

基于液相色谱分离保留因子计算的苯扎氯铵同系物辅助定性方法研究

沈宋利¹, 卢珩俊¹, 蔡振杭¹, 鹿燕¹, 叶涛¹, 李珊珊²

¹浙江方圆检测集团股份有限公司化工产品检验所, 浙江 杭州

²杭州市市场监督管理局, 浙江 杭州

收稿日期: 2023年4月9日; 录用日期: 2023年4月29日; 发布日期: 2023年5月11日

摘要

建立高效液相色谱分离, 并用保留因子计算法定性分析苯扎氯铵同系物。采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)分离了4种烷基侧链长度为12~18 [碳链长度(C) = 12、14、16、18]的苯扎氯铵同系物。研究苯扎氯铵同系物侧链长度(C = 12, 14, 16, 18)与其调整保留时间(t'_R)的相关关系。利用实验数据建立回归方程, 并对样品中的未知苯扎氯铵样品的保留时间进行分析, 同时改变流速、色谱柱、检测器和洗脱条件进行验证。结果表明, 用该方法预测未知苯扎氯铵同系物的保留时间, 误差范围 $\leq 1.25\%$ 。因此, 可以利用保留因子定性分析未知苯扎氯铵同系物。

关键词

侧链长度, 保留因子, 苯扎氯铵

An Auxiliary Qualitative Analysis Method for Benzalammonium Chloride Homologous Compounds Based on Retention Factor Calculation

Songli Shen¹, Hengjun Lu¹, Zhenhang Cai¹, Yan Lu¹, Tao Ye¹, Shanshan Li²

¹Institute of Chemical Product Inspection, Zhejiang Fangyuan Test Group Co., Ltd., Hangzhou Zhejiang

²Hangzhou Market Supervision and Administration Bureau, Hangzhou Zhejiang

Received: Apr. 9th, 2023; accepted: Apr. 29th, 2023; published: May 11th, 2023

文章引用: 沈宋利, 卢珩俊, 蔡振杭, 鹿燕, 叶涛, 李珊珊. 基于液相色谱分离保留因子计算的苯扎氯铵同系物辅助定性方法研究[J]. 分析化学进展, 2023, 13(2): 121-126. DOI: 10.12677/aac.2023.132014

Abstract

In this paper, a qualitative analysis method for benzalammonium chloride homologous compounds using HPLC separation and retention factor calculation was established. Four kinds of benzalammonium chloride homologous compounds with side chain length ranging from 12 to 18 [side chain length (C) = 12, 14, 16, 18] were separated by high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD). Retention time (t'_R) of those unknown benzalammonium chloride samples was analyzed by the retention factor calculation based on the linear regression equation from experimental data. Different flow velocity, chromatographic column, detector and eluent conditions to verify were also taken into account. Results indicating that the error range are less than 1.25% in predicting the retention time of those unknown benzalammonium chloride homologous compounds. Therefore, the retention factor is a useful method for qualitative analysis of unknown benzalammonium chloride homologous compounds.

Keywords

Side Chain Length, Retention Factor, Benzalammonium Chloride

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

苯扎氯铵是一种季铵盐类阳离子杀菌剂，是由正构烷基取代的二甲基苄基氯化铵的同系物组成[1]，如图1所示，根据其烷基侧链长度不同，主要包括八烷基二甲基苄基氯化铵(C8-BAC)、十烷基二甲基苄基氯化铵(C10-BAC)、十二烷基二甲基苄基氯化铵(C12-BAC)、十四烷基二甲基苄基氯化铵(C14-BAC)、十六烷基二甲基苄基氯化铵(C16-BAC)和十八烷基二甲基苄基氯化铵(C18-BAC)。苯扎氯铵具有广谱杀菌和一定的分散、渗透作用，因而被广泛应用于消毒、防虫、防腐、纺织印染、工业水处理等领域[2]。目前苯扎氯铵的测定方法主要有滴定法[3][4]、毛细管电泳法[4][5]、紫外分光光度法[6]、高效液相色谱法[7][8][9]、液相色谱-串联质谱法[10]、气相色谱-串联质谱法[11]等。两相滴定法对于添加表面活性剂的基体相对复杂的样品萃取效率不高，滴定溶液容易乳化，两相分层不明显导致滴定终点难以判断，因此实验结果偏差较大。在众多的仪器测定方法中，液相色谱法的通用性相对较高。但是由于苯扎氯铵是各种偶数正构烷基链烷基苄基氯化物的非均匀混合物，往往是多种同系物复配使用。目前，苯扎氯铵同系物中的部分纯品供应商极少因而较难购买完全，对样品中不同碳链长度的苯扎氯铵的定性定量造成一定困难。根据色谱中保留指数规律，通过实验研究苯扎氯铵烷基侧链长度(C = 12, 14, 16, 18)与其调整保留时间(t'_R)之间的关系非常有意义，可以在缺乏标准品的情况下，对样品中的不同侧链长度的苯扎氯铵进行分离分析，对苯扎氯铵同系物进行准确的定性定量。基于保留指数原理，目前已建立起了多种色谱法结合保留指数定性目标化合物的方法，比如采用气相色谱-质谱法结合保留指数对玫瑰花露中挥发性成分、烟草香味成分、杀虫剂等进行定性分析[12][13][14]，离子交换色谱分离结合保留因子定性分析壳寡糖[15]、也有对多环芳烃液相色谱保留指数的研究[16]。然而，关于液相色谱法检测苯扎氯铵尚未有保留指数方法报道。

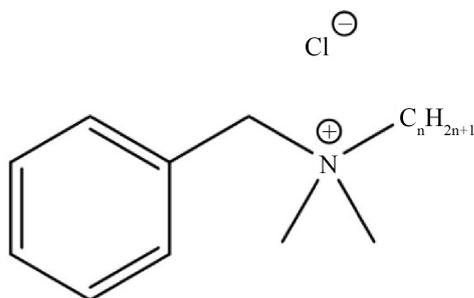


Figure 1. Chemical structure of benzalammonium chloride homologous compounds

图 1. 苯扎氯铵的化学结构

2. 材料与方法

2.1. 仪器和试剂

液相色谱仪: Waters Arc 配光电二极管阵列检测器(美国 Waters 公司), Milli-Q 纯水仪(美国 Millipore 公司)分析柱系统为 AgilentXDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)色谱柱和 WatersCortes C18 (4.6 mm × 150 mm × 2.7 μm); 十二烷基二甲基苄基氯化铵(C12-BAC)、十四烷基二甲基苄基氯化铵(C14-BAC)、十六烷基二甲基苄基氯化铵(C16-BAC)、十六烷基二甲基苄基氯化铵(C18-BAC)标准品购自美国 Dr.Ehrenstorfer 公司; 乙腈, 色谱纯购自美国 Merck 公司。

2.2. 样品溶液制备

称取样品 0.5 g (精确至 0.1 mg), 于 10 mL 玻璃比色管中, 加水定容至刻度, 超声提取 20 min 后 8000 r/min 离心 5 min, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液作为待测样液备用。

2.3. 标准溶液的配制

准确称取各种苯扎氯铵标准品 10 mg, 精确到 0.1 mg, 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 1000 mg/L 的标准储备液, 密封储存于 -18℃ 冰箱中备用。

分别吸取 1.00 mL 各标准储备液于 10 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈溶液定容, 配制成 100 mg/L 混合标准溶液。

2.4. 色谱条件

分别采用 AgilentXDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)色谱柱和 WatersCortes C18 (4.6 mm × 150 mm × 2.7 μm), 流动相为 V (乙腈): V [100 mmol/L NH₄Ac (冰乙酸调 pH = 4.8)] = 50:50, 柱温 35℃ 等度洗脱。流速: 0.40 mL/min; 柱温: 40℃; 进样量: 10 μL。

3. 结果与讨论

3.1. 苯扎氯铵同系物的分离和调整保留时间的计算

取适量苯扎氯铵同系物(十二烷基二甲基苄基氯化铵、十四烷基二甲基苄基氯化铵、十六烷基二甲基苄基氯化铵、十八烷基二甲基苄基氯化铵)质量浓度为 100 mg/L 的标准混合液, 采用上述色谱条件, 进样分析, 得到如图 2 的色谱图。将从进样开始到惰性组分从色谱柱中流出呈现浓度极大值的时间(系统峰时间)定为死时间, 用 t_m 表示。将保留时间 t_R 扣除死时间 t_m 剩余的时间为调整保留时间 t'_R 。

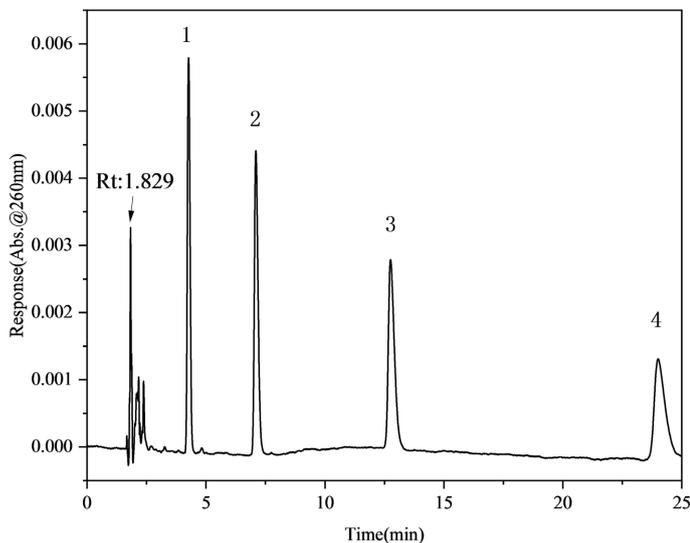


Figure 2. Chromatogram of 4 kinds of benzalammonium chloride homologous compounds

图 2. 4 种苯扎氯铵标准物质色谱图

3.2. 烷基侧链长度与保留时间相关关系及其可靠性验证过程

通过对苯扎氯铵烷基侧链长度 C 与调整保留时间 t'_R 相关关系进行数据拟合, 发现烷基侧链长度与调整保留时间对数 $\log t'_R$ 具有线性相关关系, 根据此关系对季铵盐消毒剂产品中苯扎氯铵未知同系物进行组成进行判断, 再根据回归方程计算出苯扎氯铵侧链长度。为了使苯扎氯铵同系物定性公式推导过程的简单明了, 公式推导过程采用线性方程计算, 即分别由苯扎氯铵碳侧链长度的碳数值 C 与对应苯扎氯铵的 $\log t'_R$ 建立回归方程进行推导计算。计算过程如表 1, 先由表 2 的数据建立由碳链长度 ($C = 12, 14, 16, 18$) 的苯扎氯铵同系物样品的 $\log t'_R$ 相关关系, 再将图 1 中其中一种同系物当做未知峰 ($C_{12} \sim C_{18}$ 烷基二甲苄基氯化铵) 的 $\log t'_R$ 值数据代入由另外 3 种苯扎氯铵同系物建立的回归方程, 计算其烷基侧链长度及误差值。

3.3. 改变流速及流动相条件的影响

将流速改变为 $0.60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 流动相 V (乙腈):V [100 mmol/L NH_4Ac (冰乙酸调 $\text{pH} = 4.8$)] = 40:60 等

Table 1. Aside chain length (C) and deviation for benzalammonium chloride

表 1. 苯扎氯铵同系物烷基侧链长度(C)与误差

碳链长度(C)	线性方程	R^2	验证物质碳链长度 C'	计算侧链长度 C''	$\Delta/\%$
C12、C14、C16、C18	$C = 6.2604 \log t'_R + 9.5331$	0.9996	/	/	/
C12、C14、C16	$C = 6.1367 \log t'_R + 9.6007$	0.9998	18	17.86	-0.78
C12、C14、C18	$C = 6.2771 \log t'_R + 9.5314$	0.9997	16	16.05	0.31
C12、C16、C18	$C = 6.2394 \log t'_R + 9.5691$	0.9998	14	14.07	0.50
C14、C16、C18	$C = 6.4066 \log t'_R + 9.3671$	0.9999	12	11.85	-1.25

注: $\Delta = (C'' - C')/C' \times 100\%$ 。

Table 2. Data of aside chain length (C) and retention time (t'_R) of benzalammonium chloride**表 2.** 苯扎氯铵同系物烷基侧链长度(C)与调整保留时间(t'_R)数据

峰号(peak number)	分析物(analyte)	C	t_m	t_R	t'_R	$\log t'_R$
1	十二烷基二甲基苄基氯化铵	12	1.829	4.267	2.438	0.3870
2	十四烷基二甲基苄基氯化铵	14	1.829	7.095	5.266	0.7215
3	十六烷基二甲基苄基氯化铵	16	1.829	12.761	10.932	1.0387
4	十八烷基二甲基苄基氯化铵	18	1.829	24.000	22.171	1.3458

度洗脱, 分离后对苯扎氯铵烷基侧链长度 C 与调整保留时间 t'_R 相关关系进行回归, 其相关关系均大于 0.9995。并将其中一种同系物当做未知峰(C12~C18 烷基二甲基苄基氯化铵)的 $\log t'_R$ 值数据代入由另外 3 种苯扎氯铵同系物建立的回归方程, 计算其侧链长度及误差值, 得出误差值绝对值小于 1.15%。因此可知在改变流速及流动相等色谱条件后, 调整保留时间的对数与侧链长度的线性关系并未受到影响。

3.4. 改变色谱柱对计算结果的影响

将色谱柱换成 AgilentXDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)色谱柱, 分离后对苯扎氯铵烷基侧链长度 C 与调整保留时间 t'_R 相关关系进行回归, 其相关关系均大于 0.9993。同样采用方法 3.2 中验证过程进行公式推导, 得出误差值绝对值小于 1.37%。调整保留时间的对数与烷基侧链长度的线性关系依然存在。

4. 结论

本文通过考察苯扎氯铵的 C12~C18 同系物后, 成功地建立了苯扎氯铵同系物烷基侧链长度与对应化合物调整保留时间的相关关系, 即: 调整保留时间的对数与烷基侧链长度呈线性相关关系($C = a \log t'_R + b$), 相关关系都在 0.9996 以上。根据任意建立的关系对标准曲线以外的不同侧链长度的苯扎氯铵进行侧链长度的计算定性, 计算得到的侧链长度预测值与实际标准物质的碳链数相对偏差不大于 1.25%。可见该法预测精度较高, 可能只需少数几种标准物质即可完成对本系列不同侧链长度的其他同系物进行辅助定性, 在苯扎氯铵系列标准物质不全或无法取得的情况下, 可用于季铵盐消毒剂或季铵盐原料中未知侧链长度的苯扎氯铵同系物辅助定性, 也可应用于苯扎氯铵原料生产单位的过程和产品质量控制。因此, 对于季铵盐消毒剂样品, 利用液相色谱分离, 保留时间计算来定性苯扎氯铵烷基侧链长度的方法是可行的。

基金项目

浙江省市场监督管理局基金项目(ZC2021A030)。

参考文献

- [1] 郑国灿, 徐亚龙, 董浩然, 等. 高效液相色谱法测定牙膏中 3 种苯扎氯铵同系物[J]. 理化检验-化学分册, 2020, 56(10): 1102-1106.
- [2] 王涛, 李卓, 贾寒冰, 等. 高效液相色谱法测定化妆品中苯扎氯铵含量的不确定度评定[J]. 日用化学工业, 2018, 48(8): 466-477.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002.
- [4] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 季铵盐类消毒剂卫生要求[S]. 北京: 中国质检出版社, 2020.
- [5] 宋宝花, 丁晓静, 李佳, 等. 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[J]. 色谱, 2012, 30(9): 943-950.
- [6] 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.
- [7] 朱倩云, 白娟, 李成网. 离子对反向高压液相色谱法测定消毒产品中苯扎氯铵同系物[J]. 中国消毒学杂志, 2021, 38(11): 818-820.
 - [8] 王启林, 韩晓萍, 李镇冰, 等. 高效液相色谱法分析化妆品中苯扎氯铵及苜索氯铵[J]. 日用化学工业, 2022, 52(9): 1023-1028.
 - [9] 孙晨, 吉文亮, 李放. 梯度洗脱-高效液相色谱法测定化妆品中的 6 种防腐剂[J]. 江苏预防医学, 2020, 31(5): 479-481.
 - [10] 董会军, 马天翼, 李义, 等. 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法测定环境水体中三种苯扎氯铵同系物[J]. 岩矿测试, 2022, 41(6): 1050-1059.
 - [11] 黄博能. 气相色谱-质谱联用测定婴幼儿湿巾中苯扎氯铵的含量[J]. 中国纤检, 2015(20): 79-81.
 - [12] 雷春妮, 王波, 孙苗苗, 等. GC-MS-AMDIS 结合保留指数在玫瑰花露香气成分准确性分析中的应用[J]. 质谱学报, 2022, 43(1): 109-120.
 - [13] 任宗灿, 陈黎, 史天彩, 等. 非极性柱下保留指数结合 GC-MS/MS 分析烟草香味成分[J]. 烟草科技, 2020, 53(8): 24-35.
 - [14] 姚雪漫, 张秋萍, 蒋建荣, 等. 基于保留指数的草莓中杀菌剂快速测定方法建立[J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 279-285.
 - [15] 陈梅兰, 林智威, 卢珩俊, 等. 离子色谱分离保留因子计算定性分析低聚壳寡糖的研究[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(1): 43-50.
 - [16] 侯镜德, 陈春明. 多环芳烃液相色谱保留指数的研究[J]. 浙江大学学报(工学版), 1991(4): 480-486.