 doi: 10.47866/2615-9252/vjfc.4115

Nghiên cứu xác định đồng thời benzyldimethyloctylammonium chloride và benzyldimethyldodecylammonium chloride bằng phương pháp CE-C^{4}D

Trần Thị Mỹ Hảo[1], Đinh Viết Chiến[1,2*], Võ Thị Minh Anh[3], Hoàng Quốc Anh[1], Kiều Vân Anh[1], Phạm Thị Quỳnh[4], Đinh Sơn Lương[4], Phạm Hoàng Nguyên[4], Trần Hoàng Minh Ánh[1], Cao Công Khánh[2], Nguyễn Văn Khoa[2], Lê Thị Hồng Hảo[1,2], Nguyễn Thị Ánh Hường[*†]

[1]Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

[2]Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, Hà Nội, Việt Nam

[3]Viện Sức khỏe nghề nghiệp và môi trường, Hà Nội, Việt Nam

[4]Trung tâm Chống độc, Bệnh viện Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

(Ngày đến tòa soạn: 27/04/2023; Ngày chấp nhận đăng: 28/05/2023)

Tóm tắt

Benzyldimethyloctylammonium chloride (BAC-C8) và benzyldimethyldodecylammonium chloride (BAC-C12) là các chất hoạt động bề mặt, được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dược phẩm làm chất khử trùng chống vi sinh vật trong các loại dung dịch sát khuẩn ngoài da. Theo các quy định quốc tế hiện hành, tiêu chuẩn dung dịch sát khuẩn phải có giới hạn hàm lượng chất bảo quản khi sử dụng trong công thức bào chế. Trong nghiên cứu này, phương pháp điện di mao quản với detector độ dẫn không tiếp xúc (CE-C^{4}D) đã được sử dụng để xác định đồng thời hàm lượng BAC-C8 và BAC-C12 với các các điều kiện phân tích gồm: mao quản silica đường kính trong 50 µm với chiều dài hiệu dụng 40 cm; dung dịch điện li acetic acid (Ace) 100 mM, thêm acetonitril (ACN) 30%; bơm mẫu thủy động học kiểu xiphong ở độ cao 10 cm trong thời gian 20 s; thế tách +15 kV. Giới hạn phát hiện của BAC-C8 và BAC-C12 lần lượt là 1,5 mg/L và 3,5 mg/L với độ lặp lại (< 5%) và độ thu hồi tốt (97,33% và 97,29%). Phương pháp đã được áp dụng để xác định hàm lượng BAC-C8 và BAC-C12 trong các mẫu dung dịch sát khuẩn.

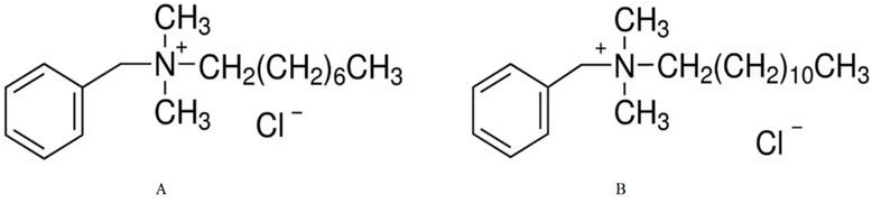
Từ khóa: *BAC-C8, BAC-C12, dung dịch sát khuẩn, CE-C^{4}D.*

[*]Điện thoại: 0987980874 *Email: chiendv@nifc.gov.vn*

[†]Điện thoại: 0946593969 *Email: nguyenthianhhuong@hus.edu.vn*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dung dịch sát khuẩn thường bao gồm một số thành phần như: ethanol, isopropanol, n-propanol, sodium lactate, fragrance… [1]. Ngoài ra, để diệt các vi khuẩn cứng đầu, một số chất sát khuẩn cũng được bổ sung vào thành phần dung dịch này, trong đó có nhóm benzalkonium chloride (BAC) [1, 2]. Benzalkonium chloride hay Benzyldimethyloctyl ammonium chloride (BAC-C8) và benzyldimethyldodecylammonium chloride (BAC-C12) (Hình 1) là các chất hoạt động bề mặt có chứa nguyên tử cation bậc bốn, được thay thế bằng các chuỗi alkyl C8 và C12, các hợp chất này được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dược phẩm làm chất khử trùng chống vi sinh vật. BAC có thể được sử dụng một cách an toàn như một diệt vi khuẩn trong dung dịch sát khuẩn ở nồng độ lên tới 0,1% [2]. Tuy nhiên, theo Quyết định EU 2016/1950 và Quy định về các sản phẩm diệt khuẩn (EU) số 528/2012 [3, 4], BAC không còn được chấp thuận sử dụng trong một số sản phẩm diệt khuẩn, như nước sát trùng rửa tay và làm sạch cơ thể. Tại Hoa Kỳ, Cơ quan Bảo vệ Môi trường (EPA) và Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm (FDA) cân nhắc về việc điều chỉnh hàm lượng BAC, cho phép các nhà sản xuất thêm thời gian để cung cấp dữ liệu về tính an toàn và hiệu quả của BAC [5-7]. Ngoài ra, BAC được biết đến là chất gây viêm, kích ứng da, độc tính loại III qua đường da [8, 9]. Do đó, việc xác định hàm lượng BAC-C8 và BAC-C12 trong các mẫu dung dịch sát khuẩn ngoài da là cần thiết, nhằm bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.



Hình 1. *Công thức cấu tạo của A)BAC-C8 ; B)BAC-C12*

Các phương pháp thường được sử dụng để xác định BAC-C8 và BAC-C12 là: Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với giới hạn phát hiện (LOD) đạt được nhỏ hơn 0,005 mg/mL [10], sắc ký lỏng tương tác ưa nước ghép nối khối phổ hai lần (HILIC-MS/MS) cho LOD dưới 1,0 µg/kg và 0,05 µg/L [11], sử dụng kỹ thuật QuEChERS kết hợp với sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép nối khối phổ hai lần (UPLC-MS/MS) cho LOD từ 0,4-3,6 µg/kg [12], sắc ký khối phổ phân giải cao UHPLC/HRMS cho LOD từ 0,1-0,5 ng/mL [13]. Trong nghiên cứu này, phương pháp điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc (CE-C^4D) [14] đã được sử dụng để xác định đồng thời BAC-C8 và BAC-C12 trong các mẫu dung dịch sát khuẩn. Phương pháp có ưu điểm là đơn giản, chi phí thấp, sử dụng ít dung môi và hóa chất, hy vọng sẽ góp phần vào làm phong phú thêm các kỹ thuật kiểm nghiệm nhóm chất BAC trong chế phẩm bảo vệ sức khỏe.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, hàm lượng của BAC-C8 và BAC-C12 được xác định trong các mẫu dung dịch sát khuẩn.

2.2. Hóa chất, chất chuẩn

Các hóa chất, chất chuẩn sử dụng trong nghiên cứu này đều thuộc loại tinh khiết phân tích bao gồm:

Chất chuẩn: Benzyl dimethyloctylammonium chloride (BAC-C8, độ tinh khiết ≥ 99,6%) được cung cấp bởi hãng HPC Standards GmbH và Benzyl dimethyldodecylammonium chloride (BAC-C12, độ tinh khiết ≥ 98,6%) được cung cấp bởi hãng LGC Standards.

Dung dịch chuẩn gốc riêng rẽ của BAC-C8 và BAC-C12 nồng độ 4000 mg/L: Cân chính xác 100 mg từng chất BAC-C8 và BAC-C12 chuyển vào cốc có mỏ 25 mL tương ứng, thêm 10 mL nước deion và tiến hành rung siêu âm trong 30 phút để hòa tan hoàn toàn, sau đó chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 25 mL, định mức tới vạch bằng nước deion.

Các hóa chất khác: acetic acid (Ace), lactic acid, 3-(Cyclohexylamino)-1-propanesulfonic (CAPS) acid, 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES), acetonitril (ACN) của hãng Merck hoặc Fluka. Các dung dịch được pha bằng nước deion.

2.3. Thiết bị

Thiết bị CE-C^4D sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Công ty 3Sanalysis. Thiết bị sử dụng nguồn thế cao lên đến 25 kV; mao quản silica, chiều dài là 60 cm (chiều dài hiệu dụng là 40 cm), đường kính trong (ID) là 50 µm, đường kính ngoài (OD) là 375 µm; detector độ dẫn không tiếp xúc (C^4D). Thông tin về đặc điểm kỹ thuật của hệ thiết bị có thể tham khảo trong các công bố trước đây của nhóm nghiên cứu [15].

Ngoài thiết bị CE-C^4D, nghiên cứu cũng sử dụng một số thiết bị, dụng cụ khác trong phòng thí nghiệm như: máy đo pH HANNA, cân phân tích Scientech (Mỹ) với độ chính xác đến ±0,1 mg, máy rung siêu âm có gia nhiệt BRANSON 521.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Năm mẫu dung dịch sát khuẩn (M1-M5) được mua ngẫu nhiên trên thị trường.

Mẫu dưới dạng dung dịch được lọc qua màng lọc 0,45 µm và pha loãng với tỷ lệ thích hợp bằng nước deion trước khi tiến hành phân tích trên thiết bị CE-C^4D.

Mẫu trắng được sử dụng để đánh giá phương pháp là mẫu dung dịch sát khuẩn M1, đã được xác định (bằng phương pháp CE-C^4D) không chứa chất phân tích.

2.4.2. Khảo sát điều kiện phân tích và đánh giá phương pháp

Việc khảo sát một số điều kiện phân tích đồng thời BAC-C8 và BAC-C12 được thực hiện trên hệ thiết bị CE-C^4D với hỗn hợp chuẩn có nồng độ của BAC-C8 50 mg/L và BAC-C12 70 mg/L. Khảo sát được thực hiện ở thế tách dương với cột mao quản silica đường kính

trong 50 µm, chiều dài hiệu dụng 40 cm. Mẫu được bơm vào mao quản bằng phương pháp thủy động học kiểu xiphong. Các điều kiện khảo sát nhằm phân tích đồng thời BAC-C8 và BAC-C12 bằng phương pháp CE-C^4D bao gồm: dung dịch điện di (thành phần, pH và nồng độ của dung dịch), thế tách, thời gian và chiều cao bơm mẫu. Phương pháp đơn biến được lựa chọn để thực hiện các khảo sát, bằng cách thay đổi thành phần khảo sát trong khi giữ nguyên các thành phần còn lại để thu được điều kiện phù hợp nhất.

Phương pháp phân tích được đánh giá thông qua các thông số cơ bản gồm: đánh giá độ đặc hiệu, xây dựng đường chuẩn, xác định giới hạn phát hiện và định lượng, đánh giá độ chụm thông qua độ lặp lại và độ đúng thông qua độ thu hồi của mẫu trắng thêm chuẩn. Các kết quả được đánh giá so sánh với các quy định của AOAC [16].

2.4.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các kết quả nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

BAC-C8 và BAC-C12 có chứa một nguyên tử nitơ gắn với bốn nhóm ankyl (Hình 1), các hợp chất này phân ly hoàn toàn trong dung dịch và mang điện tích dương, di chuyển cùng chiều với dòng điện di thẩm thấu (EOF) và thuận lợi để tách bằng phương pháp CE-C^4D theo phân cực bình thường (áp thế dương ở đầu mao quản bơm mẫu). Khi áp thế cao vào hai đầu mao quản, dưới tác dụng của điện trường, các ion dương này sẽ di chuyển với tốc độ khác nhau tùy thuộc vào độ linh động điện di của chúng. Trong đó, điện tích, kích thước của các ion và độ nhớt của dung dịch điện li đóng vai trò quyết định, ảnh hưởng đến tốc độ di chuyển của các ion trong điện trường. Các ion có điện tích lớn và kích thước nhỏ sẽ di chuyển nhanh hơn [17]. Do đó, với BAC-C8 và BAC-C12 gốc cation có cùng điện tích, kích thước nhóm ankyl n-C_8H_{17} và n-$C_{12}H_{25}$ sẽ tạo ra sự khác nhau về độ linh động điện di, làm cho BAC-C8 di chuyển nhanh hơn BAC-C12.

3.1. Tối ưu điều kiện phân tích BAC-C8 và BAC-C12 bằng CE-C^4D

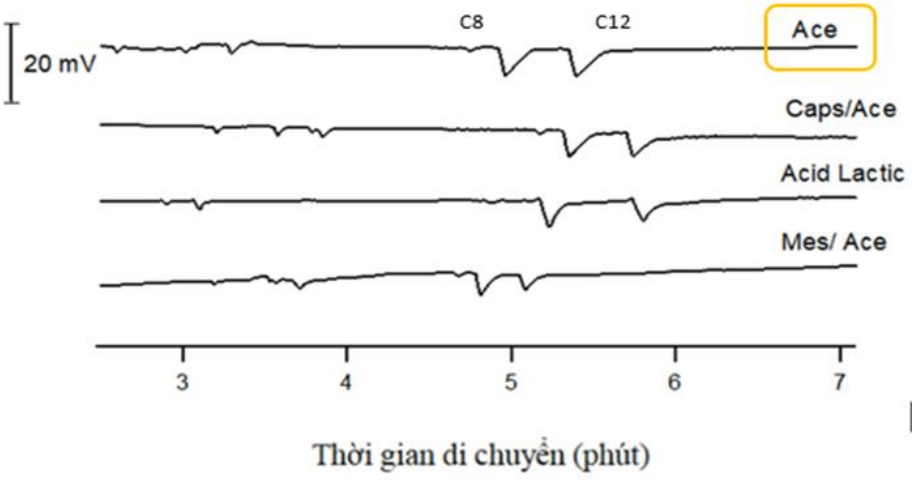
3.1.1. Khảo sát dung dịch điện li

Trong phương pháp CE-C^4D, dung dịch điện li có vai trò quan trọng trong việc xác định tính chất và đặc trưng của quá trình điện di xảy ra trong mao quản, giúp duy trì, ổn định dòng điện trong mao quản và ảnh hưởng đến tốc độ điện di của chất phân tích. Trong dung dịch điện li, ba yếu tố: thành phần, pH và nồng độ đóng vai trò quan trọng nhất.

3.1.1.1. Khảo sát thành phần và pH của dung dịch điện li

Quá trình khảo sát được tiến hành trên cơ sở các hệ dung dịch điện li acetic acid (Ace), lactic acid với nồng độ 100 mM, CAPS/Ace, MES/Ace trong khoảng pH từ 2,5 ÷ 3,5 (khoảng pH tại đó các chất phân tích mang điện tích dương, thuận lợi cho quá trình phân tích). Đối với các hệ dung dịch điện li CAPS/Ace hoặc MES/Ace, nồng độ cấu tử (CAPS, MES) được giữ cố định là 20 mM và điều chỉnh đến pH khảo sát bằng Ace. Kết quả khảo sát được thể hiện trong Hình 2 cho thấy, đối với hai hệ dung dịch điện li CAPS/Ace và lactic acid, peak

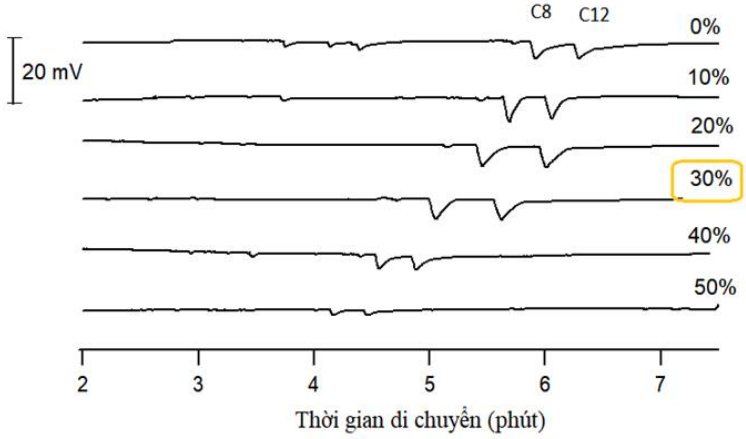
BAC-C12 bị choãi chân, hệ dung dịch điện li MES/Ace cho tín hiệu peak nhỏ. Dung dịch điện li Ace cho đường nền ổn định, tín hiệu peak tốt, thời gian di chuyển của các chất hợp lí. Do đó, dung dịch điện li Ace 100 mM (pH = 2,7) được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo



Hình 2. *Điện di đồ phân tách BAC-C8 50 mg/L và BAC-C12 70 mg/L trong dung dịch điện li Ace, Caps/Ace, lactic acid, Mes/Ace, thế tách + 15 kV, bơm mẫu thủy động học kiểu xiphong ở chiều cao 10 cm trong 20 s*

3.1.1.2. Khảo sát tỉ lệ dung môi acetonitril trong dung dịch điện li

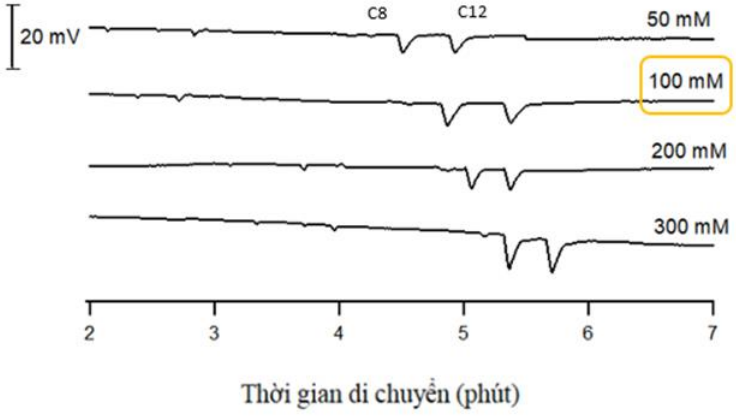
BAC-C8 và BAC-C12 là các chất hoạt động bề mặt cation có chứa chuỗi ankyl dài tạo mixen, hơn nữa sự hấp phụ của cation lên bề mặt mao quản silica ảnh hưởng đến quá trình phân tách BAC-C8 và BAC-C12 [18]. Một phương pháp đơn giản và hiệu quả để phá vỡ sự hình thành mixen và ngăn ngừa sự hấp phụ ngoài ý muốn lên thành mao quản là thêm chất điều chỉnh hữu cơ vào dung dịch điện li. Các dung môi hữu cơ như methanol [19], tetrahydrofuran [20] và acetonitril [18] đã được áp dụng làm chất điều chỉnh hữu cơ trong hệ dung dịch điện li. Trên cơ sở tham khảo tài liệu [18] và khảo sát sơ bộ với ba chất này, acetonitril (ACN) cho thấy có hiệu quả tốt nhất. Điều này có thể do ACN độ nhớt thấp dẫn đến thời gian di chuyển nhanh hơn và độ phân giải của chất phân tích cao hơn, đồng thời ACN có hằng số điện môi cao hơn các dung môi hữu cơ khác, dẫn đến khả năng hòa tan tốt hơn các chất phân tích tích điện như BAC. Do đó, ACN được lựa chọn trong nghiên cứu này và khảo sát các tỷ lệ thêm khác nhau trong khoảng từ 0% đến 50%. Kết quả khảo sát ở Hình 3 cho thấy, với tỷ lệ ACN 30% trong dung dịch điện li Ace (pH = 2,7) thì 2 chất được tách tốt, các peak khá cân đối và sắc nét, thời gian di chuyển nhanh hơn so với các tỷ lệ khác. Do đó, tỷ lệ ACN 30% được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.



***Hình 3**. Điện di đồ khảo sát tỉ lệ dung môi ACN thêm vào dung dịch điện li. Các điều kiện phân tích: dung dịch điện li Ace 100 mM, pH = 2,7, thế tách +15 kV, bơm mẫu thủy động học kiểu xiphong ở chiều cao 10 cm trong 20 s*

3.1.1.3. Khảo sát nồng độ dung dịch điện li

Trong phương pháp CE, nồng độ điện li phải đủ lớn để tạo nên môi trường điện di ổn định [14]. Tuy nhiên, nếu lớn quá sẽ tạo độ dẫn nền cao làm giảm độ nhạy của phương pháp với detector C^4D. Do đó, nồng độ dung dịch điện li cần được khảo sát để tìm được điều kiện phân tích phù hợp nhất. Các nồng độ dung dịch điện li Ace trong khoảng 50 đến 300 mM (có thêm ACN 30%). Kết quả thu được thể hiện trong Hình 4.

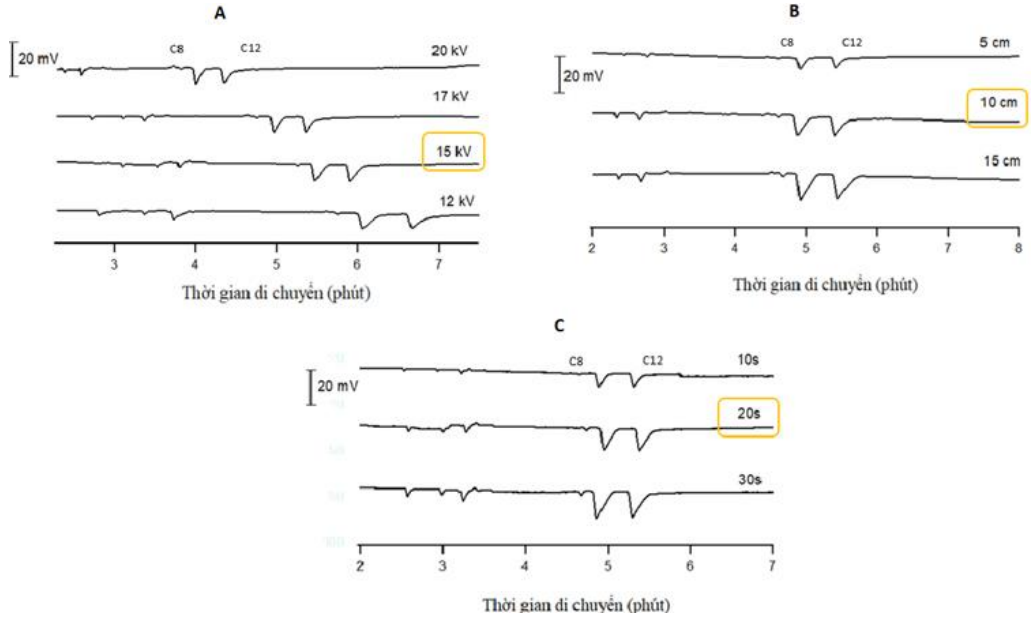


***Hình 4**. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch điện li Ace. Các điều kiện phân tích: dung dịch điện li Ace có thêm ACN 30%, pH = 2,7, thế tách +15 kV, bơm mẫu thủy động học kiểu xiphong ở chiều cao 10 cm trong 20 s*

Từ kết quả ở Hình 4 có thể nhận thấy, với nồng độ dung dịch điện li Ace 100 mM cho đường nền ổn định, tín hiệu tốt và cân đối. Do đó, dung dịch điện li Ace 100 mM được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.1.2. Khảo sát các điều kiện khác

Quá trình điện di mao quản xảy ra khi có nguồn thế (E) một chiều nhất định đặt vào hai đầu mao quản, điều khiển và duy trì sự điện di của các chất [14]. Để có kết quả tốt và ổn định, thế tách cần phải được lựa chọn thích hợp nhất và giữ ổn định trong suốt quá trình phân tích. Các thế tách được lựa chọn để khảo sát là: +12 kV, +15 kV, +17 kV và +20 kV. Kết quả thu được trong Hình 5A cho thấy khi áp thế từ +12 kV đến +20 kV, thời gian di chuyển của các chất nhanh dần nhưng diện tích peak giảm dần vì khi tăng thế E dòng điện I lớn sẽ gây ra hiệu ứng nhiệt Jun lớn làm tỏa nhiệt Q ra bên ngoài làm mao quản nóng lên, giảm hiệu quả tách chất. Thế tách +15 kV thời gian phân tích phù hợp và diện tích peak đủ lớn, vì vậy được lựa chọn trong nghiên cứu này.



Hình 5. *Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của A) thế tách; B) chiều cao bơm mẫu; C) thời gian bơm mẫu. Các điều kiện phân tích: dung dịch điện li Ace 100 mM thêm ACN 30%, pH = 2,7*

Việc bơm mẫu được thực hiện trên cơ sở phương pháp thủy động học kiểu xi phông. Trong đó, chiều cao và thời gian bơm mẫu là hai yếu tố quyết định đến lượng mẫu bơm vào mao quản. Các giá trị chiều cao và thời gian bơm mẫu được khảo sát tương ứng là 5, 10, 15 cm và 10, 20, 30 s. Kết quả thu được trong Hình 5B và 5C cho thấy, các giá trị độ cao và thời gian bơm mẫu 10 cm và 20 s cho kết quả tín hiệu đủ lớn, ổn định và phù hợp để lựa chọn trong nghiên cứu này.

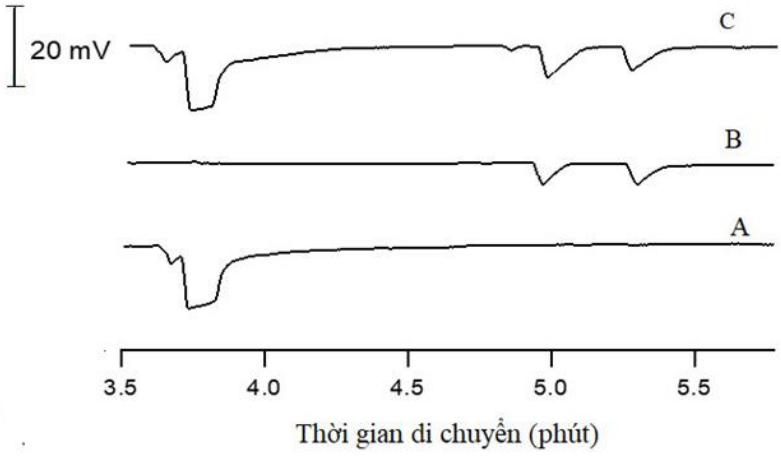
3.2. Thẩm định phương pháp

3.2.1. Độ đặc hiệu của phương pháp

Kết quả đánh giá độ đặc hiệu của phương pháp được trình bày trong Bảng 1 và Hình 6. Mẫu trắng không cho tín hiệu trùng với thời gian lưu của chất phân tích. Mẫu trắng thêm chuẩn có tín hiệu trùng thời gian di chuyển của các chất phân tích trong mẫu chuẩn (độ lệch chuẩn tương đối (RSD) ≤ 2%). Như vậy, phương pháp có độ đặc hiệu tốt, đáp ứng yêu cầu.

***Bảng 1**. Kết quả đánh giá độ đặc hiệu của phương pháp*

Tên chất	*Loại mẫu*	*Thời gian di chuyển (phút)*	*RSD (%)*
BAC-C8	Mẫu trắng	-	- 0,05
	Mẫu chuẩn	5,0012	
	Mẫu trắng thêm chuẩn	5,0045	
BAC-C12	Mẫu chuẩn	5,5607	- 0,75
	Mẫu trắng thêm chuẩn	5,6201	



***Hình 6**. Điện di đồ mẫu trắng (A) và dung dịch chuẩn (B), mẫu trắng thêm chuẩn (C). Các điều kiện phân tích: dung dịch điện li Ace 100 mM thêm ACN 30%, pH = 2,7, thế tách +15 kV, bơm mẫu thủy động học kiểu xiphong ở chiều cao 10 cm trong 20 s*

3.2.2. Xây dựng đường chuẩn

Các dung dịch dùng để xây dựng đường chuẩn được pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc. Trên cơ sở điều kiện phân tách lựa chọn, đường chuẩn 6 điểm được thiết lập trong các khoảng nồng độ tương ứng như sau: BAC-C8 (5,0-80 mg/L); BAC-C12 (10-100 mg/L). Mỗi điểm chuẩn được đo lặp lại 3 lần, giá trị diện tích peak trung bình được sử dụng để xây dựng đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc của diện tích peak vào nồng độ chất phân tích tương ứng. Các kết quả phương trình đường chuẩn và hệ số hồi qui tương ứng được trình bày ở Bảng 2.

***Bảng 2.** Kết quả phương trình đường chuẩn và hệ số hồi qui*

Chất phân tích	*Phương trình đường chuẩn*	*R^2*	*p*
BAC-C8	y = 0,8183x + 1,1859	0,9995	< 0,05
BAC-C12	y = 0,6891x + 1,3014	0,9993	

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, đường chuẩn BAC-C8 và BAC-C12 đều có hệ số tương quan tuyến tính biểu diễn sự phụ thuộc của diện tích peak vào nồng độ là tương đối tốt (R^2 > 0,99). Với đường chuẩn y = a + bx xây dựng được, nếu hệ số a ≠ 0 có ý nghĩa thống kê thì phương pháp mắc sai số hệ thống. Do đó, trước khi sử dụng đường chuẩn cần kiểm tra sự khác biệt giữa giá trị của a và 0. Sử dụng phần mềm Minitab để đánh giá p của tham số a, kết quả thu được p < 0,05 cho cả 2 chất phân tích với độ tin cậy 95%, cho thấy phương pháp không mắc sai số hệ thống.

3.2.3. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giới hạn phát hiện (LOD) được xác định bằng cách pha loãng dần hỗn hợp dung dịch chuẩn của các chất phân tích tới nồng độ nhỏ nhất mà cho tín hiệu đo S/N = 3. Giới hạn định lượng (LOQ) được tính bằng 10 lần S/N. Kết quả xác định LOD và LOQ được trình bày trong Bảng 3. Như vậy, LOD của BAC-C8 và BAC-C12 tương ứng là 1,5 và 3,0 mg/L; LOQ của BAC-C8 và BAC-C12 tương ứng là 5,0 và 10 mg/L.

Bảng 3. *Kết quả xác định LOD và LOQ*

Chất phân tích	***LOD (mg/L)***	***LOQ (mg/L)***	***Chiều cao peak (S) (mV)***	***Tín hiệu nhiễu nền (N) (mV)***	***S/N ở giá trị LOD***
BAC-C8	1,5	5,0	0,060	0,020	3,0
BAC-C12	3,0	10	0,10	0,030	3,3

3.2.4. Độ chụm và độ đúng

Để đánh giá độ chụm của phương pháp, độ lặp lại của hai chất phân tích ở 3 mức nồng độ (mức thấp, mức trung bình, mức cao của đường chuẩn) là 20, 40, và 60 mg/L thêm vào mẫu trắng, mỗi mức nồng độ được tiến hành với 03 lần độc lập. Kết quả thu được ở Bảng 4 cho thấy, cả 03 mức nồng độ đều có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của diện tích peak và thời gian di chuyển nhỏ hơn 1,4%. Kết quả này đáp ứng yêu cầu của AOAC cho khoảng nồng độ từ 1 mg/L (11%) đến 100 mg/L (5,3%) [15].

Bảng 4*. Kết quả đánh giá độ chụm*

Chất	***RSD1 (%) (n = 7, 20 mg/L)***	***RSD2 (%) (n = 7, 40 mg/L)***	***RSD3 (%) (n = 7, 60 mg/L)***	***Chất***
BAC-C8	1,07	0,68	0,68	BAC-C8
BAC-C12	1,33	0,77	1,01	BAC-C12

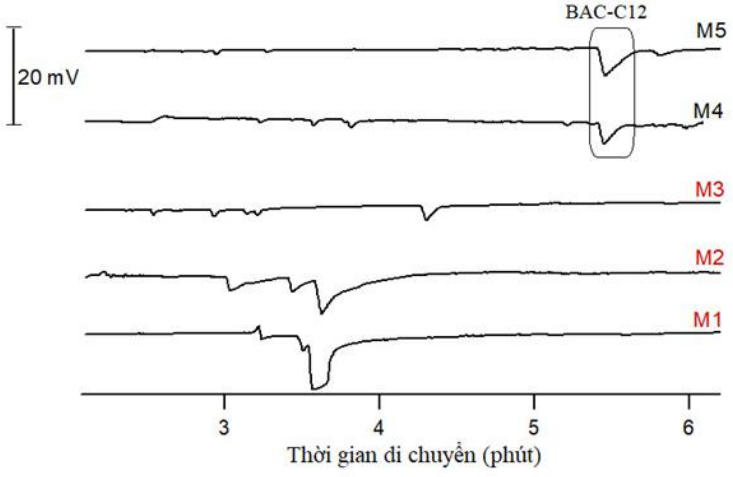
Độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua hiệu suất thu hồi trung bình khi phân tích mẫu trắng được thêm chuẩn hai chất phân tích ở ba mức nồng độ khác nhau 10, 40 và 60 mg/L. Phương pháp cho kết quả thu hồi tương đối tốt với cả hai chất phân tích là 97,33% và 97,29% (Bảng 5). Kết quả này cho thấy phương pháp có độ đúng đáp ứng yêu cầu của AOAC ở các mức nồng độ từ 10 mg/L (80-110%) đến 1000 mg/L (95-105%) [15].

***Bảng 5**. Kết quả đánh giá độ đúng*

Chất	*BAC-C8*			*BAC-C12*		
	Mức 1	*Mức 2*	*Mức 3*	*Mức 1*	*Mức 2*	*Mức 3*
Nồng độ chuẩn thêm vào (mg/L)	10	40	60	10	40	60
Nồng độ thu hồi được (mg/L)	10,16	39,91	57,56	9,88	37,80	59,02
Hiệu suất thu hồi (%)	102,3	95,2	97,1	98,81	94,68	98,36
Hiệu suất thu hồi trung bình (%)		97,33			97,29	

2.3. Phân tích mẫu thực tế

Quy trình sau khi đánh giá đã được áp dụng để phân tích 5 mẫu dung dịch sát khuẩn (M1, M2, M3, M4, M5) thu thập ngẫu nhiên trên thị trường tại Hà Nội. Kết quả cho thấy không phát hiện BAC-C8 trong tất cả các mẫu, BAC-C12 được phát hiện trong 2/5 mẫu (M4, M5) với hàm lượng tương ứng là 0,139 mg/mL (0,013% w/v) (mẫu M4) và 0,465 mg/mL (0,067% w/v) (mẫu M5).



***Hình 7.** Điện di đồ phân tích BAC-C8 và BAC-C12 trong các mẫu dung dịch sát khuẩn*

4. KẾT LUẬN

Như vậy, nghiên cứu đã thành công trong việc ứng dụng phương pháp CE-C^4D nhằm xác định đồng thời hàm lượng BAC-C8 và BAC-C12 trong mẫu dung dịch sát khuẩn. Phương pháp đã được đánh giá về độ đặc hiệu, độ tuyến tính trong khoảng đường chuẩn, độ

chụm và độ đúng đáp ứng yêu cầu của AOAC. Phương pháp đã được áp dụng để xác định hàm lượng BAC-C8 và BAC-C12 trong 5 mẫu dung dịch sát khuẩn thu thập ngẫu nhiên trên thị trường, bước đầu xác định được 2 mẫu có chứa chất BAC-C12. Nghiên cứu có thể sẽ được tiếp tục mở rộng cho các đối tượng mẫu khác nhau nhằm tăng cường hiệu quả áp dụng của phương pháp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. A. P. Golin, D. Choi, and A. Ghahary, "Hand sanitizers: A review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses," *American Journal of Infection Control*, vol. 48, no. 9, pp. 1062-1067, 2020.

[2]. M. A. Liebert, "Final Report on the Safety Assessment of Benzalkonium Chloride," *Journal of the American College of Toxicology*, vol. 8, no. 4, 1989.

[3]. European Parliament, Council of the European Union. *Biocidal products regulation*. European Union, Brussels, Belgium, 2012.

[4]. European Commission. *Commission implementing decision (EU) 2016/1950 of 4 November 2016 on the non-approval of certain biocidal active substances pursuant to regulation (EU) no. 528/2012 of the European Parliament and of the Council*. European Commission, Brussels, Belgium, 2016.

[5]. Food and Drug Administration, "Safety and effectiveness of consumer antiseptics; topical antimicrobial drug products for over-the-counter human use," *Fed Regist*, vol. 81, pp. 61106-61130, 2016.

[6]. Food and Drug Administration, "Safety and effectiveness of health care antiseptics; topical antimicrobial drug products for over-the-counter human use," *Fed Regist*, vol. 82, pp. 60474-60503, 2017.

[7]. Food and Drug Administration, "Safety and effectiveness of consumer antiseptics; topical antimicrobial drug products for over-the-counter human use; proposed amendment of the tentative final monograph; reopening of administrative record," *U.S. Silver Spring, MD*, 2016.

[8]. L. E. Maier, H. P. Lampel, T. Bhutani, and S. E. Jacob, "Hand Dermatitis: A Focus on Allergic Contact Dermatitis to Biocides," *Dermatologic Clinics*, vol. 27, no. 3, pp. 251-264, 2009.

[9]. U.S. Environmental Protection Agency (EPA), "Reregistration eligibility decision for alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride (ADBAC)," Washington, DC, 2006.

[10]. Kuča, K., Bielavská, M., Cabal, J., & Dohnal, V, "Determination of benzalkonium bromide homologues in disinfection products using high-performance liquid chromatography," *Analytical letters*, vol. 38, no. 4, pp. 673-682, 2005.

[11]. T. Bertuzzi, and A. Pietri, "Determination of Benzalkonium Homologues and Didecyldimethylammonium in Powdered and Liquid Milk for Infants by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry," *Food Analytical*, vol. 7, pp. 1278-1284, 2014.

[12]. Y. Xian, H. Dong, Y. Wu, X. Guo, X. Hou, and B. Wang, "QuEChERS-based purification method coupled to ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC- MS/MS) to determine six quaternary ammonium compounds (QACs) in dairy products," *Food Chemistry,* vol. 212, pp. 96-103, 2016.

[13]. V. G. Amelin, and D. Bolshakov, "Determination of quaternary ammonium compounds in food products by the method of ultra-performance liquid chromatography/high resolution mass-spectrometry," *Zavodskaya Laboratroiya. Diagnostika Materialov* vol. 86, no. 8, pp. 23-31, 2020.

[14]. Le Thi Hong Hao, Pham Thi Ngoc Mai, Nguyen Thi Anh Huong, Nguyen Van Anh, Pham Tien Duc, Vu Thi Trang, Application of electrophoresis in food analysis. Hanoi: Science and Technology Publishing House, 2016.

[15]. N. T. A. Huong, P. T. N. Mai, D. T. Tuoi, T. T. Thao, J. Sáiz, N. T. H. Quynh, P. C. Hauser, M. T. Duc, "Simple semi-automated portable capillary electrophoresis instrument with contactless conductivity detection for the determination of β-agonists in pharmaceutical and pig-feed samples," *Journal of Chromatography A*, vol. 1360, pp. 305-311, 2014.

[16]. AOAC Official Methods of Analysis, *Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements*, 2012.

[17]. P. Luan, "Theory basis of high performance capillary electrophoresis chromatography," Textbook for students majoring in Analytical Chemistry, Hanoi University of Sciences, Hanoi, 2005.

[18]. L. Ching-Erh, C. Wen-Cheng, and L. Wei-Chen. "Capillary zone electrophoretic separation of alkylbenzyl quaternary ammonium compounds: effect of organic modifier," *Journal of Chromatography A*, vol. 722, no. 1-2, pp. 345-352, 1996.

[19]. C. S. Weiss, J. S. Hazlett, M. H. Datta, and M. H. Danzer, "Determination of quaternary ammonium compounds by capillary electrophoresis using direct and indirect UV detection," *Journal of Chromatography A*, vol. 608, pp. 325-332, 1992.

[20]. E. Piera, P. Erra, M. R. Infante, "Analysis of cationic surfactants by capillary electrophoresis," *Journal of Chromatography A,* vol. 757, pp. 275-280, 1997.

Simultaneous determination of benzyldimethyloctylammonium chloride and benzyldimethyldodecylammonium chloride by CE-C^{4}D

Tran Thi My Hao[1], Dinh Viet Chien[2], Vo Thi Minh Anh[3], Hoang Quoc Anh[1], Kieu Van Anh[1], Pham Thi Quynh[4], Dinh Son Luong[4], Pham Hoang Nguyen[4], Tran Hoang Minh Anh[1], Cao Cong Khanh[2], Nguyen Van Khoa[2], Le Thi Hong Hao[1, 2], Nguyen Thi Anh Huong[1]

[1]Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University, Hanoi, Vietnam

[2]National Institute for Food Control, Hanoi, Vietnam

[3]National Institute of Occupational and Environmental Health, Hanoi, Vietnam

[4]Poison Control Center, Bach Mai Hospital, Hanoi, Vietnam

Abstract

Benzyldimethyloctylammonium chloride (BAC-C8) and Benzyldimethyldodecyl ammonium chloride (BAC-C12) are bactericidal surfactants which widely used in the pharmaceutical industry as anti-microbial disinfectants in skin antiseptic solution. According to current international regulations, the standard of finished antiseptic solution must have regulations on the limit of preservatives when used in the formulation. In this study, simultaneous determination of BAC-C8 and BAC-C12 was performed by capillary electrophoresis using capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C^{4}D) with analytical conditions including: fused silica capillary (50 µm ID.) with effective length of 40 cm, background electrolyte solution of 100 mM acetic acid (Ace) added 30% acetonitril (ACN); hydrodynamic sample injection at height of 10 cm in 20 s; separation voltage of +15 kV. The detection limit of BAC-C8 and BAC-C12 were 1.5 mg/L and 3.5 mg/L, respectively. This method has been applied to determine the content of BAC-C8 and BAC-C12 in the disinfectant solution samples.

Keywords: *BAC-C8, BAC-C12, disinfectant, CE-C^{4}D*