

高效液相色谱法测定包装材料中苯扎氯铵含量

张勇¹, 余权²

(1.西安市产品质量监督检验院, 西安 710065; 2.西安理工大学, 西安 710048)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法(HPLC)测定包装材料中3种苯扎氯铵(十二烷基二甲基苄基氯化铵、十四烷基二甲基苄基氯化铵和十六烷基二甲基苄基氯化铵)的含量。**方法** 将样品经甲醇-水(体积比1:1)超声, 离心过滤, 二极管阵列检测器测定, 外标法定量。**结果** 在10.0~500.0 mg/L范围内, 3种苯扎氯铵的线性良好, $r^2 \geq 0.9996$, 检出限为2.5~5.0 mg/L, 定量限为10.0~20.0 mg/L, 平均回收率为88.7%~96.6%, 相对标准偏差为2.5%~5.3%。**结论** 该方法前处理简便, 灵敏度和准确度高。

关键词: 包装材料; 苯扎氯铵; 高效液相色谱

中图分类号: TB487 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2017)11-0060-04

Determination of Benzalkonium Chloride in Packaging Materials by High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Yong¹, YU Quan²

(1.Xi'an Supervision & Inspection Institute of Product Quality, Xi'an 710065, China;

2.Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China)

ABSTRACT: The work aims to establish high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the contents of three benzalkonium chlorides (dodecyl dimethyl benzyl ammonium chloride, tetradecyl dimethyl benzyl ammonium chloride, hexadecyl dimethyl benzyl ammonium chloride) in packaging materials. Samples were extracted by methanol-water (volume ratio 1:1) ultrasound and centrifugal filtration, determined by diode array detector, and quantified by external standard method. The results showed that three benzalkonium chlorides had good linearity in the range of 10.0~500.0 mg/L, and r^2 were less than or equal to 0.9996; the detection limit was 2.5~5.0 mg/L; the limit of quantification was 10.0~20.0 mg/L; the average recovery rate was 88.7%~96.6%, and the relative standard deviation was 2.5%~5.3%. The pretreatment of the proposed method is simple, and it is of high sensitivity and accuracy.

KEY WORDS: packaging materials; benzalkonium chloride; high performance liquid chromatography

苯扎氯铵又名洁尔灭(BAC), 是一种阳离子表面活性剂, 是由正烷基取代二甲基苄基氯化铵组成的同系物混合物, 其中以十二烷基二甲基苄基氯化铵(DDBAC)、十四烷基二甲基苄基氯化铵(TDBAC)和十六烷基二甲基苄基氯化铵(HDBAC)最为常见^[1]。苯扎氯铵属于季铵盐类非氧化性杀菌剂, 具有广谱、高效的杀菌灭藻能力, 对革兰氏阳性菌和阴性菌, 滴虫、原虫和真菌具有抑菌效果, 常作为防腐剂和杀菌剂广泛应用于消毒剂、卫生湿巾、化妆品和包装材料等^[2-8]。苯扎氯铵对皮肤、眼睛都具有强烈的刺激性, 过量使用苯扎氯铵会引起变态反应性结膜炎、视力减退、接触性皮炎、灼伤中毒, 严重

者甚至可能导致死亡, 因此, 针对包装材料中苯扎氯铵的检测方法研究具有重要意义。

目前, 检测苯扎氯铵的方法主要为示差分光光度法^[9]、毛细管电泳法^[10-11]、高效液相色谱法^[12-17]等, 其中示差分光光度法和毛细管电泳法样品前处理步骤繁琐, 特异性较差、假阳性较高、灵敏度较差。鉴于目前关于包装材料中苯扎氯铵残留量检测方法报道较少, 文中采用高效液相色谱法, SCX 阳离子色谱柱分离, 利用二极管阵列检测器测定聚氯乙烯包装材料中3种苯扎氯铵含量, 该方法灵敏度和选择性强, 对仪器要求简单, 可为包装材料质量安全监管提供技术方法。

收稿日期: 2016-12-05

作者简介: 张勇(1979—), 男, 硕士, 工程师, 主要研究方向为纸包、塑包检验。

1 实验

1.1 仪器与试剂

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); MixPlus 型涡旋混合器(合肥艾本森科学仪器有限公司); DS-2510DTH 型超声波清洗机(上海生析超声仪器有限公司); 3k15 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); ME54E 型电子天平(梅特勒-托利多国际股份有限公司)。

十二烷基二甲基苄基氯化铵(DDBAC)、十四烷基二甲基苄基氯化铵(TDBAC)和十六烷基二甲基苄基氯化铵(HDBAC)标准物质, 纯度 $\geq 99.5\%$ (质量分数), 美国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司; 甲醇、乙腈、三乙胺、庚烷磺酸钠、磷酸氢二铵, 色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司; 其余试剂均为化学纯。

10 mg/mL 苯扎氯铵标准溶液: 分别准确称取 0.10 g DDBAC, TDBAC 和 HDBAC 标准品, 用甲醇-水(体积比 1:1, 下同)溶解并定容至 10 mL, 得到 10 mg/mL 的标准储备液。

1.2 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 流动相为甲醇与 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠溶液(含体积分数为 1% 的三乙胺溶液, 下同), 体积比为 88:12; 流速为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μ L; 检测波长为 260 nm。

1.3 样品前处理

准确称取样品 5.00 g 于离心管中, 加入 20.0 mL 甲醇-水超声 10 min, 8000 r/min 离心 5 min, 上清液经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤净化, HPLC 进行测定。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

使用 DAD 检测器在 190~400 nm 范围内对 3 种苯扎氯铵化合物进行全波长扫描(步进值为 2 nm)。扫描结果显示, 3 种苯扎氯铵化合物的吸收曲线较为相似, 最大吸收波长均在 360 nm 附近。故选择 360 nm 作为 3 种目标物的检测波长。

2.2 色谱分离条件的选择

分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-磷酸氢二铵溶液、甲醇-庚烷磺酸钠溶液、甲醇-庚烷磺酸钠溶液-三乙胺等流动相对 3 种苯扎氯铵待测物的分离状况。结果表明: 以甲醇-水、乙腈-水为流动相时, 色谱峰不能实现有效分离; 以乙腈-磷酸氢二铵溶液为流动相时, 单个化合物出现双峰; 以甲醇-庚烷磺酸钠溶

液为流动相时, 尤其是以甲醇与 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠溶液作为流动相, 3 种苯扎氯铵能得到较好分离, 色谱峰的峰形尖锐, 对称性好, 分离度大于 1.5(见图 1 和表 1)。这可能是由于三乙胺作为缓冲盐改性剂, 可与固定相的硅羟基结合, 阻碍了样品中碱性化合物与硅羟基的作用, 减少了峰拖尾。故选择甲醇与 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠溶液(含体积分数为 1% 三乙胺溶液)作为流动相。

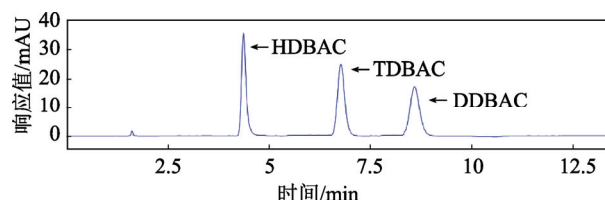


图1 苯扎氯铵标准品色谱

Fig.1 Chromatogram for the benzalkonium chloride

2.3 流动相配比的选择

考察以甲醇-庚烷磺酸钠(0.2 mol/L)为流动相, 流动相比对洗脱速度和分离度的影响。结果表明, 流动相中甲醇的含量越高, 洗脱速度越快; 庚烷磺酸钠的含量越高, 洗脱速度越慢, 分离度越高, 故通过调节甲醇和庚烷磺酸钠的比例或浓度将 3 种苯扎氯铵目标峰在较短的时间内高效分离; 当选择甲醇和庚烷磺酸钠(0.2 mol/L)的体积比为 88:12 时, 3 种苯扎氯铵能在 10 min 内实现完全分离, 分离度大于 1.5, 峰形对称尖锐。

2.4 样品提取方法的选择

考察了提取溶剂体积比为 2:8, 1:1, 8:2 的甲醇-水、乙腈-水溶液以及甲醇(100%)、乙腈(100%)、水作为提取溶剂对苯扎氯铵进行提取处理。结果发现, 水溶液提取样品的检测结果最低, 甲醇-水溶液提取样品的检测结果最高, 而且色谱峰形良好, 因此最终确定甲醇-水溶液作为提取溶剂。

2.5 回归方程、检出限与定量限的测定

按照 1.2 节色谱条件, 对 10.0, 20.0, 50.0, 100.0, 200.0, 500.0 mg/L 苯扎氯铵混合标准溶液进行测定, 以质量浓度(x)为横坐标, 峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线, 建立线性回归方程, 见表 1。由表 1 可知, 在质量浓度为 10.0~500.0 mg/L, 3 种苯扎氯铵线性良好, $r^2 \geq 0.9996$ 。将空白对照与一系列苯扎氯铵混合标准溶液, 按 1.2 节色谱条件重复测定 20 次, 依据 GB/T 16631—2008《高效液相色谱法通则》, 以信噪比 $S/N=3$ 计算, 3 种苯扎氯铵最低检出限(LOD)为 2.5~5.0 mg/L; 以信噪比 $S/N=10$ 计算, 3 种苯扎氯铵定量限(LOQ)为 10.0~20.0 mg/L。

表 1 苯扎氯铵回归方程、检出限和定量限
Tab.1 Linear relationship, detection limit and quantitative limit of benzalkonium chloride

组分	保留时间/min	线性范围/(mg·L ⁻¹)	回归方程	相关系数 r^2	LOD/(mg·L ⁻¹)	LOQ/(mg·L ⁻¹)
DDBAC	8.64	20.0 ~ 500.0	$y=11767.7x-33.7$	0.9996	5.0	20.0
TDBAC	6.78	10.0 ~ 500.0	$y=94490.3x-296.5$	0.9997	2.5	10.0
HDBAC	4.36	10.0 ~ 500.0	$y=63158.6x-1076.4$	0.9998	2.5	10.0

2.6 加标回收率和精密度

选取不含苯扎氯铵的空白样品中添加 3 种苯扎氯铵标准溶液,进行加标回收实验和精密度实验,结果见表 2。由表 2 可知,3 种苯扎氯铵平均回收率为 88.7%~96.6%,其中加标量低水平为 10.0 mg/L 时,TD-

BAC 和 HDBAC 平均回收率仅为 88.7%和 89.6%,这可能是由于样品中待测物含量太少,导致测得回收率误差较大,引起平均回收率较低;相对标准偏差为 2.5%~5.3%时,总体呈现出随着添加浓度增大,平均回收率逐步增大的变化趋势。该方法具有良好的回收率和精密度,可满足包装材料中 3 种苯扎氯铵检测要求。

表 2 加标回收率和精密度 ($n=6$)
Tab.2 Recoveries and precision ($n=6$)

组分	质量浓度/(mg·L ⁻¹)	平均检测值/(mg·L ⁻¹)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
DDBAC	20.0	18.67	93.4	4.6
	250.0	231.6	92.6	3.1
	500.0	483.1	96.6	2.5
TDBAC	10.0	8.87	88.7	4.2
	250.0	236.8	94.7	4.8
	500.0	468.2	93.6	3.6
HDBAC	10.0	8.96	89.6	5.3
	250.0	228.4	91.4	4.0
	500.0	461.8	92.4	3.3

2.7 实际样品的检测

对市售不同厂家 30 种聚氯乙烯包装材料按上述方法进行检测,发现 30 批次样品中,共计 17 批次(检出率 56.67%)包装材料检测出添加了苯扎氯铵作为杀菌剂,而且含量颇高,其中 DDBAC 质量浓度为 217.3 mg/L、TDBAC 质量浓度为 72.8 mg/L、HDBAC 质量浓度为 94.6 mg/L;8 批次样品外包装上明确标示含有苯扎氯铵,其余批次均在其最小销售标签上没有标注含有苯扎氯铵,这可能给消费者产生误导,给产品质量安全带来隐患。

3 结语

采用高效液相色谱法,SCX 阳离子色谱柱分离,利用二极管阵列检测器测定包装材料中 3 种苯扎氯铵含量。结果表明,在 10.0~500.0 mg/L 范围内,3 种苯扎氯铵线性良好, $r^2 \geq 0.9996$;检出限为 2.5~5.0 mg/L;定量限为 10.0~20.0 mg/L;平均回收率为 88.7%~96.6%,相对标准偏差为 2.5%~5.3%。该方法前处理简便,灵敏度和选择性强,对仪器要求简单,

可为包装材料质量安全监管提供技术方法。

参考文献:

- [1] 杨益民,刘名,任珩,等.苯扎氯铵溶液对血管壁刺激性的实验研究[J].医药论坛杂志,2010(23):101—103.
YANG Yi-min, LIU Ming, REN Heng, et al. Benzalkonium Chloride Solution on the Vascular Irritation Experiment[J]. Journal of Medical Forum, 2010(23): 101—103.
- [2] 吴争,丁晟,蔡宏,等.苯扎氯铵消毒液的急性毒性和致突变实验研究[J].科技广场,2010(10):129—131.
WU Zheng, DING Sheng, CAI Hong, et al. The Acute Toxicity of Benzalkonium Chloride Disinfectant and Study on Mutagenicity[J]. Science and Technology Plaza, 2010(10): 129—131.
- [3] 吴晓松,陈越英,谈智,等.三种革兰阴性杆菌耐消毒剂基因及对苯扎溴铵抗性测定[J].中国消毒学杂志,2009,26(3):249—252.
WU Xiao-song, CHEN Yue-ying, TAN Zhi, et al. Three Kinds of Gram Negative Bacilli Disinfectant Resistant Genes and Their Resistance to the Determination of the Resistance[J]. Chinese Journal of Disinfection, 2009,

- 26(3): 249—252.
- [4] 刘吉起, 张向兵, 杨瑞春, 等. 高效液相色谱法测定复方消毒剂中苯扎氯铵含量的观察[J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(6): 682—684.
LIU Ji-qi, ZHANG Xiang-bing, YANG Rui-chun, et al. Determination of Benzalkonium Chloride Content in Compound Disinfectant Chinese[J]. Journal of Disinfection, HPLC 2010, 27(6): 682—684.
- [5] 余丽, 匡华, 徐丽广, 等. 食品包装用纸中残留污染物分析[J]. 包装工程, 2015, 36(1): 6—11.
YU Li, KUANG Hua, XU Li-guang, et al. Residual Contaminant Analysis in Paper Packaging of Food[J]. Packaging Engineering, 2015, 36(1): 6—11.
- [6] 赵彬, 黄美娜, 袁毅, 等. 食用菌保鲜包装的研究进展[J]. 包装工程, 2016, 37(13): 92—98.
ZHAO Bin, HUANG Mei-na, YUAN Yi, et al. Advances on Fresh-keeping Packaging for Edible Fungi[J]. Packaging Engineering, 2016, 37(13): 92—98.
- [7] CARMEN S R, DOMINGO B, PEDRO M, et al. Effects of Electron Beam Irradiation on the Shelf Life, Microbial Population and Sensory Characteristics of Summer Truffles (*Tuber Aestivum*) Packaged under Modified Atmosphere[J]. Food Microbiology, 2011(8): 141—148.
- [8] 卢浩, 郭英. 羟丙基壳聚糖与表面活性剂的缓蚀协同效应[J]. 表面技术, 2014, 43(6): 69—74.
LU Hao, GUO Ying. Synergistic Inhibition Effect of Hydroxypropyl Chitosan and Surfactant for Carbon Steel[J]. Surface Technology, 2014, 43(6): 69—74.
- [9] 周密, 段更利, 刘振. 复方消毒剂中戊二醛和苯扎氯铵的含量测定方法研究[J]. 环境与职业医学, 2002, 19(5): 308—310.
ZHOU Mi, DUAN Geng-li, LIU Zhen. Research on the Method of Determination of Compound Disinfectant of Glutaraldehyde and Benzalkonium Chloride[J]. The Environment and Occupation of Medicine, 2002, 19(5): 308—310.
- [10] 刘雯雯, 张瑾, 乔俊琴, 等. 复方化学消毒剂中苯扎氯铵的高效液相色谱测定[J]. 岩矿测试, 2011, 30(6): 677—682.
LIU Wen-wen, ZHANG Jin, QIAO Jun-qin, et al. Determination of Rock Testing, High Performance Liquid Compound Chemical Disinfectant Benzalkonium Chloride in Chromatography, 2011, 30(6): 677—682.
- [11] HOU Y H, WU C Y, WANG W H. Development and Validation of a Capillary Zone Electrophoresis Method for the Determination of Benzalkonium Chlorides in Ophthalmic Solutions[J]. J Chromatogr A, 2002, 976(6): 207—213.
- [12] 丁晓静, 车宜平, 赵海燕, 等. 反相高效液相色谱法测定复方化学消毒剂中苯扎氯铵[J]. 分析测试学报, 2006, 25(6): 63—66.
DING Xiao-jing, CHE Yi-ping, ZHAO Hai-yan, et al. A RP-HPLC Method for Determination of Compound Chemical Disinfectant Benzalkonium Chloride[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2006, 25(6): 63—66.
- [13] 牛晓霞, 曹艳, 吴美英. 高效液相色谱法测定重组人干扰素 α_1b 滴眼液中苯扎氯铵的含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(6): 877—879.
NIU Xiao-xia, CAO Yan, WU Mei-ying. Determination of Recombinant Human Interferon Alpha 1B in Eye Drops of Benzalkonium Chloride Content[J]. Chinese Biological Biologicals, HPLC 2013, 26(6): 877—879.
- [14] 万敏, 陶强, 崔鹏, 等. 感染性物质的安全防护与包装检测技术探讨[J]. 包装工程, 2012, 33(13): 133—137.
WAN Min, TAO Qiang, CUI Peng, et al. Safety Protection and Packaging Detection Technology of Infectious Substance[J]. Packaging Engineering, 2012, 33(13): 133—137.
- [15] 赵文英, 张青, 武智强, 等. 苯扎溴铵、苯扎氯铵的液相色谱分析[J]. 分析试验室, 2015, 34(4): 471—474.
ZHAO Wen-ying, ZHANG Qing, WU Zhi-qiang, et al. Analysis of Benzalkonium Bromide and Benzalkonium Chloride Liquid Chromatography[J]. Analysis Laboratory, 2015, 34(4): 471—474.
- [16] BERNAL J L, NOZAL M J, MARTÍN M T, et al. Quantitation of Activing Redients and Excipients in Nasal Sprays by High-performance Liquid Chromatography, Capillary Electrophoresis and UV Spectroscopy[J]. J Chromatogram A, 1998, 823(1): 423—431.
- [17] DING X J, MOU S F, ZHAO S. Analysis of Benzyl Dim Ethyldodecylamm Onium Bromide in Chemical Disinfectants by Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis[J]. J Chromatogr A, 2004, 1039(1): 209—213.