Note d’application

Analyse de gels hydroalcooliques à l’aide du GC Agilent 8860 équipé d’un détecteur à ionisation de flamme

Auteur

Jie Zhang
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d’application décrit l’analyse de gels hydroalcooliques à base d’éthanol et d’isopropanol. La colonne DB-WAX Agilent J&W a été utilisée pour optimiser la résolution chromatographique et la forme des pics. La détection a été effectuée à l’aide d’un détecteur à ionisation de flamme (FID). Un étalonnage interne (ÉI) a été utilisé pour la quantification, conformément à la recommandation de la méthode USP <611>. L’adéquation de l’instrument a été étudiée en termes de facteur de traînée des pics, de résolution de l’alcool par rapport à l’étalon interne et de reproductibilité de la quantification.

Introduction

L'éthanol et l'isopropanol (IPA) sont les principaux composants des gels hydroalcooliques. Pour en maintenir l'efficacité, la concentration en éthanol ou en isopropanol (IPA) doit rester dans une gamme appropriée, généralement entre 65 et 75 %, comme indiqué sur les étiquettes de flacons de gels hydroalcooliques. Sachant que d'autres alcools peuvent aussi être présents sous forme d'impuretés ou d'additifs inappropriés dans les gels désinfectants frelatés, il est important de mesurer les bons alcools aux niveaux de concentration requis. La chromatographie en phase gazeuse (GC) est l'une des techniques recommandées par l'USP pour la détermination de la concentration en alcool. La GC permet aussi d'obtenir les temps de rétention pour vérifier l'identité des alcools, garantissant ainsi que le produit désinfectant pour les mains n'a pas été contaminé. Grâce à cette capacité d'analyse qualitative et quantitative, la GC va continuer de jouer un rôle essentiel dans le contrôle qualité des gels hydroalcooliques.

Les méthodes de détermination des alcools, telles que l'USP <611>[1] et l'ASTM D3695[2], recommandent l'utilisation d'une colonne polaire ou moyennement polaire pour bien séparer et détecter les composants alcooliques. D'après nos travaux précédents,[3] les colonnes DB-WAX Agilent J&W et DB-624 Ultra Inert Agilent J&W offrent des formes de pics plus fines et plus symétriques pour les alcools. Le FID est le détecteur recommandé pour les alcools car il est simple d'utilisation et permet d'obtenir une réponse stable et satisfaisante pour la gamme de concentration testée après la dilution des alcools pendant la préparation des échantillons. Dans cette étude, une colonne DB-WAX Ultra Inert a été utilisée sur un GC Agilent 8860 équipé d'un FID pour l'analyse des alcools.

Les performances du système ont été évaluées en termes de reproductibilité des temps de rétention, de résolution, de facteur de traînée des pics et de précision de la quantification. L'objectif était de démontrer l'adéquation du système GC 8860/FID équipé d'une colonne Ultra Inert Agilent pour l'analyse des alcools dans les gels hydroalcooliques.

Configuration expérimentale

Le GC Agilent 8860 est équipé d'un injecteur split/splitless et d'un FID. L'introduction des échantillons liquides a été réalisée à l'aide d'un passeur automatique de liquides Agilent 7693A (ALS) et d'une seringue de 5 µL. Les paramètres d'analyse sont indiqués dans le tableau 1.

Produits chimiques et étalons

Les solvants alcooliques et l'acétonitrile (ÉI) ont été achetés auprès d'ANPEL Scientific Instrument (Shanghai). La solution de glycérine de travail a été préparée en diluant 58,4 mg de glycérine dans un 1 mL d'eau distillée (environ 50 µL). La concentration volumique calculée pour la solution de glycérine de travail était de 4,6 % (v/v). Les mélanges étalon d'alcools ont été préparés en ajoutant des aliquotes d'alcools purs ou de leur solution de travail à de l'eau distillée pour un volume final de 1 mL. L'éthanol, l'IPA et la glycérine constituaient le groupe 1 de solutions d'étalonnage. La gamme d'étalonnage pour l'éthanol et l'IPA était comprise entre 1 et 4 % (v/v). La concentration en glycérine était comprise entre 0,01 et 0,18 % (v/v). Le méthanol et le *n*-propanol (n-PA) appartenaient au groupe 2 de solutions d'étalonnage. La gamme d'étalonnage était comprise entre 1 et 4 % (v/v) pour le méthanol et entre 0,1 et 1,5 % (v/v) pour le *n*-propanol. L'étalon interne (ÉI) d'acétonitrile (ACN) a été ajouté aux solutions d'étalonnage à une concentration de 5 % (v/v). Les solutions d'étalonnage ont été préparées comme indiqué dans le tableau 2. L'échantillon de CQ a été préparé en diluant 25 µL d'éthanol, 25 µL d'IPA et 50 µL d'acétonitrile dans de l'eau distillée pour un volume final de 1 mL.

L'échantillon de gel hydroalcoolique était trop visqueux pour l'injection directe et a dû être dilué avant injection par le passeur automatique de liquides Agilent 7693A. C'est pour cette raison que les échantillons réels et les mélanges étalons sont préparés avec une dilution au solvant. L'échantillon de 50 µL de gel hydroalcoolique a été versé dans un flacon à l'aide d'une seringue étanche au gaz de 1 mL. Ensuite, 50 µL d'acétonitrile ont été ajoutés comme étalon interne, et l'échantillon a été dilué dans de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 1 mL pour l'analyse ultérieure.

Tableau 1. Paramètres d'analyse d'un GC Agilent 8860/FID avec des étalons d'alcools.

Paramètres du GC Agilent 8860	
Injecteur S/SL	250 °C, rapport de division de 20:1
Volume d'injection	0,2 µL
Gaz vecteur	He
Débit de la colonne	7 mL/min, mode débit constant
Four	50 °C (5 min), 30 °C/min jusqu'à 230 °C (3 min)
FID	250 °C, air : 400 mL/min ; gaz combustible (H_2) : 30 mL/min ; gaz d'appoint N_2) : 18 mL/min
Colonne	Colonne DB-WAX Agilent J&W UI, 30 m, 530 µm, 1 µm (réf. 125-7032UI)
Insert d'injection	Ultra Inert Agilent, à faible perte de charge, avec laine de verre (réf. 5190-2295)

Résultats et discussion

Cette note d'application portait sur l'analyse des principaux alcools et la détection éventuelle d'une contamination au méthanol dans les gels hydroalcooliques. Les cinq types d'alcools suivants ont été inclus dans le mélange étalon : méthanol, éthanol, IPA, *n*-propanol et glycérine. Parmi ces composés, l'éthanol, l'IPA et le *n*-propanol figurent généralement sur l'étiquette puisqu'ils sont étroitement associés à l'efficacité d'élimination des virus. La glycérine et d'autres types d'alcools peuvent être détectés dans les échantillons réels, mais leur concentration n'est pas indiquée par les fabricants. L'inclusion de la glycérine dans le mélange étalon visait à montrer comment le système décrit peut produire un pic acceptable et offrir une détection adéquate des alcools visqueux à élution tardive comme la glycérine.

La séparation de cinq alcools et d'un étalon interne en solution aqueuse avec une concentration variant entre 1,0 et 4 % (v/v) a été effectuée sur la colonne DB-WAX Ultra Inert. L'échantillon était constitué d'un mélange du groupe 1 et du groupe 2 avec des niveaux de concentration intermédiaires, ainsi que de solution étalon de glycérine de travail. Comme illustré dans le chromatogramme (figure 1) et dans le tableau 3, les facteurs de traînée de tous les pics étaient inférieurs à 1,2. Le méthanol et l'IPA ont été élués avant l'éthanol. La résolution du *n*-propanol et de l'éthanol par rapport à l'acétonitrile (ÉI) était de 9 et 12, respectivement. La méthode USP <611> requiert que le facteur de traînée des pics soit inférieur à 2,0 et que la résolution des pics par rapport à l'étalon interne soit supérieure à 4,0. La résolution et la forme des pics obtenues sur le GC 8860, avec un circuit allant de l'injecteur S/SL au FID en passant par la colonne analytique, démontrent l'adéquation du système pour l'analyse des alcools ciblés.

La résolution de l'éthanol et de l'IPA était de 1,31. Ils ne sont donc pas séparés à la ligne de base, mais généralement, cela n'affecte pas la quantification exacte de l'éthanol ou de l'IPA puisqu'ils ne sont habituellement pas présents dans les mêmes gels hydroalcooliques. Même s'ils sont tous deux présents, une résolution de 1,31 est suffisante pour la quantification exacte de l'alcool principal, ce qui peut être démontré par le résultat

Tableau 2. Préparation des mélanges étalon d'alcools.

Niveau n°	Mélanges étalon du groupe 1			Mélanges étalon du groupe 2	
	Éthanol (µL)	IPA (µL)	Solution de travail de glycérine (µL)	Méthanol (µL)	*n*-propanol (µL)
1	40 (4,0 %)	10 (1,0 %)	2 (0,0092 %)	49 (4,9 %)	1 (0,1 %)
2	35 (3,5 %)	15 (1,5 %)	5 (0,023 %)	45 (4,5 %)	5 (0,5 %)
3	30 (3,0 %)	20 (2,0 %)	10 (0,046 %)	40 (4,0 %)	10 (1,0 %)
4	25 (2,5 %)	25 (2,5 %)	20 (0,092 %)	35 (3,5 %)	15 (1,5 %)
5	20 (2,0 %)	30 (3,0 %)	40 (0,184 %)	30 (3,0 %)	S.o.
6	15 (1,5 %)	35 (3,5 %)	S.o.	25 (2,5 %)	
7	10 (1,0 %)	40 (4,0 %)		20 (2,0 %)	
8	S.o.	S.o.		15 (1,5 %)	
9				10 (1,0 %)	

Le volume final de la solution d'étalonnage aux différents niveaux de concentration était de 1 mL. Les concentrations en alcool des différents niveaux correspondent aux valeurs indiquées entre parenthèses.

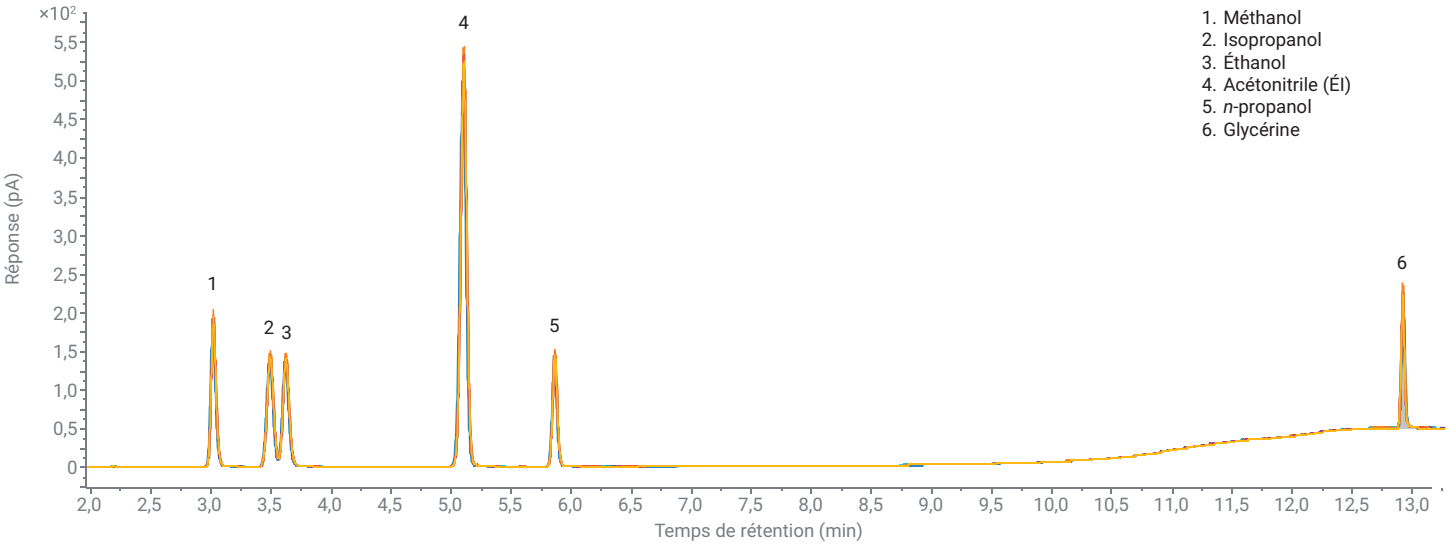


Figure 1. Superposition des chromatogrammes des étalons d'alcools analysés sur un GC Agilent 8860/FID équipé d'une colonne DB-WAX Ultra Inert Agilent.

de l'analyse suivante sur un échantillon de gel hydroalcoolique.

Les courbes d'étalonnage des alcools ont été obtenues à l'aide d'une méthode d'étalonnage interne. Comme illustré dans la figure 2 et le tableau 3, les coefficients de corrélation (R^2) pour les alcools dans la gamme d'étalonnage étaient compris entre 0,997 et 0,999.

La précision de la quantification a été évaluée en réalisant sept injections de mélange d'alcools, chacun d'une concentration de 1 à 2 % (v/v). Les chromatogrammes superposés sont représentés dans la figure 1. La précision de la quantification a été évaluée en fonction de l'écart-type relatif (RSD) du rapport entre la réponse des alcools et celle de l'acétonitrile pour les sept injections. La précision de la quantification présentait un RSD inférieur à 1 %, à l'exception de la glycérine dont le RSD était de 1,7 %. La méthode USP <611> requiert que le RSD ne soit pas supérieur à 4,0 % pour le rapport entre le pic d'alcool et le pic d'étalon interne. Les performances de précision de la plateforme testée dépassaient donc cette exigence de l'USP <611>.

L'analyse des alcools présents dans deux gels et un spray hydroalcooliques de fournisseurs différents a été effectuée. Les chromatogrammes de ces trois produits sont représentés dans la figure 3. Les résultats des tests pour les alcools principaux de chaque échantillon sont indiqués dans les tableaux en encart. Concernant l'échantillon de gel hydroalcoolique 1, l'éthanol, le *n*-propanol et la glycérine ont été identifiés. Les concentrations testées d'éthanol, de *n*-propanol et de glycérine étaient de 61,0 % (v/v), 10,4 % (v/v) et de 0,3 % (v/v). Les concentrations d'éthanol et de *n*-propanol indiquées par le fabriquant sur l'étiquette étaient comprises respectivement entre 54 et 66 % (v/v) et entre 9 et 11 % (v/v). Il y avait une bonne concordance entre les concentrations mesurées et les concentrations nominales pour l'échantillon de gel 1.

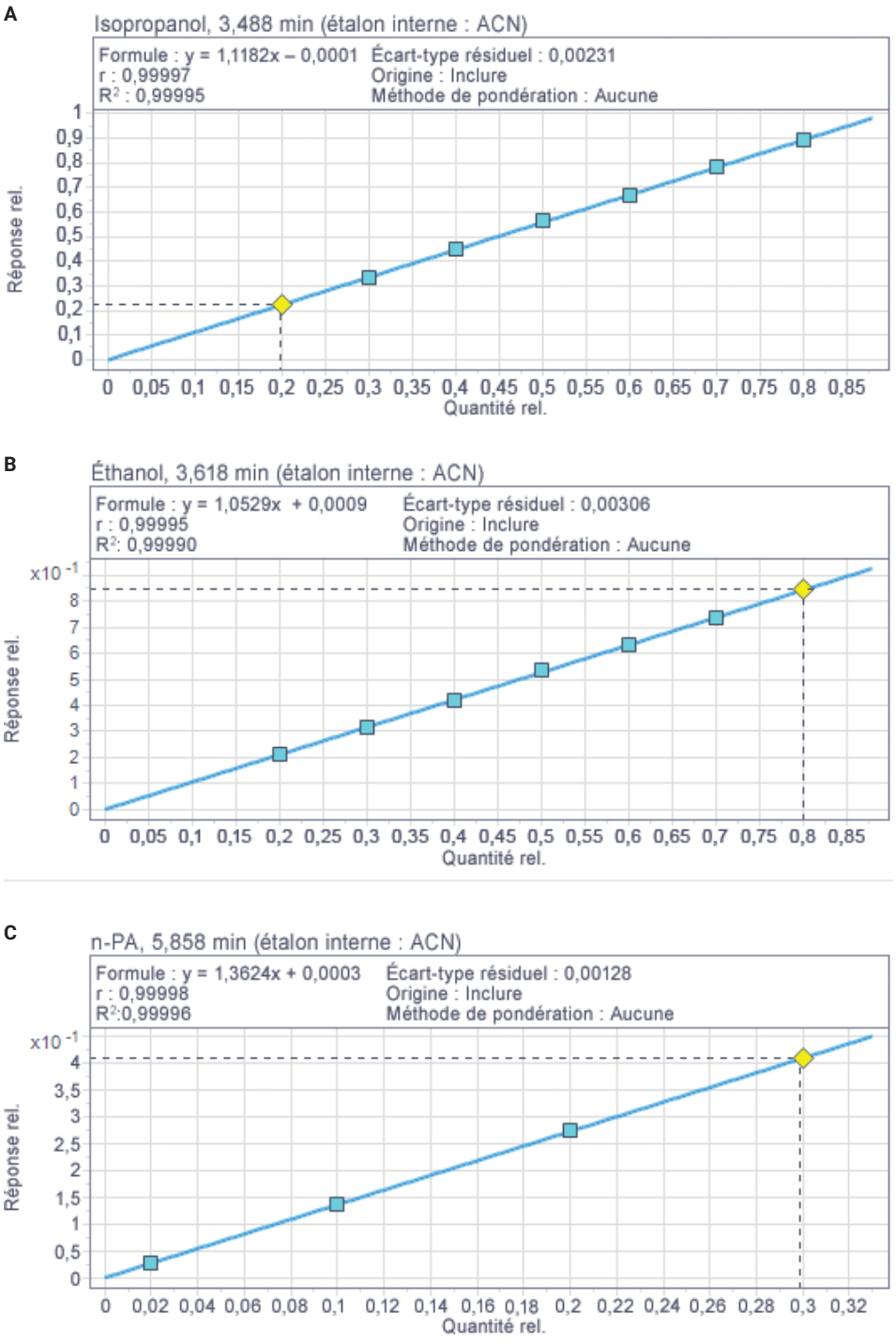
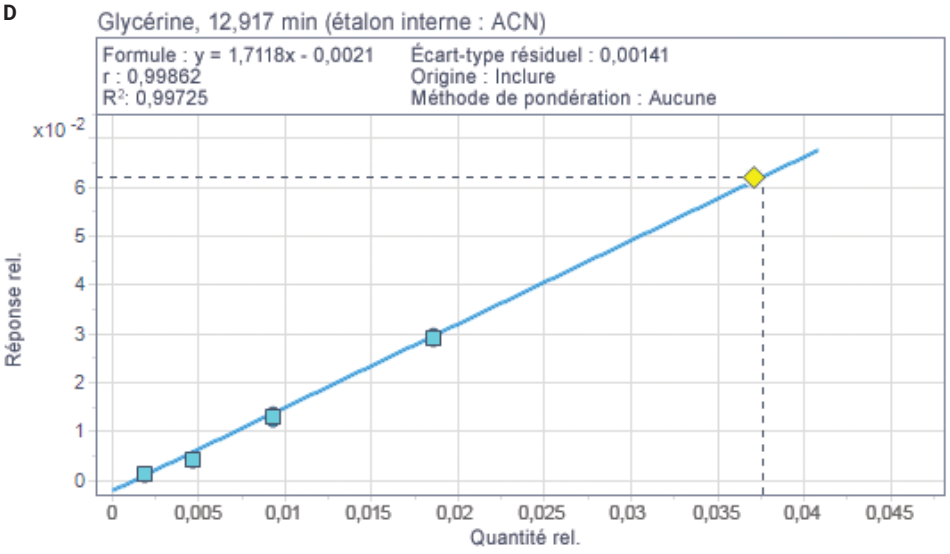


Figure 2A,B,C. Courbes d'étalonnage de l'IPA (A), de l'éthanol (B) et du *n*-propanol (C), avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,999.

D



E

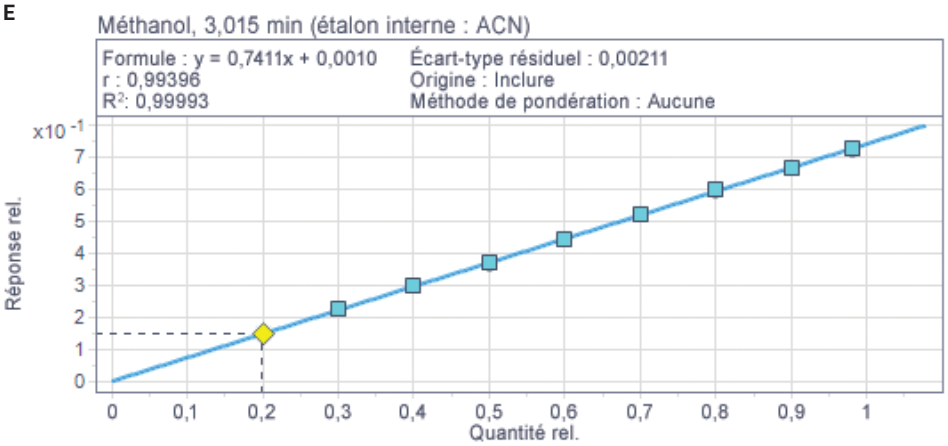


Figure 2D,E. Courbes d'étalonnage de la glycérine (D) et du méthanol (E), avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,995.

Tableau 3. Démonstration de l'adéquation du système pour l'analyse des alcools.

Composé	TR moyen (min)	RSD des TR (%)	Précision de la quantification (%)	Coefficient de corrélation de l'étalonnage	Gamme d'étalonnage (v/v)	Facteur de traînée de pic	Résolution avec l'ÉI
Méthanol	3,015	0,025	0,3	0,9999	1 à 4,9 %	1,2	> 15
IPA	3,488	0,028	0,41	0,9999	1 à 4 %	1,1	> 15
Éthanol	3,618	0,026	0,16	0,9999	1 à 4 %	1,0	15
n-propanol	5,858	0,008	0,29	0,9999	0,1 à 1,5 %	1,1	9
Glycérine	12,917	0,006	1,67	0,9970	0,0092 à 0,184 %	1,0	> 9

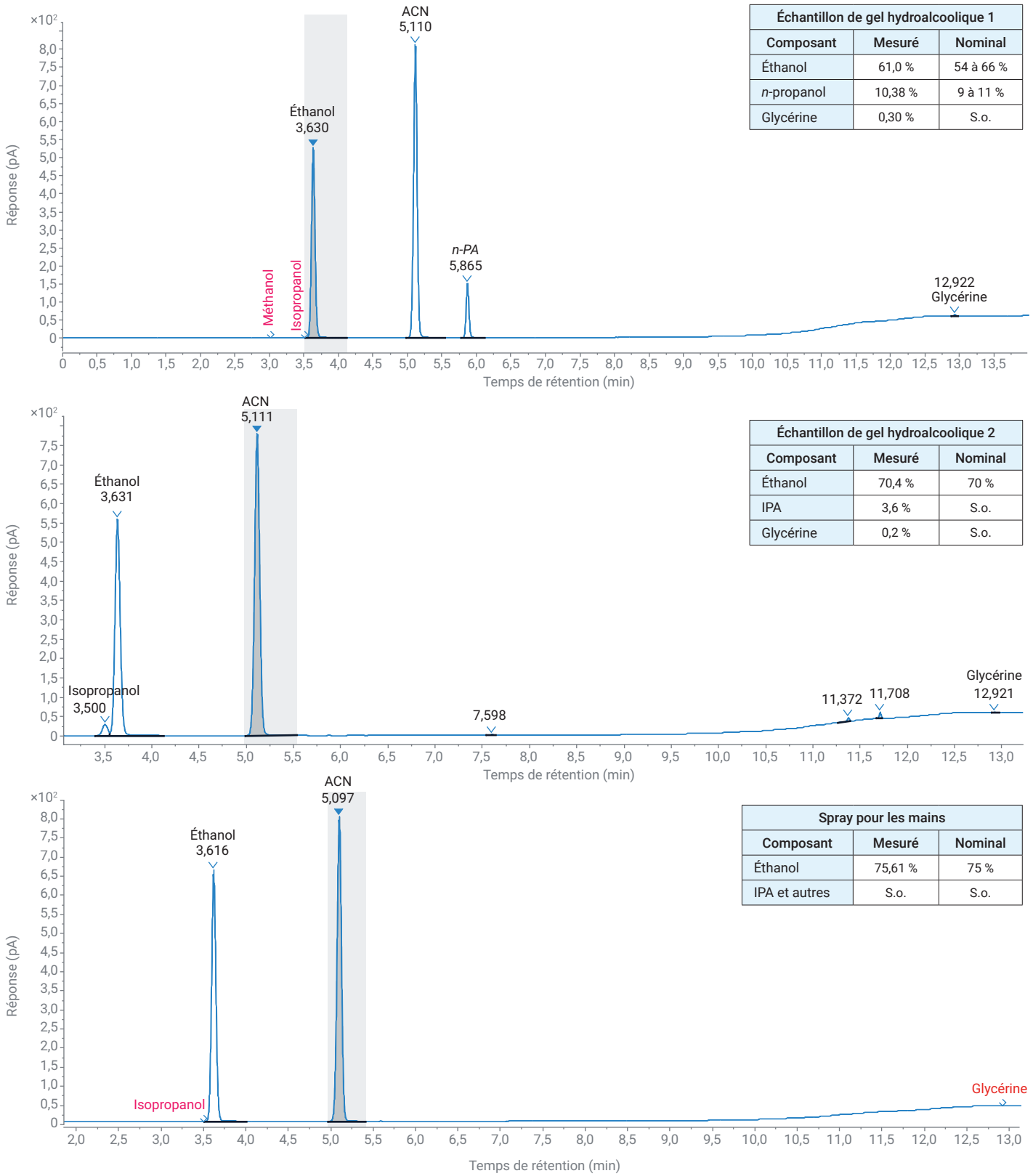


Figure 3. Chromatogrammes et résultats d'identification pour les gels et le spray hydroalcooliques.

Concernant l'échantillon de gel 2, les concentrations mesurées étaient de 70,4 % (v/v) pour l'éthanol, 3,6 % (v/v) pour l'IPA et 0,2 % (v/v) pour la glycérine. La concentration d'éthanol indiquée sur l'étiquette était de 70 % (v/v), correspondant bien aux résultats du test. Pour l'échantillon de gel 2, l'IPA et l'éthanol n'étaient pas séparés à la ligne de base, mais la quantification de l'éthanol s'est tout de même avérée exacte. La concentration d'éthanol dans le spray hydroalcoolique, qui était de 75 % (v/v) sur l'étiquette, a été mesurée à 75,6 %. Le test n'a pas détecté de glycérine dans le spray hydroalcoolique. D'autres pics ont été détectés dans l'échantillon de gel 2, et ils ont été élués à 7,6, 11,4 et 11,7 min. Il est probable que ces composants aient été ajoutés au produit désinfectant par les fabricants en tant qu'agent antimicrobien ou humectant, etc. Leur concentration a été estimée à moins de 1 % (v/v) à l'aide du facteur de réponse relative par rapport à la glycérine. La présence de méthanol n'a été détectée dans aucun des trois échantillons de produits désinfectants pour les mains.

La stabilité du système a été évaluée en exécutant une longue séquence. Un total de 40 injections d'échantillons de gels hydroalcooliques et de cinq échantillons de CQ a été analysé. La séquence a démarré avec l'injection d'un échantillon de CQ, suivie de cinq injections d'échantillon de gel 1 et de cinq injections de gel 2. La séquence comprenait ensuite trois séries d'injections constituées d'une injection de l'échantillon de CQ et de 10 injections d'échantillons réels et se terminait par une cinquième injection de l'échantillon de CQ. La concentration nominale en éthanol et en IPA dans l'échantillon de CQ était de 50,0 % (v/v). Les chromatogrammes superposés des cinq échantillons de CQ sont représentés dans la figure 4. Les résultats pour les TR et la quantification des cinq échantillons de CQ sont indiqués dans le tableau 4. La concentration moyenne mesurée pour l'éthanol et l'IPA était de respectivement 50,2 % (v/v) et 51,2 % (v/v). L'exactitude de la quantification des échantillons de CQ était de 101 % et 102 %. La précision de la quantification pour l'IPA et l'éthanol était de respectivement 0,715 % et 1,11 %. La reproductibilité des TR était de 0,03 % et 0,04 %.

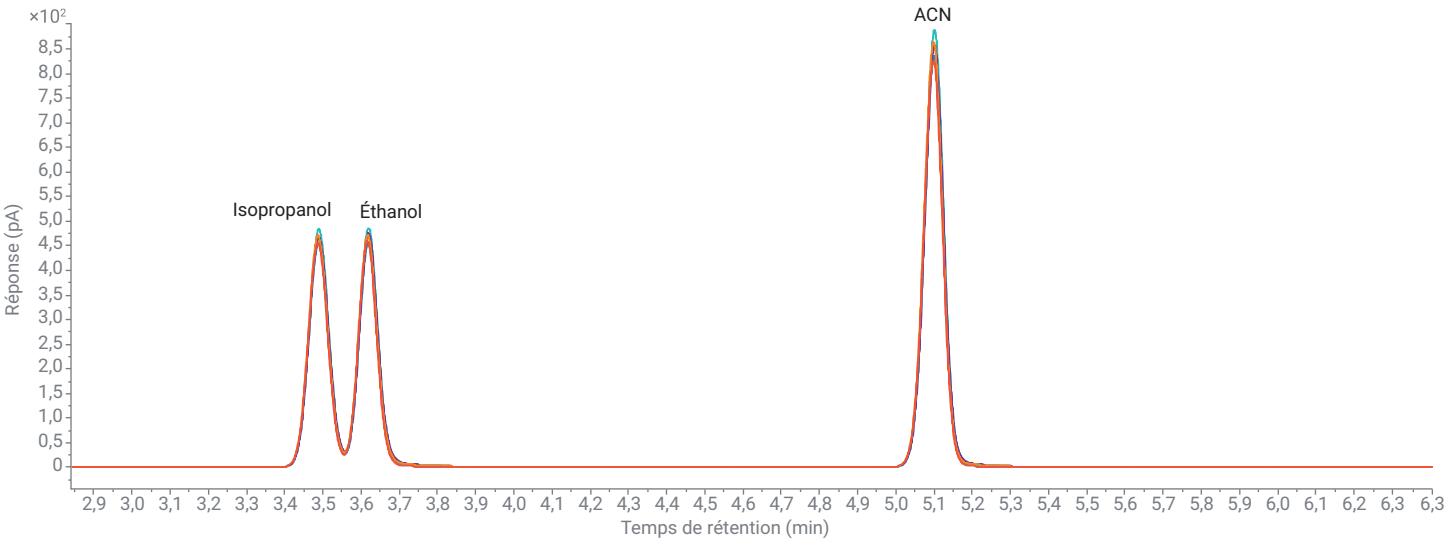


Figure 4. Chromatogrammes superposés de cinq échantillons de CQ.

Tableau 4. Quantification et précision des TR de cinq échantillons de CQ pendant 40 analyses d'échantillons réels.

Quantification (% vol)	CQ1	CQ2	CQ3	CQ4	CQ5	Quan. RSD (%)
IPA	50,363	50,038	49,958	50,045	50,821	0,71 %
Éthanol	50,544	51,061	52,067	51,473	51,051	1,11 %
Temps de rétention (min)	**CQ1**	**CQ2**	**CQ3**	**CQ4**	**CQ5**	**RSD des TR (%)**
IPA	3,487	3,488	3,488	3,486	3,486	0,03 %
Éthanol	3,617	3,618	3,618	3,616	3,615	0,04 %

Les résultats pour les 20 injections d'échantillon de gel 1 et 2 sont résumés dans le tableau 5. La concentration mesurée pour les 40 injections d'échantillons réels de produits désinfectants pour les mains correspondait bien à la gamme de concentration indiquée sur les étiquettes. La précision de la quantification pour l'éthanol et le *n*-propanol dans l'échantillon 1 était de 0,45 % et 0,38 % respectivement, tandis qu'elle était de 0,55 % et 0,31 % pour l'IPA et l'éthanol dans l'échantillon 2. La reproductibilité des TR de l'éthanol, de l'IPA et du *n*-propanol pour les 20 injections était comprise entre 0,02 et 0,04 %. Elle était donc comparable au RSD des TR (0,01–0,03 %) obtenu dans sept injections consécutives et figurant dans le tableau 3. L'exactitude et la précision de la quantification des échantillons de CQ et des échantillons réels démontrent que le système GC 8860/FID, équipé d'une colonne DB-WAX Ultra Inert, permet d'effectuer des analyses fiables et exactes d'alcools.

Tableau 5. Résumé des résultats pour les échantillons de gels hydroalcooliques pendant le test de stabilité.

Gel 1					Gel 2				
Injection n°	TR (min)	Quan. (% vol)	TR (min)	Quan. (% vol)	Injection n°	TR (min)	Quan. (% vol)	TR (min)	Quan. (% vol)
	Éthanol		*n*-propanol			IPA		Éthanol	
2	3,618	61,59	5,858	10,48	7	3,49	3,63	3,62	69,93
3	3,62	61,55	5,856	10,48	8	3,491	3,63	3,621	70,39
4	3,618	61,54	5,858	10,49	9	3,49	3,65	3,619	70,38
5	3,618	61,02	5,857	10,41	10	3,491	3,65	3,623	70,45
6	3,619	61,56	5,856	10,48	11	3,493	3,63	3,623	70,40
13	3,62	61,59	5,856	10,48	18	3,49	3,65	3,621	70,02
14	3,618	61,57	5,856	10,48	19	3,492	3,61	3,622	70,29
15	3,62	61,85	5,858	10,53	20	3,492	3,62	3,623	70,39
16	3,619	61,73	5,857	10,51	21	3,492	3,65	3,622	70,56
17	3,618	61,75	5,856	10,52	22	3,492	3,63	3,622	70,30
24	3,619	61,42	5,856	10,47	29	3,491	3,65	3,622	70,40
25	3,617	61,76	5,855	10,51	30	3,49	3,61	3,621	70,34
26	3,619	61,74	5,857	10,51	31	3,49	3,62	3,62	70,41
27	3,619	61,89	5,856	10,53	32	3,49	3,63	3,62	70,36
28	3,619	61,80	5,856	10,53	33	3,491	3,66	3,622	70,60
35	3,618	61,93	5,856	10,55	40	3,489	3,64	3,619	70,97
36	3,617	62,02	5,855	10,55	41	3,49	3,64	3,62	70,49
37	3,618	62,28	5,857	10,60	42	3,49	3,64	3,62	70,58
38	3,619	62,09	5,857	10,55	43	3,487	3,70	3,617	70,52
39	3,617	62,07	5,856	10,55	44	3,488	3,61	3,619	70,71
Moyenne	3,62	61,74	5,86	10,51		3,49	3,64	3,62	70,42
RSD (%)	0,03 %	0,45 %	0,02 %	0,38 %		0,04 %	0,55 %	0,04 %	0,31 %

Conclusion

Dans cette étude, un GC Agilent 8860 équipé d'un FID et d'une colonne DB-WAX Ultra Inert a été utilisé pour l'analyse des alcools dans des produits désinfectants pour les mains. Le circuit analytique inerte, auquel contribuaient l'insert d'injection Ultra Inert et la colonne Ultra Inert, a permis d'obtenir des pics fins et symétriques pour les alcools ciblés, avec un facteur de traînée des pics inférieur à 1,2. La résolution entre les alcools et l'étalon interne a dépassé les exigences de la méthode USP <611>. La précision moyenne de la quantification des alcools volatils présentait un RSD inférieur à 1 %. Les performances de l'étalonnage pour les cinq alcools étaient excellentes, avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,995. L'analyse de gels et de spray hydroalcooliques du commerce a produit des résultats quantitatifs exacts. Les performances du système ont démontré que le GC 8860/FID équipé d'une colonne Ultra Inert est adapté à l'analyse des alcools dans les produits désinfectants pour les mains.

Références

1. USP <611> Alcohol Determination, Monograph US Pharmacopeia, **2020**.
2. ASTM D3695-95(2013), Standard Test Method for Volatile Alcohols in Water by Direct Aqueous-Injection Gas Chromatography, ASTM International, West Conshohocken, PA, **2013**.
3. Abercrombie, V. *et al.* Analysis of Ethanol and Isopropyl Alcohol in Alcohol-Based Hand Sanitizers by Direct Injection GC/FID, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-1923EN.

www.agilent.com/chem

DE.5224768519

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2020

Imprimé aux États-Unis, le 29 juin 2020
5994-2089FR

Agilent
Trusted Answers