



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105555320 A

(43) 申请公布日 2016. 05. 04

(21) 申请号 201480050143. 1	(51) Int. Cl.
(22) 申请日 2014. 09. 04	<i>A61L 2/18</i> (2006. 01)
(30) 优先权数据	<i>C11D 1/02</i> (2006. 01)
102013218449. 2 2013. 09. 13 DE	<i>C11D 1/66</i> (2006. 01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日	<i>C11D 1/83</i> (2006. 01)
2016. 03. 11	<i>C11D 3/20</i> (2006. 01)
(86) PCT国际申请的申请数据	<i>C11D 3/386</i> (2006. 01)
PCT/EP2014/068812 2014. 09. 04	<i>C11D 3/48</i> (2006. 01)
(87) PCT国际申请的公布数据	<i>C11D 11/00</i> (2006. 01)
W02015/036312 EN 2015. 03. 19	
(71) 申请人 乔治洛德方法研究和开发液化空气 有限公司	
地址 法国巴黎	
(72) 发明人 M·彼得斯 J·黑德尔 K·施泰因豪尔 D·库德	
(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247	
代理人 彭立兵 林柏楠	

权利要求书2页 说明书10页 附图8页

(54) 发明名称

用于清洁硬表面的水性制剂

(57) 摘要

本发明涉及一种水性制剂,其包含 a) 一种或多种蛋白酶, b) 一种或多种阴离子表面活性剂, c) 一种或多种非离子表面活性剂, d) 一种或多种缓蚀剂, e) 一种或多种多价脂族醇, f) 一种或多种络合剂, 和 g) 一种或多种对羟基苯甲酸及其酯。该制剂的 pH 值为 9.5 至 12.5。该制剂用于硬表面,特别是医疗器械的机械清洁,并优选无硅酸盐。

1. 水性制剂,其含有
 - a)一种或多种蛋白酶,其中组分a)的总量相对于所述制剂的重量为0.03至1.0重量%,
 - b)一种或多种阴离子表面活性剂,其中组分b)的总量相对于所述制剂的重量为0.5至15重量%,
 - c)一种或多种非离子表面活性剂,其中组分c)的总量相对于所述制剂的重量为0.1至12重量%,
 - d)一种或多种缓蚀剂,其中组分d)的总量相对于所述制剂的重量为0.050至1.0重量%,
 - e)一种或多种多价脂族醇,其中组分e)的总量相对于所述制剂的重量为5.0至60重量%,
 - f)一种或多种络合剂,其中组分f)的总量相对于所述制剂的重量为0.1至15重量%,和
 - g)一种或多种对羟基苯甲酸及其酯,其中组分g)的总量相对于所述制剂的重量为0.05至3.0重量%,其中所述制剂的pH值为9.5至12.5。
2. 根据权利要求1的制剂,其特征在于所述蛋白酶选自Properase、Savinase和Esperase,其中Esperase特别优选作为组分a)。
3. 根据权利要求1或2的制剂,其特征在于组分a)以相对于所述制剂的重量0.05至0.6重量%,优选0.1至0.4重量%,例如0.2重量%的量存在。
4. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于所述阴离子表面活性剂选自烷基硫酸盐、烷基磺酸盐、芳基硫酸盐和芳基磺酸盐,其中组分b)优选是烷基硫酸盐和/或芳基磺酸盐,且其中组分b)特别是烷基硫酸盐与芳基磺酸盐的混合物。
5. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于组分b)以相对于所述制剂的重量1.0至12重量%,优选1.5至10.0重量%,特别是2.0至8.0重量%,例如3或例如6重量%的量存在。
6. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于所述非离子表面活性剂是脂肪醇衍生物,其中所述脂肪醇衍生物优选选自脂肪醇烷氧基化物和脂肪醇葡糖苷。
7. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于组分c)以相对于所述制剂的重量0.2至9.0重量%,优选0.4至6.0重量%,特别是0.6至4.5重量%的量存在。
8. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于所述缓蚀剂选自1H-苯并三唑和N,N-双(2-乙基己基)-1H-1,2,4-三唑-1-甲胺。
9. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于组分d)以相对于所述制剂的重量0.08至0.7重量%,优选0.15至0.4重量%,特别例如0.2重量%的量存在。
10. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于所述多价脂族醇选自链烷二醇和链烷三醇及其混合物,其中组分e)优选是1,2-丙二醇与甘油的混合物。
11. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于组分e)以相对于所述制剂的重量10至60重量%,优选15至50重量%,特别是20至40重量%的量存在。
12. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于所述络合剂选自氨三乙酸盐、膦酰基丁烷三羧酸盐、甲基甘氨酸二乙酸盐和乙二胺四乙酸盐。
13. 根据前述权利要求任一项的制剂,其特征在于组分f)以相对于所述制剂的重量0.5

至6.0重量%，优选0.8至5重量%，优选以1.0至4.0重量%，特别例如3.0重量%的量存在。

14. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于对羟基苯甲酸的酯选自对羟基苯甲酸的甲基、乙基、丙基和丁基酯。

15. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于组分g)以相对于所述制剂的重量0.1至2.0重量%，优选0.15至1.0重量%，特别是0.2至0.7重量%的量存在。

16. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于水h)的量为相对于所述制剂的重量15至90重量%，优选20至85重量%，更优选25至80重量%。

17. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其pH值为10.0至12.5，优选10.5至12.0。

18. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其进一步包含i)一种或多种分散剂，其中所述分散剂优选是聚丙烯酸盐。

19. 根据权利要求16的制剂，其特征在于组分i)以相对于所述制剂的重量0.05至3.0重量%，优选0.10至2.0重量%，特别是0.3至0.6重量%，例如0.45重量%的量存在。

20. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其进一步包含j)一种或多种pH值调节剂，其中所述pH值调节剂优选选自单乙醇胺、三乙醇胺和碱金属氢氧化物溶液。

21. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其进一步包含k)一种或多种一价脂族醇，其中所述一价脂族醇优选选自甲醇、乙醇、正丙醇和异丙醇，特别是乙醇。

22. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其进一步包含l)一种或多种附加酶，其中所述附加酶优选选自脂肪酶、纤维素酶、淀粉酶和甘露聚糖酶。

23. 根据前述权利要求任一项的制剂，其特征在于其含有以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于6.0重量%的硅酸盐，优选以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于4.0重量%的硅酸盐，特别是以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于2.0重量%的硅酸盐，如以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于1.0重量%的硅酸盐，其中所述制剂特别优选基本不含硅酸盐。

24. 硬表面的机械清洁方法，其中使用根据前述权利要求任一项的制剂。

25. 根据权利要求24的方法，其特征在于所述硬表面是医疗器械，特别是内窥镜。

用于清洁硬表面的水性制剂

[0001] 本发明涉及用于清洁硬表面的水性制剂。此外,本发明涉及清洁硬表面,特别是医疗器械的方法,其中使用该制剂。

[0002] 根据现有技术,含酶制剂已知用于硬表面(例如乳品生产和乳品加工装置和医疗器械,包括内窥镜(endoscope)的)的机械清洁。但这类制剂中的酶必须稳定化。

[0003] DE 197 17 329 A1公开了液态稳定化酶制品及其用于清洁硬表面,特别是乳品生产和乳品加工装置的用途。聚六亚甲基双胍、N,N-双-(3-氨基丙基)十二烷基胺、其盐和这些胺的混合物在DE 197 17 329 A1中被描述为酶的稳定剂。应该进一步改进根据DE 197 17 329 A1的制剂的防腐蚀性和清洁保护。

[0004] EP 1 081 215 A1描述了具有良好储存稳定性的液态含酶清洁剂浓缩物及其同样用于清洁乳品污染表面的用途。

[0005] 此外,Chemische Fabrik Dr.Weigert GmbH&Co.KG(Hamburg,Federal Republic of Germany)的产品neodisher MediClean forte是已知的。

[0006] 用于器械的机械清洁的含酶制剂通常配制成碱以改进其清洁力。但是,现有技术中已知的碱性制剂对金属具有腐蚀性,即它们以不合意的方式侵蚀铜、黄铜,特别是铝之类的材料,这在相对复杂的医疗器械的情况下可能受损。尽管可以通过添加硅酸盐改进碱性制剂的材料耐久性,但硅酸盐在机器中以及在要清洁的器械上造成不想要的沉积物和变色。此外,许多具有高pH值的酶具有分解倾向,因此必须稳定化。最后,从环境角度看,硅酸盐的添加也是不合意的。

[0007] 因此,本发明的目的是提供表现出改进的清洁力的用于清洁硬表面的制剂。此外,该制剂必须具有低腐蚀性,以使它们特别适用于清洁医疗器械(包括内窥镜)。该制剂不必含有硅酸盐。

[0008] 现在已经令人惊讶地发现,通过一种水性制剂实现这一目的,所述水性制剂包含

[0009] a)一种或多种蛋白酶,其中组分a)的总量相对于所述制剂的重量为0.03至1.0重量%,

[0010] b)一种或多种阴离子表面活性剂,其中组分b)的总量相对于所述制剂的重量为0.5至15重量%,

[0011] c)一种或多种非离子表面活性剂,其中组分c)的总量相对于所述制剂的重量为0.1至12重量%,

[0012] d)一种或多种缓蚀剂,其中组分d)的总量相对于所述制剂的重量为0.050至1.0重量%,

[0013] e)一种或多种多价脂族醇,其中组分e)的总量相对于所述制剂的重量为5.0至60重量%,

[0014] f)一种或多种络合剂,其中组分f)的总量相对于所述制剂的重量为0.1至15重量%,和

[0015] g)一种或多种对羟基苯甲酸及其酯,其中组分g)的总量相对于所述制剂的重量为0.05至3.0重量%,

- [0016] 其中所述制剂的pH值为9.5至12.5。
- [0017] 本发明的制剂的特征特别在于
- [0018] -极好的酶稳定性，
- [0019] -极好的清洁力(参见使用TOSI试样的体外实验)，
- [0020] -在机器中的极好清洁力和
- [0021] -与现有技术的制剂相比极好的材料耐久性。
- [0022] 在这种情况下，本发明的特殊和优选的无硅酸盐制剂的材料耐久性特别有利地根据腐蚀试验至少与现有技术的含硅酸盐的产品的材料耐久性一样好，即本发明的制剂不必含有硅酸盐。
- [0023] 借助新开发的测定清洁力的方法已经表明，本发明的制剂与现有技术相比带来显著改进。这在室温下和在常规用于清洁法的55°C的温度下都已惊人地证实。
- [0024] 在一种优选制剂中，蛋白酶选自Properase、Savinase和Esperase，在这种情况下Esperase(如Esperase 8.0L)特别优选作为组分a)。
- [0025] 组分a)优选以相对于制剂重量0.05至0.6重量%，优选0.1至0.4重量%，例如0.2重量%的量存在。
- [0026] 在一种优选制剂中，阴离子表面活性剂选自烷基硫酸盐、烷基磺酸盐、芳基硫酸盐和芳基磺酸盐，组分b)优选是烷基硫酸盐和/或芳基磺酸盐，且组分b)在特别优选的方式中是烷基硫酸盐与芳基磺酸盐的混合物。
- [0027] 组分b)优选以相对于制剂重量1.0至12重量%，优选1.5至10.0重量%，特别是2.0至8.0重量%，例如3或例如6重量%的量存在。
- [0028] 在一种优选制剂中，非离子表面活性剂是脂肪醇衍生物，该脂肪醇衍生物优选选自脂肪醇烷氧基化物和脂肪醇葡糖苷。这类表面活性剂例如由BASF SE, Ludwigshafen, Federal Republic of Germany以商品名Plurafac和Lutensol出售或以商品名AG 6206 (Akzo Nobel, The Netherlands)出售。用于碱性清洁剂的脂肪醇烷氧基化物也从DE 10 2006 006 765 A1中获知。
- [0029] 组分c)优选以相对于制剂重量0.2至9.0重量%，优选0.4至6.0重量%，特别是0.6至4.5重量%的量存在。
- [0030] 在一种优选制剂中，缓蚀剂选自1H-苯并三唑和N,N-双(2-乙基己基)-1H-1,2,4-三唑-1-甲胺。
- [0031] 组分d)优选以相对于制剂重量0.08至0.7重量%，优选0.15至0.4重量%，特别例如0.2重量%的量存在。
- [0032] 在一种优选制剂中，多价脂族醇选自链烷二醇和链烷三醇及其混合物，组分e)优选是1,2-丙二醇与甘油的混合物。组分e)优选以相对于制剂重量10至60重量%，优选15至50重量%，特别是20至40重量%的量存在。
- [0033] 在一种优选制剂中，络合剂选自氨三乙酸盐、膦酰基丁烷三羧酸盐、甲基甘氨酸二乙酸盐和乙二胺四乙酸盐。组分f)优选以相对于制剂重量0.5至6.0重量%，优选0.8至5.0重量%，优选1.0至4.0重量%，特别例如3.0重量%的量存在。
- [0034] 在一种优选制剂中，对羟基苯甲酸的酯选自对羟基苯甲酸的甲基、乙基、丙基和丁基酯。对羟基苯甲酸及其酯(paraben)尤其具有酶稳定化作用。

- [0035] 在一个优选备选方案中,该制剂含有对羟基苯甲酸作为组分g)。
- [0036] 在另一优选备选方案中,该制剂含有一种或多种对羟基苯甲酸酯作为组分g)。
- [0037] 在另一备选方案中,该制剂含有i)对羟基苯甲酸和ii)一种或多种对羟基苯甲酸酯作为组分g),优选i)对羟基苯甲酸和ii)多种对羟基苯甲酸酯。
- [0038] 组分g)优选以相对于制剂重量0.1至2.0重量%,优选0.15至1.0重量%,特别是0.2至0.7重量%的量存在。
- [0039] 在一种优选制剂中,水h)的量为制剂重量的15至90重量%,优选20至85重量%,更优选25至80重量%。
- [0040] 在一种优选制剂中,pH范围为10.0至12.5,优选10.5至12.0。
- [0041] 一种优选制剂进一步包含i)一种或多种分散剂,所述分散剂优选是聚丙烯酸盐。组分i)优选以相对于制剂重量0.05至3.0重量%,优选0.10至2.0重量%,特别是0.3至0.6重量%,例如0.45重量%的量存在。
- [0042] 一种优选制剂进一步包含j)一种或多种pH值调节剂,所述pH值调节剂优选选自单乙醇胺、三乙醇胺和碱金属氢氧化物溶液。
- [0043] 另一优选制剂进一步包含k)一种或多种一价脂族醇,所述一价脂族醇优选选自甲醇、乙醇、正丙醇和异丙醇,特别是乙醇。
- [0044] 一种优选制剂进一步包含l)一种或多种附加酶,所述附加酶优选选自脂肪酶、纤维素酶、淀粉酶和甘露聚糖酶(mannanase)。
- [0045] 该制剂优选含有以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于6.0重量%的硅酸盐,优选以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于4.0重量%的硅酸盐,特别是以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于2.0重量%的硅酸盐,如以SiO₂表示并相对于制剂重量计少于1.0重量%的硅酸盐,该制剂特别优选基本不含硅酸盐。
- [0046] 在另一实施方案中,本发明涉及硬表面(特别是医疗器械,包括内窥镜)的机械清洁方法,其中使用根据前述权利要求任一项的制剂。该硬表面因此优选是医疗器械,特别是内窥镜。
- [0047] 本发明的制剂是浓缩物,其通常以水稀释液的形式使用,例如每升即用储液0.5至20毫升浓缩物的稀释液。
- [0048] 在特别适用于热稳定硬表面的本发明的方法的第一实施方案中,程序如下:
- [0049] a)在最多45°C下用水预冲洗1至5分钟,
- [0050] b)在升至最多95°C的温度下用本发明的制剂的水稀释液(通常为1至10ml/l,例如5ml/l的浓度)清洁总共2至30分钟,
- [0051] c)冲洗,
- [0052] d)用水最终冲洗,
- [0053] e)在至少90°C的温度下热消毒1至20分钟,和
- [0054] f)干燥。
- [0055] 在本发明的方法的这种第一实施方案的情况下,冲洗c)可以是用水冲洗,因此(共用)冲洗步骤c)和d)可能是足够的。或者,冲洗c)可以用中和溶液进行。
- [0056] 这类典型方法的一个实例显示在图1中。
- [0057] 在热不稳定硬表面的情况下特别合适的本发明的方法的第二实施方案中,程序如

下:

[0058] a)在最多45°C下用水预冲洗1至5分钟,

[0059] b)在升至最多60°C的温度下用本发明的制剂的水稀释液(1至10ml/l,通常例如5ml/l的浓度)清洁总共2至30分钟,

[0060] c)用水冲洗,

[0061] d)在升至最多60°C的温度下化学热消毒(chemothermal disinfection)总共5至25分钟,

[0062] e)用水最终冲洗,和

[0063] f)干燥。

[0064] 这类典型方法的一个实例显示在图2中。

[0065] 特别在下列实施例中可以看出本发明的优点。除非另行指明,所有百分比均指重量。

实施例

[0066] 方法A

[0067] 对相对于金属的腐蚀行为的测定

[0068] 在该试验中,使用标准试验片,将它们最多60%浸到试验溶液中,从而有可能在这样的区域里评估试验体,即浸泡相、通过(by way of)该溶液的气相和两者的界面相中。

[0069] 铜、青铜和铝的试验体

[0070] 试验条件

[0071] 对腐蚀试验设定下列条件(表1):

[0072] 表1

[0073]

参数	标准
试验体的浸泡深度	60%
温度	60°C
浸泡时间	24小时
试验溶液的浓度	0.5%

[0074] 试验溶液

[0075] 在每种情况中测量并记载试验溶液的pH值。将试验溶液倒入400毫升烧杯中。

[0076] 试验体的准备

[0077] 用纤维素布擦拭试验体。为了清洁,将试验体相继浸在丙酮/石油醚/石油醚中并在每种情况中使其在空气中干燥。

[0078] 试验体的引入

[0079] 准备好的试验体在带有玻璃钩的分析天平上称重并小心浸泡到试验溶液中直至60%标记。然后用合适的箔覆盖烧杯并在设定至60°C温度的水浴中放置24小时。

[0080] 试验体的取出

[0081] 在将烧杯从水浴中取出后,从试验溶液中取出试验体。该试验体小心地用VE水冲洗,然后通过浸泡在丙酮/石油醚/石油醚中清洁,并干燥。

[0082] 评估

[0083] 干燥的试验体在分析天平上再称重。现在可以以克/平方米计算重量差和降低/提高。

[0084] 测量不确定度为 ± 0.1 克/平方米。

[0085] 方法B

[0086] 借助TOSI-试验体测定清洁力和根据Bradford定量测定蛋白质

[0087] 该方法用于测定清洁溶液用于准备医疗器械的清洁力(IDA=器械消毒剂)。使用TOSI(Test Object Surgical Instrument, 试验目标外科器械)(其试验污染与人血相关联)作为试验体。

[0088] 该试验可以以静态试验的形式进行以模拟手动准备器械的性能,或以动态试验的形式进行以例示在机械准备中的清洁力。

[0089] 在这种方法中在清洁试验后的视觉评估后定量测定留在试验体和Roti-Nanoquant试剂上的蛋白质膜。基于根据Bradford[M. Bradford, (1976) Anal. Biochem. 72: 248至254. U. Niess, (2004) J Bacteriol. 186: 3640至3648]的蛋白质测定,在这种情况下用染料Coomassie Brilliant G 250显示蛋白质。

[0090] 在每种情况下在实践中使用该产品后选择清洁溶液的浓度、所用水的品质(脱矿质、软化、自来水等)、清洁试验的持续时间和试验温度。

[0091] 所需材料、化学品和器具

[0092] • 磁力搅拌器,可能连有水浴

[0093] • 恒温器

[0094] • 烧杯,高型,250毫升和100毫升

[0095] • 磁力搅拌棒

[0096] • 重量环

[0097] • 脐带钳

[0098] • 脐带钳的悬挂装置

[0099] • 带有相应移液管头的Eppendorf移液管P5000和P1000

[0100] • pH计

[0101] • 带盖试管15毫升

[0102] • 摇振器

[0103] • 镊子

[0104] • 含软化水的400毫升烧杯

[0105] • 数码相机

[0106] • TOSI试验体(Order No.8302, BAG Health Care, Lich, Germany)

[0107] • 闹钟

[0108] • 玻璃珠

[0109] • 一次性比色杯

[0110] • 比色杯棒(用于充分混合)

[0111] • 一次性吸管

[0112] • NaOH溶液, 0.5mol/l

- [0113] • HCl溶液,0.5mol/l
- [0114] • 缓冲液pH 7.00(Merck)
- [0115] • 白蛋白血清级分(fraction)V(Serva)
- [0116] • Roti-Nanoquant(Roth)
- [0117] • 光度计(590纳米和450纳米)
- [0118] 由Roti-Nanoquant溶液在软化水中制造20%溶液。这一稀释液能在冰箱中保存一周。
- [0119] 清洁试验的表现
- [0120] a)静态清洁试验
- [0121] 在烧杯(100毫升,高型)中无泡沫地装入大约100毫升受试试验溶液。用一副镊子将顶部带有受试污垢层的TOSI试验体置于该溶液中。在试验期结束后,用镊子将TOSI试验体从溶液中取出并通过在VE水中浸泡翻转来冲洗。然后将TOSI试验体在空气中直立干燥。
- [0122] 此后,分组并酌情分亚组与预先设定的对比TOSI试验体(标准)比较进行TOSI试验体的光学评估。用数码相机拍摄TOSI试验体以存档记录。随后将照片拷贝到评估表中。现在用Bradford法分析评估各TOSI试验体。
- [0123] b)动态清洁试验
- [0124] 在烧杯(250毫升,高型)中装入200毫升受试清洁溶液,配备磁力搅拌棒。在使用水浴时,在带有铅环的情况下将烧杯称重。此后,将它们在室温下置于搅拌器上(通常步骤3)或在搅拌器上置于设定到试验温度的水浴中。
- [0125] 在试验开始时,将TOSI试验体从包装中和从塑料夹持工具中取出,置于合适的夹持工具(例如脐带钳)中并从正中悬挂在含清洁溶液的烧杯中。在试验期结束后,用镊子从溶液中取出TOSI试验体并通过在VE水中浸泡翻转来冲洗。然后将TOSI试验体在空气中直立干燥。
- [0126] 此后,通过与在试验开始前确定的相关标准TOSI试验体比较进行分组和/或分亚组进行TOSI试验体的光学评估。用数码相机拍摄TOSI试验体以存档记录。随后将照片拷贝到评估表中。此后可以用Bradford法分析评估各TOSI试验体。
- [0127] 设立用于定性评估的清洁标准系列
- [0128] 设立用于TOSI试验体的可再现视觉评估的清洁标准系列。为此,将清洁过的试验体分组和亚组。
- [0129] 用市售碱性酶清洁剂的0.5%溶液进行TOSI试验体在不同取出时间下的清洁系列:取出时间为在10s、20s、30s、40s、50s、60s、70s、80s、90s、100s、110s、120s、240s、270s、330s、360s和600s后。
- [0130] 对外观的清楚可再现性形成多个分组(见表2和图6)。
- [0131] 表2
- [0132]

组	亚组
A(无残留物)	0
B(少量残留物)	1-4
C(几乎整个范围带有残留物)	5-8

D(整个范围带有残留物,微黄色)	9-12
E(几乎完全残留,完全覆盖)	13-16
F(未清洁的带有试验污染的试验体)	17

[0133] 清洁标准系列能由主观评定实现极好的定性评估-因此无论评估人员如何,结果始终相同,并因此容易比较。

[0134] 根据Bradford用Roti-Nanoquant定量测定蛋白质

[0135] 在每种情况下将5毫升0.5M NaOH溶液与大约10至15个玻璃珠引入15毫升试管,将封闭试管置于大约55°C的水浴中,在每种情况下将一个TOSI试验体引入一个试管中并用摇振器剧烈摇振直至所有残留物溶解。

[0136] 将5毫升0.5M HCl溶液引入含0.5M NaOH溶液、TOSI试验体和玻璃珠的各试管,并用5毫升0.5M HCl溶液冲洗TOSI试验体;然后将试验体从试管中取出并弃置。

[0137] 通过添加5毫升pH 7.0的缓冲液,将来自试管的溶液设定至pH 7.0±0.1。对于空白值,在30毫升玻璃瓶中混合5毫升0.5M NaOH溶液、5毫升0.5M HCl溶液和5毫升pH 7.0缓冲液并设定至7.0±0.1的pH值。

[0138] 然后,将400微升溶液组(或空白值)和1600微升20%Roti-Nanoquant溶液引入比色杯并混合。在5分钟反应时间后通过光度测定法测量样品。为此,首先用水在590纳米下进行零平衡,然后同样在590纳米下测量空白值和样品。此后,在450纳米下进行零平衡并进行测量。

[0139] 评估:

[0140] 蛋白质 $\mu\text{g}/\text{ml} =$

[0141] $(E_{\text{样品}590\text{nm}}/E_{\text{样品}450\text{nm}} - E_{\text{空白值}590\text{nm}}/E_{\text{空白值}450\text{nm}})/\text{线的增加}$

[0142] 蛋白质定量的校准

[0143] 为了设定校准线,使用各种BSA浓度(BSA:牛血清白蛋白)。为此,在VE水中以400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ BSA的浓度设定储液。由此制造浓度为10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液。由这两种溶液制造稀释系列(见表3)。

[0144] 表3

[0145]

BSA[$\mu\text{g}/\text{ml}$]	μl , 来自BSA稀释液	脱矿质水的微升数
0	-	400
1	40 μl , 来自10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	360
2.5	100 μl , 来自10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	300
5	200 μl , 来自10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200
10	40 μl , 来自100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	360
25	100 μl , 来自100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	300
50	200 μl , 来自100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200
75	300 μl , 来自100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100
100	200 μl , 来自400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	600

[0146] 在比色杯中进行校准溶液的制备。为此,将400微升相应BSA浓度的溶液(见表3)与1600微升20%Roti-Nanoquant溶液混合并通过比色杯棒互混。

[0147] 在比色杯中5分钟反应期后,首先在光度计上在590纳米下进行使用水的零平衡,然后测量校准溶液。同样在450纳米下测量校准溶液以及使用水的零平衡。

[0148] 形成这两个消光值的商(590纳米/450纳米),并用该商设定校准度。

[0149] 制剂

[0150] Chemische Fabrik Dr.Weigert GmbH&Co.KG(Hamburg,Federal Republic of Germany)的Neodisher MediClean forte是无硅酸盐的碱性含酶清洁剂。

[0151] 下面列出该制剂中所用的成分及其活性物含量(表4)。

[0152] 表4

[0153]

	成分	活性物含量/%
a	esperase 8.0L	9
b1	枯烯磺酸钠盐	40
b2	乙基己基硫酸钠	42
c1	脂肪醇葡糖苷	75
c2	脂肪醇乙氧丁氧基化物	100
c3	脂肪醇丙氧乙氧基化物	100
d	1H-苯并三唑	100
e1	丙二醇 (1,2-丙二醇)	100
e2	甘油(1,2,3-丙三醇)	85
f	甲基甘氨酸二乙酸三钠盐	40
g1	对羟基苯甲酸	100
g2	对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯的混合物	28(溶解在苯氧基乙醇中)
h	纯净水	-
i	聚丙烯酸钠盐	45
j1	三乙醇胺	100
j2	氢氧化钾水溶液	45
j3	乙醇胺	100
k	乙醇, 1%用 MEK 染黄	94

[0154] 下面列出各受试制剂中所用的成分量(表5)。

[0155] 表5

[0156]

成分	A/%	B/%	C/%	D/%
a	2.0	2.0	2.0	2.0
b1	7.5	13.0	13.0	13.0
b2	-	2.5	2.5	2.5
c1	1.7	-	4.5	-
c2	0.5	0.5	0.5	-

c3	-	0.5	-	0.5
d	0.2	0.2	0.2	0.2
e1	20	18.0	18.0	18.0
e2	23	21.0	21.0	21.0
f	7.5	7.5	7.5	7.5
g1	0.5	-	-	-
g2	-	0.8	0.8	0.8
h	27.1	30.5	25.45	29.95
i	1.0	1.0	1.0	1.0
j1	3.0	-	3.0	3.0
j2	1.0	-	0.55	0.55
j3	-	2.5	-	-
k	5.0	-	-	-

[0157] 结果I

[0158] 根据方法B(在55°C下)研究制剂A和市售清洁剂Neodisher Mediclean Forte(碱性、含酶、无硅酸盐)并获得图3a和图3b中所示的结果。

[0159] 图3a:

[0160] 根据方法B(TOSI法)的清洁力-目测。根据0.5%的推荐施用浓度在所暴露时间(5、10、15分钟)后研究各种制剂。根据方法B(在标准评审小组帮助下的视觉评估)评估TOSI试验体上呈现的残留污染。在55°C的常见工艺温度下以动态试验的形式进行研究。共同以市售碱性清洁剂(neodisher Mediclean forte, Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG)作为参考产品。

[0161] 图3b:

[0162] 根据方法B(TOSI法)的清洁力-定量蛋白质残留。根据0.5%的推荐施用浓度在所暴露时间(5分钟)后研究各种制剂。在所暴露时间后TOSI试验体上呈现的残留污染以 $\mu\text{g/ml}$ 表示。在这种情况下,高残留污染表明差清洁结果,低值表明轻微残留污染。在55°C的常见工艺温度下以动态试验的形式进行研究。共同以市售碱性清洁剂(neodisher Mediclean forte, Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG)作为参考产品。

[0163] 结果II

[0164] 根据方法B(在RT=室温下)研究制剂A和市售清洁剂(即i)gigazyme(非碱性),ii)3E-zyme(非碱性)和iii)neodisher Mediclean Forte(碱性,含酶,无硅酸盐)。获得图4a和图4b中所示的结果。

[0165] 图4a:

[0166] 各种制剂根据方法B在室温下的清洁力的比较-目测。根据推荐施用浓度在所暴露时间(5、10、15分钟)后研究各种制剂。根据方法B(在标准评审小组帮助下的视觉评估)评估TOSI试验体上呈现的残留污染。在常见工艺室温下以动态试验的形式进行研究。以推荐施用浓度使用下列市售制剂作为用于医疗器械的机械和手动清洁的参考产品:(neodisher Mediclean forte, Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG:0.5%; gigazyme, Schülke & Mayr GmbH:1%; 3E-Zyme, Medisafe:0.75%)。

[0167] 图4b:

[0168] 各种制剂根据方法B在室温下的清洁力的比较-定量蛋白质残留。根据推荐施用浓度在所暴露时间(5、10、15分钟)后研究各种制剂。在所暴露时间后TOSI试验体上呈现的残留污染以 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 表示。在这种情况下,高残留污染表明差清洁结果,低值表明轻微残留污染。在常见工艺室温下以动态试验的形式进行研究。以推荐施用浓度使用下列市售制剂作为用于医疗器械的机械和手动清洁的参考产品:(neodisher Mediclean forte, Chemische Fabrik Dr.Weigert GmbH&Co.KG:0.5%;gigazyme,Schülke&Mayr GmbH:1%;3E-Zyme,Medisafe:0.75%)。

[0169] 这些结果显示与在视觉评估中和在蛋白质残留的定量测定中测试的三种对比制剂相比本发明的制剂的优点。

[0170] 结果III

[0171] 根据方法A用脱矿质水测试制剂A、市售清洁剂neodisher Mediclean Forte(碱性、含酶、无硅酸盐)和市售含硅酸盐清洁剂(碱性、含酶)。结果显示在表6和图5中。

[0172] 表6.以克/平方米计的重量变化

[0173]

	铜	黄铜	铝
制剂A	-0.2	-0.24	-0.20
Neodisher Mediclean Forte	-3.98	-3.59	-2.09
含硅酸盐的清洁剂	-3.55	-3.74	0

[0174] 图5:根据方法A的材料耐久性。在这一实例中显示特别已知对各种温和碱性制剂敏感的材料如铜、黄铜和铝的耐腐蚀性。在24小时接触时间后以克/平方米显示降低率。共同以下列市售弱碱性清洁剂作为参考产品:neodisher Mediclean forte,Chemische Fabrik Dr.Weigert GmbH&Co.KG;thermosept alka clean forte,Schülke&Mayr GmbH。

[0175] 结果显示与无硅酸盐的制剂相比和与含硅酸盐的制剂相比本发明的制剂A的优点。

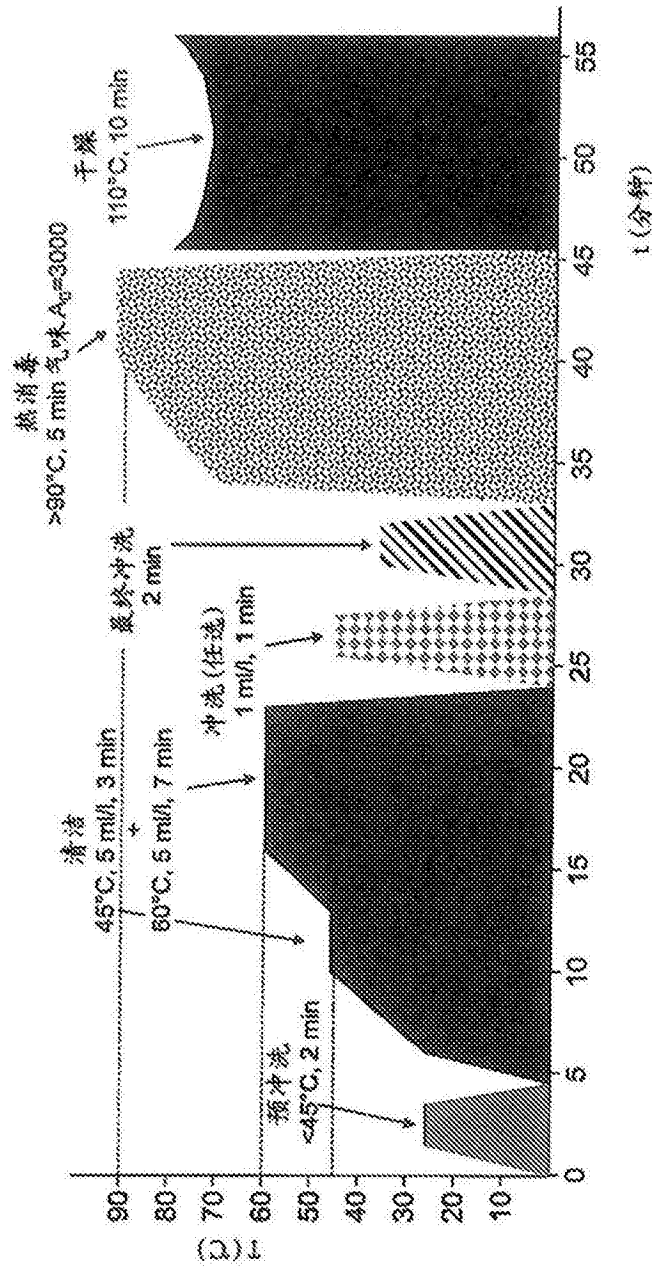


图1

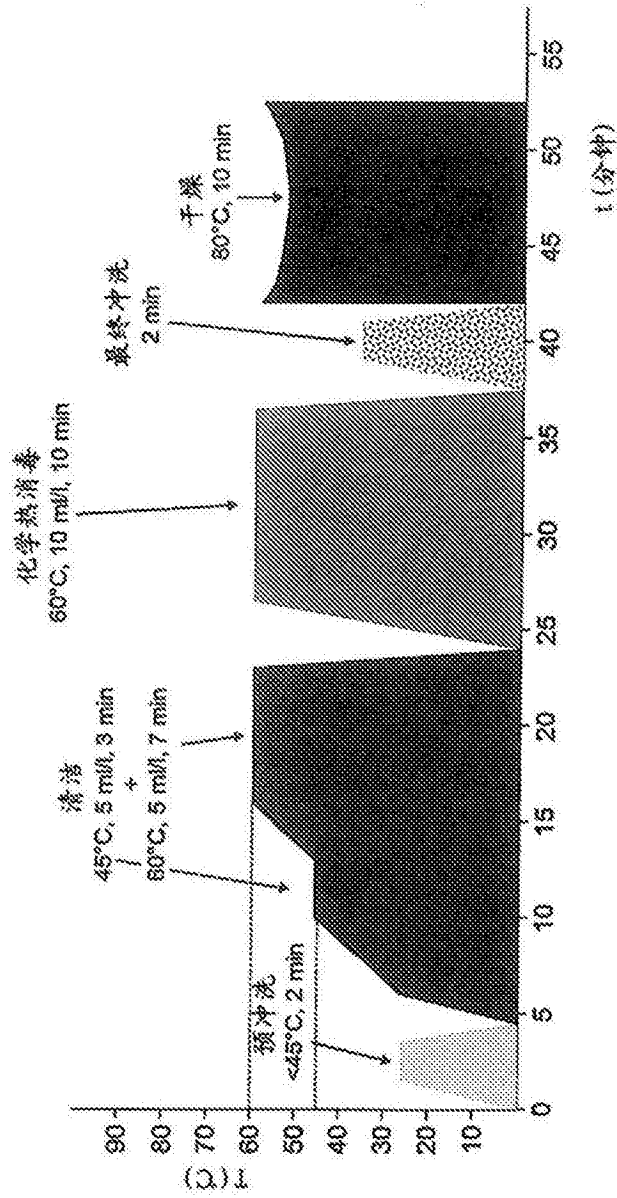


图2

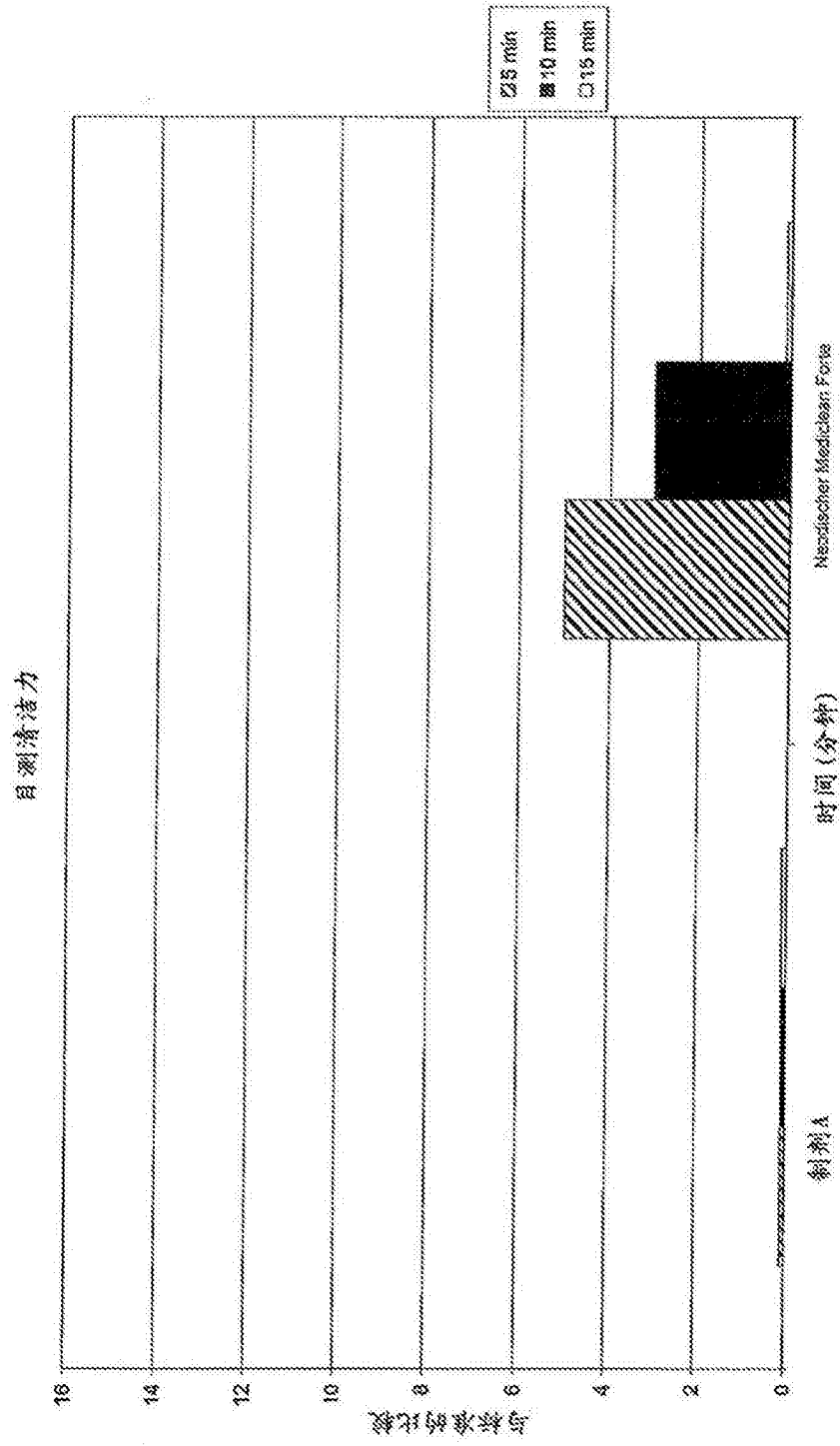


图3a

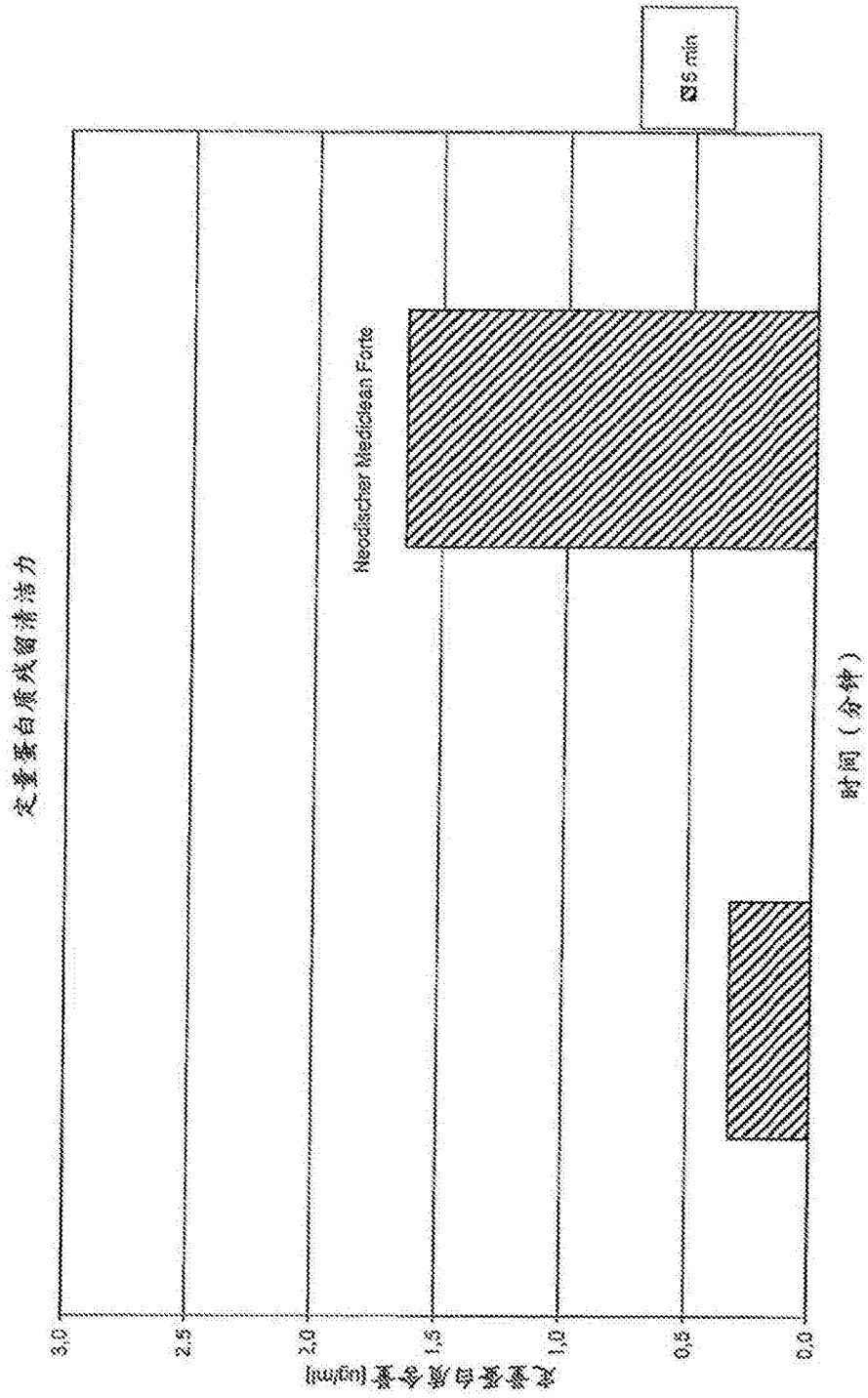


图3b

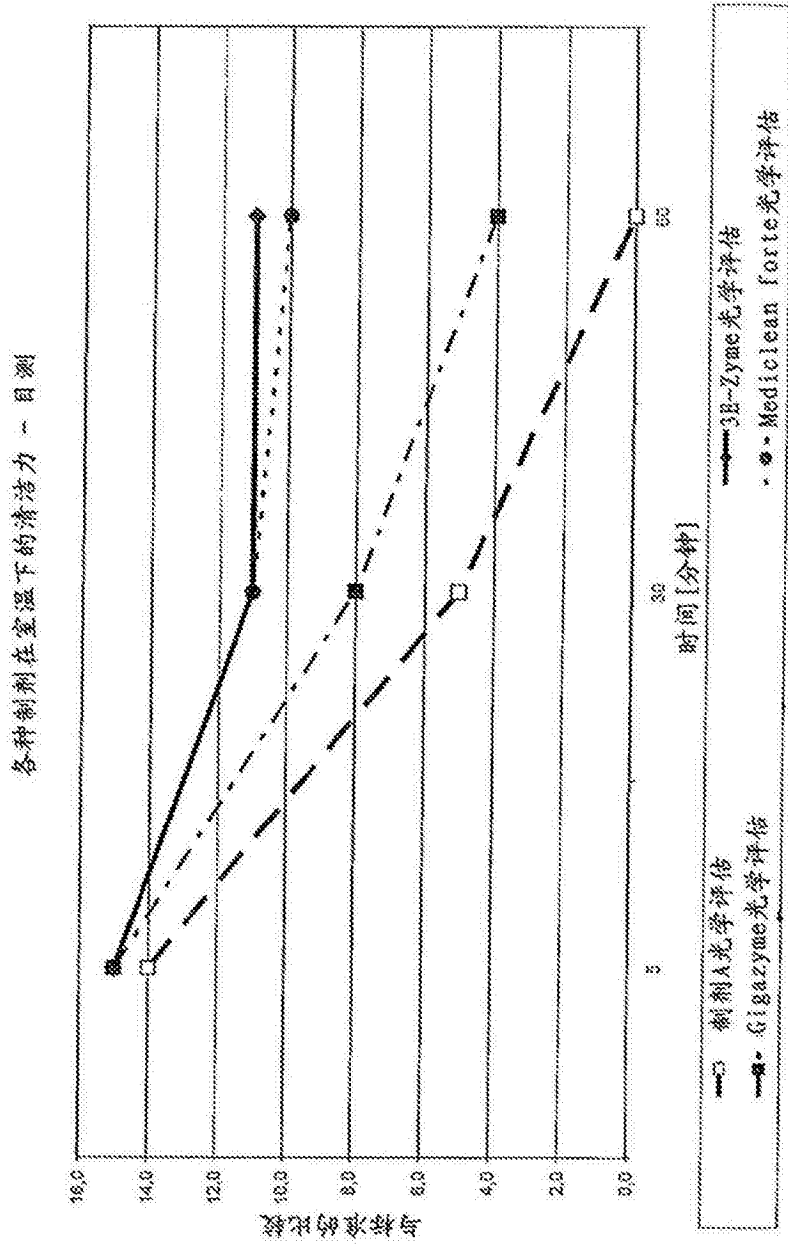


图4a

各种制剂在室温下的清洁力 - 定量蛋白质残留

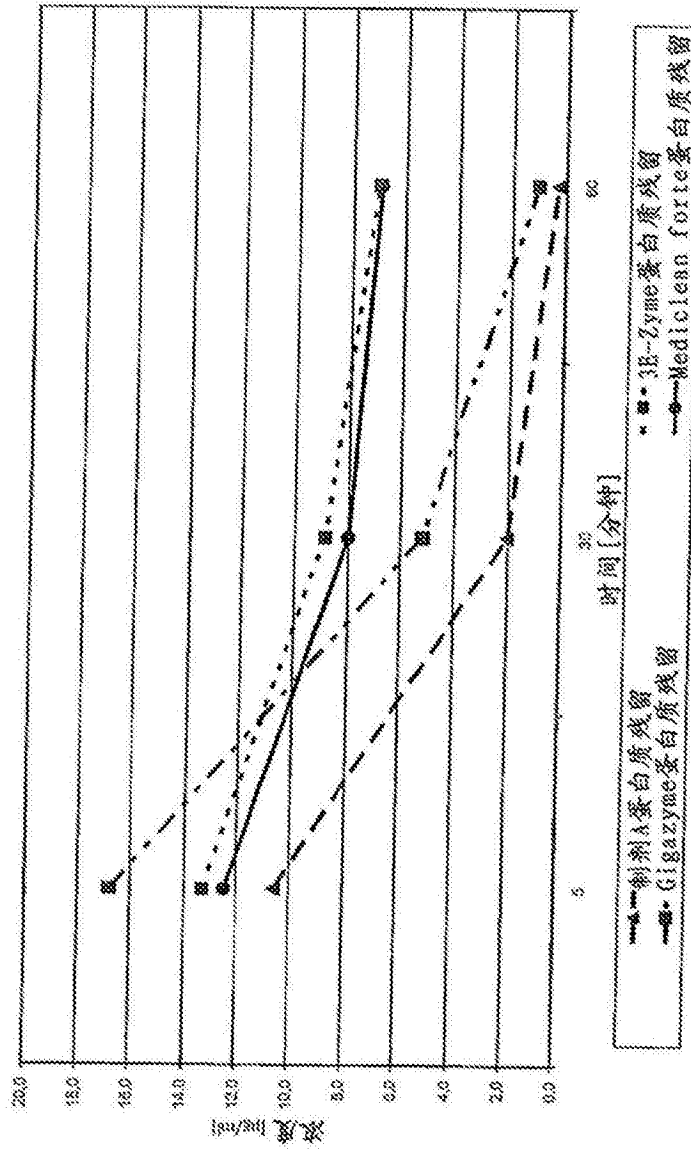


图4b

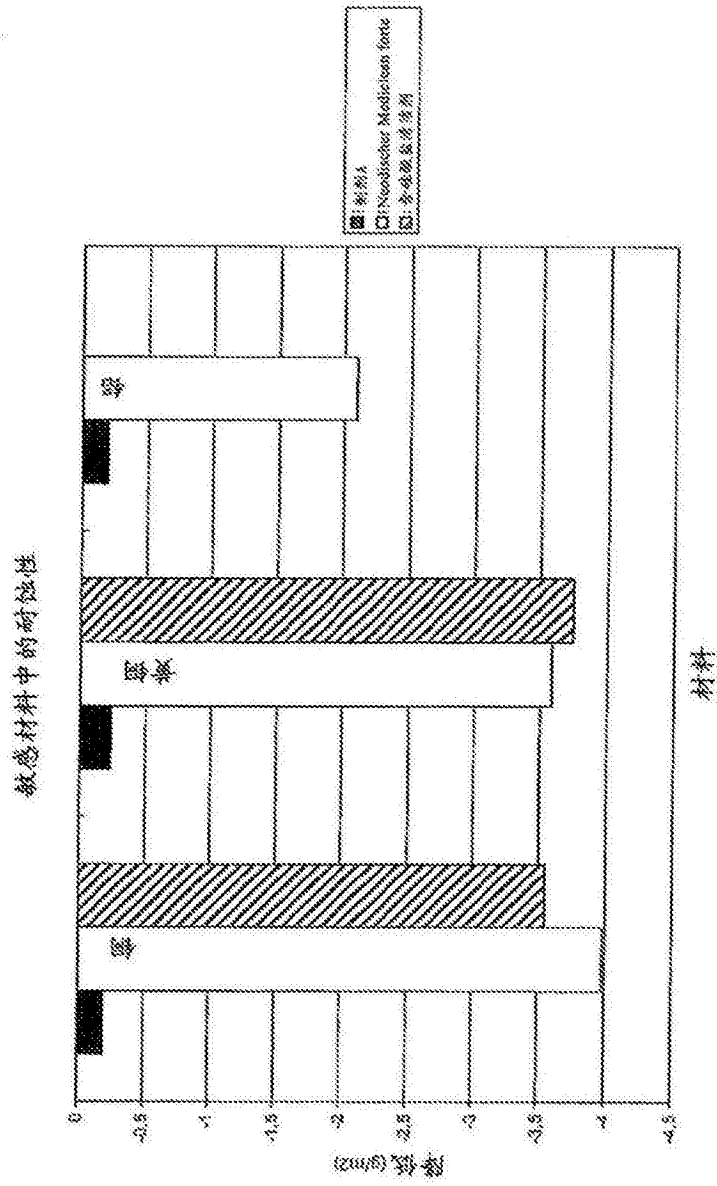


图5

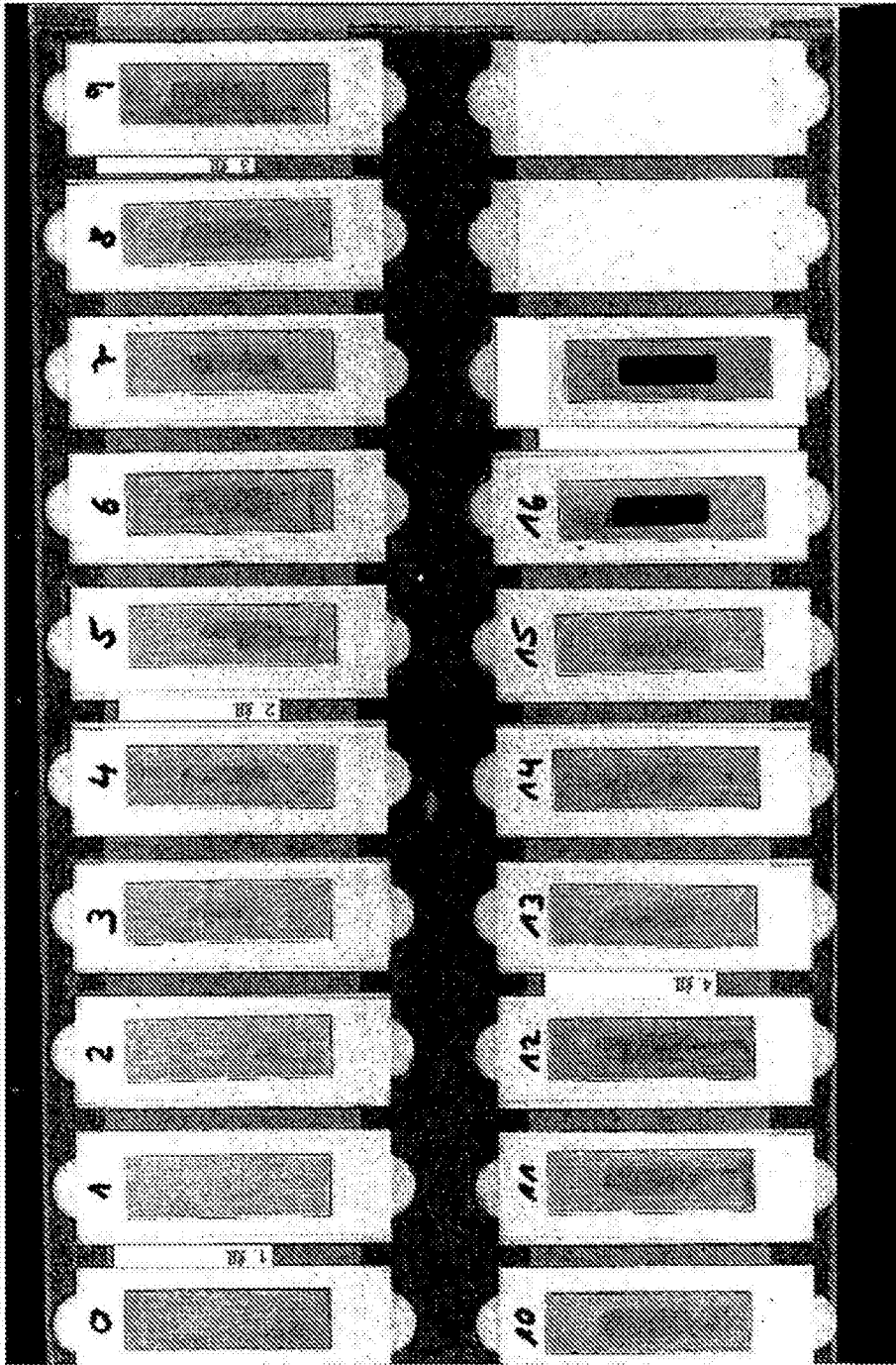


图6