

分散固相萃取-气相色谱-质谱联用法 测定烟用接装纸中 2 种异噻唑啉酮抗菌剂

章平泉^{1*}, 许蔼飞², 杜秀敏¹, 韩丽萍¹, 李青¹

(1. 江苏中烟工业有限责任公司淮阴卷烟厂品质管理处, 江苏 淮安, 223002;
2. 广西中烟工业有限责任公司技术中心, 广西南宁 530001)

摘要: 为了测定烟用接装纸中异噻唑啉酮抗菌剂的含量, 通过分散固相萃取-气相色谱-质谱(d-SPE-GC/MS)建立了烟用接装纸中 2-甲基-1-异噻唑啉-3-酮(MI)和 5-氯-2-甲基-1-异噻唑啉-3-酮(CMI)的定量分析方法。以萘-d8 为内标物, 分别考察了不同萃取剂、萃取时间、洗脱体积和净化方式对测试 MI 和 CMI 的影响。结果表明, MI 和 CMI 的相对标准偏差(RSD)分别在 3% 和 10% 以内, 回收率分别在 96.33%~107.62% 和 92.59%~102.44% 范围内, MI 和 CMI 的检测限和定量限分别为 0.007、0.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 0.012、0.039 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果表明, 该法具有较好的重现性和准确性, 适用于烟用接装纸中异噻唑啉酮含量的测定。

关键词: 接装纸; 异噻唑啉酮; 气相色谱-质谱法; 分散固相萃取

中图分类号: TS41

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)06-0233-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2018.06.054

Determination of two isothiazolinone antibacterial agents in tipping paper for cigarette by d-SPE/GC-MS

ZHANG Ping-quan^{1*}, XU Ai-fei², DU Xiu-min¹, HAN Li-ping¹, LI Qing¹

(1. Quality Management Department of Huaiyin Cigarette Factory, China Tobacco Jiangsu Industrial Co., Ltd., Huaian 223002, China; 2. Technology Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China)

Abstract: In order to determine two kinds of isothiazolinone antibacterial agents in the tipping paper for cigarette, a dispersive solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry (d-SPE-GC/MS) method is used to determine quantitatively 2-methyl-1-isothiazolin-3-one (MI) and 5-chloro-2-methyl-1-isothiazolin-3-one (CMI) in tipping paper for cigarette. With naphthalene-d8 as the internal standard, the effects of extraction agent, extraction time, eluent volume and purification ways on the determination of MI and CMI are investigated. The results show the relative standard deviations for MI and CMI are less than 3% and 10%, respectively. The recovery rates for MI and CMI are in the ranges of 96.33%~107.62% and 92.59%~102.44%, respectively. Their detection limits are 0.007 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 0.024 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively and their quantitative limits are 0.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 0.039 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. It is verified that this method has good reproducibility and accuracy and can be used to determine the isothiazolinone content in tipping paper for cigarette.

Key words: tipping paper; isothiazolinone; gas chromatography-mass spectrometry; dispersive solid phase extraction (D-SPE)

异噻唑啉酮一种广谱、高效、低毒杀菌剂, 广泛应用于造纸、皮革、油墨、制革等行业, 其中 2-甲基-1-异噻唑啉-3-酮(MI)和 5-氯-2-甲基-1-异噻唑啉-3-酮(CMI)是最常用的杀菌剂^[1-2]。研究表明^[3-4], MI 和 CMI 是一种潜在的刺激物, 可导致人类接触性变态反应。我国也对食品接触材料中异噻唑啉酮类杀菌剂的使用添加量和特定迁移量做了限量标准^[5]。

目前, 异噻唑啉酮类杀菌剂的检测方法主要有液相色谱-紫外法^[6-8], 尽管该方法操作简便, 但存在灵敏度较低, 容易出现假阳性结果的缺点。而液相色谱-质谱联用法(LC-MS/MS)涉及价格昂贵的仪器, 导致检测成本较高^[9-11]。气相色谱-质谱法(GC-MS)是常见的检测设备, 已用于水中异噻唑啉

酮成分的分析^[12], 但未见用于检测烟用接装纸中异噻唑啉酮含量的公开报道研究。因此, 为了快速、准确测定烟用接装纸中 MI 和 CMI 的含量, 笔者通过 GC-MS 建立了两者的分析方法, 并采用内标法对其进行定量分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料、试剂和仪器

选用 12 个日常检验的烟用接装纸样品, 其中 1[#]~2[#]样品为试验样品, 其余 10 个样品为最终测试样品。

MI、CMI, 标准品, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司生产; 萘-d8、丙酸苯乙酯和正十七烷烃(纯度 >98.0%, 比利时 Acros 公司生产; 二氯甲烷、乙醇和

收稿日期: 2017-12-07; 修回日期: 2018-04-09

作者简介: 章平泉(1978-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向为烟草化学分析和产品质量研究, 通讯联系人, hy2004020@jszygs.com。

甲醇, 色谱级, 美国 Chem Service 公司生产; 净化管 (含 150 mg 无水硫酸镁和 25 mg *N*-丙基乙二胺键合固定相吸附剂, 简称 PSA/2 mL) 和 HLB 固相萃取柱 (60 mg, 3 mL), 上海安谱公司生产。

AE163 电子天平, 瑞士 Mettler 公司生产; Agilent 7890A/5977, 美国 Agilent 公司生产; TGL-16GB 离心机, 上海安亭科学仪器厂生产; WSZ-100A 回旋振荡器, 上海一恒科学仪器有限公司生产。

1.2 样品处理

将样品剪成 5 mm×5 mm 左右的碎片, 混合均匀。称取 0.5 g 样品, 精确至 0.000 1 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 依次加入 0.3 mL 内标工作溶液和 20 mL 甲醇, 超声萃取 30 min, 8 000 r/min 离心 10 min。提取液收集于旋转蒸发瓶中, 再次用 20 mL 甲醇重新洗涤样品, 合并 2 次提取液, 在 40℃ 水浴下旋转蒸发干。残渣用 2 mL 甲醇溶解。将上述所得溶液全部注入已经活化好的 HLB 固相萃取柱 (使用前加入 3 mL 甲醇淋洗活化固相萃取柱), 收集流出液, 然后加入 6 mL 甲醇洗脱, 同时收集洗脱液。将流出液和洗脱液合并, 在 40℃ 水浴下旋转蒸发干, 用 1 mL 甲醇溶解, 定容。充分涡旋混合后, 转移到 2 mL 净化管中, 涡旋震荡 10 min 后, 5 000 r/min 离心 10 min, 过 0.45 μm 有机滤膜后进行 GC-MS 分析。

1.3 GC-MS 测试参数

色谱柱: HP-5MS (30 m×0.25 mm i. d.×0.25 μm d. f.); 进样口温度: 250℃; 进样量: 1.0 μL; 分流比: 10:1。

升温程序: 80℃ → 150℃ (10℃/min) → 280℃ (25℃/min, 保持 5 min); 载气: He, 流速为 1.0 mL/min; 传输线温度: 280℃; 离子源温度: 230℃; 四级杆温度: 150℃; 溶剂延迟: 4.8 min; 检测方式: 选择离子监测 (SIM)。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

HP-Innowax 色谱柱上的标准溶液和典型样品色谱图如图 1 所示。

考虑到 MI 和 CMI 的极性, 试验过程中, 分别使用 HP-5MS (30 m×0.25 mm i. d.×0.25 μm d. f.) 和 DB-17 (30 m×0.25 mm i. d.×0.25 μm d. f.) 色谱柱对 MI 和 CMI 进行分离。结果表明, CMI ($R_t=8.03$) 和 MI ($R_t=8.05$) 在 DB-17 色谱柱上完全重叠, 不能有效地实现基线分离, 但两者在 HP-5MS 色谱柱

上能够实现完全分离 (如图 1 所示)。

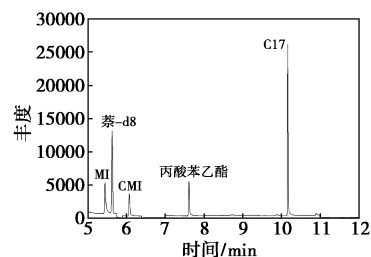


图 1 标准样品和内标物的选择离子扫描图

2.2 定性分析和内标物的选择

采用 NIST (2014, Version 2.2) 谱库检索和目标物的特征质谱碎片对目标物进行定性。目标物和 蔡-d8 (IS) 的保留时间和定量离子如表 1 所示。由图 1 可以看出, 在所选择的色谱条件下, 目标物 (MI 和 CMI) 能和所选择的内标物实现基线完全分离, 碳十七烷 ($R_t=10.12$) 和丙酸苯乙酯 ($R_t=7.62$) 与目标物的保留时间相差较大, 且试验发现有些样品中存在丙酸苯乙酯, 因此, 易造成误判。蔡-d8 流出顺序处于目标物之间且能够实现基线完全分离, 根据内标物的选择原则, 最终选用 蔡-d8 为试验内标物。典型样品色谱图 (HP-5MS) 如图 2 所示。

表 1 MI、CMI 及内标物的保留时间、定性和定量选择离子

序号	化合物	保留时间/ min	定性离子 <i>m/z</i>	定量离子 <i>m/z</i>
1	MI	5.44	61, 87	115
2	CMI	6.07	87, 151	121
3	蔡-d8 (IS)	5.64	—	136

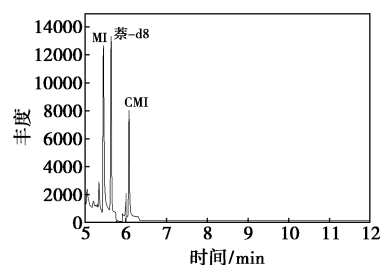


图 2 典型样品的选择离子扫描图

2.3 萃取剂的选择

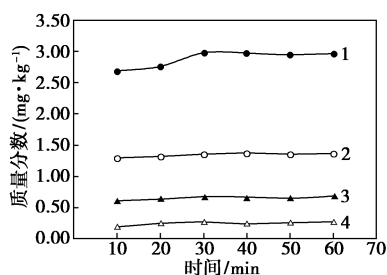
分别考察了丙酮、二氯甲烷和甲醇 3 种试剂对上述目标物的萃取效果, 结果如表 2 所示, 由表 2 可以看出, 丙酮和甲醇的萃取测试值相差不大, 二氯甲烷萃取效果稍差, 考虑化学试剂的安全特性, 最终选择甲醇为萃取剂。

表2 不同萃取剂对测试结果的影响 (mg/kg)

组分	样品	丙酮	二氯甲烷	甲醇
MI	1 [#]	2.89	2.83	2.91
	2 [#]	1.37	1.32	1.35
CMI	1 [#]	0.67	0.65	0.68
	2 [#]	0.26	0.27	0.27

2.4 萃取时间的选择

为了考察萃取时间对测试结果的影响,分别考察了纸张样品在10、20、30、40、50 min和60 min下的萃取效果,结果如图3所示。由图3可以看出,在10~30 min范围内,MI和CMI的质量分数逐渐增加;随着时间的继续延长,其质量分数变化不大,故30 min为适宜的萃取时间。



1—1[#]MI; 2—2[#]MI; 3—1[#]CMI; 4—2[#]CMI

图3 萃取时间的选择

2.5 洗脱体积的确定

溶解浓缩后所得溶液经过HLB固相萃取柱时,纸张中的MI和CMI会吸附在固相净化柱中,因此,考察了不同的洗脱体积对测试结果的影响,结果如表3所示。设4 mL洗脱试剂的测定结果为1,进行归一化处理。结果表明,6 mL洗脱试剂能完全将样品洗脱下来。

表3 洗脱试剂体积对测试结果的影响

组分	样品	4 mL	6 mL	8 mL
MI	1 [#]	1	1.05	1.05
	2 [#]	1	1.12	1.12
CMI	1 [#]	1	1.19	1.21
	2 [#]	1	1.11	1.12

2.6 净化方式对测试影响

甲醇提取后的烟用纸张成分复杂,经HLB固相萃取柱净化、洗脱后,待测样品中仍含有色素等复杂成分,直接进行GC-MS分析会对色谱柱、质谱进样口和离子源造成污染,缩短其使用寿命,影响检测灵敏度和准确性^[13-15]。PSA能吸附提取液中的色素等物质,无水MgSO₄能有效去除提取液中的少量水

分。因此,考察了PSA+MgSO₄组合净化方式对测试结果的影响,结果如表4所示。由表4可以看出,净化前后样品中MI和CMI测试结果一致,说明所选吸附材料对目标物没有影响。

表4 纯化对测试结果的影响 (mg/kg)

组分	样品	不纯化	纯化
MI	1 [#]	2.96	2.99
	2 [#]	1.33	1.36
CMI	1 [#]	0.66	0.68
	2 [#]	0.24	0.27

2.7 标准工作曲线

分别准确称取内标物(萘-d8)0.005 g,精确至0.000 1 g,甲醇溶解并定容至100 mL棕色容量瓶中,混匀,得到质量浓度为50 μg/mL的内标工作溶液。

分别准确称取MI和CMI标准物0.01 g,精确至0.000 1 g,用甲醇溶解并定容至200 mL棕色容量瓶中,混匀,得到质量浓度为50 μg/mL的混合标准储备液。

分别准确移取5、10、50、100、200 μL和500 μL混合标准储备液于10 mL棕色容量瓶中,加入0.3 mL内标工作溶液,甲醇稀释、定容后进行GC-MS分析。

以各标准工作溶液中MI和CMI定量离子的面积与内标峰的定量离子面积比值为纵坐标,以各标准工作溶液中MI和CMI的质量浓度为横坐标,绘制标准工作曲线,并计算标准工作曲线方程和决定系数。连续平行测试10次最低标准工作溶液,计算MI和CMI的标准偏差,并分别以3倍和10倍标准偏差对应的质量浓度计算该方法的检出限和定量限,结果如表5所示。结果表明,在所测定的质量浓度范围内,标准曲线线性关系良好。

表5 标准曲线方程、决定系数、检测限和定量限

名称	MI	CMI
曲线方程	$y=0.1714x-0.1104$	$y=0.0906x-0.0382$
决定系数(R^2)	$R^2=0.9992$	$R^2=0.9995$
检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	0.007	0.012
定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	0.024	0.039

2.8 方法精密度

在相同测试条件下,分别对1[#]和2[#]样品连续进行5次平行试验。结果如表6所示。结果表明,2个样品MI的RSD均在3%以内,而CMI均在10%以内,表明该方法的精密度较好。

表 6 精密度试验结果

样品	组分	mg/kg					平均值	RSD/%
		1	2	3	4	5		
1 [#]	MI	2.92	2.98	3.01	2.95	3.01	2.97	1.32
	CMI	0.63	0.68	0.64	0.71	0.69	0.67	5.06
2 [#]	MI	1.31	1.34	1.38	1.33	1.36	1.34	2.01
	CMI	0.25	0.29	0.31	0.27	0.28	0.28	7.99

2.9 回收率、检测限及定量限

按照低、中、高 3 个不同水平分别在样品中加入不同质量的 MI 和 CMI,并计算方法的加标回收率。测试结果如表 7 所示。结果表明,MI 和 CMI 的回收率分别在 96.33%~107.62%和 92.59%~102.44%范围内,说明该方法具有较好的回收率,适合烟用接装纸中 MI 和 CMI 质量浓度的测定。

表 7 回收率试验结果

样品	组分	实际质量/ μg	加入质量/ μg	测试值/ (μg·g ⁻¹)	回收率/ %
1 [#]	MI	1.5162	0.4785	2.0225	105.81
			1.0599	2.6569	107.62
			2.1028	3.5418	96.33
CMI	0.3420	0.1106	0.4553	102.44	
		0.1844	0.5151	93.88	
		0.3687	0.6919	94.90	
2 [#]	MI	0.6516	0.2785	0.9505	107.33
			0.5599	1.1979	97.57
			1.1028	1.7988	104.03
CMI	0.1362	0.0862	0.2172	93.97	
		0.1244	0.2554	95.82	
		0.2187	0.3387	92.59	

2.10 样品测试

采用上述方法对剩余 10 个日常使用的烟用接装纸中 MI 和 CMI 的质量分数进行测试,结果如表 8 所示。结果表明,有 2 个样品未检出 MI,其他样品中 MI 质量分数范围在 0.05~2.12 mg/kg,4 个样品中 CMI 质量分数均在 0.1 mg/kg 以下,其余 6 个样品并未检出 CMI,说明所测接装纸样品在 MI 和 CMI 方面控制较好。

表 8 烟用接装纸中 MI 和 CMI 的质量分数

样品	w(MI)/ (mg·kg ⁻¹)	w(CMI)/ (mg·kg ⁻¹)	样品	w(MI)/ (mg·kg ⁻¹)	w(CMI)/ (mg·kg ⁻¹)
3 [#]	0.91	0.08	8 [#]	N. D.	N. D.
4 [#]	1.31	0.04	9 [#]	0.08	N. D.
5 [#]	N. D.	0.05	10 [#]	0.10	N. D.
6 [#]	2.12	N. D.	11 [#]	1.50	N. D.
7 [#]	0.05	N. D.	12 [#]	2.07	0.07

注:“N. D.”表示未检出。

3 结论

利用 GC-MS 建立了烟用接装纸中 MI 和 CMI 质量分数的检测方法,在测试质量分数范围内,两者的标准曲线的线性相关性良好,MI 和 CMI 的相对标准偏差(RSD)分别在 3%和 10%以内,回收率分别在 96.33%~107.62%和 92.59%~102.44%范围内。该方法具有定量准确、重复性和回收率较好等特点,适用于检测烟用接装纸中 MI 和 CMI 的质量分数。

参考文献

- [1] 王向辉,贺永宁,盘茂东,等.异噻唑啉酮类衍生物的合成及应用研究进展[J].海南大学学报(自然科学版),2008,26(4):372-377.
- [2] 陈艺彩,谢小保,施庆珊,等.异噻唑啉酮衍生物类工业杀菌剂的研究进展[J].精细与专用化学品,2010,18(1):43-46.
- [3] Thyssen J P, Sederberg-Olsen N, Thomsen J F, et al. Contact dermatitis from methylisothiazolinone in a paint factory[J]. Digest of the World Core Medical Journals: Dermatology, 2006, 9(2):42-43.
- [4] 林芳,毛树禄,陈斌,等.皮革中异噻唑啉酮防霉剂的检测方法[J].中国皮革,2011,40(7):5-10.
- [5] GB 9685—2016 食品安全国家标准.食品接触材料及制品用添加剂使用标准[S].北京:中国标准出版社,2017-10-19.
- [6] 林日,谭晓玉,刘凤娟,等.HPLC 测定水性建筑涂料乳液中异噻唑啉酮类杀菌剂[J].中国涂料,2017,(6):65-70.
- [7] 武婷,王超,王星,等.反相高效液相色谱法测定化妆品中的 24 种防腐剂[J].分析化学,2007,35(10):1439-1443.
- [8] 周晓,叶长文,李小兰,等.液相色谱-串联质谱法测定烟用纸张中 3 种异噻唑啉酮类杀菌剂[J].烟草科技,2016,49(8):57-63.
- [9] 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].北京:中国质检出版社,2014-03-01.
- [10] 张聪,黄金凤,蔡玮红,等.UPLC-MS/MS 法同时测定食品接触纸包装材料中的异噻唑啉酮类和氯酚类杀菌防腐剂[J].现代食品科技,2015,31(6):303-308.
- [11] Rafoth, Astrid, Gabriel, Sabine, Sacher, Frank, et al. Analysis of isothiazolinones in environmental waters by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr A 2007, 1164(1-2):74-81.
- [12] 韩书磊,李中皓,陈欢,等.分散固相萃取-气相色谱-质谱联用法同时测定卷烟烟丝中的 3 种保润剂[J].烟草科技,2014,1:49-52.
- [13] Gstiffo Frenich A, Martínez Vidal J L, Fernández Moreno J L, et al. Compensation for matrix effects in gas chromatography-tandem mass spectrometry using a single point standard addition [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(23):4798-4808.
- [14] Wu W J, Ashley D L, Watson C H. Determination of nicotine and other minor alkaloids in international cigarettes by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2002, 74(19):4878-4884. ■