

# 高效液相色谱法检测不同类型消毒剂中 度米芬含量的方法研究

施寒竹,白娟,朱倩云,李成网  
(安徽省医学科学研究院,安徽合肥 230061)

**摘要 目的** 建立测定不同类型消毒产品中度米芬含量的高效液相色谱方法。**方法** 在 Sepax HP – SCX (4.6 × 250 mm, 5 μ, 磺化交联的苯乙烯 – 二乙烯基苯共聚物为填充剂) 离子交换树脂色谱柱上, 以甲醇 + 0.05 mol/L 醋酸钠溶液 (80:20) 为流动相, 流量为 1.0 ml/min, 柱温为 40 ℃, 检测波长为 274 nm 条件下, 测定度米芬含量。**结果** 度米芬的浓度范围为 0.101 8 ~ 2.035 1 mg/ml 时, 峰面积与浓度呈良好的线性关系 ( $r = 0.999\ 8, n = 6$ ), 平均回收率为 106.70%, RSD 为 2.25%。**结论** 该方法准确简便、通用且专属性强, 有助于检测和判断消毒产品中度米芬违规添加问题, 能够为填补《消毒技术规范》中消毒剂产品度米芬含量测定方法的空白提供技术支持。

**关键词** 高效液相色谱法; 度米芬; 离子交换树脂色谱柱

中图分类号: R187

文献标识码: A

文章编号: 1001 – 7658 (2019) 03 – 0173 – 04

DOI: 10.11726/j.issn.1001 – 7658.2019.03.005

## Study on the content determination of domiphen in different form of disinfection products by HPLC

SHI Han – zhu, BAI Juan, ZHU Qian – yun, LI Cheng – wang  
(Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei Anhui 230061, China)

**Abstract Objective** A high performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of domiphen in different form of disinfection products was developed. **Methods** The sample was separated on Sepax HP – SCX ion exchange resin column using methol + 0.05 mol/L sodium acetate (80 : 20, v/v) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was set at 40 ℃, and domiphen was determined with UV detection at a wavelength of 274 nm. **Results** A good linearity between the concentrations of domiphen and their peak areas was shown from 0.101 8 to 2.035 1 mg/ml ( $r = 0.999\ 8, n = 6$ ), and the recovery of this method was 106.70% with RSD of 2.25%. **Conclusion** The method is convenient, accurate, specific and rapid for routine analysis. This method will be helpful for detecting and judging the illegal addition of domiphen products, and it can provide technical support for filling the blank of the determination method of domiphen in disinfection products in the *Technical Standard for Disinfection* of China.

**Key words** HPLC; domiphen; ion exchange resin column

度米芬为季铵盐类阳离子型表面活性消毒防腐剂,对革兰阳性细菌、革兰阴性细菌及真菌均有杀灭作用,临床常被用于口腔和咽喉感染的辅助治疗。度米芬含量检测方法的研究主要涉及药物检测方面,而消毒杀菌产品中度米芬类物质的含量检测方法鲜有报道。目前报道的主要检测方法包括紫外分光光度法<sup>[1]</sup>、离子对比色法<sup>[2]</sup>、铬酸钾指示剂法<sup>[3]</sup>、

四苯硼钠法<sup>[4]</sup>、薄层扫描法<sup>[5]</sup>和 C<sub>18</sub>柱高效液相色谱法<sup>[6]</sup>等。这些方法通常存在操作繁琐、干扰度大、分离度不高,微量检测效果不理想等缺点,因此,建立一种用于度米芬类消毒抑菌产品中该物质含量检测的简便、通用、高效方法具有十分重要的意义。本研究通过采用 Sepax HP – SCX (4.6 × 250 mm, 5 μm, 磺化交联的苯乙烯 – 二乙烯基苯共聚物为填充剂) 的离子交换树脂色谱柱,建立消毒产品中度米芬的含量检测方法,对凝胶、喷雾剂和凝胶洗液等不同类型的消毒产品进行方法验证,为填补《消毒技术规范》<sup>[7]</sup>中该方法的空白提供实验依据,同时对某品牌未标明度米芬成分消毒剂进行了该物质违规

〔基金项目〕 安徽省卫计委科研计划项目 (2018YK012)  
〔作者简介〕 施寒竹 (1991 – ), 女, 安徽合肥人, 硕士, 研究实习员, 从事消毒学卫生学研究工作。  
〔通讯作者〕 李成网, Email: lichengwang@aliyun.com

添加剂检测,验证该方法的应用效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

检测仪器为某品牌 U3000 型高效液相色谱仪;度米芬对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号为 100455-200401。手消毒剂及阴性制剂、婴儿肤康凝胶、喷雾剂、妇科洗液凝胶、口腔抑菌喷液和儿童口腔喷液均为国内市售产品。甲醇试剂为色谱纯,醋酸钠为分析纯,水为重蒸水。

### 1.2 色谱条件

色谱柱:Sepax HP-SCX(4.6×250 mm,5 μm,磺化交联的苯乙烯-二乙烯基苯共聚物为填充剂);流动相为甲醇-0.05 mol/L 醋酸钠溶液,比例为 80:20;检测波长为 274 nm;柱温为 40℃;流量为 1.0 ml/min。度米芬理论板数≥3 000。

### 1.3 标准工作液和样品溶液制备

取适量度米芬对照品,精密称量后加流动相溶解并定量稀释成浓度为 2.035 1 mg/ml 溶液,分别精密吸取 0.50、1.25、2.50、5.00 和 7.50 ml 置 10 ml 容量瓶中,加流动相稀释并混匀。精密称取固体消毒剂样品适量,加流动相 25 ml 后称重,超声处理 10 min 后再称重,用流动相补足减少的重量,摇匀后经 0.45 μm 滤膜过滤,续滤液作为样品溶液。取液体消毒剂样品摇匀,精密量取适量用流动相稀释定容后,摇匀后经 0.45 μm 滤膜过滤,续滤液作为样品溶液。取不含度米芬的阴性消毒制剂,按样品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

### 1.4 方法性能测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl 注入液相色谱仪,依据 2015 年版《中华人民共和国药典》(二部)中度米芬滴丸的测定方法<sup>[4]</sup>,色谱条件见 1.2。检验方法性能比较内容包括:①专属性试验:按测定法测定度米芬对照品溶液、手消毒剂样品溶液及其阴性对照溶液。根据色谱相应位置上度米芬的出峰情况,判断检测方法对度米芬的检出能力和分离度。②线性关系考察:吸取对照品溶液,按 1.2 中色谱条件测定,以度米芬的浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,计算线性回归方程,判断与峰面积呈良好的线性关系的度米芬浓度范围。③精密度试验:重复进样手消毒剂样品溶液 6 次,测定峰面积值,计算相对标准偏差(RSD),即标准偏差与检测结果比值的平均值,判断检测方法的精密度。④重现性试验:取同批手消毒剂样品 6 份,测定其度米芬的含量,按外标法以峰面积计算,结果乘以

1.043 4<sup>[8]</sup>,计算 RSD,判断方法的重现性。⑤稳定性试验:精密吸取手消毒剂样品溶液,分别间隔 2 h 测定度米芬峰面积,直至 10 h。计算得度米芬峰面积 RSD,判断样品溶液在 10 h 内的稳定性。⑥加样回收率试验:精密量取配置好的度米芬样品 9 份,第一组分别加入 0.508 8、1.017 6 或 1.526 3 mg/ml 对照品溶液 1.0 ml 各 3 份,混匀按样品溶液制备方法制备并测定峰面积,计算度米芬含量和回收率,判断方法的准确度和可行性。⑦检出限测定:取线性最小浓度的标准品逐级稀释,按含量测定项下的方法和检出限。

### 1.5 样品溶液的测定

1.5.1 定量测定不同剂型消毒产品中的度米芬含量 分别测定手消毒剂、婴儿肤康凝胶、喷雾剂和妇科洗液凝胶中度米芬含量。对照品浓度 1.017 6 mg/ml,按外标法计算峰面积,结果乘以 1.043 4。

1.5.2 定性测定未标注含有度米芬的消毒产品中度米芬添加情况 取产品宣传为纯中药抑菌剂的某种口腔抑菌喷液及儿童口腔喷液样品溶液,测定度米芬出峰情况。根据样品色谱图中度米芬特征峰的检出,判断样品度米芬有无添加。

## 2 结果

### 2.1 方法性能检测结果

按液相色谱法测定度米芬对照品溶液、手消毒剂样品溶液及阴性对照溶液,测得的色谱图分别见图 1、图 2 和图 3。在与对照品色谱图相应位置上,手消毒剂阴性对照品无相应峰形出现,而消毒剂样品溶液则出现度米芬色谱峰,并且该峰与消毒剂中其他组分的峰形区分明显,表明该方法对消毒剂中度米芬成分的检出能力良好。度米芬的峰形线性回归方程为:Y = -0.087 6 + 20.484 4X(r = 0.999 8, n = 6),提示度米芬在浓度范围为 0.101 8 ~ 2.035 1 mg/ml 时与峰面积呈良好的线性关系。手消毒剂样品溶液重复测定 6 次,测定峰面积值,计算得 RSD 为 0.30%,显示本法精密度良好。6 份同批手消毒剂样品测定的度米芬含量,计算得 RSD 为 0.25%,表明本法重现性良好。精密吸取手消毒剂样品溶液,分别间隔 2 h 测定,计算得度米芬峰面积 RSD 为 0.57%,表明样品溶液在 10 h 内稳定性良好。加样回收率试验结果表明样品溶液回收率范围为 102.61% ~ 108.92%,平均回收率为 106.7%,RSD 为 2.25%,表明本法准确度良好,此方法可行,结果见表 1。检出限测定结果显示,当信噪比为 3 时,浓度检出限为 0.000 7 mg/ml。

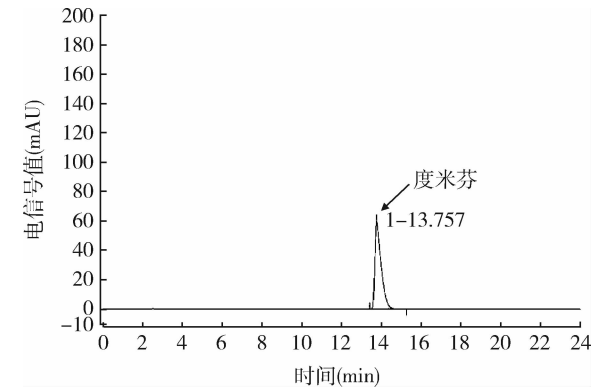


图 1 度米芬对照品色谱图

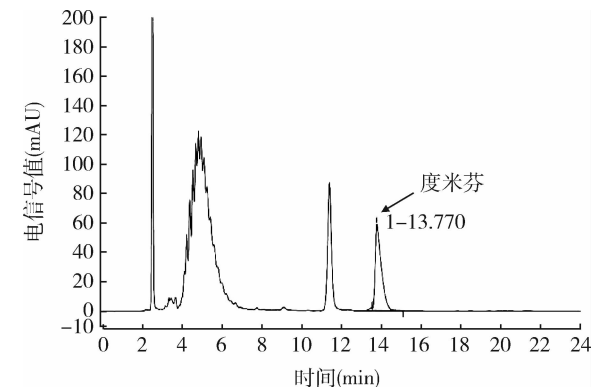


图 2 手消毒剂样品色谱图

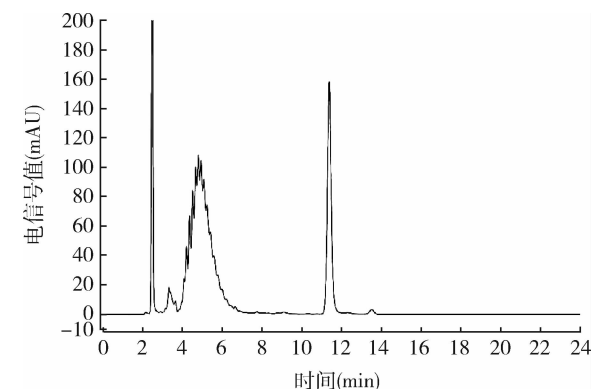


图 3 手消毒剂阴性样品色谱图

表 1 加样回收率试验结果

编号	取样量 (ml)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	1.0	1.024	0.509	1.569	107.08
2	1.0	1.024	0.509	1.576	108.45
3	1.0	1.024	0.509	1.571	107.51
4	1.0	1.024	1.018	2.087	104.50
5	1.0	1.024	1.018	2.068	102.61
6	1.0	1.024	1.018	2.082	103.95
7	1.0	1.024	1.526	2.681	108.55
8	1.0	1.024	1.526	2.686	108.92
9	1.0	1.024	1.526	2.685	108.85

2.2 不同类型消毒剂溶液的测定结果

定量测定不同类型消毒产品中的度米芬含量，其中 3 种手消毒剂中度米芬平均含量约 1.0 mg/ml,均在产品的标示量 0.9 ~ 1.2 mg/ml 范围内;婴儿肤康凝胶、喷雾剂和妇科洗液凝胶中度米芬平均含量分别为 4.84 mg/g、4.87 mg/ml 和 4.89 mg/g,此 3 种产品均在标示量 0.25 ~ 0.50 mg/g (mg/ml) 范围内,见表 2。

表 2 样品中度米芬含量测定结果 (mg/ml)

样品 批次	手消 毒剂 1	手消 毒剂 2	手消 毒剂 3	婴儿 肤康凝胶	某品牌 喷雾剂	妇科 洗液凝胶
1	1.039	0.995	0.996	4.835	4.865	4.887
2	1.038	0.995	0.998	4.844	4.870	4.886
3	1.037	0.995	0.997	4.844	4.866	4.887
4	1.039	0.995	0.996	4.844	4.867	4.886
5	1.037	0.993	0.997	4.834	4.868	4.887
平均值	1.038	0.994	0.997	4.840	4.867	4.887

2.3 对 2 种未标注度米芬成分消毒产品的定性测定

对某厂家口腔抑菌喷液及儿童口腔喷液样品溶液测定,2 种样品色谱图中均检出了度米芬的特征峰(图 4、图 5),结果表明两种样品均存在度米芬添加,与产品宣传为纯中药抑菌剂不符,经计算,口腔抑菌喷液和儿童口腔喷液中度米芬含量分别为 4.172 mg/ml和 4.017 mg/ml。

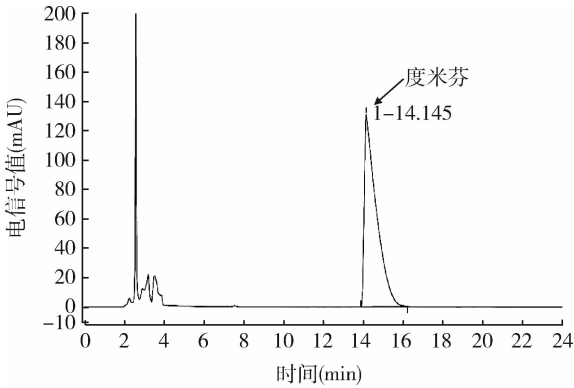


图 4 口腔抑菌喷液样品色谱图

3 讨论

多数含度米芬的消毒产品因含复方中药成分，产品颜色较深,这对滴定法、比色法和紫外分光光度法均有干扰,易导致实验过程繁琐,分析结果不准确等现象,且这类产品成分复杂,很多复杂成分易对度米芬含量测定方法产生干扰,按照以往的 C<sub>18</sub>柱高效液相色谱法测定,实验结果容易受其他成分影响,柱效不高,分离度不佳。此外,一些厂家向其生产的产品中添加度米芬,对外宣传其产品依靠天然成分杀

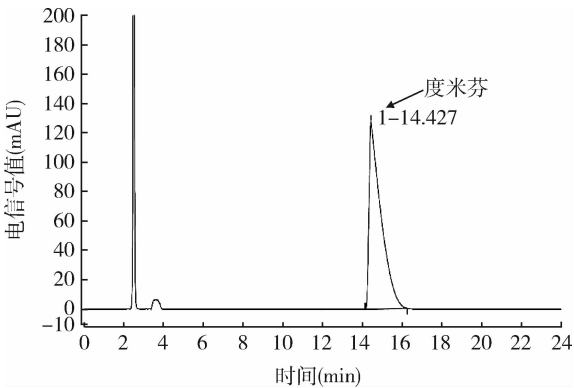


图5 儿童口腔喷液样品色谱图

菌消毒,形成虚假宣传,此类产品需要依靠灵敏度高、专属性强、抗干扰的方法检测出违规添加的度米芬。本文建立了一种通用方法,采用 Sepax HP – SCX(4.6 × 250 mm, 5 μm, 磺化交联的苯乙烯—二乙烯基苯共聚物为填充剂)色谱柱,以甲醇 – 醋酸钠溶液为流动相,在验证该方法的检测效果的基础上,对6种消毒产品中的度米芬含量进行测定,结果显示3种手消毒剂、喷雾剂类液体剂型、肤康凝胶以及妇科洗液凝胶的度米芬含量均在标示量范围内。这表明对消毒剂中度米芬成分的检测,该方法简便通用,结果准确高效,保留时间稳定,具有分离度高,重复性好,专属性强等特点,测定结果不易受其他成分干扰,可用于不同剂型消毒产品中度米芬含量的测定。该方法填补了2002年版《消毒技术

规范》中消毒产品度米芬含量检测方法的空缺,对目前的《消毒技术规范》进行了有效补充。同时,该方法对口腔抑菌喷液和儿童口腔喷液两种包装未标注含有度米芬成分的消毒产品进行测定,两种产品色谱图中均存在度米芬特征吸收峰,可证明消毒剂中存在违规添加的度米芬,进而证实该方法具有较高的灵敏度和较强的专属性,能够检测出多种包装未标注的产品中度米芬成分及含量,这对于鉴定杀菌消毒产品中度米芬有无违规添加和虚假宣传有着重要意义。

参考文献

[1] 郑维国. 紫外分光光度法测定度米芬消毒液中度米芬的含量[J]. 实用医药杂志, 2005, 22(4): 334.

[2] 李开敏, 詹世琴, 曾令高. 离子对比色法测定度米芬喉片的含量[J]. 中国药业, 2002, 11(9): 38-39.

[3] 江相兰, 杨楠楠, 杨冬芝, 等. 铬酸钾指示剂法测定度米芬原料药含量[J]. 中国药房, 2010, 21(29): 2770-2771.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部). [M]. 2005年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 445.

[5] 金伯梅, 王晓华. 薄层扫描测定度米芬喉片中度米芬的含量[J]. 中国现代应用药学, 1997, 14(4): 35-36.

[6] 符滇海, 黄秋研, 刘秋雨. HPLC 测定度米芬含片的含量[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(8): 630-632.

[7] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 841.

(收稿日期: 2018 - 09 - 27)

(上接第 172 页)

[7] CDC, ADA. Statement on dental unit waterlines[S]. 2004.

[8] ADA. Statement on dental unit waterlines. Adopted by the ADA Board of Trustees, December 13, 1995 and the ADA Council on Scientific Affairs, September 28, 1995[J]. Northwest Dent, 1996, 75(2): 25-26.

[9] American Dental Association. Statement on Dental Unit Waterlines[EB/OL]. www. ada. org/1856. aspx, 2018/6/28.

[10] British Dental Association. Advice Sheet A12 Infection Control in Dentistry[EB/OL]. http://www. virox. com/files\_docs/content/pdf/msds/bda-cross-infection. pdf, 2018/6/28.

[11] Ji X, Fei C, Zhang Y, et al. Evaluation of bacterial contamination of dental unit waterlines and use of a newly designed measurement device to assess retraction of a dental chair unit[J]. Int Dent J, 2016, 66(4): 208-214.

[12] O'Donnell MJ, Boyle MA, Russell RJ, et al. Management of dental unit waterline biofilms in the 21st century[J]. Future Microbi-

ol, 2011, 6(10): 1209-1226.

[13] 纪学悦, 费春楠, 沈芑, 等. 天津市口腔综合治疗台水路细菌污染影响因素研究[J]. 中国消毒学杂志, 2014, 31(1): 30-32.

[14] 纪学悦, 费春楠, 沈芑, 等. 天津市口腔综合治疗台水路细菌污染及耐药性研究[J]. 中国消毒学杂志, 2014, 31(12): 1280-1281.

[15] 纪学悦, 费春楠, 沈芑, 等. 诊疗之间冲洗对口腔综合治疗台水路污染影响的研究[J]. 中国消毒学杂志, 2015, 32(3): 225-227.

[16] 纪学悦, 费春楠, 沈芑, 等. 天津市口腔综合治疗台水路回吸调查[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(11): 743-745.

[17] 纪学悦, 费春楠, 沈芑, 等. 天津市医疗机构口腔综合治疗台水路消毒管理现状分析[J]. 中国消毒学杂志, 2016, 33(4): 348-350.

(收稿日期: 2018 - 08 - 03)