DOI:10.12441/spyswjs.20250126001 [文章编号] 1673-1689(2025)03-0142-11

亲水相互作用液相色谱-串联质谱法快速测定乳粉中异噻唑啉酮类药物残留量

吴剑平 张亦菲 张 婧 吴雨珊 严 凤 黄士新*

(上海动物疫病预防控制中心,上海 200124)

摘要:【目的】建立乳粉中3种异噻唑啉酮类药物残留量的液相色谱-串联质谱快速检测方法。**【方法】**试样经乙腈提取2次,合并提取液后经Waters Prime HLB小柱富集净化,洗脱液采用Waters BEH HILIC(2.1 mm×100 mm×1.7 μm)亲水相互作用色谱柱分离后,以串联四极杆质谱检测器分析,同位素内标法定量。**【结果】**3种异噻唑啉酮药物在2.5~250.0 μg/kg范围内线性良好(r≥0.995),检测限(LOD)均为4 μg/kg,定量限(LOQ)均为10 μg/kg。在试样中进行三水平添加回收试验,3种药物的添加回收率为80.5%~94.3%,批内变异系数为3.52%~10.95%,批间变异系数为6.64%~9.67%。**【结论】**该方法操作简便,仪器分析时间短,方法灵敏度高,且具有较高的准确度与精密度,适用于乳粉中3种异噻唑啉酮类药物的检测。

关键词:异噻唑啉酮;乳粉;固相萃取;亲水相互作用色谱;同位素内标法

Rapid Determination of Isothiazolinone Residues in Milk Powder by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

*WU Jianping ZHANG Yifei ZHANG Jin WU Yushan YAN Feng HUANG Shixin**

(Shanghai Animal Disease Control Center, Shanghai 200124, China)

Abstract: [**Objective**] A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was developed for rapid determination of 3 isothiazolinone residues in milk powder. [**Method**] Each sample was extracted twice with acetonitrile, and the extract was purified and enriched by Waters Prime HLB. The eluate was separated on a Waters BEH HILIC column (2.1 mm×100 mm×1.7 μm) and determined by quadrupole-MS/MS, and an isotopic internal standard method was employed for quantitation.[**Result**] The 3 isothiazolinones showed with good linearity (r≥0.995) within the range from 2.5 μg/kg to 250.0 μg/kg. The limits of detection (LOD) and the limits of qualification (LOQ) for the 3 isothiazolinones were 4 μg/kg and 10 μg/kg, respectively. The spiked recovery tests at three levels were conducted for the samples, and the spiked recoveries of the 3 isothiazolinones varied between 80.5% and 94.3%. The intra-batch and inter-batch coefficients of variation were 3.52%~10.95% and 6.64%~9.67%, respectively. [**Conclusion**] This method, with simple operation, short analysis time, high sensitivity, high accuracy, and high precision, is suitable for the determination of 3 isothiazolinone residues in milk powder.

Keywords: isothiazolinone; milk powder; solid-phase extraction; hydrophilic interaction liquid chromatography; isotopic internal standard method

异噻唑啉酮类化合物是一类具有异噻唑啉酮环结构的化合物[1-2],因其具有广谱高效的杀菌抑菌作用且易于降解,因此常被应用于洗护用品[3-5]、塑料制品[6-7]和工业防腐剂[8-9]等领域,然而目前有

基金项目:上海市科技兴农项目(2022-02-08-00-12-F01100)。

通信作者:黄士新(1969—),男,硕士,农业技术推广研究员,主要从事畜牧投入品质量安全监管。E-mail:yans08@163.com

收稿日期:2025-01-26 **修回日期:**2025-03-14

研究表明在畜禽饲料添加剂和水产养殖饲料添加剂中有大量该类物质[10-11]被检出。该类化合物中目前最常见的包括甲基异噻唑啉酮（2-methyl-4-isothiazolin-3-one，MIT）、甲基氯异噻唑啉酮（5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one，CIT）和噻霉酮（1，2-benzisothiazolin-3-one，BIT）。有研究表明[12-13]，该类化合物的抗菌防腐机理主要来自其分子中的N—S键，其可与微生物细胞内的含硫分子发生相互作用导致N—S键断裂，形成新的S—S二硫键，从而破坏细胞活性，达到抑菌效果，但是这种抑制细胞活性的特征并不具备高度选择性，对动物和人体细胞也具有一定的毒性[14-15]。在研究中发现有因职业接触而造成严重急性中毒损伤死亡的案例发生[16]，也有其造成接触部位强烈不适和过敏反应的报道[17-18]，对环境的影响和生态毒性已经引起了多方的重视[12,19]。有研究者认为[20]，目前我国在食品用洗涤剂中添加的防腐剂也应归属于食品添加剂中添加的防腐剂范畴，但异噻唑啉酮类并未被GB 2760—2024《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》收录，也同样并未被GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》和GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》收录，意味着其安全性并未被食品、农药和兽药领域所接受，不应用于这些领域。欧盟消费者安全科学委员会（Scientific Committee on Consumer Safety，SCCS）的前身原化妆品与非食品消费品科学委员会（Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products，SCCNFP）于2003—2004年对其进行了安全评估并给出了其作为防腐剂使用的限量值为100 mg/kg[21-22]。2013—2015年，SCCS重启评估并发布了最新的风险评估报告SCCS/1521/13、SCCS/1557/15，推翻了原来的结论，认为化妆品中其安全限量值为15 mg/kg。而作为正式法规文件发布的限量标准欧盟EU2015/2116、欧盟EU 2015/2117中关于36个月以下儿童玩具及其他可以放入口中的玩具中MIT、CIT和BIT的限量标准分别为0.25、0.75、1.50 mg/kg；而我国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卫生标准》规定此三者的特定迁移限量分别为0.5 mg/kg、不得检出（LOD＝0.01 mg/kg）和1.2 mg/kg。综上所述，出于安全考虑应建立乳粉中异噻唑啉酮类化合物的残留量检测方法，以实现从源头管控其流入市售乳粉与乳制品的可能。

现有的针对异噻唑啉酮类化合物的分析方法主要有紫外分光光度法[23]、液相色谱法[24-26]、气相色谱法[27-28]，液相色谱-串联质谱法[10-11]和气相色谱-串联质谱法[29-30]等。其中紫外分光光度法建立时间最早且应用最成熟，但其主要用途是在单一原料或制剂中进行鉴别和含量分析；液相色谱法结合紫外检测器可以同时对多种异噻唑啉酮类衍生物进行定量分析，但其检测灵敏度只能达到1 mg/kg以上，且基质复杂时易受干扰；气相色谱法的分离能力比液相色谱更强，但其检测灵敏度与液相色谱法相近，难以应付诸如乳粉或乳制品类复杂基质中残留分析的要求；质谱作为一种新型的特异性质量分析器，若结合前端的液相色谱分离或气相色谱分离，可广泛应用于复杂基质中的残留化合物检测，其检测灵敏度一般可达0.01 mg/kg甚至更低[31-32]。有研究表明[33]，在复杂的饲料基质中，采用特异性更强的高分辨质谱筛查可以发现异噻唑啉酮药物，其筛查LOD可达100 mg/kg，能够满足饲料中检出此类药物的灵敏度要求。但乳粉中的异噻唑啉酮类药物残留量远低于此，目前尚未见到有关乳粉中使用液质联用方法进行异噻唑啉酮类药物检测的相关文献。作者建立的方法具有灵敏度更高、特异性好的特征，解决了原有方法未涉及的乳粉中异噻唑啉酮类化合物检测的难题。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　材料、药品与试剂

MIT对照品（CAS No 2682-20-4，批号ALT 803079，纯度99.6%）、MIT-D_3同位素内标溶液（CAS No 1329611-34-8，批号S169349，100 μg/mL）、CIT对照品（CAS No 26172-55-4，批号ALT098077-2，纯度99.9%）、CIT-D_3同位素内标溶液（CAS No 26172-55-4，批号S169349，100 μg/mL）、BIT对照品（CAS No 2634-33-5，批号FS1613324，纯度98%）、BIT-$^{13}C_6$（CAS No 1329616-16-1，批号S181243，100 μg/mL）：天津阿尔塔科技有限公司；牛乳粉样品（FX2024101101、FX2024101102、FX2024101103）：市售；甲醇、乙腈、甲酸、正己烷：德国Merk公司；无水

硫酸镁、氯化钠：上海安谱科技有限公司；100~200目C18粉末、PSA粉末：美国安捷伦科技有限公司；100~200目氧化铝粉末、硅胶粉末、弗罗里硅藻土粉末：国药集团化学试剂有限公司；去离子水（电阻率≥18 MΩ·cm）：作者所在实验室自制。

1.1.2 仪器与设备

超高效液相色谱串联四极杆质谱仪：Ultimate 3000RS型、TSQ Quantivia型，美国Thermo Fisher Scientific公司；Xcalibur控制软件及数据处理系统；高速冷冻离心机：X1R型美国Thermo Fisher Scientific公司；精密电子天平：EX125ZH型，美国OHAUS公司（常州）；电子天平：PL202-L型，瑞士Mettler Toledo公司。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱：亲水相互作用色谱分析柱Waters BEH HILIC（2.1 mm×100 mm×1.7 μm）；柱温：30 ℃；流量：0.25 mL/min；进样量：5 μL；流动相：A为25 mmol/L甲酸铵水溶液（pH 3.51），B为乙腈溶液。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Table 1 Procedure of gradient elution

时间/min	流动相A体积分数/%	流动相B体积分数/%
0	5	95
1.00	5	95
3.00	20	80
5.00	20	80
5.01	5	95
8.00	5	95

1.2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源H-ESI$^+$模式，电离电压+4 500 V，辅助气（aux gas）流量8 L/min，鞘气（sheath gas）压力380 kPa，吹扫气（sweep gas）流量0.4 L/min，离子传输管（ion transfer tube）温度350 ℃，雾化器（vapourizer）温度350 ℃，检测模式为选择反应监控（selected reaction monitor，SRM）模式，一、二级离子半峰宽均设为相对分子质量700，具体质谱条件参数见表2。

表2 质谱选择反应监控参数

Table 2 Parameters of selected reaction monitoring mass spectrometry

化合物	电离模式	母离子（*m*/*z*）	子离子（*m*/*z*）	碰撞能量/eV	透镜电压/V
MIT	ESI$^+$	116.1	71.0	21	58.0
			98.0	19	
			101.1*	24	
MIT-D_3	ESI$^+$	119.1	101.0*	21	121.7
CIT	ESI$^+$	150.2	87.0*	37	108.6
			115.0	20	
			119.0	21	
CIT-D_3	ESI$^+$	153.2	87.0*	40	88.1
BIT	ESI$^+$	152.0	105.0*	23	87.3
			109.0	22	
			134.0	23	
BIT-$^{13}C_6$	ESI$^+$	158.1	115.0*	22	94.0

注：带*为定量离子对。

1.2.3 前处理条件

称取均质后的样品4.00 g置于50 mL试管中，加入乙腈10 mL，摇匀后依次加入5 g NaCl和5 g无水硫酸镁，振荡提取5 min，4 ℃下于9 000 r/min高速离心3 min。取上清液置于50 mL试管中，加入6 mL乙腈清洗剩余残渣并振荡混匀3 min，于4 ℃下再次9 000 r/min高速离心3 min。合并2次上清液，取4 mL经1 g C18粉末净化，9 000 r/min高速离心3 min后取上清液1 mL，过0.22 μm PTFE滤膜后上机测定。

1.2.4 标准溶液的制备

分别称取3种异噻唑啉酮类化合物对照品各10.0 mg，置于100 mL容量瓶中，以甲醇溶解并定容至刻度，即100 μg/mL标准储备液；分别取3种

异噻唑啉酮化合物标准储备液1.00 mL至同一100 mL容量瓶中，以乙腈稀释并定容至刻度，即1 μg/mL混合标准中间液；分别取1.00 mL的3种同位素内标储备液（100 μg/mL）至同一容量瓶中，以乙腈稀释并定容至刻度，即1 μg/mL 3种同位素内标混合中间液。

1.2.5　方法灵敏度试验

目前国内外尚未建立乳粉中异噻唑啉酮类化合物的限量标准，因此参考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卫生标准》中对此3种化合物的相关限量标准中最严格者执行，要求不得检出（LOD=0.01 mg/kg），而本方法验证LOD为0.004 mg/kg和LOQ为0.01 mg/kg。具体方法为：取3份均质后的空白乳粉样品作为空白基质，分别添加0.004 mg/kg和0.01 mg/kg的CIT、MIT和BIT作为阳性添加样品，分别按1.2.3前处理条件和色谱、质谱条件进行检测分析。以3种化合物的定量离子对通道的峰面积点对点方式计算信噪比（*S*/*N*），以LOD是否大于3和LOQ是否大于10作为其是否满足灵敏度要求的依据。

1.2.6　线性定量范围

取1 μg/mL混合标准中间液和1 μg/mL的3种同位素内标混合中间液，以乙腈将3种同位素内标物质量浓度稀释为25 ng/mL，3种异噻唑啉酮质量浓度为2.5、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0、250.0 ng/mL的标准曲线系列溶液，按1.2.1和1.2.2仪器条件进行分析，以目标物质量浓度为横轴，以目标物与对应同位素内标化合物的面积比为纵轴，绘制同位素内标校准曲线，考察其线性相关系数。

1.2.7　方法准确度与精密度试验

选择3批不同来源乳粉样品，添加1 μg/mL混合标准中间液和1 μg/mL的3种同位素内标混合中间液，制得同位素内标质量分数均为100 μg/kg，3种异噻唑啉酮化合物质量分数分别为10、20、200 μg/kg的空白基质添加样品，按1.2.3的前处理条件进行提取和净化，按1.2.1和1.2.2的仪器条件上机测定，按内标法计算样品中各组分质量分数并计算回收率，对3个批次乳粉的批内6份平行样品计算回收率均值和变异系数，以评价方法的准确度和精密度。

1.2.8　基质效应试验

称取均质后的空白乳粉4.00 g，按1.2.3前处理条件进行预处理后获得空白基质溶液，分别取适量3种异噻唑啉酮化合物标准储备液，用空白基质溶液稀释至25 ng/mL作为基质添加标准品溶液，另取3种异噻唑啉酮化合物标准储备液以体积分数0.1%甲酸溶液稀释至25 ng/mL作为纯溶剂标准品溶液，按1.2.1和1.2.2仪器条件对其进行上机检测。考察基质效应（matrix effect）是否能达到85%~115%。

$$E_m=\frac{A_1}{A_0}\times 100\%$$

式中：

E_m——基质效应，%；

A_1——基质添加标准品溶液中目标峰面积；

A_0——纯溶剂标准品溶液中目标峰面积。

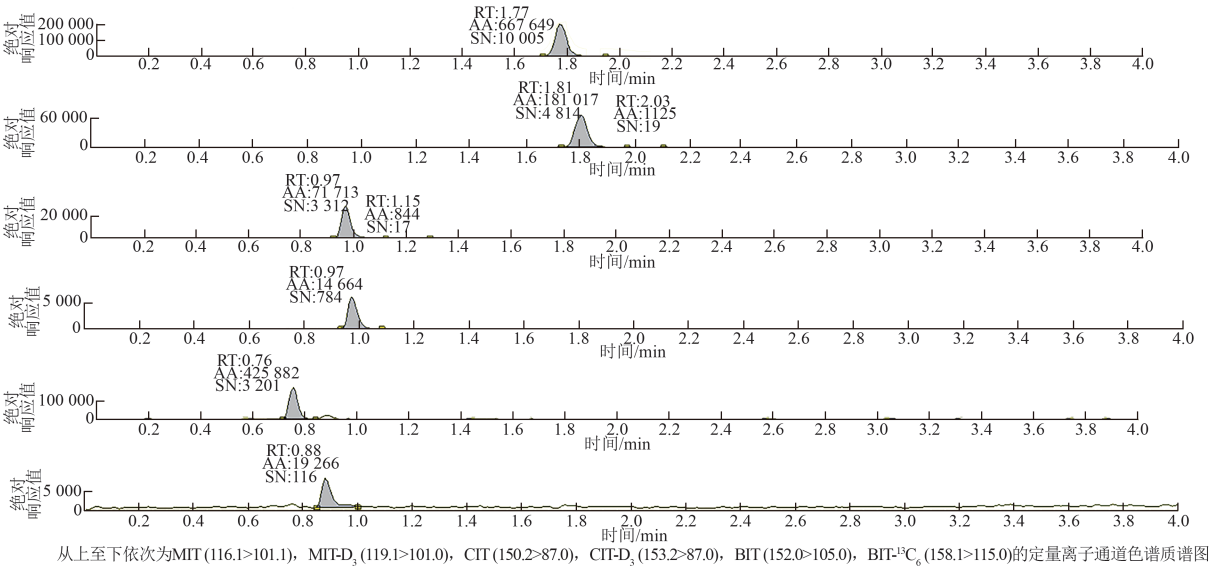
1.2.9　数据处理

所有试验均经2次重复进样采集，目标峰均以仪器自带软件Xcalibur数据处理系统进行自动积分，不做平滑处理，以内标工作曲线进行定量后计算质量分数，参照其稀释倍数、称量值和目标物添加质量分数计算添加回收率、批内与批间均值以及相应的变异系数，以论证方法的各项适应性参数。

2　结果与讨论

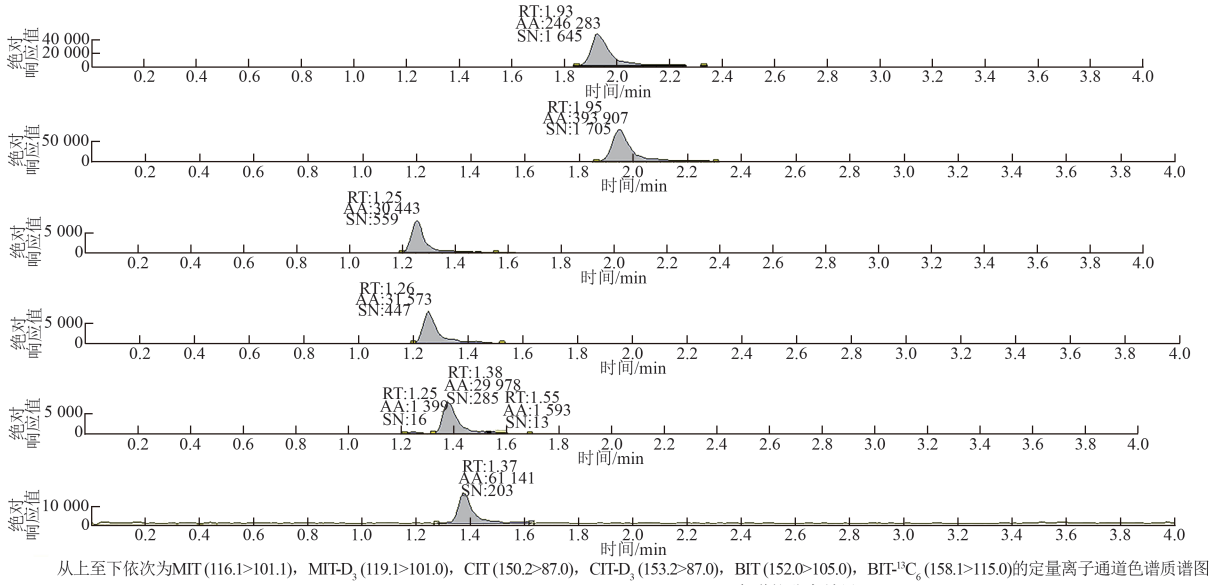
2.1　色谱条件的优化结果

分别比较了Thermo Hypersil Gold Silica（100 mm×2.1 mm×1.9 μm）、Thermo Hypersil Gold Amino（150 mm×2.1 mm×1.9 μm）、Waters BEH Amide（100 mm×2.1 mm×1.7 μm）、Thermo Accucore HILIC（100 mm×2.1 mm×2.6 μm）和Waters BEH HILIC（100 mm×2.1 mm×1.7 μm）这5款亲水相互作用机理色谱柱，采用相同的流动相和洗脱程序，对3种异噻唑啉酮类化合物的色谱行为进行比较，以确定最佳色谱条件，各种条件下获得的色谱质谱图见图1。结果表明，使用Waters BEH HILIC（100 mm×2.1 mm×1.7 μm）可以获得更好的色谱保留时间和峰型对称性，推测可能与该色谱柱的填料具有更小的粒径和更低的非特异性吸附有关，因此选择其作为本方法的固定相。亲水相互作用色谱法可选用乙腈和缓冲盐溶液作为流动相，本研究后端接质谱需使用具有挥发性且不易沉积的缓冲盐作为洗脱液，因此选用了25 mmol/L甲酸铵水溶液，分别用甲酸将其pH调节为2.5、3.5、5.7进行了比较，未发现有显著变化，因此选用了25 mmol/L甲酸铵水溶液（pH 3.51）和乙腈作为流动相。



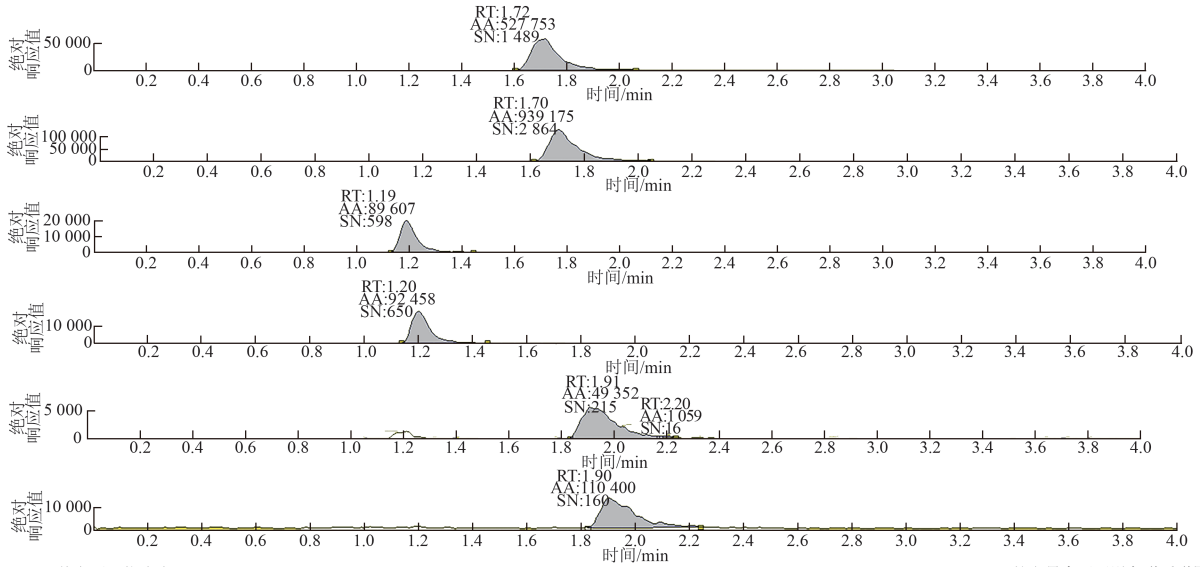
从上至下依次为MIT (116.1>101.1)，MIT-D_3 (119.1>101.0)，CIT (150.2>87.0)，CIT-D_3 (153.2>87.0)，BIT (152.0>105.0)，BIT-$^{13}C_6$ (158.1>115.0)的定量离子通道色谱质谱图。

(a) Thermo Hypersil Gold Silica色谱柱分离效果



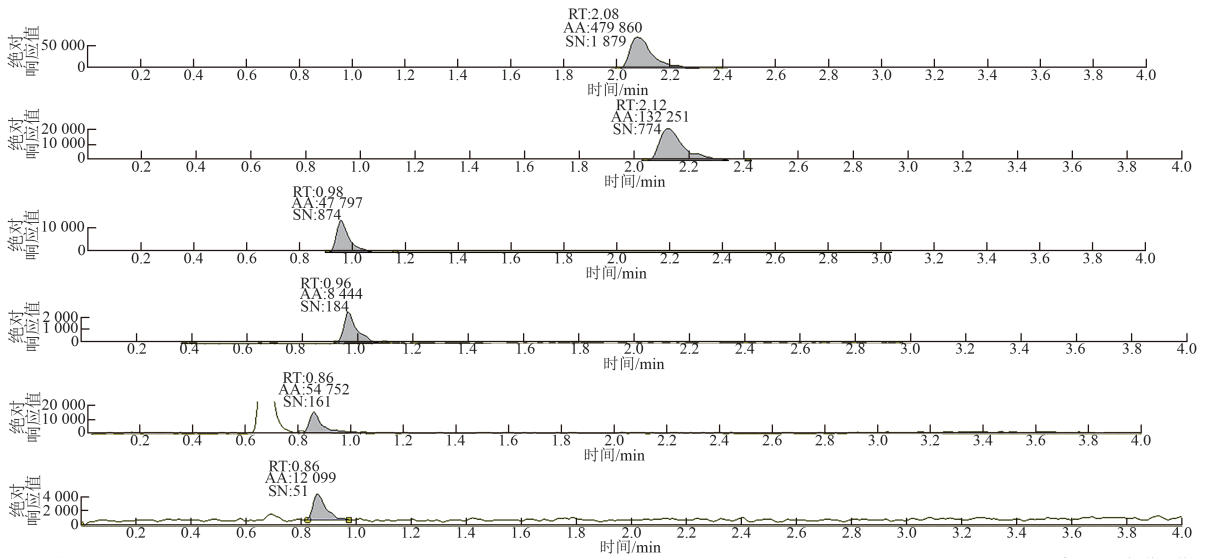
从上至下依次为MIT (116.1>101.1)，MIT-D_3 (119.1>101.0)，CIT (150.2>87.0)，CIT-D_3 (153.2>87.0)，BIT (152.0>105.0)，BIT-$^{13}C_6$ (158.1>115.0)的定量离子通道色谱质谱图。

(b) Thermo Hypersil Gold Amino色谱柱分离效果



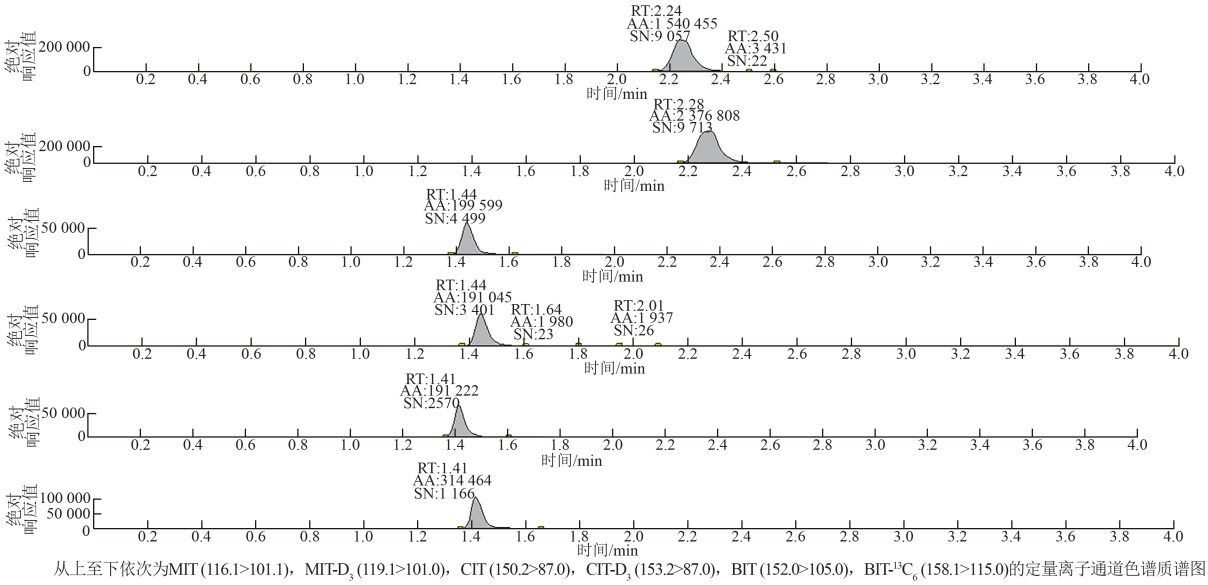
从上至下依次为MIT (116.1>101.1)，MIT-D_3 (119.1>101.0)，CIT (150.2>87.0)，CIT-D_3 (153.2>87.0)，BIT (152.0>105.0)，BIT-$^{13}C_6$ (158.1>115.0)的定量离子通道色谱质谱图。

(c) Waters BEH Amide色谱柱分离效果



从上至下依次为MIT (116.1>101.1)，MIT-D_3 (119.1>101.0)，CIT (150.2>87.0)，CIT-D_3 (153.2>87.0)，BIT (152.0>105.0)，BIT-$^{13}C_6$ (158.1>115.0)的定量离子通道色谱质谱图。

(d) Thermo Accucore HILIC色谱柱分离效果



从上至下依次为MIT (116.1>101.1)，MIT-D_3 (119.1>101.0)，CIT (150.2>87.0)，CIT-D_3 (153.2>87.0)，BIT (152.0>105.0)，BIT-$^{13}C_6$ (158.1>115.0)的定量离子通道色谱质谱图。

(e) Waters BEH HILIC色谱柱分离效果

图1　不同色谱柱对3种异噻唑啉酮类化合物的分离效果图

Fig. 1　Separation effects of different columns for 3 isothiazolinones

2.2　前处理条件的优化结果

比较了水、甲醇、乙腈、酸性甲醇和碱性甲醇作为提取溶剂对生鲜乳中3种异噻唑啉酮类化合物的提取效率的影响，结果见表3。结果表明，乙腈对乳粉中的3种异噻唑啉酮类化合物的提取效率最高，因此选择乙腈作为提取溶剂对样品进行分次提取以获得最佳的提取效率。

对净化方式进行了优化，比较了中性氧化铝、弗罗里硅藻土、硅胶、C18和PSA粉末分散固相萃取材料对提取液的净化效果，结果见表4。试验结果表明，使用正相色谱机理的中性氧化铝、弗罗里硅藻土和硅胶对CIT有较强的吸附作用，导致其绝对回收率显著低于C18和PSA，而C18所获得的结果变异系数较小，试验过程中所获得的净化后液体的澄清度高，说明其具有更佳的除蛋白质、脂肪和磷脂的效果，因此选择其进行净化处理。

2.3　方法灵敏度试验结果

按1.2.5试验方法，向3批乳粉中分别添加LOD和LOQ水平的3种异噻唑啉酮类化合物后进行测定，结果见表5。LOD添加水平的信噪比均大于3，LOQ水平的信噪比均大于10。试验结果表明，该方法的LOD可达4 μg/kg，LOQ可达10 μg/kg。

表 3 不同溶剂对乳粉中 3 种异噻唑啉酮类化合物的提取效率比较（n=3）

Table 3 Extraction efficiency of different solvents for 3 isothiazolinones in milk powder（n=3）

提取溶剂	化合物	质量分数/（μg/kg）	绝对回收率/%	RSD/%
水	MIT	50	33.38	3.21
	CIT	50	58.39	4.94
	BIT	50	48.75	2.72
甲醇	MIT	50	26.74	2.18
	CIT	50	48.53	2.21
	BIT	50	78.81	4.33
乙腈	MIT	50	97.69	0.87
	CIT	50	101.21	1.96
	BIT	50	98.35	1.21
酸性甲醇	MIT	50	21.31	3.23
	CIT	50	66.93	2.12
	BIT	50	72.15	1.96
碱性甲醇	MIT	50	18.58	7.21
	CIT	50	68.81	4.51
	BIT	50	70.12	1.20

表 4 不同净化柱对乳粉中 3 种异噻唑啉酮类化合物的回收率比较（n=3）

Table 4 Recoveries of 3 isothiazolinones in milk powder by different dispersed solid phase materials（n=3）

分散固相材料	化合物	质量分数/（μg/kg）	绝对回收率/%	RSD/%
中性氧化铝	MIT	50	13.38	13.21
	CIT	50	9.21	14.26
	BIT	50	65.68	12.72
弗罗里硅藻土	MIT	50	8.17	16.63
	CIT	50	9.93	21.10
	BIT	50	78.64	14.14
硅胶	MIT	50	4.32	16.67
	CIT	50	5.11	21.86
	BIT	50	81.05	11.72
PSA	MIT	50	68.61	7.21
	CIT	50	65.63	8.23
	BIT	50	95.59	5.75
C18	MIT	50	89.53	3.98
	CIT	50	91.27	2.19
	BIT	50	86.64	3.63

2.4 方法线性范围测定结果

按 1.2.6 线性定量范围测定方法绘制同位素内标校准曲线，所得曲线方程见表 6。在 10~1 000 μg/kg 范围内该方法线性相关系数均大于 0.995。试验结果表明，该方法对 3 种异噻唑啉酮类化合物在质量分数 10~1 000 μg/kg 范围内具有良好的线性关系。

表 5 方法灵敏度实验结果（n=3）

Table 5 Sensitivity test results（n=3）

化合物	S/N（LOD 添加 4 μg/kg）	S/N（LOQ 添加 10 μg/kg）
MIT	78	149
CIT	257	651
BIT	31	68

表 6 线性关系范围测定结果

Table 6 Linearity test results

化合物	质量分数/（μg/kg）	进样质量浓度/（ng/mL）	线性方程	r
MIT	10~1 000	2.5~250.0	y=0.298 5x−0.010 99	0.999 5
CIT	10~1 000	2.5~250.0	y=0.053 55x−0.012 55	0.996 1
BIT	10~1 000	2.5~250.0	y=0.231 8x−0.084 70	0.996 8

2.5 方法准确度与精密度测定结果

选取批号为 FX2024101101、FX2024101102 和 FX2024101103 的 3 批次乳粉样品按 1.2.7 试验方法进行添加回收试验，3 种异噻唑啉酮类化合物添加质量分数分别为 10、20、200 μg/kg，以 2.4 制得同位素内标校准曲线进行定量，计算相对回收率，批内批间统计结果见表 7。该方法测定批内回收率均值为 80.5%~94.3%，批内变异系数为 3.52%~10.95%，批间回收率均值为 84.5%~91.0%，批间变异系数为 6.64%~9.67%。试验结果表明，该方法均有良好的准确度与精密度，满足同时测定乳粉中 3 种异噻唑啉酮类药物的要求。

2.6 基质效应试验结果

取批号为 FX2024101101、FX2024101102 和 FX2024101103 的 3 批次牛乳粉样品，按 1.2.8 中方法进行基质效应测定试验。在选取的 3 批次乳粉样品中检测到 CIT、MIT 和 BIT 的基质效应分别为 67.5%、74.8% 和 63.2%。试验结果表明，该方法下乳粉对 3 种异噻唑啉酮类化合物具有明显的抑制作用，因此选用同位素内标法定量以消除基质效应对检测结果的影响。

表7　方法准确度与精密度测定结果（n=6）

Table 7　Test results of method accuracy and precision（n=6）

化合物	质量分数/（μg/kg）	批号	批内回收率均值/%	批内变异系数/%	批间回收率均值/%	批间变异系数/%
MIT	10	1	87.8	10.95	89.7	9.23
		2	86.9	10.93		
		3	94.3	3.52		
	20	1	88.8	6.14	89.2	6.64
		2	86.8	8.47		
		3	91.9	4.82		
	200	1	84.3	9.15	85.6	8.22
		2	83.0	5.63		
		3	89.6	8.52		
CIT	10	1	86.5	10.17	86.6	8.14
		2	87.3	6.90		
		3	85.9	8.54		
	20	1	88.6	5.56	89.7	6.70
		2	92.1	5.98		
		3	88.4	8.61		
	200	1	89.9	7.64	84.5	7.95
		2	83.0	7.59		
		3	80.5	3.71		
BIT	10	1	90.6	7.91	88.9	9.67
		2	84.3	9.56		
		3	91.9	10.63		
	20	1	91.8	3.90	87.4	7.69
		2	85.0	8.83		
		3	85.3	8.18		
	200	1	88.3	8.10	91.0	7.61
		2	93.7	7.29		
		3	91.1	7.62		

2.7　讨论

亲水相互作用色谱法比传统反相色谱固定相对强极性化合物具有更高的保留和柱效，有利于对该类物质进行分离，同时对原本难以洗脱的低极性杂质诸如磷脂、乳脂等具有非常弱的保留，因此可以大大提高残留检测方法的灵敏度和耐用性，能够解决乳粉中基质干扰较强、不易分析异噻唑啉酮类化合物痕量残留的难题。这对乳粉类样品残留组分检测分析十分有利：一方面可以通过对强极性化合物的保留来改善这些化合物的色谱表现，另一方面也可以减轻净化后样品中仍残存的一部分低极性杂质对色谱柱使用寿命的影响，增强该方法的耐用性。尤其考虑到本研究所涉及的异噻唑啉酮化合物相对分子质量较小、沸点较低等不宜加热浓缩的特征，采用分散固相萃取结合亲水相互作用色谱法可省去提取液净化后的溶剂置换环节，直接用高比例乙腈的净化后提取液进样测定。这不仅减少了操作步骤、提高了检测

工作效率，也减少了溶剂置换环节带来的损失和误差，是本研究区别于传统液质检测方法的关键创新点。考虑到该方法简便、快速、准确的特点，在下一步的研究中会尝试对基质干扰较强的诸如畜禽肉、奶或蛋等常规动物可食性组织进行方法研究和优化，以杜绝异噻唑啉酮类化合物向食品迁移的途径。

3 结论

作者采用分散固相萃取结合亲水相互作用液相色谱-串联质谱法建立了3种异噻唑啉酮类药物在乳粉中的残留检测方法，该方法具有良好的特异性、灵敏度、准确度、精密度和耐用性，适用于乳粉中3种常见异噻唑啉酮类化合物的残留量检测，可有效防止该类风险物质通过原料乳粉流入其他食品中。

参考文献

[1] 苏哲，林庆斌，王钢力，等. 化妆品防腐剂甲基异噻唑啉酮的安全风险评估及技术法规要求最新进展[J]. 香料香精化妆品，2019(1)：77-82.
SU Z，LIN Q B，WANG G L，et al. A review on the latest development of safety risk assessment and technical regulation of cosmetic preservative methylisothiazolinone [J]. Flavour Fragrance Cosmetics，2019(1)：77-82.（in Chinese）

[2] 李世昌，张龚敏，敖晓娟，等. 异噻唑啉酮化合物的合成研究进展[J]. 合成材料老化与应用，2018，47(4)：120-123.
LI S C，ZHANG G M，AO X J，et al. Research progress of synthesis of isothiazolone compounds[J]. Synthetic Materials Aging and Application，2018，47(4)：120-123.（in Chinese）

[3] 宋青梅，杜丰. 超高效液相色谱法测定口腔护理产品中异噻唑啉酮类含量[J]. 日用化学工业，2023，53(9)：1108-1114.
SONG Q M，DU F. Determination of thiazolidinones in oral care products by ultra performance liquid chromatography [J]. China Surfactant Detergent and Cosmetics，2023，53(09)：1108-1114.（in Chinese）

[4] YANG Y C，YAN J，ZHAO H L B. Determination of three isothiazolinone preservatives in children's cosmetics by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Analytical Sciences，2019，35(1)：80-84.

[5] CHEN C，CUI C Z，GAO Y L，et al. Analysis of the use of isothiazolinones as preservatives in drench cosmetics [J]. Journal of Japanese Chemical Science，2022，45(3)：26-31，57.

[6] 刘萍，臧珊珊. 超高效液相色谱-串联质谱法测定泡泡液玩具中异噻唑啉酮类杀菌防腐剂[J]. 化学试剂，2020，42(5)：533-537.
LIU P，ZANG S S. Determination of isothiazolinone bactericides and preservatives in bubble liquid products by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chemical Reagents，2020，42(5)：533-537.（in Chinese）

[7] 姚帮本，包磊，韩枫，等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定湿巾中5种异噻唑啉酮类防腐剂[J]. 化学分析计量，2018，27(2)：9-13.
YAO B B，BAO L，HAN F，et al. Determination of 5 isothiazolinone preservatives in wet wipes by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chemical Analysis and Meterage，2018，27(2)：9-13.(in Chinese)

[8] 薛顺兰. 异噻唑啉酮化合物工业杀菌剂分析方法现状及发展[J]. 黑龙江造纸，2022，50(1)：40-43.
XUE S L. Development and status report of analytical methods for industrial fungicides of isothiazolinone compounds [J]. Paper Technology and Application，2022，50(1)：40-43.（in Chinese）

[9] 姬厚伟，张丽，刘剑，等. 异噻唑啉酮化合物工业杀菌剂分析方法的研究进展[J]. 化学试剂，2016，38(6)：523-527.
JI H W，ZHANG L，LIU J，et al. Progress on analytical method for isothiazolinone derivatives used as industrial biocides[J]. Chemical Reagents，2016，38(6)：523-527.（in Chinese）

[10] 张婧，吴剑平，王博，等. 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱检测饲料中异噻唑啉酮[J]. 养殖与饲料，2024，23(7)：15-19.
ZHANG J，WU J P，WANG B，et al. Determination of isothiazolinone in feed with ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Animals Breeding and Feed，2024，23(7)：15-19.（in Chinese）

[11] 吴雨珊，张婧，吴剑平，等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定添加剂预混合饲料中3种异噻唑啉酮杀菌剂的研究[J]. 饲料研究，2024，47(17)：138-143.
WU Y S，ZHANG J，WU J P，et al. Determination of three isothiazolinone fungicides in additive premixed feed by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Feed Research，2024，47(17)：

138-143.（in Chinese）

[12] 李琦，杨一洲，闫合．异噻唑啉酮及其衍生物的合成及生物活性综述[J]．应用化工，2024，53(7)：1658-1662，1667．
LI Q，YANG Y Z，YAN H．Review on synthesis and biological activity of isothiazolinone and its derivatives [J]．Applied Chemical Industry，2024，53(7)：1658-1662，1667．（in Chinese）

[13] 王磊，武绍峰，顾学斌．异噻唑啉酮类杀菌剂的应用研究[J]．工业微生物，2015，45(5)：60-64．
WANG L，WU S F，GU X B．Advances in research and application of isothiazolone biocides [J]．Industrial Microbiology，2015，45(5)：60-64．（in Chinese）

[14] 许玉洁，余明喧，黄叶梅，等．铜和异噻唑啉酮类化合物对大型溞的联合毒性研究[J]．环境科学学报，2022，42(12)：462-470．
XU Y J，YU M X，HUANG Y M．Joint toxicity of copper and isothiazolinones to Daphnia Magna[J]．Acta Scientiae Circumstantiae，2022，42(12)：462-470．（in Chinese）

[15] 周静，闫林林，薛超，等．新型异噻唑啉酮衍生物抑菌活性及作用机制研究[J]．化学与生物工程，2023，40(9)：46-50，64．
ZHOU J，YAN L L，XUE C，et al．Antibacterial activity and action mechanism of novel isothiazolinone derivatives[J]．Chemistry and Bioengineering，2023，40(9)：46-50，64．（in Chinese）

[16] 任兴华，沈瑞鹏，李延柠，等．职业性接触异噻唑啉酮致中毒性肝病死亡1例[J]．法医学杂志，2019，35(6)：769-771．
REN X H，SHEN R P，LI Y N，et al．One case of death from toxic liver disease caused by occupational exposure to isothiazolinone[J]．Journal of Forensic Medicine，2019，35(6)：769-771．（in Chinese）

[17] ABAD-GIL L，LUCAS-SANCHEZ S，GISMERA M J，et al．Determination of paraben-，isothiazolinone-and alcohol-type preservatives in personal care products by HPLC with dual(diode-array and fluorescence) detection [J]．Microchemical Journal，2021，160：105613．

[18] ZACHARIAE C，LERBK A，MCNAMEE P M，et al．An evaluation of dose/unit area and time as key factors influencing the elicitation capacity of methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone（MCI/MI）in MCI/MI-allergic patients[J]．Dermatology，2006（11）：49-50．

[19] 付旭锋，李圆圆，苏红巧，等．异噻唑啉酮类杀菌剂对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性[J]．生态毒理学报，2014，9(6)：1097-1103．
FU X F，LI Y Y，SU H Q，et al．Acute toxicity of isothiazolinone biocides to *Pelophylax nigromaculatus* embryos and tadpoles [J]．Asian Journal of Ecotoxicology，2014，9(6)：1097-1103．（in Chinese）

[20] 吴荣荣，李根容，龙梅，等．食品用洗涤剂中甲基异噻唑啉酮类防腐剂检测的必要性[J]．中国洗涤用品工业，2021(2)：91-94．
WU R R，LI R G，LONG M，et al．Necessity of detection of methyl isothiazolinone preservatives in food detergents[J]．China Cleaning Industry，2021(2)：91-94．（in Chinese）

[21] The Scientific Committee on Cosmetic Products Non- Food Products Intended For Consumers．SCCNFP/0625/02：Opinion concerning methylisothiazolinone[S/OL]．[2018-05-11]．http://ec.europa.en/health/ph_risk/commottees/sccp/document/out_201.pdf．

[22] The Scientific Committee on Cosmetic Products Non-Food Products Intended For Consumers．SCCNFP/ 0805/04：Opinion concerning methylisothiazolinone[S/OL]．[2018-05-11]．http://ec.europa.en/health/ph_risk/commottees/ sccp/documents/out270_en.pdf．

[23] 张建枚，潘亚男，白桦．UV法测定异噻唑啉酮衍生物活性物含量[J]．工业水处理，2011，31(5)：70-71，75．
ZHANG J M，PAN Y N，BAI H．Determination of the content of active substances in isothiazolone derivatives by UV spectrophotometry [J]．Industrial Water Treatment，2011，31(5)：70-71，75．（in Chinese）

[24] CHILBULE A，SINGH R，MANN B，et al．Development and validation of an analytical method for determination of bronopol and kathon preservative in milk[J]．Journal of Food Science and Technology，2019，56：3170-3176．

[25] 游金清，陆成飞，李茂松，等．涡旋辅助直接进样-高效液相色谱法测定烟用水基胶中3种异噻唑啉酮杀菌剂[J]．化学分析计量，2024，33(12)：35-40．
YOU J Q，LU C F，LI M S，et al．Analysis of 3 isothiazolinone preservatives in water-based adhesives for cigarette by vortex assisted direct injection and high performance liquid chromatography [J]．Chemical Analysis and Meterage，2024，33（12）：35-40．（in Chinese）

[26] 李倩，汤凯洁，冀坤霞，等．固相萃取-高效液相色谱法同时测定水产品中15种磺胺类药物残留[J]．食品与生物技术学报，2024，43(1)：36-47．
LI Q，TANG K J，YI K Z，et al．Simultaneous determination of 15 sulfonamides residues in aquatic products by solid phase extraction-high performance liquid

chromatography［J］. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（1）：36-47.（in Chinese）

［27］刘波，霍宗利，张婧婧. 气相色谱法测定湿巾中6种异噻唑啉酮类杀菌剂[J]. 环境卫生学杂志，2023，13（1）：60-63.
LIU B，HUO Z L，ZHANG J J. Determination of six isothiazolinone bactericides in wet wipes by GC［J］. Journal of Environmental Hygiene，2023，13（1）：60-63.（in Chinese）

［28］谢涵，兰义宾，向小凤，等. ‘公主白’干白葡萄酒关键香气物质分析[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（9）：116- 124.
XIE H，LAN Y B，XIANG X F. Analysis of key aroma compounds in ‘gongzhubai’ dry white wine[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（9）：116-124.（in Chinese）

［29］林君峰，徐添贵，沈雅蕾，等. GC/MS-MS法同时测定纺织品中7种异噻唑啉酮类抗菌剂[J]. 中国口岸科学技术，2021，3（9）：41-47.
LIN J F，XU T G，SHEN Y L，et al. Simultaneous determination of 7 isothiazolinone antibacterial agents in textiles by gas chromatography/tandem mass spectrometry［J］. China Port Science And Technology，2021，3（9）：41-47.（in Chinese）

［30］王成云，吴成锋，谢堂堂，等. 纺织品中7种异噻唑啉酮类杀菌剂的同时测定[J]. 针织工业，2022（3）：67-72.
WANG C Y，FENG J L，BAI S，et al. Simultaneous determination of seven isothiazolinone antibacterial agents in textiles[J]. Knitting Industries，2022（3）：67-72.（in Chinese）

［31］吴剑平，严凤，张婧，等. 分散固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法测定水产饲料中乙撑脲和乙撑硫脲残留量[J]. 中国饲料，2023（13）：106-112.
WU J P，YAN F，ZHANG J，et al. Determination of ethylene urea and ethylene thiourea residues in aquaculture feed by dispersive solid phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Feed，2023（13）：106-112.（in Chinese）

［32］徐曼，宋少龙，胡俊，等. QuEChERS结合超高效液相色谱-串联质谱法测定新疆馕制品中丙烯酰胺[J]. 食品与机械，2024，40（11）：61- 68.
XU M，SONG S L，HU J，et al. QuEChERS combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine acrylamide in Xinjiang Naan products[J]. Food & Machinery，2024，40（11）：61-68.

［33］吴剑平，严凤，张婧，等. 分散固相萃取结合UPLC-Orbitrap MS联用测定禽蛋中五氯苯酚残留量[J]. 中国兽药杂志，2021，55（4）：17-26.
WU J P，YAN F，ZHANG J，et al. Determination of pentachlorophenol residues in eggs by dispersive solid phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography-orbitrap mass spectrometry［J］. Chinese Journal of Veterinary Drug，2021，55（4）：17-26.（in Chinese）

（责任编辑：李春丽）