

异噻唑啉酮类杀菌剂在烟用辅料中的LC-MS/MS定量分析检测

Simultaneous Determination of Isothiazolinone fungicides in Cigarette accessories by LC-MS /MS

刘青, 杨总, 刘冰洁, 郭立海

Liu Qing, Yang Zong, Liu Bingjie, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX Application Support Center, China

Key Words: Isothiazolinone, fungicide

引言

异噻唑啉酮类物质作为一类高效、广谱、配伍性好的杀菌剂, 被广泛用于制浆造纸工业中, 以防止纸张生产过程中浆料腐败、变质。其中2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮 (MI), 5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮 (CMI) 和 1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮 (BIT) 最为常用。异噻唑啉酮类物质是一类致敏剂, 与皮肤接触可能引起过敏或皮炎等反应, 过量接触还可导致皮肤灼伤, 其中CMI和MI的致敏性和刺激性最强。国内外对食品接触材料、玩具、化妆品等日用品中相关异噻唑啉酮类杀菌剂的使用均有严格的限制, 目前国内外无烟用纸张和水基胶中异噻唑啉酮类杀菌剂相关测定方法的研究报道。为此, 以超声溶剂萃取法作为前处理方法, 运用LC-MS/MS技术, 采用多反应监测扫描 (MRM) 模式和同位素内标法进行准确定量, 建立了测定烟用纸张中异噻唑啉酮类杀菌剂的液相色谱-串联质谱法, 旨在为烟用辅助材料的安全监控提供方法参考。

1 实验方法

1.1 前处理条件

水基胶样品

称取烟用水基胶0.3 g, 精确至0.1 mg, 置于50 mL具塞锥形瓶中, 用5 mL水分散后准确加入20 mL甲醇, 盖紧瓶塞, 350 W超声萃取30 min, 移取5 mL萃取液于10 mL离心管中离心10 min, 转速为10000 r/min。准确移取上清液1 mL至10 mL容量瓶中, 准确加

入100 μ L混合内标储备液, 用甲醇定容至刻度, 混匀。提取液过0.22 μ m有机相滤膜, 待测。

纸张样品

将纸张样品剪成0.5 cm \times 0.5 cm的碎片, 混合均匀后密封待用, 每个试样不少于5 g。准确称取纸张试样0.50 g, 置于50 mL离心管中, 加入200 μ L内标工作溶液, 加入20 mL甲醇, 盖紧瓶塞, 超声萃取30 min, 5 000 r/min下离心5 min, 用0.22 μ m有机相滤膜过滤, 取滤液进行LC-MS/MS检测。

1.2 液相色谱条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ AD 系统

色谱柱: T3 1.8 μ m 2.1 \times 100 mm

流动相: A: 0.1%甲酸的水溶液

B: 0.1%甲酸乙腈;

流速: 0.4 mL/min;

进样体积: 5 μ L

液相洗脱梯度见表1.

表1. 液相梯度洗脱, 流速0.4mL/min

时间 (min)	A %	B %
3	97	3
5	20	80
5.1	20	80
7	97	3



图1. SCIEX ExionLC™ AD 系统和 SCIEX QTRAP® 4500 LC-MS/MS系统

1.3 质谱条件

质谱型号：质谱为SCIEX QTRAP® 4500 系统（图1）

扫描模式：多反应监测MRM扫描模式，正离子模式扫描，MRM离子对参数（表2）

离子源：ESI源；

离子源参数：

喷雾电压(IS)：5500 V(+); 离子源温度：550 °C；

气帘气(CUR)：20 psi; 碰撞气(CAD)：9psi；

雾化气(GS1)：55psi; 辅助雾化气(GS2)：55psi

表2. 离子对信息

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	离子名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
116.0	101.1	2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮1	70	30
116.0	85.1	2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮2	70	32
150.0	135.1	5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮1	80	34
150.0	87.1	5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮2	80	47
152.0	134.1	1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮1	95	31
152.0	109.1	1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮2	95	29
119.0	101.1	2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮-D3	70	30
153.0	135.1	5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮-D3	80	34
158.0	109.1	1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮-C6	95	29

2. 实验结果

2.1 方法灵敏度满足标准要求： 本方法MI、CMI、BIT检测下限分别为0.5, 0.5, 0.1ng/ml（图2、3、4），远低于YQ/T86-2018《烟用水基胶、接装纸、内衬小、滤棒成型纸和卷烟纸中异噻唑啉酮类杀菌剂的测定高效液相色谱-串联质谱法》中MI、CMI的检测浓度2.5µg/mL，BIT1.0µg/mL的检测底限的要求。

TEST.wiff (sample 81) - STD-0.5, +M...ransitions): MI 1 (116.0 / 101.1),

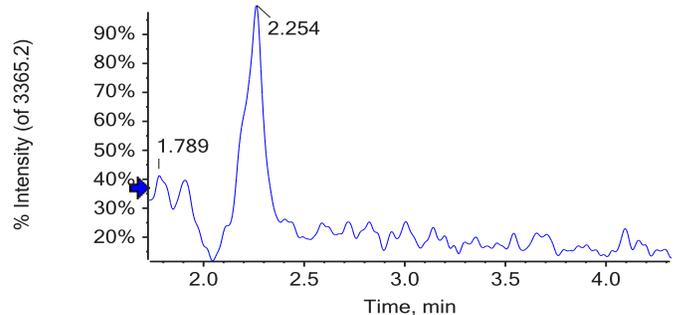


图2. 0.5 ng/L MI

TEST.wiff (sample 74) - STD-0.5, +MRM (7 transitions): CMI 1 (150.0 / 135.1)

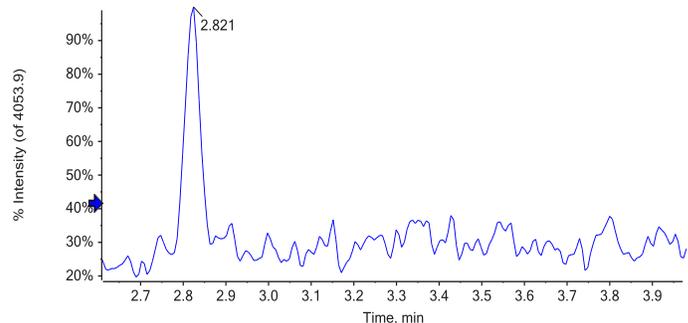


图3. 0.5 ng/L CMI

TEST.wiff (sample 50) - STD-0.1, +MRM (7 transitions): BIT 1 (152.0 / 134.1),

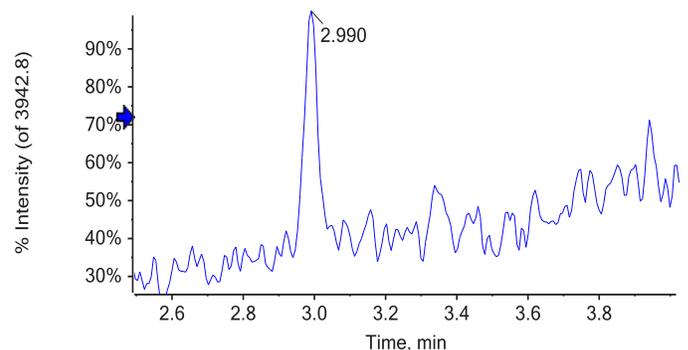


图4. 0.1 ng/mL BIT

2.2 回归曲线：MI (0.5-100ng/mL)、CMI (0.5-100ng/mL)、BIT (0.1-100ng/mL) 的回归曲线，线性关系良好 ($r > 0.99$) (图5)。

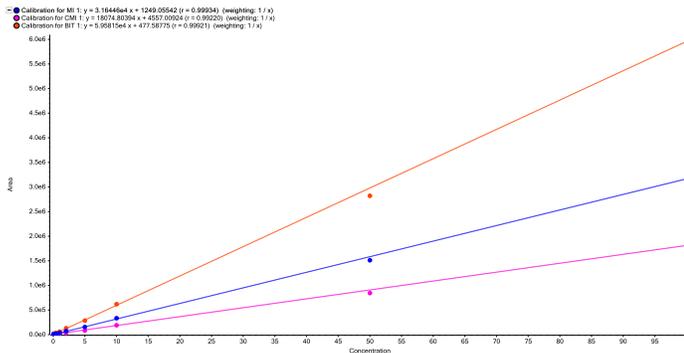


图5. MI (0.5-100ng/mL)、CMI (0.5-100ng/mL)、BIT (0.1-100ng/mL) 的回归曲线

2.3 方法重复性考察：水基胶样品和纸张样品MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1ng/ml连续进样6针，标准偏差RSD<3.5%。(表3)。

表3. MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1ng/mL的加标重复性

化合物名称	浓度 (ng/ml)	重复次数	水基胶标准偏差%	纸张样品标准偏差%
MI	0.5	6	3.2	2.1
CMI	0.5	6	2.8	1.6
BIT	0.1	6	2.6	2.3

2.4 提取回收率的考察：基胶样品和纸张样品MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1ng/ml分别做6平行加标实验回收试验，结果表明平均回收率在 80%~110% (表4)，标准偏差RSD<3.5% (表5)。

SCIEX临床诊断产品仅用于体外诊断。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，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13330-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
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
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
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
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)

表4. MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1ng/mL的加标重复性

化合物名称	浓度 (ng/ml)	重复次数	水基平均回收率%	纸张平均回收率%
MI	0.5	6	89.3	96.1
CMI	0.5	6	94.4	95.2
BIT	0.1	6	102.3	101.2

表5. MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1ng/mL的加标重复性

化合物名称	浓度 (ng/ml)	重复次数	水基胶标准偏差%	纸张样品标准偏差%
MI	0.5	6	3.5	3.1
CMI	0.5	6	3.2	2.6
BIT	0.1	6	2.9	2.5

3 小结

本文应用高效液相色谱串联质谱建立了水基胶样品和纸张样品MI、CMI、BIT的方法。在MI、CMI (0.5-500ng/mL) 和BIT (0.1-500 ng/mL) 的浓度范围内线性关系良好，相关系数 $r > 0.99$ 在基质加标MI、CMI、BIT加标浓度0.5, 0.5, 0.1 ng/ml浓度下连续进样6针，所有化合RSD<3.5%。加标回收率在80%~120%。

本方法在水基胶样品和纸张样品MI、CMI、BIT检测下限分别为0.5, 0.5, 0.1 ng/ml，远低于YQ/T 86-2018《烟用水基胶、接装纸、内衬小、滤棒成型纸和卷烟纸中异噻唑啉酮类杀菌剂的测定高效液相色谱-串联质谱法》中MI、CMI的检测浓度2.5 $\mu\text{g/mL}$ ，BIT1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的检测底限的要求。实验选取水基胶样品和纸张样品基质，充分考虑到实验的需求，保障不同型号仪器和不同复杂基质的需求，完全满足检验实验的需求，在烟草造纸和食品等相关检测单位有重要的参考意义。