

HPLC 法测定稀戊二醛溶液中戊二醛含量[△]

杜建红¹ 徐小平² 王艳丽¹ 郅革红¹ 赵晓娟¹ (1. 成都军区联勤部药品仪器检验所 成都 610017; 2. 四川大学华西药学院 成都 610041)

摘要:目的:建立 HPLC 法测定稀戊二醛溶液中戊二醛含量的方法。方法:采用 AichromBond-AQ C₁₈ 色谱柱(4.6mm×150mm, 5μm),流动相:甲醇:水(50:50),流速 0.5ml/min,检测波长 235nm,进样量 20μl。结果:戊二醛在 51.6~1010.4μg/ml 范围内时,与峰面积呈良好的线性关系(r=0.9992),平均回收率为 101.1%。结论:本法操作简便,灵敏度高,重复性好,可用于稀戊二醛溶液中戊二醛的含量控制。

关键词:稀戊二醛溶液 戊二醛 高效液相色谱法 测定

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1672-8351(2014)04-0002-02

Determination of Glutaraldehyde in Dilute Glutaraldehyde Solution by HPLC

Du Jianhong¹ Xu Xiaoping² Wang Yanli¹ Qie Gehong¹ Zhao Xiaojuan¹ (1. Institute for Drug and Instrument Control of Chengdu Military Region, Chengdu 610017, China; 2. West China School of Pharmacy Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective: To establish an HPLC method for the determination of Glutaraldehyde in Dilute Glutaraldehyde Solution. Method: An AichromBond-AQ C₁₈ column (4.6mm×150mm, 5μm) was used, the mobile phase was Methanol-Water (50:50). The flow rate was 0.5 ml/min, the detection wavelength was 235nm and the injection volume was 20μl. Results: Within the range from 51.6 to 1010.4μg/ml, Glutaraldehyde presented a good relationship between the injected amounts and peak areas (r=0.9992). The average recovery was 101.1%. Conclusion: The method was easy to operate, with sensitive, and reproducible. It can be used for the quality control of Glutaraldehyde in Dilute Glutaraldehyde Solution.

Keywords: Glutaraldehyde Dilute Glutaraldehyde Solution HPLC Determination

稀戊二醛溶液为强消毒药,具有杀灭细菌、真菌、芽孢和病毒作用、防腐作用,临床用于器械、仪器等的消毒^[1]。其质量标准收载于《中国药典》2010 年版二部和《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002 年版,二者均采用滴定法测定戊二醛含量。目前国内文献报道的探索分析方法有紫外分光光度法^[2]、气相色谱法^[3]、高效液相色谱法^[4-6]等,其中有关 HPLC 法测定戊二醛含量的报道主要是对消毒剂规格的戊二醛溶液的测定。笔者通过 HPLC 法对药用规格的稀戊二醛溶液戊二醛含量测定的多次实验探索,经对其方法学进行初步探讨,认为 HPLC 法测定方法简便、灵敏、重复性好。

1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪带紫外检测器(日本岛津公司),超纯水机(成都品成科技有限公司),甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司),水为自制超纯水。戊二醛对照溶液(德国 BASFE 巴斯夫股份公司,规格:50%,批号:20130814,标示含量:50.7%,复标含量:50.3%),稀戊二醛溶液(自制,规格:2%,批号:20130901,20130902,20130903)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件筛选

2.1.1 流动相比例筛选:在流动相有机相与水相的比例上,选取了甲醇:水比例分别为 55:45、50:50、45:55 三个不同比例进行研究。精密量取供试品溶液 20μl 注入液相色谱仪,记录色谱图,如图 1。试验结果如表 1 所示。

表 1 流动相比例筛选的结果

流动相比例(甲醇:水)	保留时间	理论塔板数	分离度	拖尾因子
55:45	8.830	10944	被包裹	1.185
50:50	9.079	10741	2.207	1.099
45:55	9.818	9999	1.860	0.840

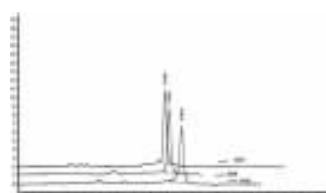


图 1 不同比例流动相的戊二醛 HPLC 图(甲醇:水)

由表 1 结果可知,流动相比例为 50:50 时,柱效更高,分离度更大,拖尾因子更接近 1,因此选择甲醇:水(50:50)作为分析的流动相比例。

2.1.2 流速的筛选:根据上述色谱条件,选取流速 0.5、0.8、1.0ml/min 三个条件进行比较。精密量取供试品溶液 20μl 注入液相色谱仪,记录色谱图,如图 2。试验结果如表 2 所示。

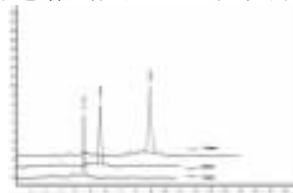


图 2 不同流速下戊二醛的 HPLC 图

表 2 流速筛选的结果

流速(ml/min)	保留时间	理论塔板数	分离度	拖尾因子
0.5	8.942	9942	2.278	1.050
0.8	5.614	8531	1.976	1.137
1.0	4.526	7655	1.862	1.118

由表 2 结果可知,流速为 0.5ml/min 时,柱效更高,分离度更大,拖尾因子接近 1,峰更对称,因此选择 0.5ml/min 作为分析的流速。

须通过实验证明。本实验中,糖皮质激素对枯草芽孢杆菌具有较强的抑菌作用,便说明了这一点。同时也说明方法学验证是不可或缺的重要步骤。

微生物限度检查方法学验证是一项长期、大量、繁杂的工作,而药品的质量控制又是不可或缺、亟待解决的重要问题,希望能有一个国家级部门收集、整理全国各药检所及各类相关单位进行各种药品方法学验证的资料,然后进行总结提高,

以期改变目前这种各自为政、重复试验、互不沟通,浪费大量时间和人力物力的状况。

参考文献

- [1]国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2010:79.
- [2]中国食品药品检定研究院.中国药品检验标准操作规范[S].北京:中国医药科技出版社,2010:351.

2.1.3 检测波长的选择:以水为空白,在 200~300nm 波长范围内扫描,对稀戊二醛溶液进行吸收波长扫描选择,选定 235nm 为工作波长。

初步确定的色谱条件:色谱柱:AichromBond-AQ C₁₈(安捷伦)(4.6mm×250mm,5μm);流动相为甲醇:水(50:50);流速为 0.5ml/min;柱温:25℃;检测波长:235nm;进样体积为 20μl。以峰面积法计算含量,理论板数按戊二醛峰计算不低于 3500。

2.2 溶液的配制:对照品溶液的制备,精密量取戊二醛对照溶液 1ml,置 100ml 棕色量瓶中,用流动相溶解定容至刻度得 0.503% 的对照品储备液。取上述储备液适量置于棕色量瓶中,用流动相定容至刻度,配成浓度为 202μg/ml 溶液,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:精密量取本品(批号:20130902)1ml,置于 100ml 棕色量瓶中,用流动相溶解至刻度,制得约 200μg/ml 溶液作为供试品溶液。

阴性对照溶液的制备:由于稀戊二醛溶液是用 25%戊二醛溶液加水稀释而成,故以水为阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性范围:精密量取戊二醛对照溶液 1ml 于 100ml 棕色量瓶,加流动相溶解稀释至刻度,得 0.503%对照品储备液;分别精密量取该储备溶液适量,分别制成含有戊二醛浓度为 1010、505、202、101、51μg/ml 线性验证的溶液。按上述色谱条件,分别进样 20μl 测定峰面积,记录色谱图。以峰面积(Y)为纵坐标,浓度 X(μg/ml)为横坐标,制作标准曲线,得回归方程: $y=0.017x-0.0068$, $r=0.9992$ ($n=5$),结果表明戊二醛在 51~1010μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

2.3.2 检测限和定量限:取线性研究中对照品溶液(51μg/ml)逐渐稀释,按信噪比法,在 $S/N \geq 10$,确定戊二醛定量限为 30ng,色谱图见图 3。按信噪比 $S/N \geq 3$ 戊二醛检测限为 10ng,色谱图见图 4。

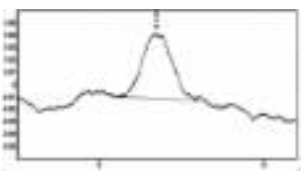


图 3 戊二醛定量限

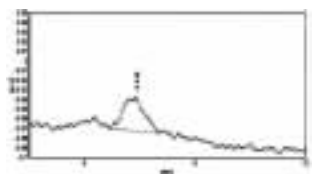


图 4 戊二醛检测限

2.3.3 精密度试验:精密量取戊二醛对照溶液注入液相色谱仪,连续进样 6 次,记录戊二醛色谱图,计算其平均峰面积的 RSD 为 0.62%($n=6$),说明仪器精密度较好。

2.3.4 重复性:精密量取供试品溶液(批号:20130902)制成高、中、低三个不同浓度的供试品溶液各三份,注入液相色谱仪,记录色谱图。结果表明,高、中、低浓度的样品进样,样品含量的平均 RSD 为 1.00%($n=9$),说明重复性满足实验要求。

2.3.5 回收率:分别精密量取对照品储备液(0.503%)适量置于棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度,制成高、中、低(含戊二醛 1212μg/ml、1010μg/ml、808μg/ml)三个不同浓度的对照品溶液。另精密量取戊二醛溶液(批号:20130902)各 1ml,置于 100ml 棕色量瓶中,流动相溶解至刻度,制得约 1000μg/ml 的供试品溶液。分别精密量取上述供试品溶液各 1ml 于 10ml 的棕色量瓶中,分别精密加入高、中、低对照品溶液 1ml(即每个浓度制 3 份),用流动相定容至刻度。取上述对照品储备液(0.503%)适量置于棕色量瓶中,用流动相定容至刻度,配成浓度为 202μg/ml 溶液,作为对照品溶液。精密量取 20μl 注入液相色谱仪,记录色谱图。结果见表 3。

2.3.6 样品含量测定:分别精密量取供试品溶液(批号:20130901、20130902、20130903),按上述色谱条件,进样测定,三批戊二醛溶液的标示百分含量分别为 101.1%、100.7%和 101.3%,按《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002 年版^[1]的滴定方法,对 3 批供试品溶液含量进行测定,结果标示百分含量分别为

表 3 稀戊二醛溶液加样回收率结果($n=18$)

组别	测得含量(μg)	样品浓度(μg/ml)	加入量(μg/ml)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
低浓度	0.2252	0.1019	0.1212	101.7	100.9	1.36
	0.2257	0.1019	0.1212	102.1		
	0.2246	0.1019	0.1212	101.2		
	0.2254	0.1019	0.1212	101.9		
	0.2214	0.1019	0.1212	98.6		
	0.2232	0.1019	0.1212	100.1		
中浓度	0.2040	0.1019	0.1010	101.1	101.3	0.42
	0.2042	0.1019	0.1010	101.3		
	0.2038	0.1019	0.1010	100.9		
	0.2049	0.1019	0.1010	101.9		
	0.2038	0.1019	0.1010	100.9		
	0.2047	0.1019	0.1010	101.7		
高浓度	0.1830	0.1019	0.0808	100.3	101.1	0.61
	0.1837	0.1019	0.0808	101.2		
	0.1840	0.1019	0.0808	101.7		
	0.1843	0.1019	0.0808	102.0		
	0.1834	0.1019	0.0808	100.8		
	0.1832	0.1019	0.0808	100.6		

109.3%、109.0%、109.4%,两种检测方法样品含量均符合《中国人民解放军医疗机构制剂规范》中对稀戊二醛溶液含量限度要求(90.0%~110.0%)。

3 讨论

稀戊二醛溶液临床使用时分为酸性和碱性两种。酸性戊二醛溶液,pH 值约为 4.0 时,消毒作用强,60℃20 分钟即可杀灭芽胞;缺点是对金属有腐蚀性。碱性戊二醛溶液系由 2%戊二醛溶液加 0.3%碳酸氢钠配制而成,pH 值为 7.8~8.5 时,消毒作用强,且不腐蚀金属材料 and 仪器;缺点是稳定性差,宜新鲜配制。本文试验中采用酸性戊二醛溶液。

稀戊二醛溶液配制操作应遮光,配制用水应尽量避免金属离子带入,配制后应密封并置凉暗处保存,因戊二醛在空气中易发生自身氧化反应,有光照或有微量金属离子存在时能加速分解,可导致含量降低,并影响临床使用效果。

本试验中,采用 HPLC 法和文献^[1]硫酸滴定液滴定法同时测定戊二醛的含量,并对两种方法测得的含量进行比较,两组数据之间无显著差异。滴定法是依靠指示剂颜色变化指示滴定终点,终点色由蓝色至蓝绿色,终点的指示目测判断不敏锐,往往以空白颜色为终点色,容易造成误差,影响结果真实性。而高效液相色谱法操作简便、专属性强、结果准确可靠,可适用于戊二醛的含量测定控制。

参考文献

[1]总后卫生部.中国人民解放军医疗机构制剂规范(2002 年版)[S].北京:人民军医出版社,2002:94.
[2]张渝,刘先觉.紫外分光光度法测定戊二醛溶液含量[J].儿科药杂志,2005,11(1):47.
[3]余明池,方道.气相色谱法测定消毒剂戊二醛含量的准确性观察[J].中国消毒学杂志,2010,27(6):687.
[4]宋新,董连杰.高效液相色谱法快速分析戊二醛消毒液的含量[J].河南预防医学杂志,2004,15(2):80.
[5]蒋合举,闫景红,黄琰,等.高效液相色谱法快速分析戊二醛消毒液的含量[J].河南预防医学杂志,2007,18(3):184.
[6]刘红梅.高效液相色谱法快速分析戊二醛消毒液的含量[J].中国城乡企业卫生,2008,3:14.

△基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题面上项目,编号:13ZJZ04-2。

HPLC法测定稀戊二醛溶液中戊二醛含量

作者: [杜建红](#), [徐小平](#), [王艳丽](#), [鄯革红](#), [赵晓娟](#), [Du Jianhong](#), [Xu Xiaoping](#), [Wang Yanli](#), [Qie Gehong](#), [Zhao Xiaojuan](#)

作者单位: [杜建红, 王艳丽, 鄯革红, 赵晓娟, Du Jianhong, Wang Yanli, Qie Gehong, Zhao Xiaojuan \(成都军区联勤部药品仪器检验所 成都 610017\)](#), [徐小平, Xu Xiaoping \(四川大学华西药学院 成都 610041\)](#)

刊名: [北方药学](#)

英文刊名: [Journal of North Pharmacy](#)

年, 卷(期): 2014(4)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_bfyx201404002.aspx