

谢兰桂, 袁淑胜, 韩小旭, 等. 高效液相色谱法测定药用胶塞中的二甲基二硫代氨基甲酸锌[J]. 环境化学, 2021, 40(11): 3631-3634.
XIE Langui, YUAN Shusheng, HAN Xiaoxu, et al. Determination of zinc dimethyldithiocarbamate in pharmaceutical rubber closures by high performance liquid chromatography[J]. Environmental Chemistry, 2021, 40 (11): 3631-3634.

高效液相色谱法测定药用胶塞中的二甲基二硫代氨基甲酸锌

谢兰桂[#] 袁淑胜[#] 韩小旭 杨会英 赵霞^{*} 肖新月^{*}

(中国食品药品检定研究院, 药用辅料质量研究与评价重点实验室, 北京, 100050)

摘要 建立高效液相色谱法测定药用胶塞中二甲基二硫代氨基甲酸锌残留量. 药用胶塞粉碎后经20%氨水超声提取, 以含0.02 mol·L⁻¹ 四丁基硫酸铵的20%氨水溶液-乙腈(20:80)为流动相, 经亲水性聚合物色谱柱(300 mm×7.8 mm, 5 μm)分离后, 254 nm波长检测. 方法学结果显示二甲基二硫代氨基甲酸锌在100—750 μg·mL⁻¹质量浓度范围内线性良好, 相关系数为0.9991, 检出限和定量限分别为1.6 ng和2.5 ng, 高、中、低溶液精密密度RSD小于0.7%, 溶液在12 h内稳定, 加标回收率为99.9%—101.5%. 实际药用胶塞检测, 样品中未检出二甲基二硫代氨基甲酸锌. 方法简便、稳定, 适用于测定药用胶塞中二甲基二硫代氨基甲酸锌残留.

关键词 药用胶塞, 二甲基二硫代氨基甲酸锌, 高效液相色谱法, 硫化促进剂, 金属螯合物.

Determination of zinc dimethyldithiocarbamate in pharmaceutical rubber closures by high performance liquid chromatography

XIE Langui[#] YUAN Shusheng[#] HAN Xiaoxu YANG Huiying
ZHAO Xia^{*} XIAO Xinyue^{*}

(National Institutes for Food and Drug Control NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Pharmaceutical Excipients, Beijing, 100050, China)

Abstract To establish a HPLC method for the determination of zinc dimethyldithiocarbamate residues in pharmaceutical rubber closures. The pharmaceutical rubber closures were crushed and ultrasonically extracted with 20% ammonia water. The mixed solution of ammonia water and acetonitrile (20:80) (containing 0.02 mol·L⁻¹ tetra butyl ammonium sulfate) was used as the mobile phase, a hydrophilic polymer chromatographic column (300 mm×7.8 mm, 5 μm) was used as the chromatographic column, and the detection wavelength was 254 nm. No zinc dimethyldithiocarbamate was detected in the medicinal stopper. The methodological results showed that the linear range of zinc dimethyldithiocarbamate was 100 — 750 g·mL⁻¹, the correlation coefficient was 0.9991, and the detection limit and quantitative limit were 1.6 ng and 2.5 ng respectively. The precision (expressed by RSD) of high, medium, and low concentration solution was less than 0.7%, the solution was stable within 12 hours, and the recovery rate of standard addition was 99.9% to 101.5%. The method in this study was simple, stable, and suitable for the determination of zinc dimethyldithiocarbamate residues in pharmaceutical rubber closures.

Keywords pharmaceutical rubber closures, zinc dimethyldithiocarbamate, high performance liquid chromatography, vulcanization accelerator, metal chelate compound.

* 通讯联系人 Corresponding author, Tel: (010)67095110, (010)67095721; E-mail: rayradix@126.com

[#]共同第一作者.

硫代氨基甲酸锌是一类常用的橡胶硫化促进剂,可在橡胶硫化过程中加快硫化速率、降低硫化温度、缩短硫化时间、减少硫化剂用量和提高硫化胶物理机械性能^[1]。按促进速率分类,硫代氨基甲酸锌属于超速级促进剂。研究表明^[2-3],硫代氨基甲酸锌的仲胺类促进剂在橡胶硫化过程易产生有害物质亚硝胺,继而烷基化 DNA,诱发肿瘤。药用橡胶包材和食品用橡胶包材的生产成型离不开硫化促进剂,为降低硫代氨基甲酸锌类硫化促进剂引入的风险,《化学药品与弹性密封件相容性研究技术指导原则(试行)》^[4-5]将二甲基硫代氨基甲酸锌、二乙基硫代氨基甲酸锌和二丁基硫代氨基甲酸锌列为密封件慎用添加剂品种,GB 9685-2016《食品接触材料及制品用添加剂使用标准》^[6-7]规定二乙基二硫代氨基甲酸锌最大使用量不得高于 1.5%。

目前较少文献报道药用胶塞中二甲基硫代氨基甲酸锌的定量分析方法,农用杀菌剂福美锌(二甲基硫代氨基甲酸锌的别名)的定量分析方法^[8]:化学分析法、快速比色法、高效液相色谱法。相比于化学分析法^[9]和快速比色法^[10],高效液相色谱法更加准确高效,但高效液相方法存在稳定性差的问题^[11-12],不适用于药用胶塞中二甲基硫代氨基甲酸锌的监测。本文建立了适用的高效液相色谱方法,可准确、稳定实现二甲基硫代氨基甲酸锌的定量分析。

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(岛津公司, Waters 公司); Mettler XS205DU 电子天平。

二甲基二硫代氨基甲酸锌对照品(中国食品药品检定研究院,批号: 195068-202101); 氨水(国药集团化学试剂有限公司,批号: 10002118); 四丁基硫酸氢铵(SIGMA,批号: WXBD2993V); 乙腈(Fisher Chemical,色谱纯,批号: 194209); 纯化水(中国食品药品检定研究院自制); 液氮(北京普莱克斯实用气体有限公司); 胶塞三批(某企业,批号分别为 S200910201, S200950701, S200940702)。

1.2 色谱条件

色谱柱: phenomenex PolySep(300 mm×7.8 mm, 5 μm); 流动相: 含 0.02 mol·L⁻¹ 四丁基硫酸铵的 20% 氨水溶液-乙腈(20:80); 流速: 1 mL·min⁻¹; 紫外检测器, 波长: 254 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 5 μL。色谱图见图 1。

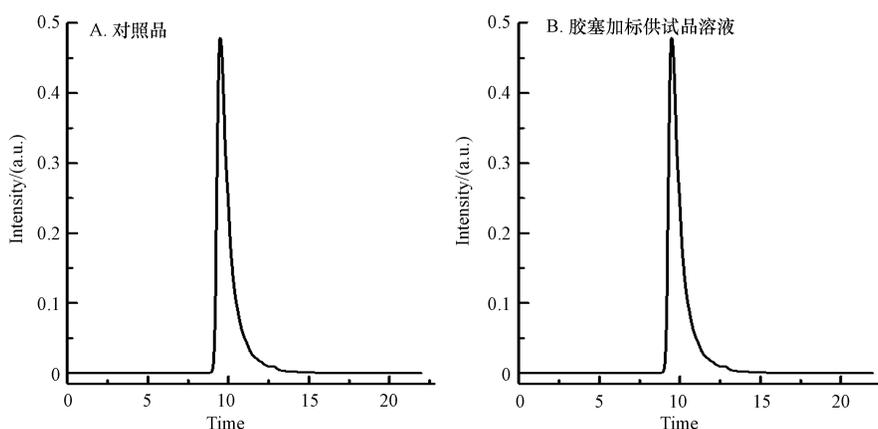


图 1 高效液相色谱图

A: 对照品; B: 胶塞加标供试品溶液

Fig.1 High performance liquid chromatogram

A. Reference material; B. Test solution from pharmaceutical rubber closures added with reference material

2 结果与讨论(Results and Discussion)

2.1 溶剂选择

二甲基二硫代氨基甲酸锌溶于氯仿、氨水、二硫化碳及稀碱液,微溶于水、乙醇和乙醚。为深入了解二甲基二硫代氨基甲酸锌的溶解性,以便选择合适的高效液相测试用样品溶剂,考察二甲基二硫代氨基甲酸锌在 3 种不同极性溶剂或混合溶剂中的溶解性。按极性由弱至强顺序,3 种溶剂依次是四氢呋喃-乙腈(10:90)、氨水-乙腈(20:80)、20% 氨水。按目标浓度 500 μg·min⁻¹ 配制溶液,二甲基二硫代氨基甲酸锌在四氢呋喃-乙腈和氨水-乙腈中超声可溶解,放置 2 h 以上,溶液逐渐浑浊;在 20% 氨水中可快速溶解,溶液可长时间保持澄清透明。因此,为确保样品长时间可完全溶解,选用 20% 氨水作为溶剂。

2.2 流动相的优化

在相同色谱条件(亲水性聚合物色谱柱, 1 mL·min⁻¹, 紫外检测器, 254 nm; 30℃, 5 μL 进样量)下,考察了乙腈-水、乙腈-磷酸氢二铵缓冲液、乙腈-20% 氨水、乙腈-含 0.02 mol·L⁻¹ 四丁基硫酸铵的 20% 氨水的 4 种流动相体系对二甲基二硫代氨基甲酸锌色谱行为的影响。

结果显示在 4 种流动相体系下,二甲基二硫代氨基甲酸锌均可出峰。在乙腈-水、乙腈-磷酸氢二铵缓冲液、乙腈-

20% 氨水流动相体系下, 二甲基二硫代氨基甲酸锌出现不同程度的解离, 且随着水、磷酸氢二铵溶液、20% 氨水的 pH 的增大, 二甲基二硫代氨基甲酸锌解离程度呈下降趋势。二甲基二硫代氨基甲酸锌为金属螯合物, 配体二甲基二硫代氨基甲酸与金属离子锌之间的配位键有两种类型, 一种是配体上酸性基团解离去 H^+ , 与金属离子锌配位, 另一种是配体上含有孤电子对的中性基团 S 与金属离子锌配位。二甲基二硫代氨基甲酸锌的配体与金属离子形成四原子环。四原子环的稳定性受溶液碱度和金属螯合物稳定常数的影响。增大溶液的碱强度有利于增强配体与金属离子的结合能力。因此当流动相中碱度提高时, 二甲基二硫代氨基甲酸锌的解离将被更多地抑制。

即使在 pH 值最大的乙腈-20% 氨水流动相体系中, 二甲基二硫代氨基甲酸锌仍存在一定程度的解离。为改善这类易电离化合物在色谱柱固定相上的吸附和保留, 尝试在流动相中添加离子对试剂, 利用离子对试剂中的阴离子与电荷的异性相吸原理, 吸附和保留易电离的化合物。结果显示, 添加了离子对试剂的乙腈-含 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 四丁基硫酸氢铵的 20% 氨水流动相体系表现出最优的分离效果, 保留时间稳定, 且色谱峰为尖锐的单峰。

2.3 色谱柱的选择

从极性、分离类型和经济性角度考虑, 考察了 5 种色谱柱: Sunfire C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μm , Waters 公司)、 C_8 (250 mm×4.6 mm, 5 μm , phenomenex 公司)、Techmate CR(1:5) (250 mm×4.6 mm, 5 μm , 天津博纳艾杰尔科技有限公司)、HILIC (250 mm×4.6 mm, 5 μm , 天津博纳艾杰尔科技有限公司)、phenomenex PolySep (300 mm×7.8 mm, 5 μm , phenomenex 公司) 的分离效果。结果显示在相同的色谱条件下, Sunfire C_{18} 、 C_8 、Techmate CR(1:5)、HILIC 色谱柱出峰时间过早 (<3 min), 出峰时间不断漂移, 峰型不够理想。phenomenex PolySep 色谱柱的出峰时间合适 (10 min), 出峰时间稳定, 峰型尖锐, 因此选择 E 号亲水性聚合物色谱柱进行检测。

2.4 线性和精密度

取二甲基二硫代氨基甲酸锌对照品约 50 mg, 精密称定, 置于 50 mL 容量瓶中, 用 20% 氨水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密吸取贮备液适量, 依次稀释为 750、450、250、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列溶液。分别取上述对照品溶液各 5 μL , 注入液相色谱仪, 以峰面积 (Y) 对样品浓度 (X) 进行线性回归, 得回归线性方程为 $Y = 26744X - 568387$, $r = 0.9991$ 。结果表明, 二甲基二硫代氨基甲酸锌对照品在检测浓度 100—750 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

精密吸取贮备液适量, 依次稀释为 750、500、250 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列溶液。各取 5 μL 注入液相色谱仪, 重复测定 3 次。结果显示 3 种浓度对照品溶液的峰面积 RSD 均小于 3%, 精密度良好。结果见表 1。

表 1 三种浓度溶液的精密密度结果

Table 1 Precision results of solutions with three concentrations

样品浓度/($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	峰面积	峰面积平均值	RSD/%
250	3492304	3465949	0.7
	3452980		
	3452563		
500	9211174	9168028	0.4
	9160850		
	9132059		
750	13089409	13064100	0.2
	13054276		
	13048614		

2.5 稳定性

取 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 时进样测定, 记录峰面积。结果显示上述 5 个时间点的峰面积 RSD = 0.85%, 表明供试品在 12 h 内稳定。

2.6 检出限、定量限和回收率

取 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液逐步稀释, 以 $S/N=10$ 时为定量限浓度, 以 $S/N=3$ 时为检出限浓度。计算得检出限为 1.6 ng, 定量限为 2.5 ng。按样品限量要求 (1.5%), 方法检出限和定量限可满足检测要求。

称取胶塞样品 350 mg, 平行制备 9 份。每 3 份分别加入 3.0、5.0、6.0 mg 的二甲基二硫代氨基甲酸锌, 随后加入 10 mL 20% 氨水超声提取 60 min, 分两次完成超声。按“1.2”节的色谱条件进样测定, 计算回收率, 结果详见表 2。加标回收率为 99.9%—101.5%, 方法准确性良好。

2.7 样品测定

取 3 批次胶塞, 经液氮冷却后, 置于粉碎机中快速粉碎。精密称取适量, 置于锥形瓶中, 加入 20% 氨水超声萃取 60 min, 分两次完成。按上述建立的检测方法, 对 3 批次胶塞样品中的二甲基二硫代氨基甲酸锌的残留量进行测定, 结果均未检出。

表 2 加标回收率测试结果
Table 2 Results of recovery test

测得量/(g·mL ⁻¹)	加入量/(g·mL ⁻¹)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
26.59	26.60	99.95		
26.96	27.00	99.87		
26.60	26.50	100.37		
47.48	47.10	100.82		
46.01	46.00	100.02	100.36	0.55
45.47	45.50	99.94		
57.72	57.70	100.04		
56.64	56.20	100.77		
57.93	57.10	101.46		

3 结论 (Conclusion)

建立了高液相色谱法测定药用胶塞中硫化促进剂二甲基二硫代氨基甲酸锌的含量. 该方法简便、准确、灵敏、稳定, 适用于二甲基二硫代氨基甲酸锌的检测. 对实际药用胶塞产品进行了测定, 方法适用性好. 该方法为药用胶塞的质量安全监测提供了有效的技术支持.

参考文献 (References)

- [1] 金玉碧. 二硫代氨基甲酸锌和噻唑类促进剂并用对天然橡胶的硫化作用 [J]. 橡塑资源利用, 2012(2): 5-11,13.
- [2] 陈仲娥. 二乙基二硫代氨基甲酸锌的测定方法及应用 [J]. 特种橡胶制品, 1989(5): 60,59.
- [3] 丁炳伟, 张智亮, 李红良, 等. 二乙基二硫代氨基甲酸锌制备及性质 [J]. 工业催化, 2018, 26(2): 81-84.
- [4] 化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则(试行)(国食药监注[2012]267号)[S].
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 2020年版四部通则[S].
- [6] 常州进出口工业及消费品安全检测中心. GB 9685-2016食品接触材料及制品用添加剂使用标准技术解读 [J]. 绿色包装, 2017(1): 55-59.
- [7] 菁菁. 为消费者健康提供安全保障——新版食品接触材料强制性国家标准解读 [J]. 中国质量技术监督, 2017(3): 20-21.
- [8] 林涛, 杨东顺, 樊建麟, 等. 高效液相色谱法测定烟草中二甲基二硫代氨基甲酸酯类杀菌剂 [J]. 分析试验室, 2014, 33(11): 1308-1311.
- [9] 廖祥云. 化学分析法与ICP分析法在分析合金时的差异分析 [J]. 中国化工贸易, 2019, 11(25): 242.
- [10] 刘希东, 黄玉明. 快速比色法和滴定法测定化学耗氧量 [J]. 重庆师专学报, 1995(4): 20-22.
- [11] 王海凤, 王东凯, 庄润. 高效液相色谱法测定注射用二乙基二硫代氨基甲酸钠中主药的含量 [J]. 中国药房, 2006, 17(17): 1340-1341.
- [12] 荣杰峰, 毛树禄, 钟坚海, 等. 超高效液相色谱法测定橡胶产品中的二甲基二硫代氨基甲酸铜 [J]. 橡胶工业, 2017, 64(4): 245-248.