

毛细管电泳法同时测定复方化学消毒剂中醋酸洗必泰和苯扎氯铵

宋宝花^{1,2}, 丁晓静^{1,3*}, 李 佳^{1,3}, 王 志^{2*}

(1. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013; 2. 河北农业大学理学院,
河北 保定 071001; 3. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院, 北京 100069)

摘要: 建立了复方化学消毒剂中常用有效成分醋酸洗必泰和苯扎氯铵(C_{12} -BAC、 C_{14} -BAC 及 C_{16} -BAC) 同时分离测定的毛细管电泳(CE)方法。以 37 cm $\times$ 50 μ m 未涂层熔融石英毛细管为分离柱, 以 150 mmol/L 磷酸二氢钠-62.5 mmol/L 磷酸(pH 2.5)缓冲液(含体积分数为 40% 的乙腈)为分离缓冲溶液, 50 mmol/L 醋酸-乙腈(体积比为 1:1)为样品介质, 检测波长为 214 nm。方法的日内及日间精密度分别小于 3.0% 及 3.7%。醋酸洗必泰、 C_{12} -BAC、 C_{14} -BAC 及 C_{16} -BAC 的检出限(信噪比为 3)分别为 0.3、0.5、0.5、0.5 mg/L, 定量限(信噪比为 10)分别为 1.0、1.5、1.5 和 1.5 mg/L, 在 1.0 ~ 400、1.5 ~ 200、1.5 ~ 200 和 1.5 ~ 200 mg/L 范围内 4 种有效成分的校正峰面积与相应质量浓度均具有良好的线性关系, 相关系数分别为 0.999 5、0.999 8、0.999 7 和 0.999 8。加标回收率为 93.83% ~ 104.97%。将该法用于实际样品分析, 并与液相色谱的分析结果进行比对, 获得满意结果。

关键词: 毛细管电泳; 苯扎氯铵; 洗必泰; 消毒剂

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2012)09-0943-08

Simultaneous determination of chlorhexidine acetate and benzalkonium chloride in compound chemical disinfectants by capillary electrophoresis

SONG Baohua^{1,2}, DING Xiaojing^{1,3*}, LI Jia^{1,3}, WANG Zhi^{2*}

(1. Beijing Center for Diseases Control and Prevention, Beijing 100013, China;

2. College of Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;

3. College of Public Health and Domestic Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Benzalkonium chloride (BAC) is a mixture of alkyl substituted benzyl dimethylammonium chloride homologs (C_{12} -BAC, C_{14} -BAC and C_{16} -BAC). Chlorhexidine acetate is a widely used effective component in compound chemical disinfectants. A method for the simultaneous determination of chlorhexidine acetate and benzalkonium chloride in compound chemical disinfectants by capillary electrophoresis (CE) was established. The CE analysis was carried out using an uncoated capillary with 50 μ m i. d. and 37 cm total length. The running buffer was 150 mmol/L NaH_2PO_4 -62.5 mmol/L H_3PO_4 (pH 2.5) containing 40% (v/v) acetonitrile. The sample medium was 50 mmol/L acetic acid-acetonitrile (1:1, v/v). The detection wavelength was 214 nm. The factors such as the buffer concentration and pH, the content of acetonitrile, which influenced the separation and accurate assay of compound chemical disinfectants were investigated in detail. The intra-day and inter-day precisions of the method were below 3.0% and 3.7%, respectively. The limits of detection (LOD, signal to noise ratio (S/N) = 3) for chlorhexidine acetate, C_{12} -BAC, C_{14} -BAC and C_{16} -BAC were 0.3, 0.5, 0.5 and 0.5 mg/L, respectively. The limits of quantification (LOQ, S/N = 10) were 1.0, 1.5, 1.5, and 1.5 mg/L, respectively. The corrected peak area and the mass concentration of the four components mentioned above showed good linear relationships within the ranges of 1.0 ~ 400 mg/L, 1.5 ~ 200 mg/L, 1.5 ~ 200 mg/L and 1.5 ~ 200 mg/L, with linear correlation coefficients (r) of 0.999 5, 0.999 8, 0.999 7 and 0.999 8, respectively.

* 通讯联系人: 丁晓静, 博士, 主任技师, 研究方向为色谱分析. E-mail: dingxiaojing@gmail.com.

王志, 博士, 教授, 研究方向为色谱分析. E-mail: wangzhi@hebau.edu.cn.

收稿日期: 2012-05-11

The established method was used for the determination of the four disinfectants in the compound chemical disinfectants. The results were in good agreement with those obtained by the high performance liquid chromatographic method.

Key words: capillary electrophoresis (CE); benzalkonium chloride; chlorhexidine acetate; disinfectant

洗必泰又名氯己定,属双胍类化合物,为阳离子表面活性剂,微溶于水,一般多制备成醋酸盐、盐酸盐或葡萄糖酸盐形式,以增加其溶解性。因醋酸氯己定性能稳定、腐蚀性低、无刺激性、使用方便而成为目前国内市场广泛应用的消毒剂有效成分之一^[1]。苯扎氯铵又名洁尔灭(BAC),是具有杀菌作用的季铵盐类阳离子表面活性剂,主要由3种正烷基基($n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$ 、 $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$ 和 $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$)取代的二甲基苄基氯化铵的同系物组成。3种同系物的消毒效果不同,美国药典(USP 32)规定配方中 C_{12} -BAC不少于40%, C_{14} -BAC不少于20%, C_{12} -BAC和 C_{14} -BAC的总量不少于70%,否则达不到杀菌效果^[2]。为控制BAC消毒剂产品的质量,除测定BAC总量外,还需测定其中每一种同系物的含量^[3]。

近年来,出现了以醋酸洗必泰与BAC复配的消毒产品,对大肠杆菌有协同杀菌作用。为准确测定复方化学消毒产品中醋酸洗必泰及BAC的含量,以实现该类消毒产品的质量控制,建立简单、快速、切实可行的同时检测复方化学消毒剂产品中醋酸洗必泰及BAC含量的方法具有重要意义。

目前,测定醋酸洗必泰或BAC的方法主要有紫外分光光度法^[4]、高效液相色谱法(HPLC)^[3,5-14]及毛细管电泳法(CE)^[15-20]。紫外分光光度法易受样品中的基体干扰而产生误差,且只能测定BAC总量。HPLC法是目前最常用的测定BAC或醋酸洗必泰的方法,但由于醋酸洗必泰中的多个氨基和BAC中的 C_{12} 、 C_{14} 和 C_{16} 烷基取代化合物与反相色谱柱填料基质的键合烷基和残存硅羟基作用,色谱峰易拖尾。尽管随着色谱柱技术的发展,如采用包覆型填料的色谱柱可有效改善拖尾^[3],但其柱效仍无法满足实际样品中醋酸洗必泰和BAC同时分离的需求;此外,通过大量实际样品分析发现,由于复方化学消毒剂产品中基体成分也易吸附在包覆型填料的色谱柱上,而且这种吸附不可逆,使柱效很快下降,需经常换用新的色谱柱,加之使用大量有机溶剂作流动相,无疑增加了检测成本。

CE法已用于眼药水中BAC^[15]、消毒剂中苯扎溴铵^[16,17]、醋酸氯己定^[18]、醋酸氯己定及聚六亚甲基双胍^[19]的测定,未见CE法同时测定消毒产品中

醋酸洗必泰与BAC的文献报道。本文针对市场需求开展了消毒产品中醋酸洗必泰及BAC同时测定的CE方法研究。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Beckman P/ACE 5000 毛细管电泳仪具紫外检测器,Beckman P/ACE Station 工作站(美国贝克曼库尔特有限公司);未涂层熔融石英毛细管($37\text{ cm} \times 50\text{ }\mu\text{m}$,河北永年瑞泽色谱器件有限公司);Waters 2690 高效液相色谱仪具二极管阵列检测器(PDA),Waters Millennium³²工作站(美国Waters公司);CAPCELL PAK C_{18} ($150\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$,日本资生堂Shiseido);Milli-Elix/RiOs 超纯水仪(美国Millipore公司);酸度计(F-33,北京屹源电子仪器科技公司)。

磷酸(分析纯)、氢氧化钠(优级纯)、无水磷酸二氢钠(分析纯)、无水磷酸二氢钾(分析纯)、冰醋酸(纯度 $\geq 99.8\%$)和三乙胺(分析纯)均为国产试剂;乙腈(色谱纯,Fisher Scientific 美国)。

标准品:醋酸洗必泰(Sigma-Aldrich); C_{12} -BAC(纯度 $\geq 99\%$)、 C_{14} -BAC(纯度 $\geq 99\%$)和 C_{16} -BAC(纯度 $\geq 97\%$)(Fluka)。

样品:1号手消毒液、6号微生态抑菌调节剂I号(无色液体)及7号微生态抑菌调节剂II号(黏稠液体)样品为生产厂家提供;2号妇科炎症抑菌洗液、3号表面清洁消毒液、4号女性柔爽洁护液及5号男用柔爽洁护液样品均购自当地超市。

1.2 标准储备液的配制

分别准确称取 C_{12} -BAC、 C_{14} -BAC和 C_{16} -BAC各50 mg于10 mL容量瓶中,用适量超纯水溶解、稀释、定容,混匀后即得质量浓度均为5 g/L的混合标准储备液,于室温放置。

准确称取醋酸洗必泰50 mg于10 mL容量瓶中,加入适量超纯水溶解、稀释定容,混匀后即得质量浓度为5 g/L的标准储备液,转移至15 mL塑料离心管中于室温放置。

1.3 样品预处理

根据实际样品中醋酸洗必泰或BAC的含量,移

取或称取一定体积或质量的样品,其中将1号稀释60倍、2号稀释10倍、3号稀释300倍、4号及5号均稀释20倍、6号稀释5倍;对于7号样品,称取0.5 g,加样品介质定容至4 mL,涡旋混匀后,9 000 r/min离心5 min,取上清液直接进样。

1.4 电泳条件

37 cm × 50 μm 未涂层熔融石英毛细管;分离电压:10 kV;进样时间:3 s;紫外检测波长:214 nm;进样压力:3.448 kPa;操作温度:25 °C;工作电流约30 μA。

分离缓冲溶液:150 mmol/L 磷酸二氢钠-62.5 mmol/L 磷酸(pH 2.5)缓冲液(含体积分数为40%的乙腈);样品介质:50 mmol/L 醋酸-乙腈(体积比为1:1)。

毛细管在使用前分别用1 mol/L NaOH 冲洗20 min,超纯水冲洗5 min,分离缓冲液冲洗5 min。每次进样前依次用1 mol/L NaOH 冲洗3 min,超纯水冲洗2 min,分离缓冲液冲洗1 min,以保证迁移时间和校正峰面积的重现性。

1.5 HPLC 条件

HPLC 法测定醋酸洗必泰的方法参考文献^[5],条件如下:色谱柱:CAPCELL PAK C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:20 mmol/L 磷酸二氢钠(磷酸调pH 2.5)(含体积分数为35%的乙腈);等度洗脱,流速:1 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:25 °C;进样量:10 μL。

HPLC 法测定 BAC 的方法参考文献^[3],条件如下:色谱柱:CAPCELL PAK C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-70 mmol/L 醋酸铵(含1% (v/v) 三乙胺,冰醋酸调pH 5.0)(72:28, v/v);等度洗脱,流速:1 mL/min;检测波长:262 nm;柱温:30 °C;进样量:10 μL。

2 结果与讨论

2.1 CE 条件的选择

2.1.1 检测波长的选择

用毛细管电泳仪配备的二极管阵列检测器对醋酸洗必泰及 BAC 在所用分离缓冲液中的紫外吸收光谱进行扫描,BAC 分别在205 nm 及257 nm 有最大吸收峰,醋酸洗必泰分别在196 nm 及258 nm 有最大吸收峰。BAC 的特征吸收波长257 nm 的吸收峰远低于205 nm 的吸收峰,导致在特征吸收波长257 nm 处的检测灵敏度远低于214 nm 处的。而醋酸洗必泰在特征吸收波长258 nm 处的吸收峰也低于196 nm 处的吸收峰,但与214 nm 处的吸收峰高

相差不大,为实现它们的同时检测,故选择214 nm 为检测波长。CE 的高效分离能力可以避免在214 nm 处检测时的基体干扰。

2.1.2 分离缓冲液及其浓度的选择

磷酸盐缓冲体系因背景吸收低且 pH 缓冲范围宽(pH = 1.5 ~ 13) 而成为最常用的分离缓冲体系,也成为本实验首选。BAC 为阳离子表面活性剂,易与毛细管壁表面带负电的硅羟基因静电引力而产生吸附。增加分离缓冲液的盐浓度,可减小电渗流,改善分离,还可抑制吸附。保持其他条件不变,用4种消毒剂有效成分的混合标准溶液优化分离条件。保持分离缓冲液 pH 2.5 不变,本实验研究了分离缓冲液中磷酸二氢钠浓度分别为120、150 及180 mmol/L 时,对混合标准溶液(见图1)中4种消毒剂有效成分分离的影响。实验发现随着磷酸二氢钠浓度的增加(磷酸浓度也相应增加),峰高逐渐增高,说明吸附被抑制的程度逐渐增大,但随着分离时间的逐渐增加,3种 BAC 同系物峰之间的分离度逐渐增大,而醋酸洗必泰与 C₁₂-BAC 间分离度却逐渐减小;同时磷酸二氢钠的浓度过大或过小,洗必泰峰都会受杂质峰干扰。实验选定磷酸二氢钠的最佳浓度为150 mmol/L,相应的磷酸浓度为62.5 mmol/L。

2.1.3 分离缓冲液 pH 的选择

分离缓冲溶液的 pH 除了控制弱电解质样品品的有效淌度外,还控制着电渗流及样品在管壁的吸附

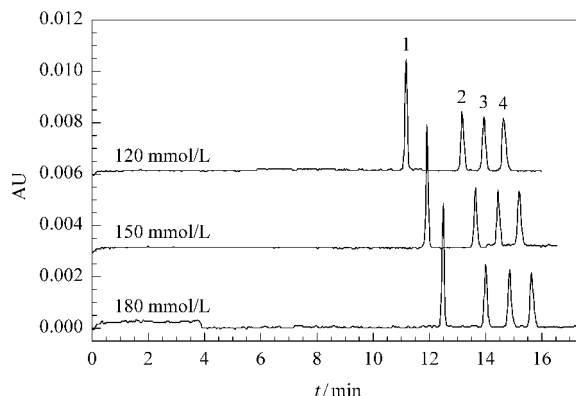


图1 磷酸二氢钠浓度对4种消毒剂有效成分混合标准溶液分离的影响

Fig. 1 Influence of NaH₂PO₄ concentration on the separation of the four disinfectants in a standard mixture

Uncoated capillary: 37 cm (30 cm to the detector) × 50 μm; injection time: 3 s; injection pressure: 3.448 kPa; detection wavelength: 214 nm; separation voltage: 6 kV; temperature: 25 °C; current: 30 μA; running buffer: 120 ~ 180 mmol/L NaH₂PO₄-x mmol/L H₃PO₄ (pH 2.5; x = 47.5, 62.5, 67.5) containing 40% (v/v) acetonitrile.

Peaks: 1. chlorhexidine acetate; 2. C₁₂-BAC; 3. C₁₄-BAC; 4. C₁₆-BAC.

问题,因而影响分析物的迁移时间和分离效率。BAC 在水溶液中以阳离子形式存在,一般情况下($\text{pH} > 3$)毛细管壁带负电,因此存在吸附;可通过降低 pH ($\text{pH} < 3$)使管壁表面带正电,此时 BAC 与管壁间由异种电荷相吸转为同种电荷相斥,从而极大地抑制吸附,故选择 pH 值在低于 3 的范围内进行优化。

磷酸的 $\text{p}K_{\text{a}1}$ 为 2.12,分离缓冲溶液 pH 在 $\text{p}K_{\text{a}} \pm 0.5$ 范围内可获得最佳缓冲容量,从而可获得较好的定量及定性重现性^[20]。保持 150 mmol/L 磷酸二氢钠不变,通过改变磷酸的用量,研究了 pH 分别为 2.0、2.2、2.5 和 3.0 时对 4 种消毒剂有效成分混合标准溶液分离的影响(见图 2)。随着 pH 的增加,各峰迁移时间逐渐缩短,BAC 的峰形变得越来越尖锐,但当 $\text{pH} = 3.0$ 时醋酸洗必泰峰变形;当 pH 小于 2.5 时,实际样品中醋酸洗必泰峰受杂质峰干扰(图未给出)。故选择分离缓冲液的最佳 pH 为 2.5 相应的磷酸浓度为 62.5 mmol/L。

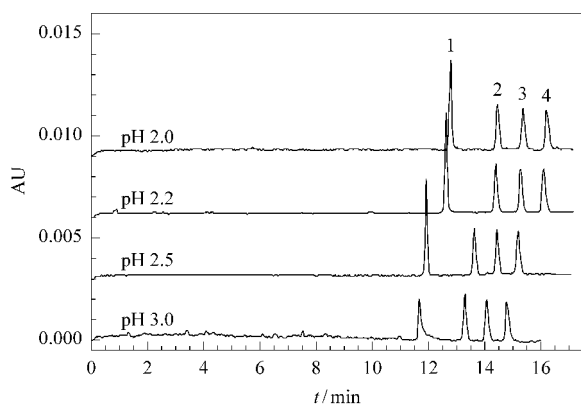


图 2 磷酸缓冲液 pH 对 4 种消毒剂有效成分混合标准溶液分离的影响

Fig. 2 Influence of pH of phosphate buffer on the separation of four disinfectants in a standard mixture

Separation voltage: 6 kV; running buffer: 150 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - x$ mmol/L H_3PO_4 (pH 2.0, 2.2, 2.5, 3.0; $x = 180, 112, 62.5, 17.5$) containing 40% (v/v) acetonitrile; other CE conditions were the same as in Fig. 1.

For peak identifications, see Fig. 1.

2.1.4 分离缓冲溶液中乙腈含量的选择

上述最佳 pH 分离条件尽管减弱了醋酸洗必泰及 BAC 在管壁的吸附,然而,依然存在 BAC 峰拖尾、3 个同系物间的分离度不好、迁移时间的重现性差等现象。向分离缓冲溶液中添加高含量的有机溶剂乙腈,可以增加 BAC 的溶解度,避免胶束的形成,减小电渗流,从而改善分离,且能缩短分析时间^[16]。

保持其余条件不变,考察乙腈体积分数分别为

30%、40% 和 50% 时对 4 种有效成分分离的影响。实验表明,随着乙腈含量的增加,各峰的迁移时间逐渐缩短,各峰峰形得到改善,灵敏度逐渐增加;当乙腈含量大于 40% 时,灵敏度不再增加,峰形展宽,且实际样品中醋酸洗必泰峰受杂质峰干扰明显(见图 3)。故选择乙腈的体积分数为 40%。

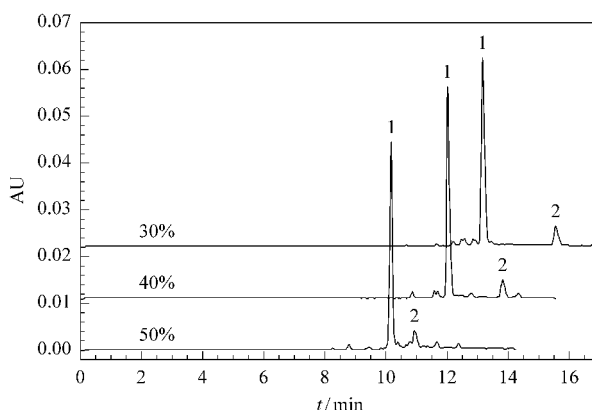


图 3 乙腈体积分数对样品中消毒剂有效成分分离的影响

Fig. 3 Influence of acetonitrile content on the separation of the four disinfectants in a sample

Separation voltage: 6 kV; running buffer: 150 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 62.5$ mmol/L H_3PO_4 (pH 2.5) containing different contents (30%, 40% and 50% (v/v)) of acetonitrile; other CE conditions were the same as in Fig. 1.

For peak identifications, see Fig. 1.

2.1.5 分离电压的选择

分离电压直接影响电渗流、迁移时间、灵敏度和分离度等因素。过高的电压使工作电流增加,产生过多的焦耳热,导致电泳峰区带展宽,反而使灵敏度下降。由于本实验所用无机盐分离缓冲液中盐浓度较高(150 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 62.5$ mmol/L H_3PO_4),因此限制了过高电压的使用。保持石英毛细管长 37 cm 不变,比较了 6、10 及 12 kV 分离电压对混合标准溶液中 4 种消毒剂有效成分分离的影响(见图 4)。实验表明,随着分离电压的增加,各峰迁移时间逐渐缩短、峰高增加,然而本底吸收也随之增加,当分离电压增加至 12 kV 时,BAC 的峰高下降,且分离过程中易发生断电现象,因此本实验选择 10 kV 为最佳分离电压。

2.2 样品介质的选择

本实验室以前的研究^[21]发现:样品介质在 CE 分析中起着极其重要的作用,合适的样品介质可以改善分离及定量的重现性,增加检测灵敏度。增大分离缓冲溶液和样品介质的电导差异,使样品介质电导值 $\leq$ 分离缓冲溶液电导值,可以促进电泳区带聚焦,使峰形更窄更锐,利于准确定量。简单的做法

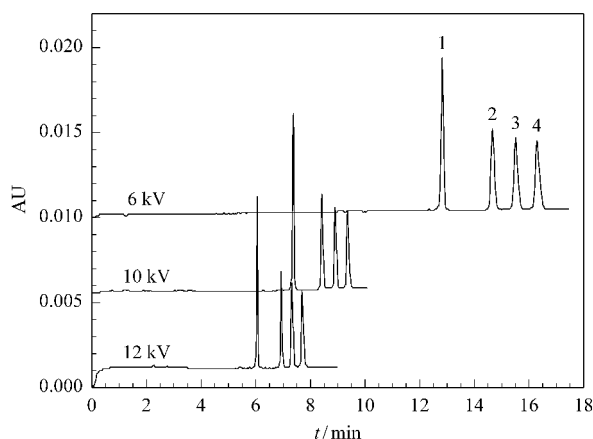


图4 分离电压对混合标准溶液中4种消毒剂有效成分分离的影响

Fig. 4 Influence of separation voltage on the separation of the four disinfectants in a standard mixture

Running buffer: 150 mmol/L NaH_2PO_4 -62.5 mmol/L H_3PO_4 (pH 2.5) containing 40% (v/v) acetonitrile; separation voltage: 6, 10 and 12 kV; other CE conditions were the same as in Fig. 1.

For peak identifications, see Fig. 1.

是将分离缓冲溶液稀释10倍后直接作为样品介质^[22-23]。由于分离缓冲溶液中含有40%乙腈,如果直接将其稀释10倍作为样品介质,则样品介质中有机溶剂含量仅为4%,而有机溶剂可降低无机盐缓冲溶液的电导,这就使得样品介质电导值大于分离缓冲溶液电导值,不利于电泳区带聚焦。故本实验仅将样品介质中的无机盐溶液稀释10倍,然后再与乙腈以一定比例混合后作为样品介质。乙腈的加入可增加阳离子表面活性剂的溶解性,并改善峰形。由于本实验所用分离缓冲液中乙腈含量为40%,故样品缓冲溶液中加入的乙腈的含量选为50%,一方面保证样品缓冲溶液电导低于分离缓冲溶液电导,以得到较好的峰形,另一方面保证分离过程中不会造成断电。然而,在上述最佳电泳条件下,以此样品介质平行处理7份样品所得4种组分的方法精密性结果并不理想。为提高分析方法的重现性,重新优化样品介质。

醋酸洗必泰分子中含多个氨基,样品介质中加入酸,可以使其中的氨基质子化进而提高醋酸洗必泰的溶解度。保持样品介质中乙腈50%的比例不变,比较了与乙腈混合使用的同样浓度(50 mmol/L)的盐酸、磷酸及醋酸对4种消毒剂有效成分混合标准溶液各组分峰形及分离的影响。实验发现,4种消毒剂有效成分的峰形随着所用酸的酸性强度的增加而有所展宽,醋酸洗必泰的峰形展宽尤为明显,BAC间的分离度有所减小,见图5。主要的原因是: CH_3COO^- 、 SO_4^{2-} 及

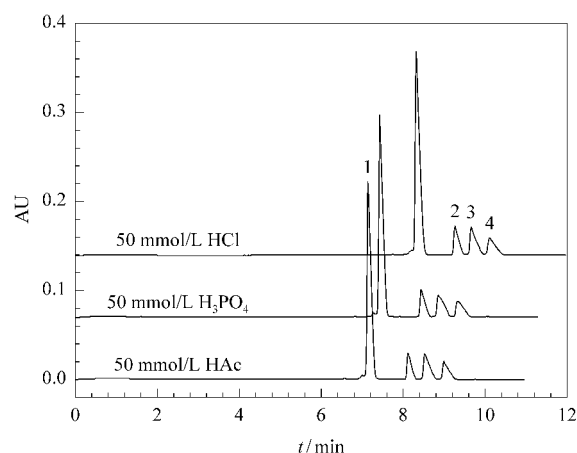


图5 样品介质中无机酸对混合标准溶液中4种消毒剂有效成分的峰形及分离的影响

Fig. 5 Influence of inorganic acids in sample medium on peak shape and separation of four disinfectants in a standard mixture

Separation voltage: 10 kV; running buffer: 150 mmol/L NaH_2PO_4 -62.5 mmol/L H_3PO_4 (pH 2.5) containing 40% (v/v) acetonitrile; other CE conditions were the same as in Fig. 1.

For peak identifications, see Fig. 1.

Cl^- 的极限摩尔电导(λ)随着所用酸的酸性增加而增加,分别为41、50及76^[24],从而与分离缓冲液的电导差异减小,不利于电泳区带聚焦,故导致峰展宽。因此,本研究选用50 mmol/L醋酸与乙腈以一定比例混合作为样品介质。

又进一步优化了醋酸浓度对实际样品中4种消毒剂有效成分峰形及分离的影响。随着醋酸浓度(20、50和100 mmol/L)的升高,各电泳峰灵敏度增加,当醋酸浓度过大时,灵敏度下降、峰形展宽,这是由于醋酸浓度增加过多会减小样品介质与分离缓冲溶液之间的电导差异,不利于待测离子的堆积效应。经优化得到的最佳样品介质为50 mmol/L醋酸-乙腈(体积比为1:1)。

2.3 标准曲线、精密度、检出限及加标回收率

2.3.1 标准曲线及检出限

在上述最佳电泳条件下,分别将醋酸洗必泰和BAC(C_{12} -BAC、 C_{14} -BAC、 C_{16} -BAC)的标准储备液用样品介质逐级稀释,配制成醋酸洗必泰质量浓度分别为1.0、20、50、100、200、400 mg/L,3种BAC质量浓度均分别为1.5、10、25、50、100、200 mg/L的混合工作液,依次进行CE分析,外标法定量,校正峰面积(A)与质量浓度(ρ , mg/L)具有良好线性关系。线性回归方程、线性范围、相关系数(r)、检出限(LOD,信噪比(S/N)=3)及定量限(LOQ, S/N =10)见表1。

表 1 4 种消毒剂的线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限及定量限

Table 1 Regression equations, linear ranges, correlation coefficients (r), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of four disinfectants

Compound	Regression equation	Linear range/(mg/L)	r	LOD/(mg/L)	LOQ/(mg/L)
Chlorhexidine acetate	$A = 215.85 \rho + 951.7$	1.0 – 400	0.9995	0.3	1.0
C ₁₂ -BAC	$A = 67.313 \rho + 59.025$	1.5 – 200	0.9998	0.5	1.5
C ₁₄ -BAC	$A = 61.991 \rho + 78.272$	1.5 – 200	0.9997	0.5	1.5
C ₁₆ -BAC	$A = 61.71 \rho + 68.686$	1.5 – 200	0.9998	0.5	1.5

A: corrected peak area; ρ : mass concentration, mg/L.

2.3.2 仪器精密度

分别在低、中、高 3 个质量浓度水平进行仪器精密度试验,将配制好的低、中、高 3 个质量浓度水平溶液在最佳的 CE 条件下分别连续进样 7 次进行测定,计算迁移时间和校正峰面积的相对标准偏差 (RSD) 结果见表 2。

表 2 仪器的精密度 ($n=7$)Table 2 Results of instrumental precision ($n=7$)

Compound	Mass concentration / (mg/L)	Relative standard deviation (RSD) / %	
		Migration time	Corrected peak area
Chlorhexidine acetate	1	0.42	1.3
	100	0.40	1.9
	200	0.43	1.4
C ₁₂ -BAC	2	0.52	2.0
	50	0.66	1.7
	100	0.68	1.4
C ₁₄ -BAC	2	0.52	2.1
	50	0.63	1.7
	100	0.68	1.4
C ₁₆ -BAC	2	0.53	2.1
	50	0.58	1.6
	100	0.68	1.4

2.3.3 方法精密度

取某品牌的消毒产品,进行方法精密度试验,考察方法的适用性。平行制备 7 份样品,根据 1.3 节进行样品前处理。在最佳 CE 条件下直接进样测定,考察方法的日内精密度;对此样品连续测定 7 天,每日平行测定 3 次,考察方法的日间精密度,结果见表 3。

表 3 实际样品测定的日内及日间精密度 ($n=7$)Table 3 Intra-day and inter-day precisions of real sample analysis ($n=7$)

Precision	Chlorhexidine acetate		C ₁₂ -BAC	
	Content/(g/L)	RSD/%	Content/(g/L)	RSD/%
Intra-day	3.06	3.0	0.945	2.8
Inter-day	3.15	3.1	1.04	3.7

C₁₄-BAC and C₁₆-BAC: Not detected.

2.3.4 加标回收率

以只含醋酸洗必泰,而不含 BAC 的 2[#]样品做加

标回收率试验,分别在低、中、高 3 个质量浓度水平进行试验。移取 0.5 mL 2[#]样品于 15 mL 塑料离心管中,再分别加入 50、100 及 200 μ L 质量浓度为 5 g/L 的醋酸洗必泰储备液及 10、100 及 200 μ L 质量浓度均为 5 g/L 的 3 种 BAC 混合储备液,加标质量浓度分别为醋酸洗必泰 25、50、100 mg/L, BAC 5、50、100 mg/L,每个加标质量浓度样品平行处理 5 份,4 种消毒剂有效成分的加标回收率见表 4。

表 4 实际样品中 4 种消毒剂的加标回收率 ($n=5$)Table 4 Recoveries of the four disinfectants spiked in a real sample ($n=5$)

Compound	Original / (mg/L)	Added / (mg/L)	Recovery / %	RSD / %
Chlorhexidine acetate	48.78	25.00	94.1	9.7
		50.00	100.3	3.4
		100.0	103.2	4.3
C ₁₂ -BAC	–	5.000	100.0	2.4
		50.00	99.6	0.79
		100.0	104.5	1.8
C ₁₄ -BAC	–	5.000	93.9	2.8
		50.00	99.7	1.4
		100.0	104.4	2.1
C ₁₆ -BAC	–	5.000	93.8	3.8
		50.00	101.1	1.4
		100.0	105.0	1.8

–: Not detected.

2.4 样品测定

按 1.3 节所述样品前处理方法对 1[#]~7[#]复方化学消毒剂样品进行 CE 测定(每个样品平行处理 5 份)。为进一步确认方法的准确性,同时进行了 HPLC 法测定,两种方法的测定值见表 5。图 6 给出了 2[#]样品的电泳图。

表 5 数据表明:两种方法的测定结果基本吻合。其中 7[#]样品因基质复杂加之样品量少、待测物含量低,用 HPLC 的前处理方法处理后,形成白色乳浊液,无法进样。CE 法测定时,只需将其稀释一定倍数,混匀、离心后得到澄清液直接进样即可测定。由此显示出 CE 方法分析快速、准确、前处理简单、样品及试剂消耗量少等优点。

表 5 采用 CE 和 HPLC 测得的对实际样品中 4 种消毒剂有效成分的含量
Table 5 Contents of the four disinfectants in compound chemical disinfectants determined by CE and HPLC

Sample No.	Sample	Compound	CE (n = 5)		Content (HPLC) / (g/L)	Specified content / (g/L)
			Content / (g/L)	RSD / %		
1	hand disinfection solution	chlorhexidine acetate	3.07	2.7	2.95	2.35 – 2.75
		C ₁₂ -BAC	0.99	2.4	0.97	0.90 – 1.1
		C ₁₄ -BAC	–	–	–	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
2	woman inflammation bacteriostatic lotion	chlorhexidine acetate	0.99	1.7	0.98	0.80 – 1.2
		C ₁₂ -BAC	–	–	–	n
		C ₁₄ -BAC	–	–	–	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
3	surface cleaning and disinfection liquid	chlorhexidine acetate	–	–	–	n
		C ₁₂ -BAC	10.1	2.5	9.86	10.8 – 13.2
		C ₁₄ -BAC	3.19	2.7	3.17	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
4	soft clean nursing liquid for female	chlorhexidine acetate	–	–	–	n
		C ₁₂ -BAC	0.72	3.0	0.75	0.90 – 1.2
		C ₁₄ -BAC	–	–	–	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
5	soft clean nursing liquid for male	chlorhexidine acetate	–	–	–	n
		C ₁₂ -BAC	0.88	2.4	0.81	0.90 – 1.2
		C ₁₄ -BAC	–	–	–	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
6	micro ecological antibacterial agent , No. 1	chlorhexidine acetate	–	–	–	n
		C ₁₂ -BAC	0.22	2.2	0.19	0.22
		C ₁₄ -BAC	0.06	0.95	0.06	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	–	n
7	micro ecological antibacterial agent , No. 2	chlorhexidine acetate	–	–	–	n
		C ₁₂ -BAC	0.26	2.4	nd	0.22
		C ₁₄ -BAC	0.07	2.8	nd	n
		C ₁₆ -BAC	–	–	nd	n

– : Not detected; n: Not specified; nd: Can not be quantified due to interferences.

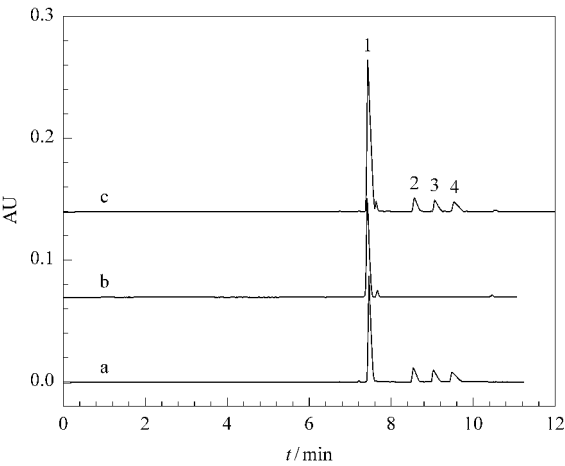


图 6 (a) 4 种消毒剂有效成分混合标准溶液、(b) 2# 样品、(c) 2# 样品加标的电泳图谱

Fig. 6 Electropherograms of (a) a standard mixture of the four disinfectants and (b) sample 2# and (c) sample 2# spiked with standards

Separation voltage: 10 kV; running buffer: 150 mmol/L NaH₂PO₄–62.5 mmol/L H₃PO₄(pH 2.5) containing 40% (v/v) acetonitrile; other CE conditions were the same as in Fig. 1.
For peak identifications , see Fig. 1.

3 结论

本文建立了 CE 对复方化学消毒剂样品中醋酸洗必泰及 BAC 同时分离测定的新方法 ,分别优化了分离缓冲溶液浓度及 pH、乙腈含量、样品介质等影响 CE 分离及准确定量的关键因素。用 CE 与 HPLC 两种方法对复方化学消毒剂样品进行测定 ,结果基本吻合。然而 ,CE 法前处理简单 ,样品用样品介质稀释后可直接进样 ,得到的电泳图基本无干扰;该法具有良好的重现性 ,结果准确 ,操作简便 ,非常适用于复方化学消毒剂产品中醋酸洗必泰及 BAC 含量的同时测定。

参考文献:

[1] Yang H M , Yi B. Modern Hospital Disinfection. Beijing: People’s Military Medical Publishing House (杨华明 ,易滨. 现代医院消毒学. 北京: 人民军医出版社) ,2002: 138
[2] The United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopeia/National Formulary , USP 32-NF 27 , 2009: 1174

- [3] Ding X J, Che Y P, Zhao H Y, et al. Journal of Instrumental Analysis (丁晓静, 车宜平, 赵海燕, 等. 分析测试学报), 2006, 25(6): 63
- [4] Ma L H, Wang H G, Li F Y, et al. Modern Medicine & Health (马丽红, 王洪刚, 李凤云, 等. 现代医药卫生), 2010, 26(12): 1778
- [5] The Ministry of Health Justice and Supervision Division. Technical Standard for Disinfection (2002 ed). Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China (卫生部卫生司法与监督司. 消毒技术规范(2002 版). 北京: 中华人民共和国卫生部), 2002: 116
- [6] Liu J Q, Zhang X B, Yang R C, et al. Chinese Journal of Disinfection (刘吉起, 张向兵, 杨瑞春, 等. 中国消毒学杂志), 2010, 27(6): 682
- [7] Liu Y Q, Wang H, Yang H M, et al. Chinese Journal of Chromatography (刘艳琴, 王浩, 杨红梅, 等. 色谱), 2011, 29(5): 458
- [8] Labranche L P, Dumont S N, Levesque S, et al. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43: 989
- [9] Zhao J, Fan Y F. China Medical Herald (赵静, 范义凤. 中国医药导报), 2008, 5(31): 27
- [10] Wang Z S, Wu S M. China Pharmaceuticals (王铮帅, 吴韶铭. 中国药业), 2010, 19(4): 19
- [11] Zhang Y P, Chen Q Z, Lai X M. China Modern Medicine (张云平, 陈启钊, 赖秀梅. 中国当代医药), 2010, 17(14): 41
- [12] Lu S G, Liu H L, Yang R C. Chinese Journal of Disinfection (卢素格, 刘红丽, 杨瑞春. 中国消毒学杂志), 2011, 28(3): 317
- [13] Havlikova L, Matysova L, Novakova L, et al. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43: 1169
- [14] Xue Y, Tang M, Hieda Y, et al. J Anal Toxicol, 2009, 33: 85
- [15] Hou Y H, Wu C Y, Ding W H. J Chromatogr A, 2002, 976: 207
- [16] Ding X J, Zhao R, Zhao S, et al. Chinese Journal of Chromatography (丁晓静, 赵榕, 赵珊, 等. 色谱), 2003, 21(5): 520
- [17] Ding X J, Mou S F, Zhao S. J Chromatogr A, 2004, 1039: 209
- [18] Zou X L, Li Y Q, Mao H X, et al. Chinese Journal of Chromatography (邹晓莉, 黎源倩, 毛红霞, 等. 色谱), 2005, 23(3): 264
- [19] Abad-Villar E M, Etter S F, Thiel M A, et al. Anal Chim Acta, 2006, 561: 133
- [20] Altria K. LCGC Asia Pacific, 2007, 10(2): 25
- [21] Ding X J, Yang Y Y, Li Y, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (丁晓静, 杨媛媛, 李芸, 等. 理化检验: 化学分册), 2010, 46(12): 1369
- [22] Wang Q, Ding X J, Wang X Y, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (王茜, 丁晓静, 王心宇, 等. 分析化学), 2006, 34(8): 1161
- [23] Wang P, Ding X J, Li Y, et al. J AOAC Int, 2012, 95(4). DOI: 10.5740/jaoacint.11-043
- [24] Mou S F, Liu K N. The Method and Application of Ion Chromatography. Beijing: Chemical Industry Press (牟世芬, 刘克纳. 离子色谱方法及应用, 北京: 化学工业出版社), 2000: 173