

利用毛细管胶束电动色谱法 (MEKC) 对含胍类消毒剂的样品进行定量检测——国标方法

Determination of guanidine disinfectants by capillary micellar electrokinetic chromatography (MEKC) - GB method

张晓霞, 陈泓序, 罗继, 郭立海

Xiaoxia Zhang, Hongxu Chen, Ji Luo, Lihai Guo

1. SCIEX, 中国;

1. SCIEX, China;

Key Words: Guanidine disinfectants, MEKC, PHMB, CHA, PHMG

前言

胍类消毒剂是一类细胞膜活性抗菌剂, 它杀菌谱广, 消毒速度快, 同时生物安全性更高, 对皮肤黏膜无刺激性, 因此, 常用于皮肤、黏膜消毒等。胍类消毒剂是一类环保型高分子聚合物, 因其化学结构式中具有生物活性的烷基胍而得名, 主要分为双胍类和单胍类两大类, 双胍类消毒剂有氯己定 (CHA)、聚六亚甲基双胍盐 (PHMB) 等; 单胍类消毒剂有聚六亚甲基单胍 (PHMG) 等。常用的几种胍类消毒剂的结构如图 1。

2020 年发布并实施的国标《胍类消毒剂卫生要求》(下文称国标)介绍了三种检测胍类成分的方法¹。其中, HPLC 只能检测没有聚合度的氯己定, 而 PHMB 和 PHMG 由于由不同的聚合度组成, 在 HPLC 上无法分离得到一个理想的峰型, 因此不能检测。紫外分光光度法利用胍类消毒剂特定波长下的吸收度进行定量检测, 因此, 只能用于检测含有一类成分的单方消毒剂, 复方消毒剂中多种胍类成分的吸收相互干扰会影响结果准确性因此不能用于复方检测。毛细管电泳技术 (CE) 利用带电物质的荷质比差异在电场作用下进行分离, 通过优化分离条件, 不同聚合度的胍类因为荷质比一致很容易得到一个较好的峰型, 因此非常适合具有复杂聚合度的胍类消毒剂的含量测定。国标中介绍 CE 方法适用于含 CHA、PHMG 及 PHMB 的单方或复方消毒剂中胍类成分的定量检测, 也可用于鉴定。

本文利用国标 CE 方法考察了 CHA、PHMG 以及 PHMB 三种标

准品的线性范围, 并成功用于 6 种含胍类成分的消毒剂及化妆品中胍类成分的定量检测。

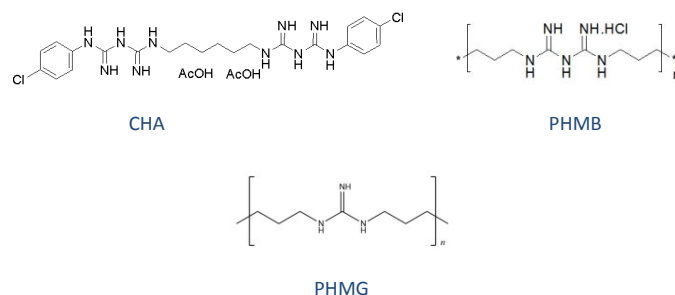


图 1. 几种常见胍类消毒剂的结构图

2. 实验部分

2.1. 试剂及样品

试剂: 四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, >99.5%), 氢氧化钠 (NaOH): 优级纯, 十二烷基硫酸钠 (SDS, 99%), 脱氧胆酸钠 (SD, 98%), 聚乙二醇 20000 (PEG20000)。标准品: 聚六亚甲基双胍盐酸盐 (PHMB) 标准品、聚六亚甲基单胍盐酸盐标准品 (PHMG)、醋酸氯己定 (CHA) 标准品均由客户提供。样品: 含不同类型胍类消毒剂的样品从市面购买或客户提供。具体信息如表 2。

2.2. 样品及缓冲液制备

标准品储备液制备：准确称取 PHMB、CHA 及 PHMG 标准品各 50 mg，分别置于 15 mL 塑料离心管中，用移液器加入水 10 mL，涡旋混匀，制得质量浓度均为 5 g/L 的标准储备液。液体标准品直接用水先稀释至 5 g/L 的标准储备液。

标准品工作液制备：将标准品储备液分别用样品缓冲液逐级稀释，分别配制成 1.875 mg/L、3.75 mg/L、7.5 mg/L、15 mg/L、30 mg/L、60 mg/L、120 mg/L 的标准品工作液。

样品溶液制备：s1, s2 用样品缓冲液稀释 20 倍；s3 稀释 30 倍；s4 稀释 5 倍；s5(湿巾挤出液)和 s6 先用水稀释至 5g/L，再在用样品缓冲液稀释至 30 mg/L；

分离缓冲液制备：分别配置浓度为 100 mM 的 Na₂B₄O₇ 水溶液，200 mM 的 SDS 水溶液，50 mM 的 SD 水溶液，10 g/L PEG20000 水溶液。取 100 mL 容量瓶，分别加入 100 mM 的 Na₂B₄O₇ 水溶液 20 mL，200 mM 的 SDS 水溶液 15 mL，50 mM 的 SD 水溶液 10 mL，10 g/L PEG20000 水溶液 8 mL，加水定容至刻度，混匀作为分离缓冲液。

样品缓冲液制备：分离缓冲液用水稀释 10 倍作为样品缓冲液。

2.3. 仪器及方法

仪器：SCIEX PA 800 Plus 药物分析系统，匹配 PDA 检测器。熔融石英毛细管 (PN. 338451)：40/50.2 cm (有效/总长度)，50 μm 内径；毛细管温度：25 °C；样品室温度：25 °C；检测波长：214 nm (检测 CHA 及 PHMG)，235 nm (检测 PHMB 及 PAPB)；窗口狭缝：100 × 800 μm。分离电压：24 kV；进样条件：0.5 psi，20 s；毛细管冲洗步骤：新毛细管在使用前分别用 1M NaOH 冲洗 20 min，水冲洗 5 min，分离缓冲液冲洗 5 min。每次进样前依次用 1M NaOH 冲洗 2 min，水冲洗 2 min，分离缓冲液冲洗 2 min，以保证迁移时间和校正峰面积的重现性。

3. 结果与讨论

3.1. 三种胍类标准品的电泳结果

CHA、PHMB 和 PHMG 三种胍类消毒剂标准品的电泳图谱和特征紫外吸收光谱，如图 2 (A-C)。三种胍类消毒剂在 CE 条件下均能得到一个较为对称的峰型，因此，可对单方中的胍类成分进行定量检测。从图 2D 不同胍类标准品在 CE 上的迁移时间可以看出，CHA 迁移时间最快，与其他两种胍类标准品可以区分。PHMG

及 PHMB 两种胍类消毒剂在 CE 上的迁移时间重叠，无法直接分离检测。但是从两种胍类的紫外吸收光谱中可以看出 PHMB 的特征吸收波长为 235nm，而 PHMG 在 235nm 处几乎无紫外吸收，因此对于复方消毒剂，可以选择不同检测波长分别对 PHMG 和 PHMB 进行定量检测。

三种胍类成分的紫外特征吸收光谱差异明显，因此除定量检测外，CE 方法还可以用于胍类成分的鉴定。CHA 和 PHMG 的最大吸收波长在 200nm 左右，为了避免低波长背景缓冲液的干扰，国标选择 214nm 作为 CHA 和 PHMG 的检测波长，PHMB 在 235nm 左右具有特征吸收波长，因此，选择 235nm 作为检测波长。

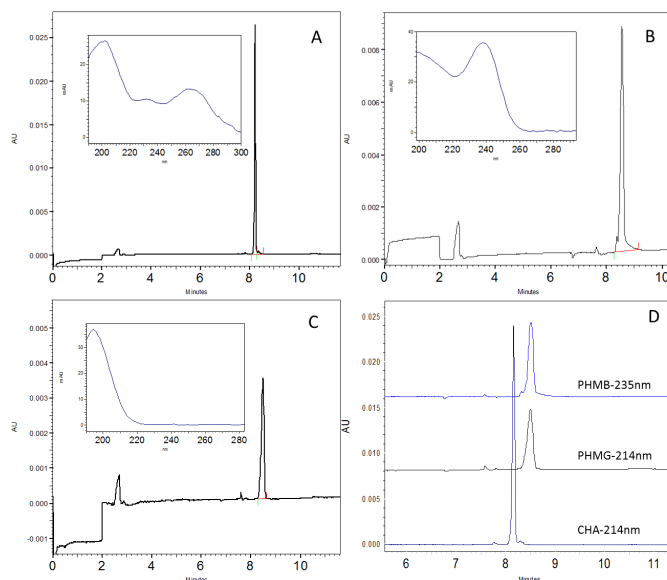


图2. 三种胍类标准品的电泳图及紫外吸收光谱图。A CHA，浓度为30mg/ml，电泳图通道为 214nm；B PHMB，浓度为 30mg/ml，电泳图通道为 235nm；C PHMG，浓度为 60mg/ml，电泳图通道为 214nm；D 三种胍类标准品的迁移时间比较。

3.2. 标准品线性范围及重复性考察

对 CHA、PHMB 和 PHMG 三种胍类消毒剂标准品的线性范围及进样重复性结果进行考察，四种标准品均用样品缓冲液稀释至 1.875mg/L、3.75mg/L、7.5mg/L、15mg/L、30mg/L、60mg/L、120mg/L，结果如表 1 所示，三种标准品的校准峰面积和标准品的浓度呈现良好的线性关系，R² 分别为 0.9993、0.9976 及 0.9999。分别对三种胍类消毒剂标准品的进样重复性进行考察，均选用 30mg/L 浓度，重复进样 6 次，各标准品迁移时间及校准峰面积的重复性结果见表 1，结果显示三种胍类消毒剂的迁移时间 RSD 值分

别为 0.34%，0.12%，0.49%及 0.88%；校准峰面积 RSD 值分别为 1.41%，3.02%，4.48%，重复性结果均满足国标要求 RSD 值不大于 10%的规定。说明方法的重复性良好。

表 1. 三种胍类消毒剂标准品的线性范围及重复性结果

名称	线性(1.875-120mg/L)		重复性(n=6)	
	标准曲线方程	R ²	RSD(%MT*)	RSD(%CA*)
CHA	y=206.32x+58.902	0.9993	0.34	1.41
PHMB	y=161.63x+174.88	0.9976	0.12	3.02
PHMG	y=35.982x+6.8161	0.9999	0.88	4.48

*MT 指迁移时间，CA 指校准峰面积

3.3. 样品中胍类消毒剂成分含量检测结果

对收集到的 6 种样品中胍类消毒剂成分含量进行检测。其中 s1, s2 和 s3 三种样品是含 CHA 成分的洗剂，s4, s5 和 s6 三种样品是含 PHMB 成分的化妆品。从图 3 可以看出，国标 CE 方法在检测复杂样品中胍类成分时样品峰型好，基线平滑，且消毒剂中的其他物质不干扰胍类成分检测，因此，非常适合用于胍类消毒剂的定量检测。几种样品的含量检测结果见表 2。

表 2. 样品中胍类消毒剂成分含量检测结果

样品	名称	成分	含量计算结果	理论含量
s1	甲硝唑氯己定洗剂	CHA	0.9 g/L	1.2 g/L
s2	妇炎洁	CHA	1.3 g/L	0.8-1.2 g/L
s3	无醇免洗手消毒液	CHA	0.9 g/L	10-12 g/L
s4	完美日记卸妆水	PHMB	0.9 g/L	未标识
s5	卸妆湿巾成品	PHMB	1.3 g/L	2 g/L
s6	精华液	PHMB	2.0 g/L	2 g/L

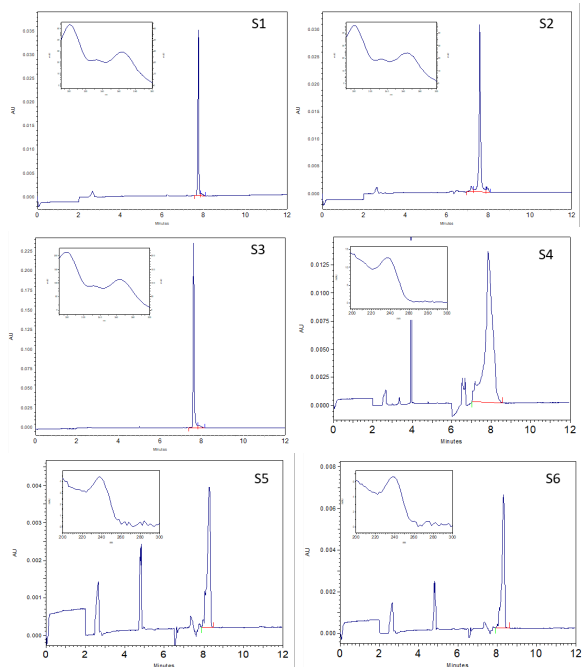


图 3. 六种含胍类成分的样品的电泳图。

4. 结论

本实验重现了国标《胍类消毒剂卫生要求》中介绍的毛细管电泳方法，对 CHA、PHMB 及 PHMG 三种标准品进行了线性范围考察以及进样重复性考察。结果三种标准品在 1.875 mg/L-120 mg/L 范围内线性良好，迁移时间及校准峰面积的重复性均良好。利用国标 CE 方法对 6 种含胍类成分的样品进行胍类成分定量检测，所有样品峰型好，基线平滑，且主峰检测不受样品中其他成分干扰。国标 CE 方法非常适合胍类消毒剂的定量检测。

5. 参考文献

1. 胍类消毒剂卫生要求，GB/T 26367-2020.

SCIEX 临床诊断产品线仅用于体外诊断。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. 或在美和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14637-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)