

高效液相色谱法检测土壤中二硫化二苯并噻唑

吴馨娜*

(实朴检测技术(上海)股份有限公司, 上海 201109)

摘要: **目的** 建立土壤中二硫化二苯并噻唑(MBTS)检测的高效液相色谱法。**方法** 通过乙腈超声萃取 30 min, 有机滤膜过滤器过滤, 且通过 C18 柱净化, 使用 HPLC 分析仪器, 设定流速 0.7 mL/min; 柱温 40°C, 在检测波长 275 nm 对土样进行分离定性及外标法定量。**结果** 对 MBTS 检测前处理和色谱条件优化得到, 乙腈作为萃取溶剂, C18 柱作为净化柱。适当的梯度洗脱程序, 对降低土壤中基质效应对分析目标化合物有较好的作用。进行方法学验证得出, MBTS 加标精密度的相对标准偏差范围在 0.070%~0.201% 之间, MBTS 加标正确度的相对标准偏差范围在 0.071%~0.646% 之间, 加标回收率范围在 91.0%~97.1%。MBTS 方法检出限为 0.003 mg/kg, 测定下限为 0.013 mg/kg。**结论** 该方法具有操作简单, 检出限低, 测试时间短, 干扰小, 精密度和准确度高优点, 可以为土壤中 MBTS 的检测提供技术支撑。

关键词: 高效液相色谱法; 二硫化二苯并噻唑; 土壤

Detection of MBTS in soil by high performance liquid chromatography

WU Xin-Na*

(Shipu Testing Technology (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201109, China)

ABSTRACT: Objective To establish a high-performance liquid chromatography method for the detection of dibenzothiazole disulfide (MBTS) in soil. **Methods** Extract using acetonitrile ultrasound for 30 minutes, filter through an organic membrane filter, and purify through a C18 column. Use an HPLC analyzer with set flow rate of 0.7 mL/min and column temperature of 40°C, and the soil sample is separated for qualitative analysis and quantitative analysis using external standard method at a detection wavelength of 275 nm. **Results** By optimizing the pre-treatment and chromatographic conditions for MBTS detection, acetonitrile was used as the extraction solvent, C18 column serves as the purification column. An appropriate gradient elution program has a good effect on reducing matrix effects in soil and analyzing target compounds. Through methodological validation, it was found that, the relative standard deviation of MBTS spiked precision ranges from 0.070% to 0.201%. The relative standard deviation of MBTS spiking accuracy ranges from 0.071% to 0.646%, and the spiking recovery rate ranges from 91.0% to 97.1%, the detection limit of MBTS method is 0.003 mg/kg, and the lower limit of determination is 0.013 mg/kg. **Conclusion** This method has the advantages of simple operation, low detection limit, short testing time, low interference, high precision and accuracy, and can provide technical support for the MBTS in soil.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; MBTS; soil

* 通信作者: 吴馨娜, 硕士, 研究方向为新污染物检测研究及市场拓展管理。E-mail: xinna.wu@sepchina.cn

*Corresponding author: WU Xin-Na, Master, Shipu Testing Technology (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201109, China. E-mail: xinna.wu@sepchina.cn

0 引言

二硫化二苯并噻唑 (MBTS) 在合成橡胶工业领域及医药合成领域有广泛应用。作为橡胶促进剂, 用来制造轮胎、内胎、胶带、胶鞋和一般工业制品^[1], 可促进其硫化作用, 且可降低硫化胶的强度, 对其扯断伸长率、扯断永久变形^[2]有促进作用, 制造橡胶性能优良, 如硫化曲线平坦、硫化临界温度较高、在橡胶中易分散等^[3]优点; 二硫化二苯并噻唑在合成头孢类半合成抗菌素时被作为重要的中间体^[4], 主要应用于 AE 活性酯^[5]、 β -内酰胺类头孢抗生素的合成, AE 活性酯是生产第三代头孢抗生素头孢曲松钠、头孢他美、头孢噻肟等的重要原料; 此外, MBTS 还可以替代 2- 硫醇基嘧啶 (PyS) 合成 β -内酰胺^[6]。

因此, MBTS 在人们生活中起很大作用, 然而其安全性不容忽视, 作为基因毒性杂质, 根据 EMA 人用药品委员会关于基因毒性杂质的限度指南规定^[7], 每日允许最高摄入量为 5 $\mu\text{g/g}$, 有资料报道, 高纯度 MBTS 有致畸作用, 可疑致癌作用, 并对生殖系统也会有影响, 对环境也有一定危害。在大力提倡环保, 节能减排, 治理空气污染, 新环保法规日益严格的背景下^[8], MBTS 的检出对于环境新污染物管理尤为重要。

目前, 仅有少量文献对 MBTS 的检测有研究, 主要测试方法有紫外分光光度法^[9]、滴定法、高效液相色谱法^[10], 对于土壤中 MBTS 的检测方法鲜有研究, 已经无法满足环境管理的日常工作需求。鉴于此, 本文建立土壤中 MBTS 的高效液相色谱检测方法, 为土壤中 MBTS 的检测提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器设备、试剂和材料

1.1.1 仪器设备和材料

高相液相色谱仪: 型号 Thermo Fisher UltiMate 3000, 配有紫外检测器; 可控温超声波清洗机; 2 mL 注射器; 0.45 μm 有机滤膜过滤器; C18 固相萃取小柱。

1.1.2 标准品和试剂

MBTS: 安谱, 标准品; 甲醇, 乙腈 (均为色谱级), 超纯水。准确称取 MBTS 标准品, 溶于乙腈, 可适当超声使其充分

溶解, 并定容即为标准储备溶液; 并吸取不同体积的标准储备溶液, 乙腈定容, 配制成 0.5、1.0、5.0、10、50、100 mg/L 的标准工作溶液。

1.2 样品制备和前处理

1.2.1 样品采集和保存

按照 HJ/T 166 的相关规定采集和保存样品。除去样品中的异物 (枝棒、叶片、石子等), 将样品完全混匀, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏、避光和密封保存。如样品水分含量较高, 按照 HJ 613 进行土壤样品干物质含量的测定。

1.2.2 样品处理

准确称量约 10 g (精确至 0.01 g) 的新鲜样品, 置于 50 mL 离心管中, 加入适量硅藻土研磨均匀, 加入 10 mL 萃取溶剂, 涡旋振荡, 放置于超声波清洗仪中超声。用离心机以 3500 转/min 离心 3 min, 收集萃取液, 待净化, 用 5 mL 甲醇, 10 mL 超纯水活化固相萃取柱, 取 5 mL 萃取液加 45 mL 水, 混匀, 转移至萃取小柱上, 自然流下, 最后用真空泵辅助抽干, 用 5 mL 乙腈洗脱 (约 1 滴/秒), 过 0.45 μm 有机滤膜于 2 mL 棕色进样小瓶中, 待测, 上 HPLC 分析。同时, 用石英砂代替样品, 按照上述步骤进行实验室空白实验。

1.3 仪器分析条件

InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (PN: 695975-902(T), SN: USCFS 47152) 色谱柱, 4.6 mm \times 100 mm, 2.7 μm 粒径。流速 0.7 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: A: 乙腈; B: 水; 进样体积 10 μL ; 检测波长: 275 nm; 洗脱程序: 0~1 min, A: 60%; 1~3 min, A: 60%~95%; 3~7 min, A: 95%; 7~7.1 min, A: 95%~60%; 7.1~11 min, A: 60%, stop。

2 结果与分析

2.1 前处理条件优化

2.1.1 溶剂对回收率的影响

考虑到室温下 MBTS 在二氯甲烷、丙酮中溶解性较差, 本实验分别选用乙腈、正己烷、乙腈-0.1% 甲酸、乙酸乙酯、水做萃取试剂, 超声 30 min, C18 固相萃取小柱净化, 其他条件不变, 研究不同溶剂对其萃取效率的影响。结果见表 1。

表 1 不同溶剂对 MBTS 萃取效率的影响

Table 1 Effect of different solvents on the extraction efficiency of MBTS

序号	溶剂	回收率 (%)
1	乙腈	98
2	正己烷	60
3	乙腈-0.1% 甲酸	94
4	乙酸乙酯	80
5	水	70

从表中可以得到,正己烷回收率最低,对 MBTS 萃取效率最差,乙腈作为萃取溶剂时,回收率最高,对 MBTS 萃取效率最好。

2.1.2 净化柱对回收率的影响

分别选取了 C18 固相萃取柱、HLB 萃取柱及 SPE-2 萃取柱净化土壤样品,C18 主要对脂肪等非极性杂质有吸附作用,HLB 主要吸附,结果表明,C18 和 SPE-2 净化效果较理想,且回收率均在 90%~110% 之间,考虑实验室成本,本实验选用 C18 柱作为净化柱。

2.2 色谱条件优化

本次实验以乙腈和水作为流动相,经过多次实验,研究了不同流动相比例对 MBTS 的分离影响。实验结果表明,适当的梯度洗脱程序对降低土壤中基质效应对分析目标化合物有较好的作用。图 1 为 MBTS 标准谱图。

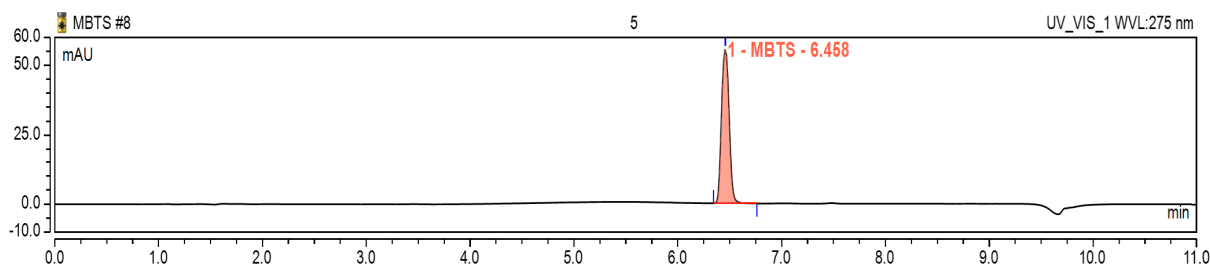


图 1 二硫化二苯并噻唑的标准谱图(质量浓度为 5 mg/L)

Fig.1 Standard spectrum of dibenzothiazole disulfide (mass concentration of 5 mg/L)

表 2 MBTS 的线性关系及相关系数

Table 2 The linear relationship and correlation coefficient of MBTS

序号	中文名称	CAS	线性	相关系数 R ²	保留时间 (min)
1	二硫化二苯并噻唑	120-78-5	Y= 0.9323X-0.0344	0.999	6.45

表 3 MBTS 加标精密度

Table 3 MBTS spiking precision

化合物名称	添加值 (mg/kg)	1 (mg/kg)	2 (mg/kg)	3 (mg/kg)	4 (mg/kg)	5 (mg/kg)	6 (mg/kg)	相对标准偏差 (%)
MBTS	0.5	0.457	0.457	0.456	0.456	0.455	0.455	0.201
	5	4.87	4.88	4.88	4.88	4.86	4.87	0.145
	50	49.0	49.0	49.1	49.0	49.0	49.0	0.070

表 4 MBTS 加标正确度

Table 4 MBTS upscaling accuracy

化合物名称	添加值 (mg/kg)	1 (mg/kg)	2 (mg/kg)	3 (mg/kg)	4 (mg/kg)	5 (mg/kg)	6 (mg/kg)	相对标准偏差 (%)	加标回收率 (%)
MBTS	0.5	0.461	0.454	0.455	0.453	0.454	0.452	0.646	91.0
	5	4.86	4.86	4.85	4.86	4.85	4.86	0.071	97.1
	50	48.3	48.3	48.2	48.2	48.2	48.3	0.080	96.5

2.3 方法学验证

2.3.1 标准曲线绘制

分别进样工作溶液线性点 10 μL,以目标化合物的峰面积和浓度分别为 Y, X 轴,作线性方程,结果见表 2。从表 2 中可以看出,浓度与峰面积呈良好的线性关系,其相关系数 R² 可以达到 0.995 以上。

2.3.2 正确度和精密度测定

称取 10 g 样品,分别添加低中高浓度 3 个浓度的标准品,分别做 6 次平行测定,按照上述样品处理方式萃取样品;进行回收添加实验,测定其回收率,考察方法精密度,计算相对标准偏差。具体结果见表 3 和表 4。

表 3 结果显示:MBTS 加标精密度相对标准偏差的范围在 0.070%~0.201% 之间。

表 4 结果显示:MBTS 加标正确度相对标准偏差的范围在 0.071%~0.646% 之间,加标回收率范围在 91.0%~97.1%。

2.3.3 方法检出限

方法检出限取 3.14 倍相对偏差分析, 测定下限取 4 倍方法

检出限; 测得 MBTS 方法检出限为 0.003 mg/kg, 测定下限为 0.013 mg/kg, 结果见表 5。

表 5 MBTS 的方法检出限和测定下限
Table 5 The detection limit and lower limit of MBTS method

化合物名称	浓度 (0.5 mg/kg)							标准偏差 mg/kg	方法检出限 mg/kg	测定下限 mg/kg
	1	2	3	4	5	6	7			
MBTS	0.458	0.459	0.460	0.458	0.459	0.457	0.457	0.001	0.003	0.013

3 讨论与结论

本文优化了 MBTS 检测的前处理条件和色谱条件, 通过优化得到, 乙腈作为萃取溶剂, C18 柱作为净化柱。适当的梯度洗脱程序, 对降低土壤中基质效应对分析目标化合物有较好的作用。并进行了 MBTS 检测的方法学验证, 方法学验证得出, MBTS 加标精密度相对标准偏差范围在 0.070%~0.201% 之间, MBTS 加标正确度相对标准偏差范围 0.071%~0.646% 之间, 加标回收率范围在 91.0%~97.1%。MBTS 方法检出限为 0.003 mg/kg, 测定下限为 0.013 mg/kg。

本文建立的高效液相色谱法测定土壤中的方法具有操作简单, 检出限低, 测试时间短, 干扰小, 精密度和准确度高等优点, 可以为土壤中 MBTS 的检测提供技术支撑。

参考文献

- [1] 杨晓玲. 二硫化二苯并噻唑的催化合成 [J]. 应用化工, 2011, 40(1): 88-90.
- [2] 王晨阳, 邓涛. 二硫化苯并噻唑对氯丁橡胶硫化特性及力学行为的影响 [J]. 橡塑技术与装备, 2022, 48(08): 50-53.
- [3] 陈秀红, 杨晋超, 晋召. HPLC 法测定头孢噻肟钠中 MBTS 含量 [J]. 化工管理, 2015, (10): 193-194.

- [4] SOGLI L, TERRASSAN D, BERNASCONI E, *et al.* Process for the preparation of new intermediates useful in the synthesis of Cephalosporins [P]. United States, EP0846695A1 [1999-08-31].
- [5] 刘惠玲, 孙丽欣, 岳同明, 等. 头孢噻肟钠生产废渣资源化 [J]. 环境保护科学, 2002, 28(109): 30-31.
- [6] 许宝明, 王欣辉, 王娜, 等. 医药级 2,2'-二硫化二苯并噻唑的合成与精制 [J]. 化工科技, 2022, 30(04): 82-87.
- [7] AGENCY EM. Guideline on the limits of genotoxic impurities [EB/OL]. [2017-09-13]. https://www.aifa.gov.it/sites/default/files/2017-09-13_Stoppa.pdf [2024-03-05].
- [8] 单鑫. 硫化促进剂 DM 工业合成机理探讨 [J]. 工业催化, 2016, 24(02): 76-79.
- [9] 贺宝芝, 王秋玲, 姜秀芬. 紫外分光光度法测定车间空气中二硫化二苯并噻唑 [J]. 卫生研究, 1997, (06): 7-9.
- [10] 李娜然, 孟祥军. HPLC 法测定硫化促进剂 DM 的含量 [J]. 光谱实验室, 2003, (01): 85-87.

作者简介



吴馨娜, 硕士, 研究方向为新污染物检测研究及市场拓展管理。