

化妆品和食品接触材料中的异噻唑啉酮类防腐剂的LC-MS/MS快速分析检测

Rapid Analysis of Isothiazolinones Preservatives in Cosmetics and Food Contact Materials by LC-MS/MS

郭琳琳, 刘冰洁, 李立军, 郭立海
Guo Linlin, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX China

Key Words: Preservatives; Isothiazolinones; Cosmetics; Food Contact Materials; LC-MS/MS; Triple Quad™ 3500

引言

异噻唑啉酮类化合物是一种广谱、高效、非氧化性杀菌防腐剂,通过杀灭细菌或者防止微生物繁殖而起到防腐的效果,主要应用于食品接触材料、水、纺织品、皮革、化妆品、环境样品、玩具等方面^[1]。但是,人体暴露在异噻唑啉酮类的环境中会存在健康隐患。研究发现甲基异噻唑啉酮类具有一定的细胞毒性和神经毒性,与皮肤接触会产生过敏反应,吸入、不慎吞咽对人体有害^[2-3]。

2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮(MI)、5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮(CMI)、1,2-苯并异噻唑啉-3-酮(BIT)和-辛基-4-异噻唑啉-3-酮(OIT)是工业中常用的广谱杀菌防腐剂。MI和CMI的混合物是化妆品常用的防腐剂。《化妆品安全技术规范》^[4]规定MI和CMI的混合物仅能用于淋洗类化妆品,且用量不得高于0.0015%,MI单独用于化妆品时用量不得高于0.01%。同时,食品接触材料中常添加MI、CMI、BIT和OIT,起到杀菌防腐的作用。中国及欧盟均限制MI、CMI和BIT在食品容器、包装材料和玩具中的使用^[1]。

GB/T 29666-2013^[5]采用了液相方法对化妆品中的甲基氯异噻唑啉酮和甲基异噻唑啉酮进行检测。而在检测食品接触材料中的异噻唑啉酮类防腐剂时,SN/T 3655-2013^[6]方法中的前处理经过了两次重复提取和固相萃取柱浓缩,步骤繁琐,可操作性差。因此,需要建立快速、简便、灵敏度高的LC-MS/MS检测方法。

本实验的优势和特点

1、快速高通量,采用ESI正模式扫描,一针7 min内完成四种异噻唑啉酮类防腐剂的准确定性和定量。

- 2、前处理方法简单,称取样品后,采用直接提取的方法,省去重复提取和固相萃取浓缩过程,快速易操作。
- 3、灵敏度高,四种异噻唑啉酮类防腐剂的定量限为5 µg/kg,完全满足化妆品和食品接触材料中的定量限要求。
- 4、线性范围宽,线性范围为5-16000 µg/kg,线性跨度4个数量级,r值均为0.995以上。
- 5、准确度高,考察了化妆品和食品接触材料中的5 µg/kg、500 µg/kg和5000 µg/kg的三个样品添加浓度,添加回收率均在85.0%-96.7%之间。
- 6、重现性好,三个不同浓度下的多份质控样本的RSD在1.4%-3.9%范围内。

实验方法

1、样品前处理

1.1 化妆品样品前处理

准确称取1.0 g样品于50 mL离心管中,加入10 mL甲醇,充分涡旋混匀,超声15 min后,于12000 rpm、4 °C离心10 min,上清液经0.22 µm滤膜过滤后,供LC-MS/MS检测^[2]。

1.2 食品接触材料样品前处理

准确称取1.0 g样品于50 mL离心管中,加入10 mL甲醇,充分涡旋混匀,超声30 min后,于12000 rpm离心10 min,上清液经0.22 µm滤膜过滤后,供LC-MS/MS检测。

2、液相方法

色谱柱: Kinetex® F5, 2.6 µm, 3.0 mm × 100 mm

流动相: A: 水 (0.1%甲酸)
B: 乙腈 (0.1%甲酸)

流速: 0.4 ml/min

进样量: 5 μL

梯度洗脱程序: 如表1所示

表1. 液相梯度设置。

| Time/min | A/% | B/% |
|----------|-----|-----|
| 0 | 80 | 20 |
| 2 | 80 | 20 |
| 3 | 5 | 95 |
| 5 | 5 | 95 |
| 5.1 | 80 | 20 |
| 7 | 80 | 20 |

3、质谱方法

质谱仪器: SCIEX Triple Quad™ 3500

扫描方式: MRM采集模式, 正离子扫描

离子源: ESI源

离子源参数:

IS电压: 5500 V 源温度 TEM: 600 °C

气帘气 CUR: 30 psi 碰撞气 CAD: Medium

雾化气 GS1: 65 psi 辅助气 GS2: 45 psi

离子对参数如表2所示。

表2. 化合物离子对参数。

| Compound | Q1 | Q3 | ID | RT(min) | DP | CE |
|----------|-----|-------|-------|---------|----|----|
| MI | 116 | 71.1 | MI 1 | 1.28 | 70 | 28 |
| | 116 | 101.1 | MI 2 | 1.28 | 70 | 30 |
| CMI | 150 | 87.1 | CMI 1 | 1.93 | 70 | 55 |
| | 150 | 115.1 | CMI 2 | 1.93 | 70 | 27 |
| BIT | 152 | 109.1 | BIT 1 | 2.53 | 70 | 30 |
| | 152 | 134.1 | BIT 2 | 2.53 | 70 | 31 |
| OIT | 214 | 57.1 | OIT 1 | 4.71 | 70 | 29 |
| | 214 | 71.2 | OIT 2 | 4.71 | 70 | 21 |

结果与讨论

1、提取离子流图如图2所示, 四种异噻唑啉酮类防腐剂在色谱条件下实现良好的分离。

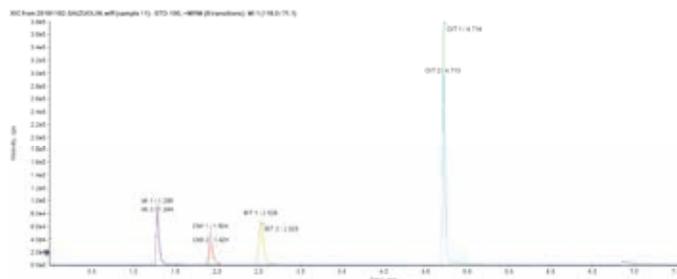


图1. 四种异噻唑啉酮类防腐剂的提取离子流图。

2、化合物线性范围

四种异噻唑啉酮类防腐剂在化妆品和食品接触材料基质中, 线性范围为5-16000 μg/kg, 线性关系良好, $r > 0.995$, 保证了不同浓度样品的定量准确性。结果如表3和图2、图3所示。

表3. 化合物线性范围。

| 序号 | 化合物名称 | 线性范围 (μg/kg) | (化妆品) 相关系数r | (食品接触材料) 相关系数r |
|----|-------|--------------|-------------|----------------|
| 1 | MI | 5-16000 | 0.99523 | 0.99681 |
| 2 | CMI | 5-16000 | 0.99755 | 0.99722 |
| 3 | BIT | 5-16000 | 0.99851 | 0.99815 |
| 4 | OIT | 5-16000 | 0.99915 | 0.99914 |

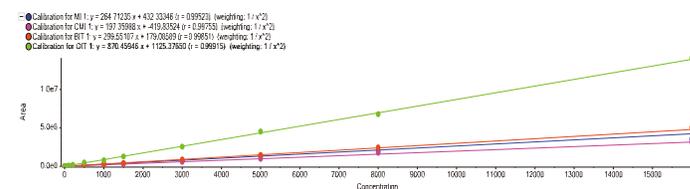


图2. 四种异噻唑啉酮类防腐剂在化妆品基质中的线性关系图。

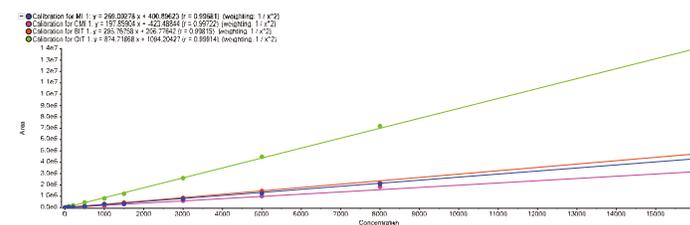


图3. 四种异噻唑啉酮类防腐剂在食品接触材料基质中的线性关系图。

3、化妆品和食品接触材料中的前处理回收率:

分别往化妆品和食品接触材料中按照5 µg/kg、500 µg/kg和5000 µg/kg的样品添加浓度(对应样品实测浓度分别为0.5 ng/ml、50 ng/ml和500 ng/ml)进行添加回收实验,按照样本前处理操作,每浓度批次三份,计算回收率。实际测得回收率范围为85.0%-96.7%。具体数值如表4和表5所示:

表4. 化妆品中加标回收率/%。

| | 5 µg/kg | 500 µg/kg | 5000 µg/kg |
|-----|---------|-----------|------------|
| MI | 88.0 | 93.9 | 89.5 |
| CMI | 87.2 | 88.6 | 90.6 |
| BIT | 92.1 | 90.6 | 94.6 |
| OIT | 85.5 | 87.4 | 92.2 |

表5. 食品接触材料中加标回收率/%。

| | 5 µg/kg | 500 µg/kg | 5000 µg/kg |
|-----|---------|-----------|------------|
| MI | 85.0 | 87.6 | 94.3 |
| CMI | 87.1 | 88.4 | 92.4 |
| BIT | 88.5 | 86.7 | 95.3 |
| OIT | 86.2 | 89.2 | 96.7 |

4、方法定量下限:

四种异噻唑啉酮类防腐剂在化妆品和食品接触材料中的定量限均为5 µg/kg。

5、方法重现性:

分别往化妆品和食品接触材料中按照5 µg/kg、500 µg/kg和5000 µg/kg的样品添加浓度(对应样品实测浓度分别为0.5 ng/ml、50 ng/ml和500 ng/ml)进行添加回收实验,按照样本前处理操作,每浓度批次三份,计算相对标准偏差RSD。实际测得相对标准偏差RSD范围为1.4%-3.9%。具体数值如下表6和表7所示:

表6. 四种异噻唑啉酮类防腐剂在化妆品中方法重现性/%。

| | 5 µg/kg | 500 µg/kg | 5000 µg/kg |
|-----|---------|-----------|------------|
| MI | 3.2 | 2.3 | 3.0 |
| CMI | 3.8 | 2.9 | 2.4 |
| BIT | 3.1 | 2.0 | 1.8 |
| OIT | 2.3 | 1.9 | 1.5 |

表7. 四种异噻唑啉酮类防腐剂在食品接触材料中方法重现性/%。

| | 5 µg/kg | 500 µg/kg | 5000 µg/kg |
|-----|---------|-----------|------------|
| MI | 3.9 | 3.2 | 2.6 |
| CMI | 3.7 | 2.1 | 1.9 |
| BIT | 2.9 | 2.6 | 1.7 |
| OIT | 2.4 | 2.1 | 1.4 |

实际样本的检测

测试10个批次的化妆品,包括婴儿润肤露、沐浴露和洁面乳产品,有4个批次检出MI和CMI两种防腐剂,MI的含量为682-3320 µg/kg, CMI的含量为531-4155 µg/kg。

测试10个批次的食品接触材料纸品,包括食品包装用纸、汉堡纸、纸垫和蒸笼纸,有3个批次中检出MI、CMT和BIT三种防腐剂,MI的含量为610-1010 µg/kg, CMI的含量为125-1870 µg/kg, BIT的含量为90 µg/kg。

总结

- 1、本文采用了SCIEX Triple Quad™ 3500系统,建立了快速检测化妆品和食品接触材料中的四种异噻唑啉酮类防腐剂的方法;
- 2、前处理简单,采用直接提取的方式,减少了重复提取和固相萃取浓缩步骤,处理样品更简单、快捷;
- 3、四种异噻唑啉酮类防腐剂在化妆品和食品接触材料中的定量限为5 µg/kg,完全满足标准中定量限要求,并且在5-16000 µg/kg的线性范围内,线性相关系数r均大于0.995,线性关系好,定量准确;
- 4、在样品的添加回收实验中,分别添加5 µg/kg、500 µg/kg和5000 µg/kg的样品浓度,回收率在81%-96.7%,相对标准偏差为1.4%-3.9%,说明方法准确度好,重复性好。

参考文献:

- [1] 杨荣静,卫碧文,于文佳,等.液相色谱-串联质谱法检测玩具中的3种异噻唑啉酮类防腐剂[J].色谱:2011,29(6):513-516
- [2] 简龙海,闻宏亮,孙健,等.液相色谱-串联质谱法同时测定化妆品中的甲基异噻唑啉酮和甲基氯异噻唑啉酮[J].中国卫生检验杂志:2011,21(11):2652-2667
- [3] 卫志东,韩峰.超搞笑液相色谱-串联质谱测定家用液体洗涤产品中异噻唑啉酮类防腐剂[J].安徽化工:2018,44(3):105-107

- [4] 国家食品药品监督管理局.化妆品安全技术规范（2015年版）
[EB/OL].[2015-12-23]
- [5] GB/T 29666-2013 化妆品用防腐剂 甲基氯异噻唑啉酮和甲基异噻唑啉酮与氯化镁及硝酸镁的混合物[S].2013
- [6] SN/T 3655-2013 食品接触材料 纸、再生纤维材料异噻唑啉酮类抗菌剂的测定 液相色谱 质谱/质谱法[S].2013

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。
获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。
本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。
© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-10638-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488，400 821 3897 网址：sciex.com.cn 官方微信：ABSciex-China