异不大。

不同的振荡频率对紫色水晶泥（图 5-6）和皮革样品（图 5-7）中苯酚的萃取效果差异不大；而在黄色造型黏土（图 5-6）中，除 500 转/分钟的频率下提取苯酚的效果较差，在 1000 转/分钟及更高的频率下提取苯酚的效果差异不大。考虑到振荡频率大不利于仪器维护，长时间使用会降低仪器寿命，最终选取 1000 转/分钟作为振荡频率。

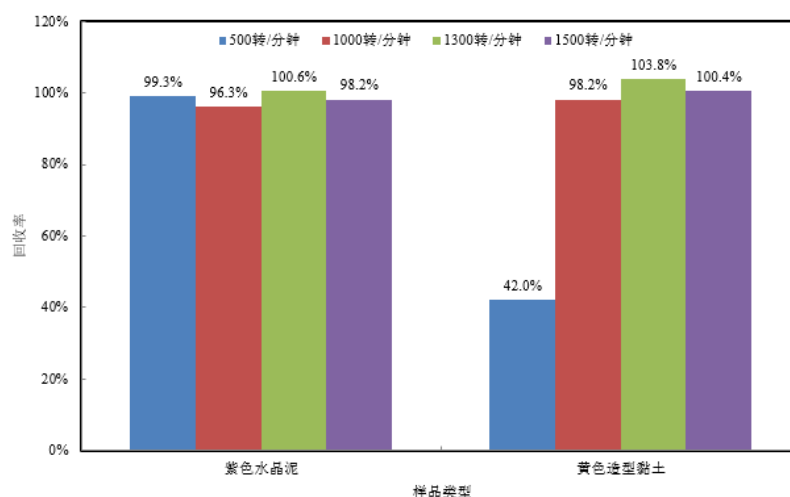


图 5-6 不同振荡频率对不同基质样品的萃取效果

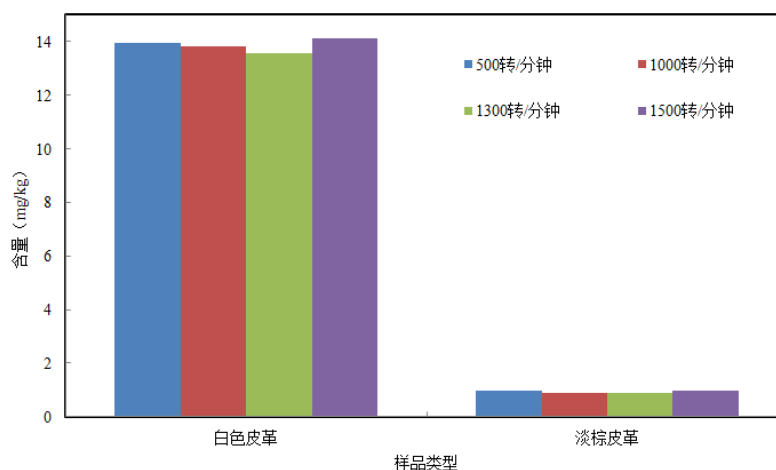


图 5-7 不同振荡频率对皮革样品的萃取效果

### 5.3.5 加入模拟液的体积

按 5.1 方法取样后，分别于液体材料和黏合剂中加甲醇至 3mL、5 mL、10 mL、15 mL、20 mL、25 mL（或于软泥类材料和皮革中加甲醇 3mL、5 mL、10 mL、15 mL、20 mL、25 mL），在振荡器上提取后经 0.22  $\mu\text{m}$  的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定。如图 5-8，加入不同的模拟液体积对萃取泡泡水中的苯酚没有影响，泡泡水的萃取效率均大于 94%。在黏合剂中，当加入甲醇至 3ml 和 5mL 时，由于模拟液体积太少，萃取后样品黏性仍然很大，无法打针过滤。而加至体积在 10mL 以上时，萃取效率均达到 100% 左右。在蓝色棉花泥样品中，加入 5mL 及以上的甲醇萃取效果较好，回收率均能大于 94%，但当加液体积为 3ml 时，模拟液太少会无法完全覆盖样品，导致萃取效率较低，回收率小

于 70%。在指画颜料和水性涂料样品中，加入 10mL 以上的甲醇萃取效果较好，回收率均大于 90%，加入 15mL 及以上的甲醇时，回收率均大于 95%。如图 5-9，加入不同模拟液体体积对皮革样品的萃取效果没有影响。由此看来，加入模拟液较少时，对粘度系数较大的样品会有影响。因此综合考虑溶解性、检出限等问题，本实验中参考 EN 71-10:2005 选择加入的模拟液体积为 15 mL。

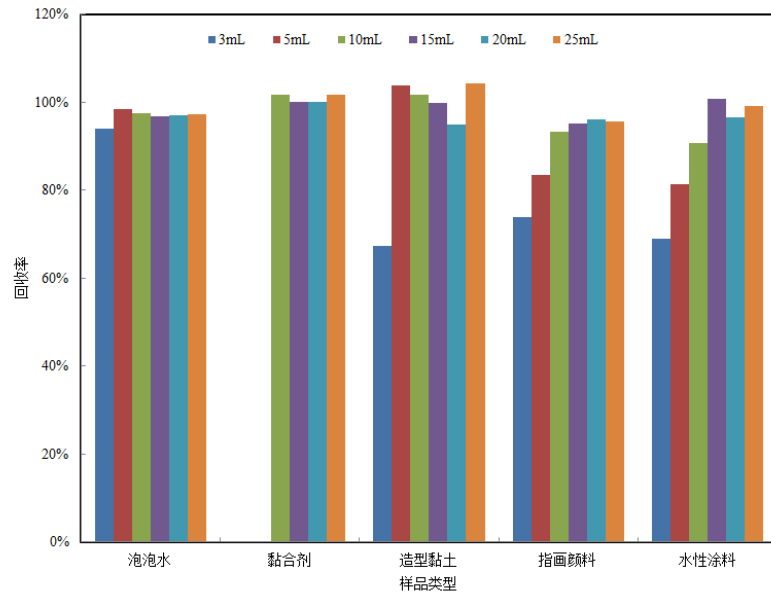


图 5-8 不同模拟液体积对不同基质样品的萃取效果

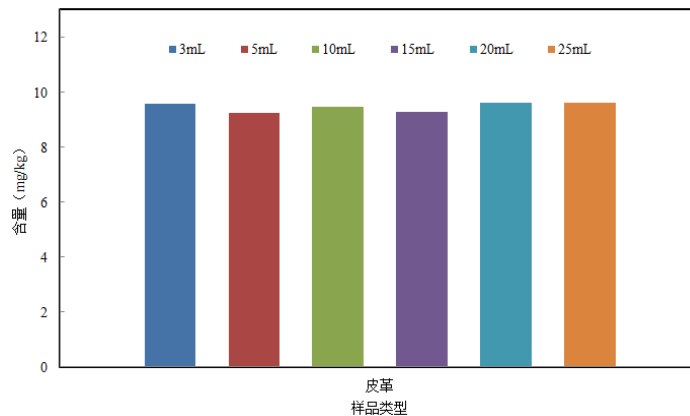


图 5-9 不同模拟液体积对皮革样品的萃取效果

### 5.3.6 提取方式

泡泡水、黏合剂、蓝色棉花泥、指画颜料和水性涂料样品按 5.1 方法取样并加入甲醇后，在振荡器上提取 5 min，经 0.22 μm 的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供

HPLC-FLD 测定。紫色水晶泥和黄色造型黏土这类固体性质样品按 5.1 方法取样并加入甲醇后，在振荡器上提取 60 min，经 0.22  $\mu\text{m}$  的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定。

泡泡水、黏合剂、蓝色棉花泥、指画颜料和水性涂料按 5.1 方法取样并加入甲醇后，参考 GB/T 39113-2020，在超声波清洗仪（工作频率 37 kHz,60 摄氏度）中进行超声提取 5 min，经 0.22  $\mu\text{m}$  的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定。紫色水晶泥和黄色造型黏土这类固体性质样品按 5.1 方法取样并加入甲醇后，参考 GB/T 39113-2020，在超声波清洗仪（工作频率 37 kHz,60 摄氏度）中进行超声提取 60 min，经 0.22  $\mu\text{m}$  的有机相尼龙针式滤器过滤，所得滤液供 HPLC-FLD 测定。

如图 5-10，实验发现，在各类液体样品和蓝色棉花泥样品中，采用振荡和超声的方式提取苯酚的提取效果差异不大，回收率均达到 94% 以上。由于皮革样品是在市场上的阳性样品，本实验通过萃取出苯酚的量来判断不同提取方式对其萃取效率的影响，结果如图 5-11，振荡和超声的提取方式对其影响不大。

本实验可参考 EN 71-10:2005 选择振荡提取，也可选择超声提取。

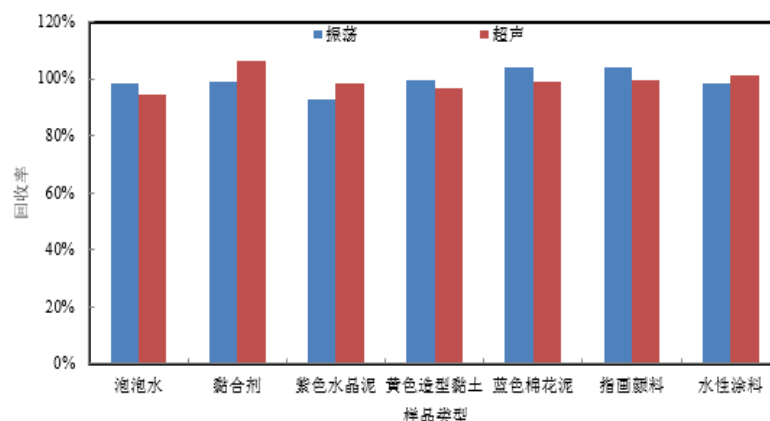


图 5-10 不同提取方式下苯酚在不同样品的萃取效果

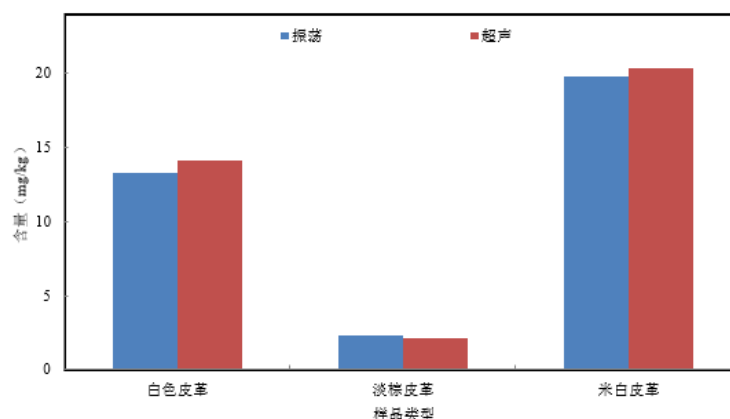


图 5-11 不同萃取方式下皮革样品的萃取效果

### 5.3.7 滤膜的影响

如表 5-2，实验发现，使用不同材质及孔径的滤膜对苯酚标准溶液过滤后，苯酚回收率无显著差异。

表 5-2 滤膜对苯酚回收率的影响

苯酚标准溶液浓度 (mg/L)	滤膜材质及孔径	苯酚回收率 (%)
1	水相聚醚砜针式滤器 (0.45 μm) 深蓝偏紫色	98.0
	尼龙 66 (0.22 μm) 绿色	95.7
	有机相尼龙针式滤器 (0.22 μm) 水绿色	95.5
	聚醚砜 PES (0.45 μm) 蓝色	97.3
	亲水 PTFE 针式滤器 (0.22 μm) 橙色	96.7

即滤膜材质并不会吸附苯酚分子，不同材质的滤膜均可用于本标准的前处理。考虑到苯标准的测试对象是玩具液体、柔韧造型材料和黏合剂等材料，其中有部分材料溶于提取液后会形成悬浊物，如指画颜料，使用 0.45μm 的滤膜可能会导致部分样品颗粒进入待测液之中，故而优先选择使用 0.22μm 的滤膜。

## 5.4 仪器参数优化

### 5.4.1 选定的仪器参数

考虑到苯酚限量规定为 10 mg/kg，按本标准前处理换算即为 0.667 mg/L，得到可靠的分析结果，方法定量限通常应低于限量的十分之一，即 0.0667 mg/L，为此，需对仪器参数进行优化。但由于不同仪器的最优参数通常不同，因此无法给出适用于所有仪器的参数。本标准提供的参数仅作为经过验证的一个实例。本标准所采用的液相色谱为 Agilent 1290 Infinity II 高效液相色谱仪，并配有 G7129B 自动进样器、G7104A 四元泵、G7116B 柱温箱，G7121A 荧光检测器。本标准的制定经过理论分析和优化试验，得出的最优参数如下：

- a) 色谱柱： Athena C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；

- b) 柱温: 30°C;
- c) 进样量: 10 $\mu$ L;
- d) 流动相: 甲醇:水=70:30;
- e) 流动相流速: 0.5 mL/min;
- f) 检测波长: 激发波长为 275nm, 发射波长为 313nm。

### 5.4.2 色谱柱的选择

苯酚溶于甲醇、乙醇、甘油、氯仿、醚等有机溶液, 稍溶于水, 根据图 5-12 可知, 苯酚适用于反相色谱分析。C18 色谱柱是较为常用的分析柱, 按照 5.4.1 的实验条件, 选取标准溶液和泡泡水样品作为代表性样品, 分别用 4 款色谱柱对苯酚进行测试 (色谱柱信息见表 5-3), 从色谱图可以看出, 不同品牌型号 C18 柱的分离效果存在明显差异。苯酚极性较弱, 可用 C18 柱进行分析。如图所示, 苯酚标准品在 ZORBAX Eclipse XDB 柱 (4.6 $\times$ 150mm, 5 $\mu$ m) (图 5-13) 和 ZORBAX Eclipse Plus C18 柱 (4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m) (图 5-14) 中都有良好的出峰情况, 但在实际样品 (泡泡水) 中苯酚峰与杂质峰有黏连情况, 导致峰型不好, 无法准确定量。选择柱子 Athena C18-WP,100 Å (4.6 $\times$ 150mm, 5 $\mu$ m) (图 5-15) 和 Athena C18, 120 Å (4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m) (图 5-16) 时, 标准品和样品中的苯酚峰与杂峰分离效果都良好, 柱长不同主要影响苯酚的保留时间, 实验选用 250mm 柱长的色谱柱。

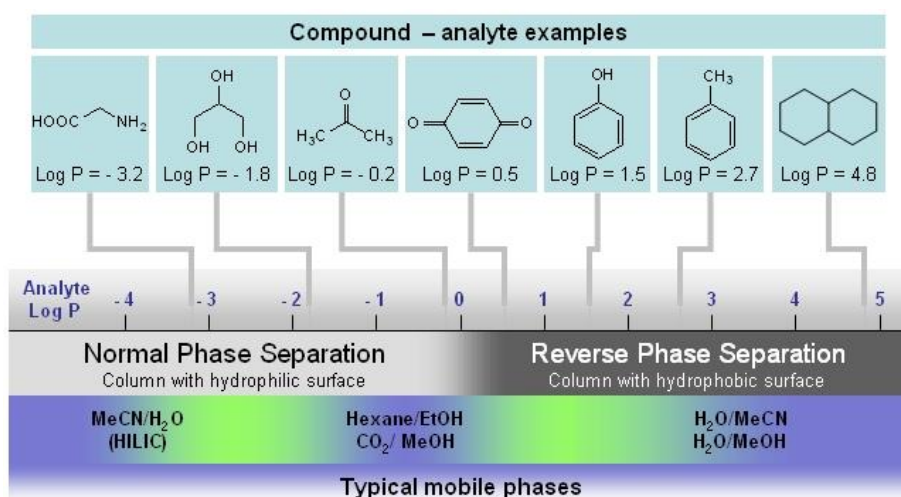


图 5-12 LogP 值与分离方式的关系

表 5-3 色谱柱信息



序号	品牌	型号	规格
1	CNW	Athena C18-WP,100 Å	4.6×150mm, 5μm
2	CNW	Athena C18, 120 Å	4.6×250mm, 5μm
3	Agilent	ZORBAX Eclipse XDB 80Å	4.6×150mm, 5μm
4	Agilent	ZORBAX Eclipse Plus C18	4.6×250mm, 5μm

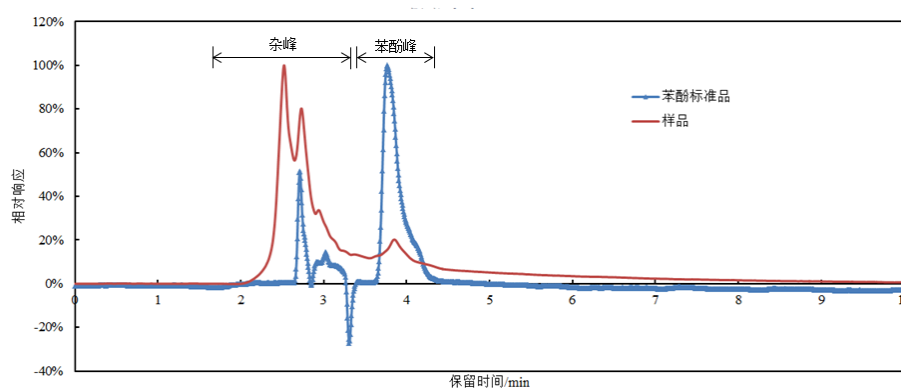


图 5-13 苯酚标准品和样品在 Agilent Eclipse XDB 柱的色谱图

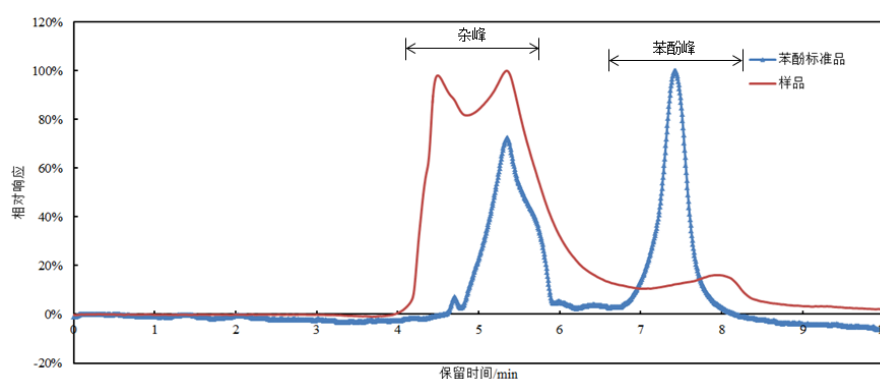


图 5-14 苯酚标准品和样品在 Agilent Eclipse Plus 柱的色谱图

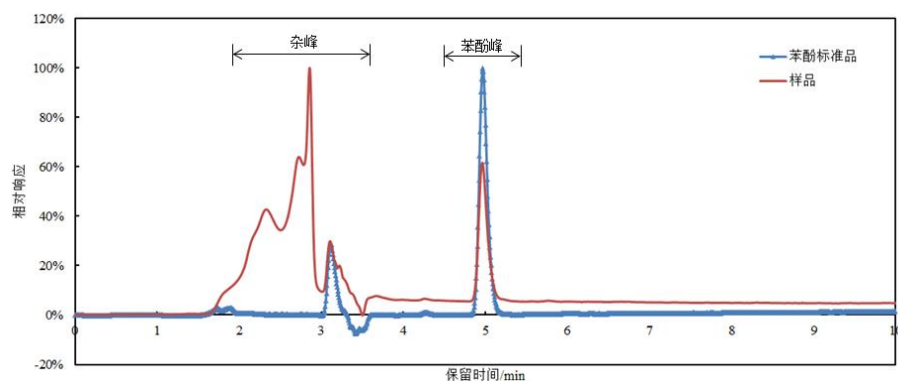


图 5-15 苯酚标准品和样品在 Athena C18-WP,100 Å 柱的色谱图

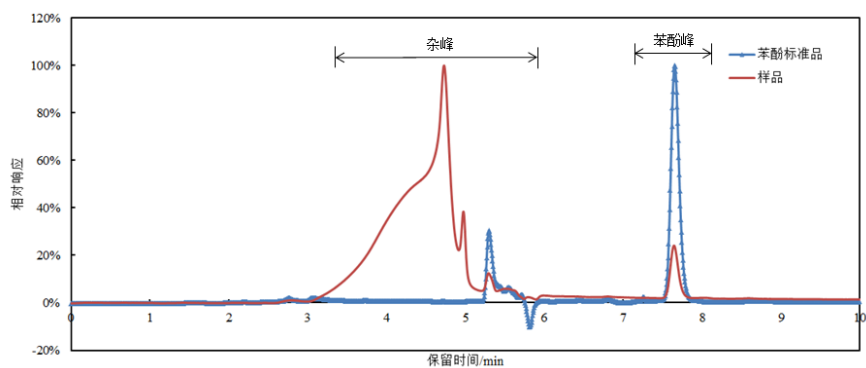


图 5-16 苯酚标准品和样品在 Athena C18, 120 Å 柱的色谱图

### 5.4.3 流动相

使用 C18 柱对苯酚进行分离需选择合适的流动相。苯酚的酸解常数 ( $pK_a$ ) 值约为 9.96, 由此可知其电离较弱, 考虑到常用的反相色谱流动相 (甲醇-水, 乙腈-水) 的 pH 值通常小于 7, 因此苯酚在流动相中主要以 (电中性) 分子形式存在, 故流动相中一般无需添加任何缓冲盐。此外, 考虑到苯酚与甲醇均具有羟基官能团, 且苯酚在甲醇中有较大的溶解度, 因此选择甲醇为强洗脱溶剂, 即采用甲醇-水流动相对苯酚进行洗脱。

流动相组成的选择从甲醇: 水=9 (90: 10) 开始, 依次递减 5%, 进行甲醇和水的洗脱分析。图 5-17 为不同比例的流动相 (甲醇-水) 苯酚出峰情况。可以发现, 当甲醇: 水=90:10 和 85:15 时, 苯酚峰与前面的溶剂峰产生黏连情况, 干扰苯酚峰面积的计算。当甲醇: 水=80:20、75:25、70:30、65:35 这四个比例时, 苯酚峰的响应和峰型较好, 同时发现不同的流动相组成对保留时间也有影响, 且随流动相中甲醇含量的减少, 时间变长。当甲醇: 水=60:40 和 55:45 时, 苯酚峰响应较差且出峰时间长。

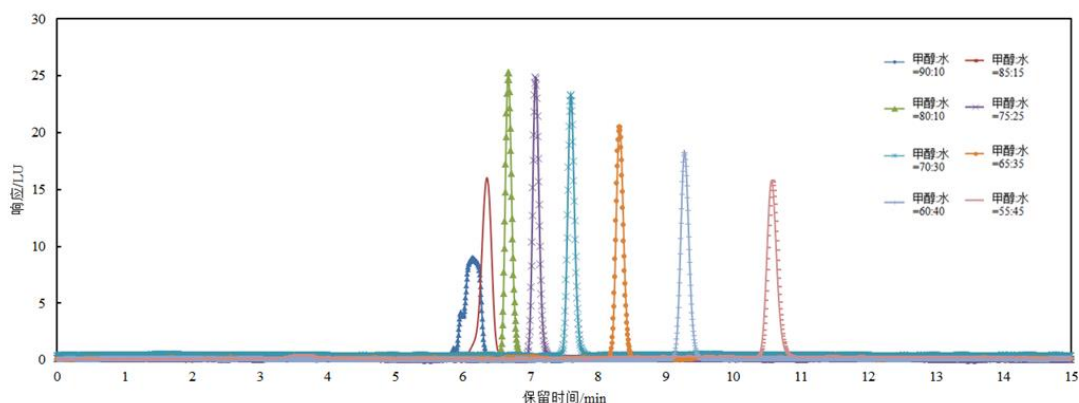


图 5-17 苯酚标准品在不同比例的流动相 (甲醇-水) 下的出峰情况

因此，将甲醇：水=80:20、75:25、70:30、65:35 这四个流动相比比例结合泡泡水液体材料样品作进一步筛选。如图 5-18 可以发现当甲醇：水=80:20 时，苯酚峰与样品的溶剂峰产生黏连情况，当甲醇：水=75:25、70:30、65:35 时，苯酚峰均能与前面的溶剂峰分开。三者比较，在出峰时间差异不大的情况下，甲醇：水=70:30 更能满足出峰时间更短且苯酚峰能与样品杂峰更好的分离。

综合考虑保留时间、出峰面积二者因素，选择流动相组成甲醇水溶液（70：30）。

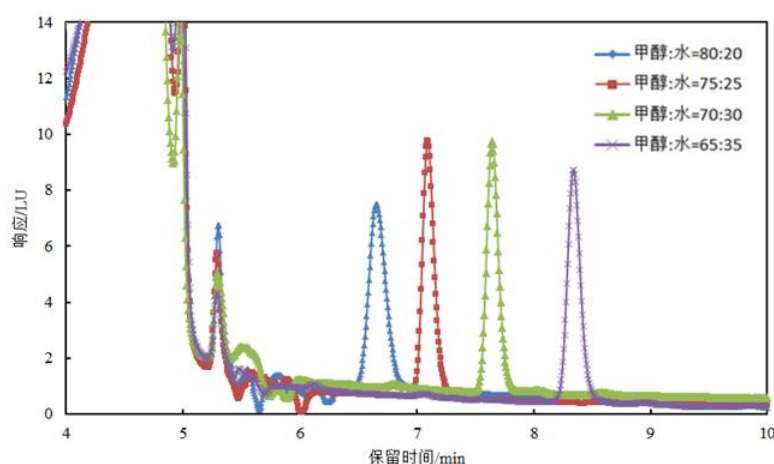


图 5-18 液体材料样品（泡泡水）在不同比例的流动相（甲醇-水）苯酚出峰情况

#### 5.4.4 流速

流速是色谱分析中的重要参数，直接影响目标物的保留时间和分离度，选择合适的流速必不可少。本编制说明在同一温度下，流动相流速分别为 0.2 mL/min、0.4 mL/min、0.5 mL/min、0.8 mL/min、1 mL/min 下进行实验，如下图 5-19。实验发现，流速越快，压强越大，苯酚出峰面积越小，保留时间也缩短。压强过大容易引起色谱柱材料坍塌，影响色谱柱柱效和寿命。保留时间过短容易导致一些干扰峰和目标峰分离不开，保留时间过程则影响测试效率，并且峰面积增大会导致拖尾情况的发生。综合考虑上述几个因素，实验中选择流量为 0.5 mL/min。

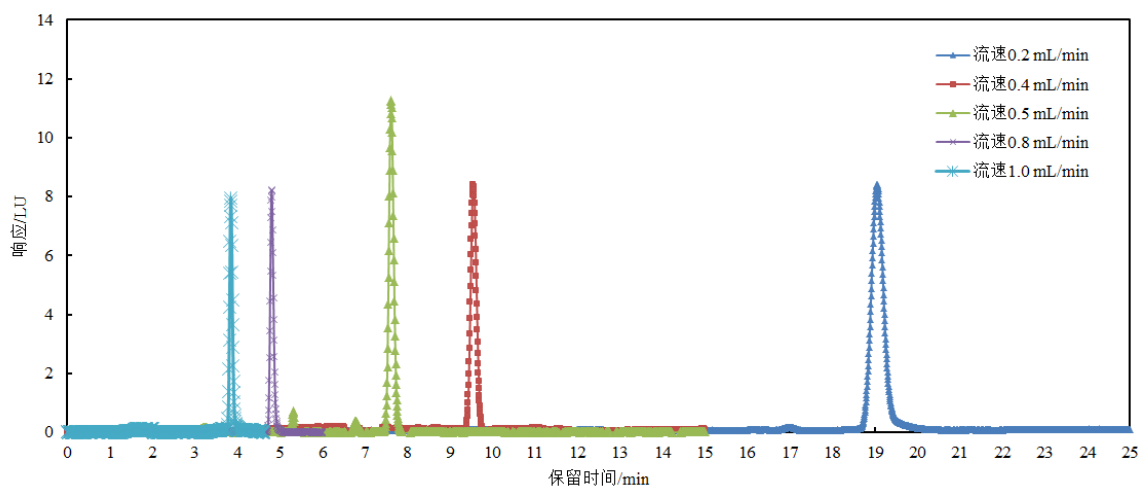


图 5-19 苯酚标准品在不同流速下的出峰情况

#### 5.4.5 柱温的设置

色谱分析时，合适的柱温对于热敏感的目标物十分必要。本编制说明在不同的柱温 20°C、25°C、30°C、35°C、40°C 下进行实验，如下图 5-20 和图 5-21。如图 5-20，实验发现，温度在 20°C 至 40°C 时，温度对苯酚峰的保留时间有显著影响，提高温度会使流动相粘度减小，苯酚色谱峰的保留时间提前，但峰型和出峰面积并无显著影响。图 5-21 所示，各温度下苯酚标准品的回收率良好，未受到显著影响，不同温度下的回收率亦没有显著性差异。因此在该温度范围内，苯酚对温度不敏感。同时，考虑到绝大多数 HPLC 柱温箱的温度可调范围，本编制说明将柱温设为 30°C。

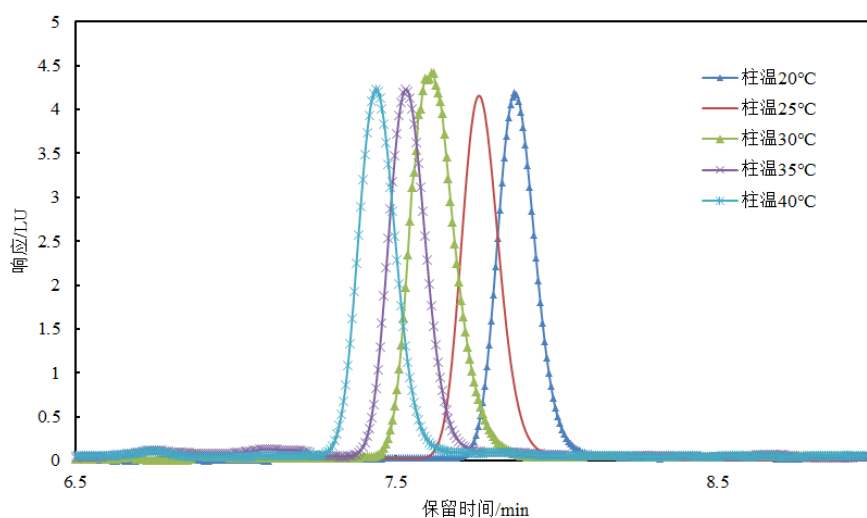


图 5-20 不同柱温苯酚标准品的出峰情况

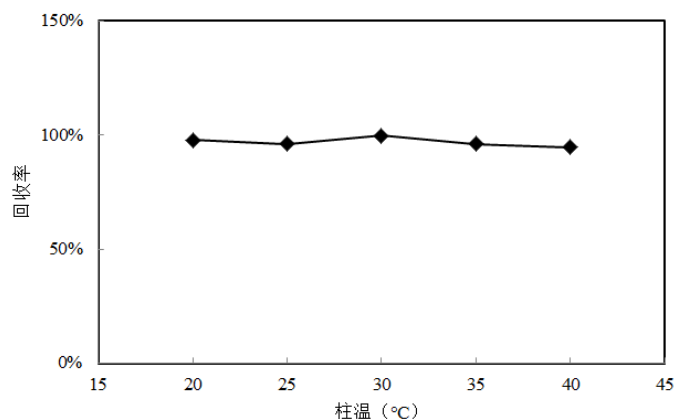


图 5-21 不同柱温苯酚标准品的回收率 (%)

#### 5.4.6 备选参数

本标准测试的对象包含了玩具及儿童用品的液体、柔韧造型材料、黏合剂及皮革，这类材料在萃取过程中很容易溶于甲醇，一些复杂的样品中本身含有的大量有机物，这些有机物会全部进入萃取液中，并进而干扰苯酚的测定。如遇特殊复杂样品中有杂峰干扰目标峰定量（见图 5-22 和图 5-23），测试可在下述测定条件下进行。

其中，梯度洗脱程序见表 5-4，样品色谱图见图 5-24 和图 5-25：

- a) 色谱柱：C18 柱，120 Å，粒径 5 μm，柱长 250 mm×内径 4 mm（Athena C18 或同等柱）；
- b) 柱温：40 °C；
- c) 流动相：流动相 A：水；流动相 B：甲醇；
- d) 流速：1 mL/min；
- e) 进样体积：10 μL；
- f) 检测波长：激发波长为 275 nm，发射波长为 313 nm。

表 5-4 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A（水）/%	流动相 B（甲醇）/%
0	90	10
7	90	10
10	60	40

17	60	40
18	50	50
25	50	50
26	90	10
30	90	10

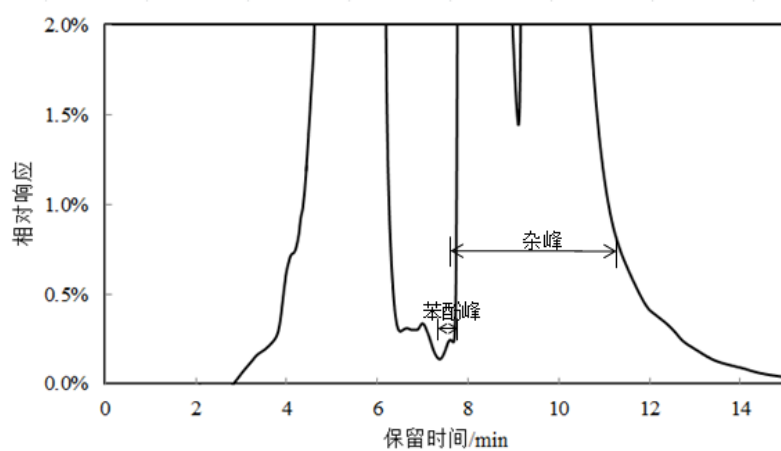


图 5-22 复杂样品 1 使用普遍参数 (5.4.1) 测试的色谱图

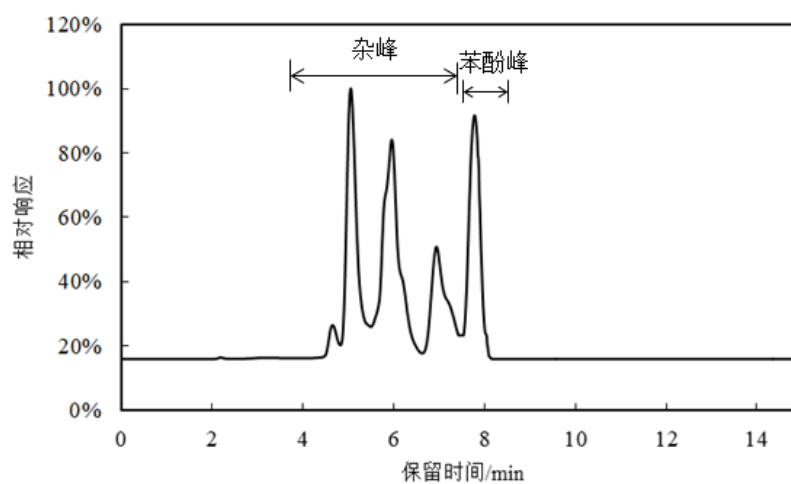


图 5-23 复杂样品 2 使用普遍参数 (5.4.1) 测试的色谱图

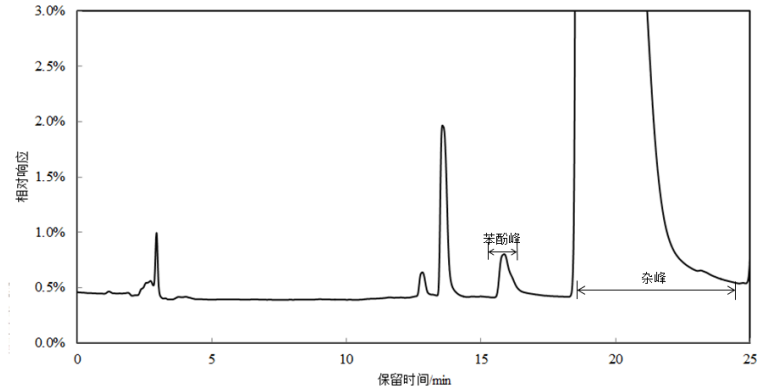


图 5-24 复杂样品 1 使用备选参数 (5.4.6) 测试的色谱图

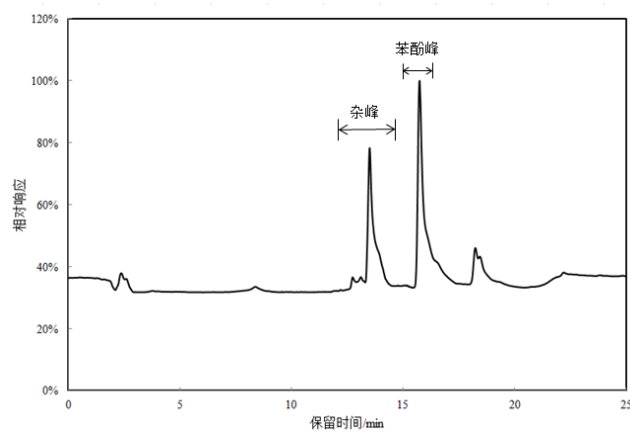


图 5-25 复杂样品 2 使用备选参数 (5.4.6) 测试的色谱图

### 5.4.7 线性方程及线性范围

将浓度为 1000 mg/L 的苯酚储备液用甲醇逐级稀释, 得到浓度分别为 0.1 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 5 mg/L 的系列标准工作溶液。将仪器各参数按上述优化后的值进行设定, 之后进样分析, 以峰面积对浓度作图, 进行线性拟合, 得到线性方程及相关系数, 如图 5-26 和表 5 所示。从表 5-5 可看出, 苯酚浓度在 0.1~ 5 mg/L 时, 标准工作曲线的相关系数  $R^2$  等于 0.999, 呈良好线性关系。因此本编制说明将线性范围定为 0.1~5 mg/L。

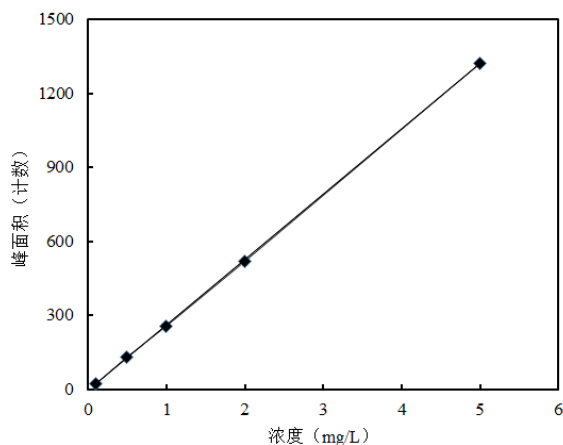


图 5-26 标准曲线

表 5-5 工作曲线的线性方程和相关系数

标准各点浓度 (mg/L)	线性方程	相关系数 $R^2$
0.1、0.5、1、2、5	$A = 265.2C - 6.313$	0.999

#### 5.4.8 仪器检出限

本编制说明将标准溶液的 3 倍信噪比时对应的苯酚浓度作为苯酚的仪器检出限。首先测定浓度为 0.01 mg/L 的苯酚标准溶液，得到色谱峰的信噪比为 35.2。以此估算其仪器检出限（按 3 倍信噪比计算）应约为 0.001 mg/L。为进一步验证，配制 0.001 mg/L 的苯酚标准溶液并测定，得到色谱峰的信噪比为 6.4。因此可知本方法的仪器检出限为 0.001 mg/L，即 0.015 mg/kg。

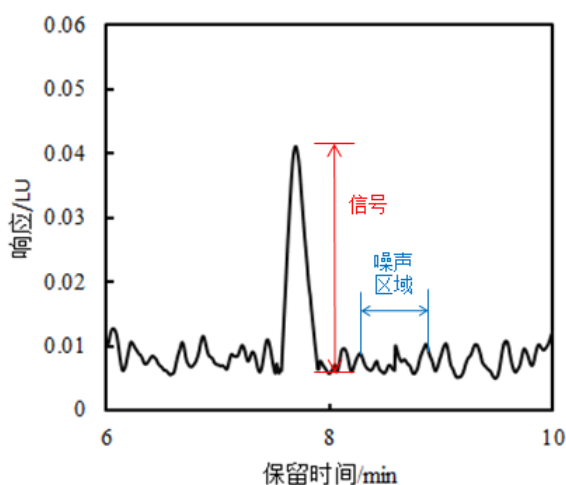


图 5-27 苯酚浓度为 0.001 mg/L 时的信噪比



### 5.4.9 方法检出限

本编制说明将实际样品加标溶液的 3 倍信噪比时对应的苯酚浓度作为苯酚的仪器检出限。选取仪器检出限的浓度（0.001 mg/L）进行加标，如信噪比大于 3，则判定为方法检出限。选取泡泡水、黏合剂、指画颜料、棉花泥、水晶泥样品，加标 0.001 mg/L 的苯酚，按照标准方法进行前处理，得到色谱峰的信噪比分别为 3.8、4.5、6.0、4.8、5.8。因此可见本方法的方法检出限为 0.001mg/L，即 0.015 mg/kg。

### 5.4.10 方法定量限

本编制说明将方法检出限的 3 倍作为苯酚的方法定量限。以方法检出限得出的数据为基础，得出本方法的定量限为 0.003 mg/L，即 0.05mg/kg。考虑到不同的仪器条件的差异以及欧盟玩具安全指令 2009/48/EC 对苯酚作为防腐剂的限量要求，本标准将苯酚含量的方法定量限设为 0.1 mg/kg。为进一步验证，取泡泡水、黏合剂、指画颜料、棉花泥、水晶泥样品，加标 0.1mg/kg 苯酚溶液进行测试，回收率在 94.1%~109%之间。

### 5.4.11 方法的回收率与精密度

制备指画颜料、彩泥、泡泡水、皮革和黏合剂的低、中、高浓度三种浓度的阳性样品。每个样品平行测定 6 次，计算各浓度下苯酚的回收率及其相对标准偏差（RSD），结果如表 5-6 所示。由此可知，在 0.1 mg/L、0.5 mg/L、2 mg/L 三个浓度水平下，4 种样品的回收率在 92.2%~104.5%，RSD 在 10%以内，表明方法具有良好的回收率和精密度。

表 5-6 样品中苯酚的回收率和相对标准偏差（n=6）RSD

材料	平行次数	加标浓度/mg L					
		0.1		0.5		2	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
指画颜料	1	95	3.8	101.1	2.9	99.4	2.3
	2	102.7		102.4		96.2	
	3	100.9		98.8		102.4	
	4	102.5		100.4		99.2	
	5	96.2		94.6		101.8	
	6	95		96.7		101.3	
	均值	98.7	—	99.0	—	100.1	—
棉花泥	1	94.9	3.2	98.8	2.8	93.4	3.6
	2	97.6		93.5		96.8	
	3	97.3		92.2		102.2	
	4	96		94.8		94.6	
	5	103.9		96.4		93	
	6	98.6		98.5		94.5	

	均值	98.1	—	95.7	—	95.8	—
泡泡水	1	97.4	3.1	95.3	3.6	97.8	2.1
	2	97.1		96.7		93.7	
	3	96.2		101		95.8	
	4	99.7		100.5		93.8	
	5	104.5		92.5		94.7	
	6	100.6		93.6		98.5	
	均值	99.3	—	96.6	—	95.7	—
皮革	1	96	2.9	93.7	3.4	100.7	3.3
	2	92.3		92.9		92.3	
	3	98.6		96.8		97.4	
	4	97.4		97.1		94.6	
	5	94.5		101.8		93.8	
	6	99.8		94.2		98.2	
	均值	96.4	—	96.1	—	96.2	—
黏合剂	1	102.8	1.3	96.3	2.9	99.1	3.4
	2	99.7		94.4		98	
	3	102.1		99.4		101	
	4	100.2		97.6		93.1	
	5	99.5		102.6		97.4	
	6	101.1		97.2		102.9	
	均值	100.9	—	97.9	—	98.6	—

#### 5.4.12 典型谱图

本编制说明给出了在上述条件下的苯酚浓度为 1 mg/L 的典型谱图，可供参考。如图 5-28 所示。

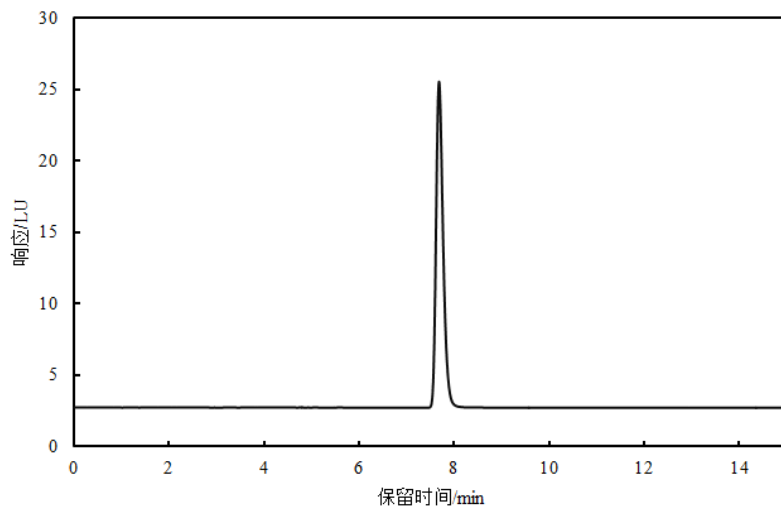


图 5-28 苯酚 (C=1 mg/L) 色谱图

## 6. 实验室间比对

本标准选择黏合剂、泡泡水、指画颜料、造型黏土、皮革阳性样品进行实验室间比对验证。

共 10 家实验室参加了验证，分别为：广州海关技术中心玩具婴童用品检测研究所、通标标准技术服务有限公司（广州）、广州海关技术中心食品接触材料检测研究所、南京海关轻工产品与儿童用品检测中心、上海海关机电产品检测技术中心、深圳市计量质量检测研究院、亿科检测认证有限公司、中家院（北京）检测认证有限公司、莱茵技术（上海）有限公司、华测检测认证集团股份有限公司。

获得的数据具体如下：

表 6-1 实验室间比对测试数据汇总

实验室序号	实测值 (mg/kg)				
	黏合剂	泡泡水	指画颜料	造型黏土	皮革
1	9.6	74.6	5.9	4.9	9.6
	10.0	67.2	5.6	5.4	9.2
	9.2	74.2	6.2	5.2	9.9
均值	9.6	72.0	5.9	5.2	9.6
2	7.7	61.4	4.9	4.9	9.2
	7.4	60.8	5.0	4.7	8.9
	7.6	62.8	5.0	4.7	9.1
均值	7.6	61.7	5.0	4.8	9.1
3	8.3	68.3	6.2	5.5	10.2
	8.2	68.3	6.0	5.4	10.3
	8.4	68.6	6.1	5.4	10.2
均值	8.3	68.4	6.1	5.4	10.2
4	8.5	78.3	6.5	5.6	9.0
	8.2	68.5	6.8	4.8	9.1
	8.9	72.1	6.2	5.1	8.6
均值	8.5	73.0	6.5	5.2	8.9
5	6.9	70.8	6.3	5.1	10.8
	7.1	71.3	6.2	5.2	11.4
	7.0	71.5	6.2	5.4	11.3
均值	7.0	71.2	6.2	5.2	11.2
6	7.9	62.0	5.6	5.1	9.0
	7.8	63.6	5.1	5.4	9.2
	8.3	69.6	5.9	5.3	9.8
均值	8.0	65.1	5.5	5.3	9.3
7	6.7	61.3	4.9	4.5	8.5

	6.7	62.6	4.8	4.2	8.6
	7.1	63.4	5.1	4.5	8.6
均值	6.8	62.4	4.9	4.4	8.6
8	9.4	72.7	6.5	5.3	12.2
	9.5	73.0	6.4	5.2	11.7
	9.5	72.1	6.4	5.4	11.9
均值	9.5	72.6	6.4	5.3	11.9
9	9.4	73.2	5.9	5.7	10.8
	9.3	73.3	6.0	5.3	10.8
	9.3	73.0	6.0	5.6	10.7
均值	9.3	73.2	6.0	5.5	10.8
10	7.9	71.0	5.7	4.9	12.1
	8.6	66.1	5.1	5.4	12.8
	9.3	62.6	5.5	4.9	12.2
均值	8.6	66.6	5.4	5.0	12.4

按 GB/T 6379.2 和 GB/T 4883 方法对上述原始数据进行离群值统计分析，通过 Grubbs 检验特定实验室内在重复性条件随机误差，考虑到避免低估精密度数据，当 Grubbs 检测为离群值，但实验室内部离群值所在这组 3 个数据之间的 RSD 值小于 5% 时，不予剔除。通过 Dixon 检验法对每家实验室测定数据的均值的一致性进行检验，即检验实验室间的系统和随机误差。

上述检验未剔除离群值。

以上数据按 GB/T 6379.2 方法计算可得出方法的精密度如下：

表 6-2 方法的精密度

样品	$L$	$O$ (%)	$M$ (mg/kg)	$s_r$ (mg/kg)	$CV_r$ (%)	$r$ (mg/kg)	$s_R$ (mg/kg)	$CV_R$ (%)	$R$ (mg/kg)
黏合剂	10	0	8.3	0.31	3.8	0.9	1.0	12.3	2.9
泡泡水	10	0	68.6	2.80	4.1	7.8	5.0	7.3	14.0
指画颜料	10	0	5.8	0.22	3.9	0.6	0.6	10.2	1.7
造型黏土	10	0	5.1	0.22	4.2	0.6	0.4	7.2	1.0
皮革	10	0	10.2	0.27	2.6	0.8	1.3	13.1	3.8

注： $L$  —剔除离群值后的实验样本数；

$O$  —离群值的比例；

$M$  —结论平均值；

$s_r$  —重复性标准差；

$CV_r$  一重复性变异系数；  
 $r$  一重复性限， $r=2.8 \times s_r$ ；  
 $s_R$  一再现性标准差；  
 $CV_R$  一再现性变异系数；  
 $R$  一再现性限， $R=2.8 \times s_R$ 。

## 7. 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

该标准没有对应的国际标准。

本标准的主要技术内容参考了 EN 71-10:2005 和 EN 71-11:2005。

## 8. 与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本国家标准的检测方法在保证科学性合理性的基础上，与现行相关法律、法规和现行有效强制性国家标准无矛盾，协调统一。

本标准可作为应对欧盟 2009/48/EC 苯酚限量要求的配套测试方法。

## 9. 重大分歧意见的处理经过和依据

在标准制定过程中未出现重大意见的分歧。

## 10. 涉及专利、版权的有关说明

本标准未涉及任何专利。

本标准不存在版权风险。

## 11. 实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

玩具及儿童用品是我国出口欧盟的大宗商品之一，但我国国产的玩具及儿童用品的质量安全问题层出不穷，让消费者国产产品望而却步。本标准的实施有利于为指导企业进行有效的供应链质量管理和风险管理以及提高产品质量提供可靠的检测技术支持，引导玩具产品生产企业更好地应对市场日趋激烈的挑战。本标准建立的高效液相色谱法可作为玩具中及儿童用品中苯酚测定的有效技术手段。

建议本标准作为推荐性标准发布。

为了贯彻实施本国家标准，建议本国家标准发布即实施，可以为玩具企业加强产品中苯酚的监管提供技术支撑。标准发布实施的同时，通过云课程录制、微信公众号等方式对标准进行解读，保证标准的贯彻实施。

## 12. 废止现行有关标准的建议

本标准为首次发布，无现行标准的废止建议。

## 13. 其他应予说明的事项

无。

## 14. 参考文献

1. EN 71-10:2005 Safety of toys — Part 10: Organic chemical compounds — Sample preparation and extraction
2. EN 71-11:2005 Safety of toys — Part 11: Organic chemical compounds — Methods of analysis

标准起草组

2024.03