



Определение катионных ПАВ в дезинфицирующих средствах при совместном присутствии

С.В. Андреев[@], А.Д. Меркульева, Е.С. Беляев

Научно-исследовательский институт дезинфектологии, Москва 117246, Россия

[@]Автор для переписки, e-mail: svandreev.niid@gmail.com

Цели. Катионные поверхностно-активные вещества являются одним из классов веществ, наиболее часто используемых в качестве активноразрушающих в дезинфицирующих средствах. Тенденцией последних лет является использование смесей нескольких биоцидов, что ставит новые задачи перед аналитической химией. В этой работе описан метод для определения при совместном присутствии в дезинфицирующих средствах алкилдиметилбензил-аммоний хлорида (АДБАХ), алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида (АДЭБАХ), хлоргексидина биглюконата (ХГБГ) и полигексаметиленбигуанид гидрохлорида (ПГМБ).

Методы. Предложенный метод основан на применении обращенно-фазовой и гидрофильной высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием.

Результаты. Наилучшее разделение АДБАХ, АДЭБАХ и ХГБГ было достигнуто при использовании колонки, заполненной модифицированным сферическим силикагелем (5 мкм, 4.6×250 мм) в режиме градиентного элюирования. В качестве элюентов использовали ацетонитрил и ацетатный буфер с рН 5.4 при скорости потока 1 мл/мин. Для определения ПГМБ в присутствии рассматриваемых веществ была использована гидрофильная высокоэффективная жидкостная хроматография. Наилучшее разделение было достигнуто на аминофазной колонке (5 мкм, 4.6 × 250 мм) при использовании тех же элюентов. Для определения всех рассматриваемых веществ использовали диодно-матричный детектор. 3D хроматограммы регистрировали в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм.

Выводы. Проведенные исследования показали, что результат анализа не зависит от соотношения катионных поверхностно-активных веществ в дезинфицирующих средствах. Также отсутствует влияние N,N-бис(3-аминопропил)додециламина (Триамин, ТА) и наиболее часто используемых для изготовления дезинфицирующих средств компонентов, что было подтверждено при апробации метода для анализа реальных объектов. Диапазон линейности для АДБАХ составил от 0.0062 до 0.97 %, для АДЭБАХ – от 0.000726 до 0.201 %, для ХГБГ – от 0.0128 до 0.111 %, для ПГМБ – от 0.00311 до 0.0205 %. Рассчитанная относительная погрешность для всех определяемых веществ составила около 4 %.

Ключевые слова: алкилдиметилбензиламмоний хлорид, алкилдиметил(этилбензил)-аммоний хлорид, хлоргексидина биглюконат, полигексаметиленбигуанид гидрохлорид, катионные ПАВ, дезинфицирующие средства, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Для цитирования: Андреев С.В., Меркульева А.Д., Беляев Е.С. Определение катионных ПАВ в дезинфицирующих средствах при совместном присутствии. *Тонкие химические технологии*. 2019;14(6):115-123. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-6-115-123>

Simultaneous determination of cationic surfactants in disinfectants

Sergey V. Andreev[@], Anna D. Merkuleva, Evgeniy S. Belyaev

Scientific Research Disinfectology Institute, Moscow 117246, Russia

[@]Corresponding author, e-mail: svandreev.niid@gmail.com

Objectives. Cationic surfactants are one of the classes of substances most commonly used in disinfectants. The trend in recent years has been the use of mixtures of several biocides, which poses new challenges for analytical chemistry. In this study, we describe a method for simultaneous determination in the disinfectants alkyldimethylbenzylammonium chloride (ADBAC), alkyldimethyl(ethylbenzyl)ammonium chloride (ADEBAC), chlorhexidine bigluconate (CHG), and polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB).

Methods. The proposed method is based on the use of reverse-phase and hydrophilic high-performance liquid chromatography with diode-array detection.

Results. The best separation of ADBAC, ADEBAC, and CHG was achieved using a column filled with modified spherical silica gel (5 μ m, 4.6 \times 250 mm) in gradient elution mode. Acetonitrile and acetate buffer with a pH of 5.4 were used as eluents at a flow rate of 1 ml/min. For the determination of PHMB in the presence of the substances under consideration, hydrophilic high performance liquid chromatography was used. The best separation was achieved on an amine phase column (5 μ m, 4.6 \times 250 mm) using the same eluents. To determine all the substances under consideration, a diode array detector was used. 3D chromatograms were recorded in the wavelength range from 190 to 400 nm.

Conclusions. We have shown that the result of the analysis does not depend on the ratio of cationic surfactants in disinfectants. There is also no influence of *N,N*-bis-(3-aminopropyl)-dodecylamine (Triamine, TA) and the components most commonly used for the manufacture of disinfectants, which was confirmed by testing the method for analyzing real objects. The linearity range for ADBAC was from 0.0062 to 0.97%, for ADEBAC from 0.000726 to 0.201%, for CHG from 0.0128 to 0.111%, and for PHMB from 0.00311 to 0.0205%. The calculated relative error for all determined substances was about 4%.

Keywords: alkyldimethylbenzylammonium chloride, alkyldimethyl(ethylbenzyl)ammonium chloride, chlorhexidine digluconate, polyhexamethylene biguanide hydrochloride, cationic surfactants, disinfectants, high performance liquid chromatography.

For citation: Andreev S.V., Merkuleva A.D., Belyaev E.S. Simultaneous determination of cationic surfactants in disinfectants. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2019;14(6):115-123. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-6-115-123>

Введение

Катионные поверхностно-активные вещества (кПАВ), используемые в качестве активных компонентов в дезинфицирующих средствах, представлены соединениями из классов четвертичных аммониевых соединений, производных гуанидина, третичных аминов. Наибольшее распространение получили алкилдиметилбензиламмоний хлорид (АДБАХ), дидецилдиметиламмоний хлорид, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, полигексаметиленбигуанид гидрохлорид (ПГМБ), хлоргексидина биглюконат (ХГБГ), *N,N*-бис(3-аминопропил)додeciламин.

Основное применение дезинфицирующие средства на основе ПАВ получили в медицинских организациях, где они пришли на замену соедине-

ниям хлора для профилактической дезинфекции в присутствии пациентов [1]. Широкий спектр анти-микробной активности и моющие свойства обеспечили применение этих веществ в средствах для предстерилизационной очистки. Намного реже катионные ПАВ встречаются в других типах дезинфицирующих средств.

Поскольку все перечисленные вещества имеют различные токсикологические характеристики [2], которые могут изменяться при смешивании с другими веществами, то важно иметь возможность количественной оценки их концентрации, особенно на этапе предрегистрационных испытаний дезинфицирующих средств, ведь именно на этом этапе рецептуре присваиваются характеристики эффективности и безопасности.

Традиционно для определения четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) используют титриметрические методы, основанные на образовании ионной пары с анионными поверхностно-активными веществами. Для определения конечной точки титрования используют как различные индикаторы, так и ион-селективные электроды. Эти методы не требуют сложного аппаратного оформления, однако не позволяют определять несколько ЧАС одновременно. Для определения хлоргексидина биглюконата и полигексаметиленбигуанид гидрохлорида также описаны титриметрические¹ [3–5] и хроматографические методы² [6–10]. Однако упомянутые методы не позволяют проводить количественный анализ смесей кПАВ. Также на результат анализа могут влиять другие активные ингредиенты, например, *N,N*-бис(3-аминопропил)додециламин, а также некоторые вспомогательные компоненты дезинфицирующих средств.

Для разделения смесей поверхностно-активных веществ описано несколько методов, основанных на применении высокоэффективной жидкостной хроматографии. Используют различные детекторы: масс-спектрометрические и спектрофотометрические (в ультрафиолетовой области спектра). Описано применение детектора заряженных аэрозолей (ДЗА) и ELSD для определения смесей катионных и анионных ПАВ [11], диодно-матричного детектора для определения алкилдиметилбензиламмоний хлорида и триметилтетрадециламмоний хлорида в дезинфицирующих средствах [12]. Большое количество работ посвящено определению остаточных количеств смесей ЧАС в продуктах питания [см., например, 13–15]. Для определения ПГМБ и хлоргексидина биглюконата при совместном присутствии было предложено использование капиллярного электрофореза [16]. В качестве детектора использовали кондуктометр; разделение проводилось на капилляре, заполненном силикагелем, длиной 40 см и внутренним диаметром 0.375 мкм. Чувствительность метода составила 4 мг/л для ПГМБ и 0.4 мг/л для хлоргексидина биглюконата.

Предложено использование ВЭЖХ с УФ- и диодно-матричными детекторами для определения при совместном присутствии алкилдиметилбензиламмоний хлорида, хлоргексидина биглюконата и

триклозана [17]. Разделение компонентов проводили на колонках с привитыми фазами C8 и CN при изократическом элюировании в системе растворителей ацетонитрил – ацетатный буфер с pH 5.0. Лучшая чувствительность наблюдалась для колонки C8.

В рассмотренных работах [2–17] предложены методы определения как индивидуальных ПАВ, так и их смесей. Однако до настоящего времени не разработаны подходы к одновременному определению в дезинфицирующих средствах сложных смесей катионных ПАВ, в частности, алкилдиметилбензиламмоний хлорида, дидецилдиметиламмоний хлорида, полигексаметиленбигуанидин гидрохлорида, полигексаметиленбигуанид гидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, *N,N*-бис(3-аминопропил)додециламина. В этой работе для разделения смесей упомянутых выше ПАВ рассмотрено применение ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием.

Экспериментальная часть

Реактивы

В работе использовали 20% водный раствор хлоргексидина биглюконата, алкилдиметилбензиламмоний хлорид (>95%), ацетат аммония для ВЭЖХ (*Sigma-Aldrich*, Германия), 20% раствор полигексаметиленбигуанид гидрохлорида (*Vantocil TG, Lonza*, Швейцария), 25% раствор алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида (*Wuhan Dachu Hexing Technology Co., Ltd.*, Китай), 30% раствор *N,N*-бис(3-аминопропил)додециламина (*Lonza*, Швейцария), ацетонитрил для ВЭЖХ (*Merck*, Германия), деионизованную воду с сопротивлением не менее 18.2 МОм×см, воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72. Другие использованные реактивы были квалификации «чда» или выше. Коммерческие реактивы использовались без дальнейшей очистки. Образцы дезинфицирующих средств предоставлены российскими производителями.

Оборудование

Хроматографическое разделение компонентов проводили с помощью системы ВЭЖХ Thermo Ultimate 3000, оборудованной встроенным дегазатором, автоматической системой ввода пробы, термостатом колонки с возможностью поддержания температуры в диапазоне от 15 до 50 °С, диодно-матричным детектором (*Thermo Scientific*, США). Спектры поглощения записывали в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм.

Условия хроматографического анализа смеси АДБАХ, АДЭБАХ и ХГБГ (методика 1)

Наилучшее разделение компонентов было достигнуто при использовании колонки Thermo Acclaim Surfactant 5 мкм (4.6×250 мм) с подвижной фазой, состоящей из ацетонитрила (А) и 0.1 М водного раствора ацетата аммония (Б, значение pH до

¹ МВИ-2-2007-05-3. Методика выполнения измерений содержания хлоргексидина биглюконата в пробах дезинфицирующих средств титриметрическим методом.

[MVI-2-2007-05-3. *Metodika vypolneniya izmerenii soderzhaniya khlorgekksidina biglyukonata v probakh dezinfitsiruyushchikh sredstv titrimetricheskim metodom* (MVI-2-2007-05-3. The method of quantification of chlorhexidine digluconate in samples of disinfectants by a titrimetric method) (in Russ.)]

² The United States Pharmacopeia. USP 31. NF 26. 2008. 1732 p.

5.4 доводили ледяной уксусной кислотой). Соотношение элюентов приведено в табл. 1. Температура термостата колонки 30 °С. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Хроматограмму записывали в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм. Для расчетов была выбрана длина волны 264 нм.

Таблица 1. Соотношение элюентов при разделении АДБАХ, АДЭБАХ и ХГБГ

Table 1. Gradient elution for ADBAC, ADEBAC, and CHG separation

Время, мин / Time, min	Доля элюента А, % / Eluent A, %	Доля элюента В, % / Eluent B, %
0	0	100
8.0	0	100
18.0	80	20
24.0	30	70

Условия хроматографического анализа ПГМБ (методика 2)

Наилучшее разделение было достигнуто при использовании колонки Phenomenex Luna NH₂ 5 мкм (250×4.6 мм) с подвижной фазой, состоящей из ацетонитрила (элюент А) и 0.1 М водного раствора ацетата аммония (рН 5.4, элюент В). Условия градиентного элюирования такие же, как и при разделении АДБАХ, АДЭБАХ и ХГБГ (табл. 1). Хроматограммы записывали в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм. Для расчетов была выбрана длина волны 240 нм. Температура термостата колонки 30 °С. Скорость потока 0.5 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл.

Обработка данных

Поверхностно-активные вещества идентифицировали как по времени удерживания, так и по спектру поглощения. После анализа каждого пяти образцов хроматографировали чистый ацетонитрил, чтобы установить возможное загрязнение колонки.

Градуировочные кривые строили по 6 точкам. Диапазон линейности определяли путем построения графика зависимости площади пика от концентрации. Использовали следующие критерии для диапазона линейности: линейная регрессия с коэффициентом корреляции больше, чем 0.99, отклонение от линии тренда не более 15% для всех точек.

Сбор и обработку хроматографических данных осуществляли с использованием программного обеспечения Chromleon 6 и Chromleon 7 (Thermo Fischer Scientific Inc., США). Статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с РМГ 61-2010 «Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки» и «Guideline I.C.N.H.T. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)» с использованием программного обеспечения Excel 2016 (Microsoft Inc., США) и OriginPro (OriginLab Corp., США).

Результаты и их обсуждение

Алкилдиметилбензиламмоний хлорид и алкилдиметил(этилбензил)аммоний состоят из нескольких гомологов, различающихся по длине алкильного радикала. Учитывая структурное сходство этих веществ, возникает сложность в их хроматографическом разделении.

При подборе условий в качестве критериев оптимизации метода были выбраны: разрешение пиков R_s, значение которого должно быть не меньше 1.5, и коэффициент асимметрии пика, значение которого должно находиться в диапазоне от 0.8 до 1.5.

Согласно спецификации, использованный АДБАХ состоит из двух компонентов – додецилдиметилбензиламмоний хлорида и тетрадецилдиметилбензиламмоний хлорида. Таким образом, хроматограмма 0.2% раствора АДБАХ имеет два пика с временами удерживания около 7.9 и 9.0 мин. На рис. 1 они обозначены как С12 и С14, соответственно.

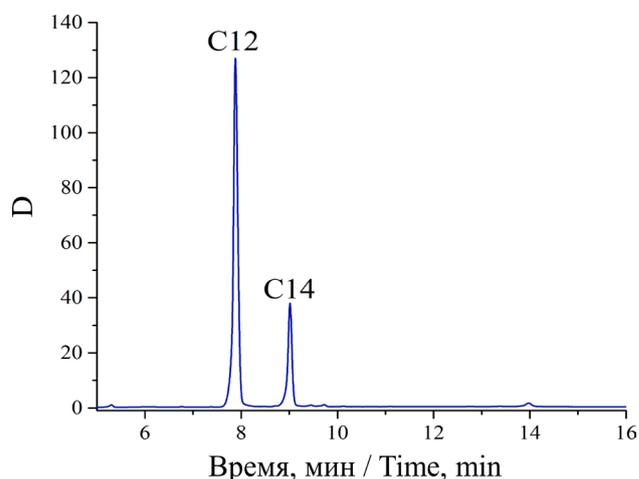


Рис. 1. Фрагмент хроматограммы 0.2% раствора АДБАХ в деионизованной воде (методика 1, колонка Surfactant)

Fig. 1. Chromatogram of a 0.2% ADBAC solution in deionized water (method 1, Surfactant column).

В то же время данные о гомологическом составе АДЭБАХ производителем не предоставлены. В хроматограмме его 0.2% раствора в деионизованной воде было обнаружено четыре пика с временами удерживания около 8.4, 8.7, 9.5 и 9.7 мин. Они были идентифицированы как додецилдиметил(этилбензил)аммоний хлорид, тетрадецилдиметил(этилбензил)аммоний хлорид, гексадецилдиметил(этилбензил)аммоний хлорид и октадецилдиметил(этилбензил)аммоний хлорид. На рис. 2 эти сигналы обозначены как С12, С14, С16 и С18.

Как и следовало ожидать, хроматограмма смеси АДБАХ и АДЭБАХ имеет 6 основных пиков, которые по временам удерживания совпадают с пиками в образцах алкилдиметилбензиламмоний хлорида и алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида (рис. 3).

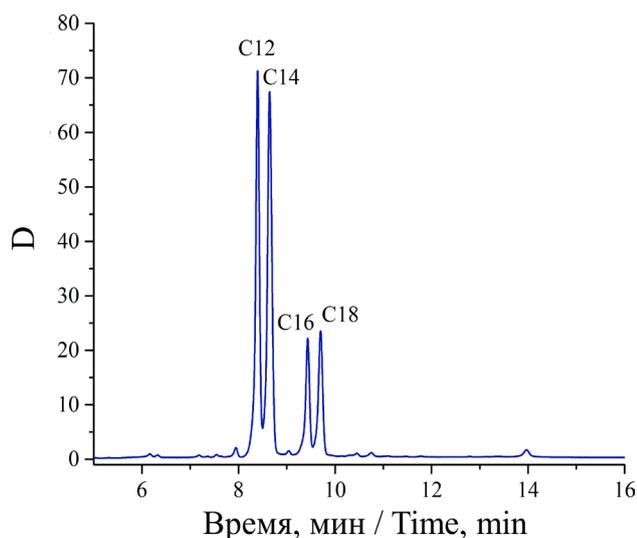


Рис. 2. Фрагмент хроматограммы 0.2% раствора АДЭБАХ в деионизованной воде (методика 1, колонка Surfactant).

Fig. 2. Chromatogram of a 0.2% ADEBAC solution in deionized water (method 1, Surfactant column).

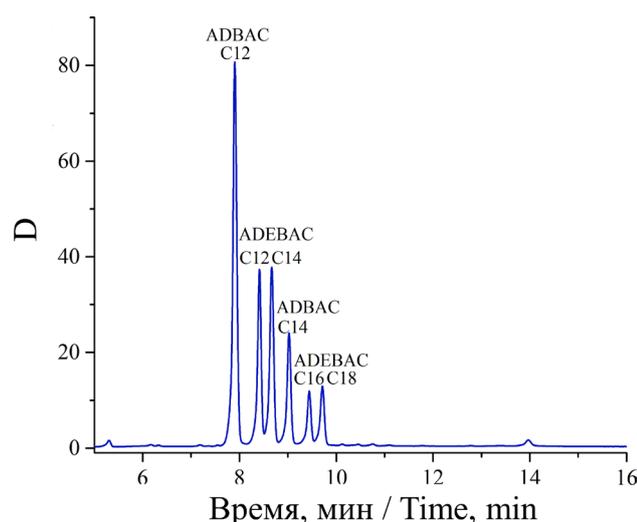


Рис. 3. Фрагмент хроматограммы раствора смеси АДБАХ и АДЭБАХ в деионизованной воде (методика 1, колонка Surfactant).

Fig. 3. Chromatogram of a mixture of ADBAC and ADEBAC in deionized water (method 1, Surfactant column).

При добавлении к смеси алкилдиметилбензил-аммоний хлорида и алкилдиметил(этилбензил)-аммоний хлорида хлоргексидина биглюконата его мешающего влияния обнаружено не было, поскольку ХГБГ в этих условиях имеет время удерживания около 6.5 мин (табл. 2). Из рис. 4 видно, что ПГМБ не удерживается на колонке Surfactant, а *N,N*-бис(3-аминопропил)додециламин (Триамин, ТА) не поглощает в УФ-области, поэтому также не мешает анализу.

Таблица 2. Параметры хроматограмм (методика 1, колонка Surfactant) смеси ХГБГ, АДБАХ и АДЭБАХ*
Table 2. Chromatography parameters (method 1, Surfactant column) for a mixture of ADBAC, ADEBAC, and CHG*

Определяемый компонент / Substance	Время удерживания, мин / Retention time, min	R_s
ХГБГ / CHG	6.5	2.96
АДБАХ / ADBAC	C12	7.9
	C14	9.0
АДЭБАХ / ADEBAC	C12	8.4
	C14	8.7
	C16	9.5
	C18	9.7

* *Примечание:* концентрация каждого компонента 0.2%; рассчитано среднее значение параметра из пяти параллельных измерений. / * *Note:* concentration of each component is 0.2%; average parameter value of five measurements is calculated.

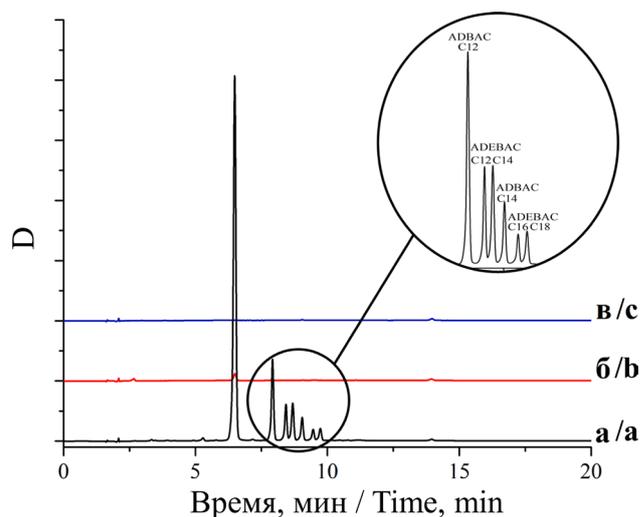


Рис. 4. Методика 1, колонка Surfactant:

а – хроматограмма ХГБГ, АДБАХ и АДЭБАХ;
б – хроматограмма 0.2% раствора ПГМБ в деионизованной воде; **в** – хроматограмма 0.2% раствора ТА в деионизованной воде

Fig. 4. Method 1, Surfactant column: **a** – chromatogram of a mixture of CHG, ADBAC, and ADEBAC; **b** – chromatogram of a 0.2% PHMB solution in deionized water; **c** – chromatogram of a 0.2% solution of *N,N*-bis-(3-аминопропил)-додециламин in deionized water.

Коэффициенты асимметрии полученных хроматографических пиков и расстояние между ними соответствует установленным требованиям (табл. 2). Следовательно, предложенные условия позволяют удовлетворительно проводить разделение хлоргексидина биглюконата, алкилдиметилбензил-аммоний хлорида и алкилдиметил(этилбензил)-аммоний хлорида.

В указанных условиях (методика 1, колонка Surfactant) зависимость площади хроматографического пика алкилдиметилбензиламмоний хлорида от концентрации линейна в диапазоне от 0.005 до 1.000%, для алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида – от 0.06 до 0.33%, для хлоргексидина биглюконата – 0.012 до 0.111%.

Как было показано выше, колонка Surfactant непригодна для определения ПГМБ. Однако, поскольку это вещество имеет максимум поглощения при 240 нм, то применение ВЭЖХ с диодно-матричным детектором для его анализа возможно. Отделить ПГМБ от других кПАВ удалось только при использовании гидрофильной хроматографии на колонке с привитыми аминогруппами. Время удерживания ПГМБ в описанных выше условиях составляет около 6.5 мин. Зависимость площади пика ПГМБ от концентрации линейна в диапазоне от 0.003 до 0.02%. Коэффициент детерминации 0.9961.

При определении полигексаметиленбигуанид гидрохлорида в дезинфицирующих средствах мешающее влияние могут оказывать только алкилдиметилбензиламмоний хлорид, алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорид и хлоргексидина биглюконат. При хроматографировании растворов этих веществ, а также ПГМБ, в деионизованной воде, было установлено, что в описываемом методе время удерживания ПГМБ составляет около 6.5 мин, АДБАХ – около 9.2 мин, ХГБГ – около 9.8 мин, АДЭБАХ – около 11 мин (рис. 5). При этом на этой колонке отчетливо наблюдаются сигналы только додецилдиметилбензиламмоний хлорида и додецилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида. Сигналы других гомологов, входящих в состав АДБАХ и АДЭБАХ, хотя и присутствуют, но не могут быть использованы для количественного анализа. Таким образом, мешающего влияния ни одного из компонентов установлено не было.

Описанные методики были применены для определения содержания катионных ПАВ в реальных образцах дезинфицирующих средств. Полученные результаты сравнивали с результатами, полученными при использовании методов двухфазного титрования индивидуальных веществ с метиленовым голубым в щелочной среде для определения алкилдиметилбензиламмоний хлорида³, двухфазно-

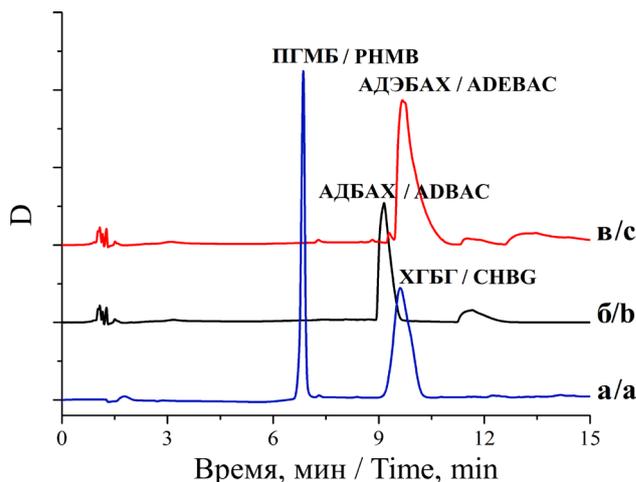


Рис. 5. Хроматограммы (методика 2, колонка Luna NH₂):
а – смеси 0.02% раствора ПГМБ

и 0.05 % раствора ХГБГ в деионизованной воде;

б – 0.2 % раствора АДБАХ в деионизованной воде;

в – 0.2 % раствора АДЭБАХ в деионизованной воде.

Fig. 5. Chromatography by method 2, Luna NH₂ column:

а – chromatogram of a mixture of PHMB (0.02%)

and CHG (0.05%) in deionized water;

б – chromatogram of a 0.2% ADBAC solution in deionized water;

and c – chromatogram of a 0.2% ADEBAC solution in deionized water.

го титрования с бромфеноловым синим для определения полигексаметиленбигуанид гидрохлорида и кислотно-основного титрования соляной кислотой в среде вода-кетон для хлоргексидина биглюконата⁴. Рецептура модельных дезинфектантов приведены в табл. 3. Сравнение полученных результатов при определении кПАВ в этих образцах приведены в табл. 4.

В некоторых случаях, как, например, при исследовании образца 2, титриметрические методы позволяют определять содержание действующих веществ в дезинфицирующих средствах, однако чаще всего это невозможно даже при смеси двух кПАВ, не говоря о большем их количестве. Это подтверждается результатами, полученными при исследованиях образцов 2 и 3 на содержание ПАВ. Из представленных в табл. 3 данных следует также, что проведению анализа предложенными хроматографическими методами не мешают входящие

³ ГОСТ Р 57474-2017 Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Методы определения четвертичных аммониевых соединений.

[GOST R 57474-2017 *Dezinfektologiya i dezinfektsionnaya deyatel'nost'*. *Khimicheskie dezinfitsiruyushchie sredstva i antiseptiki. Metody opredeleniya chetvertichnykh ammonievyykh soedinenii*. (GOST R 57474-2017 Disinfectology and disinfection activities. Chemical disinfectants and antiseptics. Methods for determination of quaternary ammonium compounds) (in Russ.)]

⁴ МВИ 01.00282-2008/0184.23.12.13 Определение хлоргексидина биглюконата в водных и водно-спиртовых растворах.

[MVI 01.00282-2008/0184.23.12.13 *Opredeleniya khlorgekssidina biglyukonata v vodnykh i vodno-spirtovykh rastvorakh* (MVI 01.00282-2008/0184.23.12.13 Determination of chlorhexidine digluconate in aqueous and aqueous-alcoholic solutions) (in Russ.)]

Таблица 3. Рецепттура модельных дезинфицирующих средств
Table 3. Model disinfectants formulations

Наименование компонента / Component	Массовая доля, % / Contains, % (w/w)
<i>Образец 1 / Sample 1</i>	
АДБАХ / ADBAC	2.0
<i>N,N</i> -Бис(3-аминопропил)додециламин / <i>N,N</i> -Bis-(3-aminopropyl)-dodecylamine	13.0
ПГМБ / PHMB	0.4
Кокоамидопропилбетаин / Cocamidopropyl betaine	3.0
Неонол АФ 9-10 / Nonoxynol AF 9-10	4.0
Цитрат калия / Potassium citrate	1.5
Вода / Water	до 100 / To 100
<i>Образец 2 / Sample 2</i>	
ПГМБ / PHMB	0.25
ХГБГ / CHG	0.25
2-Пропанол / 2-Propanol	35.0
1-Пропанол / 1-Propanol	30.0
Пентадециловый спирт / Pentadecanol	0.3
Молочная кислота / Lactic acid	0.5
Лимонная кислота / Citric acid	0.3
Вода / Water	до 100 / To 100
<i>Образец 3 / Sample 3</i>	
АДБАХ / ADBAC	2.5
АДЭБАХ / ADEBAC	2.5
<i>N,N</i> -Бис(3-аминопропил)додециламин / <i>N,N</i> -Bis-(3-aminopropyl)-dodecylamine	10.0
Неонол АФ 9-10 / Nonoxynol AF 9-10	5.0
Лимонная кислота / Citric acid	0.8
Краситель / Dye	0.001
Вода / Water	до 100 / To 100

Таблица 4. Сравнение результатов, полученных при определении катионных ПАВ в реальных образцах дезинфицирующих средств
Table 4. Comparison of supposed and literature described methods for real disinfectants analysis

Определяемое ПАВ / Surfactant	Введено, % / Amount introduced, %	Найдено предложенным методом, % / Found by the proposed method, %	Найдено титриметрическим методом, % / Found by titration method, %
<i>Образец 1 / Sample 1</i>			
АДБАХ / ADBAC	2.0	2.1±0.1	Провести раздельное определение веществ не удалось* / Separate quantification of the substances could not be performed*
ПГМБ / PHMB	0.4	0.39±0.02	
<i>Образец 2 / Sample 2</i>			
ПГМБ / PHMB	0.25	0.24±0.01	0.22±0.02*
ХГБГ / CHG	0.25	0.26±0.02	0.28±0.01**
<i>Образец 3 / Sample 3</i>			
АДБАХ / ADBAC	2.5	2.5±0.1	5.2±0.1* (суммарно для двух ЧАС) / (sum of both QACs)
АДЭБАХ / ADEBAC	2.5	2.4±0.1	

* Найдено двухфазным титрованием, % / Found by two-phase titration, %.

** Найдено кислотно-основным титрованием, % / Found by acid-base titration, %.

Таблица 5. Метрологические характеристики предложенных методик*
Table 5. Metrological parameters of the proposed methods*

Вещество / Substance	S _r , %	S _R , %	r, %	R, %	±δ, %
АДБАХ / ADBAC	1.21	1.69	3.98	5.57	3.94
АДЭБАХ / ADEBAC	1.17	1.64	3.24	4.54	3.87
ХГБГ / CHG	1.03	1.44	3.39	4,75	3.84
ПГМБ / PHMB	1.23	1.73	4.07	5.70	3.68

* S_r – показатель повторяемости; S_R – показатель воспроизводимости; r – предел повторяемости; R – предел воспроизводимости; ±δ – границы относительной погрешности при P = 0.95. / * S_r – repeatability; S_R – reproducibility; r – repeatability limit; R – reproducibility limit; ±δ – relative error at P = 0.95.

в состав дезинфицирующих средств неионогенные поверхностно-активные вещества и другие функциональные добавки, что позволяет рекомендовать эти методы для внедрения.

Метрологические характеристики предложенных методов приведены в табл. 5.

Заключение

В работе описано использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественного определения катионных поверхностно-активных веществ в дезинфицирующих средствах. Предложены методики для определения алкилдиметилбензиламмоний хлорида, алкилдиметил(этилбензил)аммоний хлорида, полигексаметиленбигуанид гидрохлорида и хлоргексидина биглюконата.

Описанные методы впервые позволяют сформулировать подход к определению этих четырех веществ в дезинфектантах при совместном присутствии. Использувавшиеся ранее для этих целей титриметрические методы не позволяют получать достаточно надежные результаты, поскольку на результат анализа могут оказывать мешающее влияние компоненты рецептур дезинфицирующих средств.

Список литературы / References

1. Караев А.Л., Бидёвкина М.В., Фёдорова Л.С., Исаева Е.Е., Алексеева Ж.П. Оценка токсичности и эффективности новых четвертичных аммониевых соединений. *Дезинфекционное дело*. 2016;98(4):76.

[Karaev A.L., Bidyovkina M.V., Fedorova L.S., Isaeva E.E., Alekseeva Zh.P. Evaluation of toxicity and efficacy of new quaternary ammonium compounds. *Dezinfektsionnoe Delo = Disinfection Affaire*. 2016;98(4):76 (in Russ.).]

2. Uematsu M., Kumagami T., Shimoda K., Kusano M., Teshima M., Sasaki H., Kitaoka T. Influence of alkyl chain length of benzalkonium chloride on acute corneal epithelial toxicity. *Cornea*. 2010;29(11):1296-1301. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181dc81b6>

3. Hattori T., Nakata Y., Kato R. Determination of biguanide groups in polyhexamethylene biguanide hydrochloride by titrimetric methods. *Analytical Sciences*. 2003;19(11):1525-1528. <https://doi.org/10.2116/analsci.19.1525>

Разработанные методики являются достаточно простыми, что позволяет рекомендовать их к внедрению для производственного контроля, проведения предрегистрационных испытаний дезинфицирующих средств. Их надежность подтверждается отсутствием мешающих влияний других биологически активных ПАВ, которые могут входить в состав дезинфектантов, а также успешным опытом использования при анализе промышленно выпущенных образцов дезинфицирующих средств.

Благодарности

Работа выполнена за счет средств государственного бюджета Российской Федерации в рамках программы научных исследований на 2016–2021 годы (№ 116020550032).

Acknowledgments

This work was carried out with financial support from the State Budget of the Russian Federation within the Program of Scientific Research for 2016-2021 (No. 116020550032).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

4. Masadome T., Miyanishi T., Watanabe K., Ueda H., Hattori T. Determination of polyhexamethylene biguanide hydrochloride using photometric colloidal titration with crystal violet as a color indicator. *Analytical Sciences*. 2011;27(8):817-821. <https://doi.org/10.2116/analsci.27.817>

5. Андреев С.В., Беляев Е.С., Иванова А.О., Новикова Э.А., Ищенко А.А. Количественное определение хлоргексидина биглюконата в дезинфицирующих средствах. *Известия Высших Учебных Заведений. Серия «Химия и химическая технология»*. 2018;61(8):4-9. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186108.5718>

[Andreev S.V., Belyaev E.S., Ivanova A.O., Novikova E.A., Ishenko A.A. Determination of chlorhexidine digluconate in disinfectants. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2018;61(8):4-9. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186108.5718>].

6. Cardoso M.A., Fávero M.L.D., Gasparetto J.C., Hess B.S., Stremel D.P., Pontarolo R. Development and validation of an RP-HPLC method for the determination of chlorhexidine and *p*-chloroaniline in various pharmaceutical

formulations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2011;34(15):1556-1567. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.575979>

7. Gonçalves A.R., Nascimento H.L. do, Duarte G.H.B., Simas R.C., Jesus Soares A. de, Eberlin M.N., Marques L.A. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of p-chloroaniline in gel and aqueous chlorhexidine products used in dentistry. *Chromatographia*. 2016;79(13-14):841-849. <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3100-6>

8. Below H., Assadian O., Baguhl R., Hildebrandt U., Jäger B., Meissner K., Leaper D.J., Kramer A. Measurements of chlorhexidine, p-chloroaniline, and p-chloronitrobenzene in saliva after mouth wash before and after operation with 0.2% chlorhexidine digluconate in maxillofacial surgery: a randomised controlled trial. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2017;55(2):150-155. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2016.10.007>

9. Anna H., Barnabás P., Zsolt L., Romána Z. Tracking of the degradation process of chlorhexidine digluconate and ethylenediaminetetraacetic acid in the presence of hyperpure chlorine dioxide in endodontic disinfection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019;164:360-364. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.005>

10. Işık B.D., Acar E.T. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of flurbiprofen and chlorhexidine Gluconate. *Chromatographia*. 2018;81(4):699-706. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3485-5>

11. Kim B.H., Jang J.B., Moon D.C. Analysis of ionic surfactants by HPLC with evaporative light scattering detection and charged aerosol detection. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2013;36(8):1000-1012. <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.683915>

12. Prieto-Blanco M. C., Argente-García A., Campíns-Falcó P. A capillary liquid chromatography method for benzalkonium chloride determination as a component or contaminant in mixtures of biocides. *Journal of Chromatography A*. 2016;1431:176-183. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.12.073>

13. Arrebola-Liébanas F.J., Abdo M.A.H., Moreno J.L.F., Martínez-Vidal J.L., Frenich A.G. Determination of quaternary ammonium compounds in oranges and cucumbers using QuEChERS extraction and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*. 2014;97(4):1021-1026. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGEEArrebolaLiebanas>

14. Bertuzzi T., Pietri A. Determination of benzalkonium homologues and didecylmethylammonium in powdered and liquid milk for infants by hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Analytical Methods*. 2014;7(6):1278-1284. <https://doi.org/10.1007/s12161-013-9745-y>

15. Cao H., Kang M., Chen Z., Li L., Cui M., Chen M., Zhang H., Wang Y. Determination of five quaternary ammonium compounds in foodstuffs using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*. 2014;6(13):4790-4796. <https://doi.org/10.1039/c4ay00767k>

16. Abad-Villar E.M., Etter S.F., Thiel M.A., Hauser P.C. Determination of chlorhexidine digluconate and polyhexamethylene biguanide in eye drops by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Analytica Chimica Acta*. 2006;561(1-2):133-137. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.01.023>

17. Chiapetta S.C., de Oliveira É.C., Olivier B.C., Mercante L.A., Henriques D.M., Pereira Netto A. D. Intralaboratory validation, comparison and application of HPLC-UV-DAD methods for simultaneous determination of benzalkonium chloride, chlorhexidine digluconate and triclosan. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2011;22(10):1913-1920. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011001000012>

Об авторах:

Андреев Сергей Викторович, кандидат химических наук, заведующий лабораторией химических исследований дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора (117246, Россия, Москва, Научный проезд, 18). E-mail: svandreev.niid@gmail.com. ResearcherID R-9798-2016, <https://orcid.org/0000-0003-2405-9931>

Меркульева Анна Дмитриевна, младший научный сотрудник лаборатории химических исследований дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора (117246, Россия, Москва, Научный проезд, 18). E-mail: monika94@bk.ru. ResearcherID C-2326-2018, <https://orcid.org/0000-0002-4634-6977>

Беляев Евгений Семенович, кандидат химических наук, младший научный сотрудник лаборатории химических исследований дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора (117246, Россия, Москва, Научный проезд, 18). E-mail: cronse@yandex.ru. ResearcherID O-2266-2017, <https://orcid.org/0000-0003-3705-7038>

About the authors:

Sergey V. Andreev, Cand. of Sci. (Chemistry), Head of the Chemical Laboratory, Scientific Research Disinfectology Institute (18, Nauchnyi proezd, Moscow 117246, Russia). E-mail: svandreev.niid@gmail.com. ResearcherID R-9798-2016, <https://orcid.org/0000-0003-2405-9931>

Anna D. Merkulova, Junior Researcher, Chemical Laboratory, Scientific Research Disinfectology Institute (18, Nauchnyi proezd, Moscow 117246, Russia). E-mail: monika94@bk.ru. ResearcherID C-2326-2018, <https://orcid.org/0000-0002-4634-6977>

Evgeniy S. Belyaev, Cand. of Sci. (Chemistry), Junior Researcher of the Chemical Laboratory, Scientific Research Disinfectology Institute (18, Nauchnyi proezd, Moscow 117246, Russia). E-mail: cronse@yandex.ru. ResearcherID O-2266-2017, <https://orcid.org/0000-0003-3705-7038>

Поступила: 29.05.2019; Получена после доработки: 28.11.2019; Принята к опубликованию: 06.12.2019.

Submitted: May 29, 2019; Reviewed: November 28, 2019; Accepted: December 06, 2019.