Рекомендации
по применению

Agilent
Trusted Answers

Анализ антисептика для рук с помощью ГХ Agilent 8860 с пламенно-ионизационным детектором

Автор

Цзе Чжан (Jie Zhang)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Данные рекомендации по применению описывают анализ антисептика для рук на основе этанола и изопропанола. Для оптимизации хроматографического разрешения и формы пиков использовалась колонка Agilent J&W DB-WAX. Система была оборудована пламенно-ионизационным детектором. Для количественного анализа в соответствии с рекомендациями методики <611> Фармакопеи США использовался внутренний стандарт. В работе продемонстрирована возможность выполнения анализа с точки зрения симметрии пиков, эффективности разделения спиртов и внутреннего стандарта и воспроизводимости количественного анализа.

Введение

Основными компонентами антисептика для рук являются этанол и изопропанол. Чтобы не потерять эффективность, их концентрация должна быть в соответствующем диапазоне, как правило, 65–75%, как указано на упаковке антисептика. Так как антисептик может содержать и другие спирты, например в качестве примесей, или добавки, применяющиеся для изготовления фальсификата, при анализе важно иметь возможность подтвердить уровень концентрации нужного спирта. Газовая хроматография (ГХ) — это один из методов, которые рекомендует Фармакопея США для определения концентрации спиртов. ГХ дает информацию о времени удерживания, которая позволяет подтвердить тип спирта и убедиться в том, что антисептик не загрязнен. Благодаря совмещению качественного и количественного анализа газовая хроматография остается одним из главных методов контроля качества антисептика для рук.

Методики определения спиртов, такие как методика <611> Фармакопеи США [1] или методика ASTM D3695 [2], рекомендуют использование среднеполярных и полярных колонок, которые обеспечивают хорошее разделение и отклик спиртов. Как было показано в предыдущей работе [3], колонки Agilent J&W DB-Wax и Agilent DB-624 Ultra Inert обеспечивают узкие симметричные пики спиртов. ПИД рекомендуется для определения спиртов, так как он прост в эксплуатации и дает стабильный, достаточно интенсивный отклик в изученном диапазоне концентраций после разбавления спирта в ходе пробоподготовки. В данной работе для определения спиртов применялась колонка Agilent J&W DB-Wax Ultra Inert и ГХ Agilent 8860 с ПИД. В работе оценивались воспроизводимость времен удерживания, разделение и симметрия пиков, а также точность количественного анализа. С помощью этих параметров была продемонстрирована возможность определения спиртов в антисептике для рук на ГХ Agilent 8860 с ПИД и колонкой Agilent Ultra Inert.

Экспериментальная часть

Газовый хроматограф Agilent 8860 с испарителем с делением и без деления потока и с пламенно-ионизационным детектором. Для ввода жидких проб использовался автосамплер Agilent 7693A со шприцем объемом 5 мкл. Аналитические параметры приведены в табл. 1.

Химические вещества и стандарты

Спирты (растворители) и ацетонитрил (внутренний стандарт) были приобретены в компании ANPEL Scientific Instrument (Шанхай). Для приготовления рабочего раствора глицерина 58,4 мг глицерина (приблизительно 50 мкл) разбавлялось дистиллированной водой до 1 мл. Расчетная объемная концентрация рабочего раствора глицерина составляла 4,6% (об/об.). Калибровочные стандарты спиртов готовились разбавлением чистых спиртов или их рабочих растворов дистиллированной водой до объема 1 мл. В первой группе калибровочных растворов были этанол, изопропанол и глицерин. Диапазон калибровки для этанола и изопропанола составлял от 1 до 4% (об/об.). Концентрация глицерина изменялась от 0,01 до 0,18% (об/об.). Во второй группе калибровочных растворов были метанол и *н*-пропанол. Диапазон калибровки для метанола составлял от 1 до 4% (об/об.), для *н*-пропанола — от 0,1 до 1,5% (об/об.). В калибровочные растворы добавлялся внутренний стандарт (ацетонитрил) в концентрации 5% (об/об.). Концентрации калибровочных растворов приведены в табл. 2. Проба для контроля качества готовилась разбавлением 25 мкл этанола, 25 мкл изопропанола и 50 мкл ацетонитрила до 1 мл дистиллированной водой.

Проба антисептического геля для рук оказалась слишком вязкой для того, чтобы вводить ее напрямую. Поэтому перед вводом с помощью автосамплера Agilent 7693A ее приходилось разбавлять. Именно поэтому реальные пробы и калибровочные стандарты готовились путем разбавления растворителем. 50 мкл антисептика отмерялись в колбу с помощью шприца объемом 1 мл. После этого к ним добавлялось 50 мкл ацетонитрила в качестве внутреннего стандарта и проба разбавлялась для анализа дистиллированной водой до 1 мл.

Таблица 1. Параметры системы ГХ Agilent 8860 с ПИД для анализа стандартов спиртов.

Параметры ГХ Agilent 8860	
Испаритель с делением и без деления потока	250 °C, коэффициент разделения потока 20:1
Объем ввода	0,2 мкл
Газ-носитель	Гелий
Расход газа через колонку	Постоянный, 7 мл/мин
Термостат	50 °C (5 мин), 30 °C/мин до 230 °C (3 мин)
ПИД	250 °C, воздух: 400 мл/мин; горючий газ (H_2): 30 мл/мин; подпиточный газ (N_2): 18 мл/мин
Колонка	Agilent J&W DB-WAX UI, 30 м, 530 мкм, 1 мкм (кат. № 125-7032UI)
Лайнер испарителя	Agilent Ultra Inert, с малым перепадом давления, набитый стекловатой (кат. № 5190-2295)

Результаты и их обсуждение

Эти рекомендации по применению посвящены по большей части определению основных спиртовых компонентов и возможной примеси метанола в антисептиках для рук. В калибровочные стандарты были включены пять различных спиртов: метанол, этанол, изопропанол, *н*-пропанол и глицерин. Из этих спиртов на упаковке антисептика обычно указывается концентрация этанола, изопропанола и *н*-пропанола, так как они прямо связаны с эффективностью антисептика в отношении вирусов. Глицерин и другие спирты обнаруживались в пробах реальных антисептиков, хотя производитель и не указывал для них определенной концентрации. Глицерин был включен в калибровочный стандарт с целью показать, что описываемая система демонстрирует хорошую форму пиков и достаточно хорошо определяет даже поздно выходящие и вязкие спирты, такие как глицерин.

Разделение пяти спиртов и одного внутреннего стандарта с концентрациями в диапазоне от 1 до 4% (об/об.) в водном растворе выполнялось на колонке Agilent DB-Wax Ultra Inert. Эта проба представляла собой смесь первого и второго калибровочных стандартов средней концентрации с рабочим стандартом глицерина. Как показано на хроматограмме (рис. 1) и в табл. 3, коэффициент асимметрии всех пиков не превышал 1,2. Метанол и изопропанол выходили раньше этанола. Разделение пиков *н*-пропанола и ацетонитрила (внутренний стандарт) составляло 9, а этанола и ацетонитрила — 12. Методика <611> Фармакопеи США требует, чтобы коэффициент асимметрии пиков спиртов не превышал 2,0, а разделение пиков спирта и внутреннего стандарта было более 4,0. Разрешение и форма пиков на ГХ Agilent 8860 с хроматографическим трактом, состоявшим из испарителя с делением потока или без него, аналитической колонки и ПИД, подтвердили, что эта система подходит для целевого определения спиртов.

Разделение пиков этанола и изопропанола составляло 1,31. Это не разделение до базовой линии, но учитывая то, что большинство антисептиков содержат либо этанол, либо изопропанол, это обычно не влияет на точность количественного анализа. Даже если они встречаются одновременно, разделения 1,31 достаточно для того, чтобы добиться точного количественного анализа основного спирта, что видно из приведенных ниже результатов анализа образца антисептического геля для рук.

Таблица 2. Подготовка калибровочных стандартов спиртов.

Уровень	Калибровочные стандарты группы 1			Калибровочные стандарты группы 2	
	Этанол (мкл)	Изопропанол (мкл)	Рабочий раствор глицерина (мкл)	Метанол (мкл)	*н*-Пропанол (мкл)
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%)	Не задано
6	15 (1,5%)	35 (3,5%)	Не задано	25 (2,5%)	
7	10 (1,0%)	40 (4,0%)		20 (2,0%)	
8	Не задано	Не задано		15 (1,5%)	
9				10 (1,0%)	

Окончательный объем калибровочного раствора для каждого уровня — 1 мл. Концентрация спиртов на каждом уровне приведена в скобках.

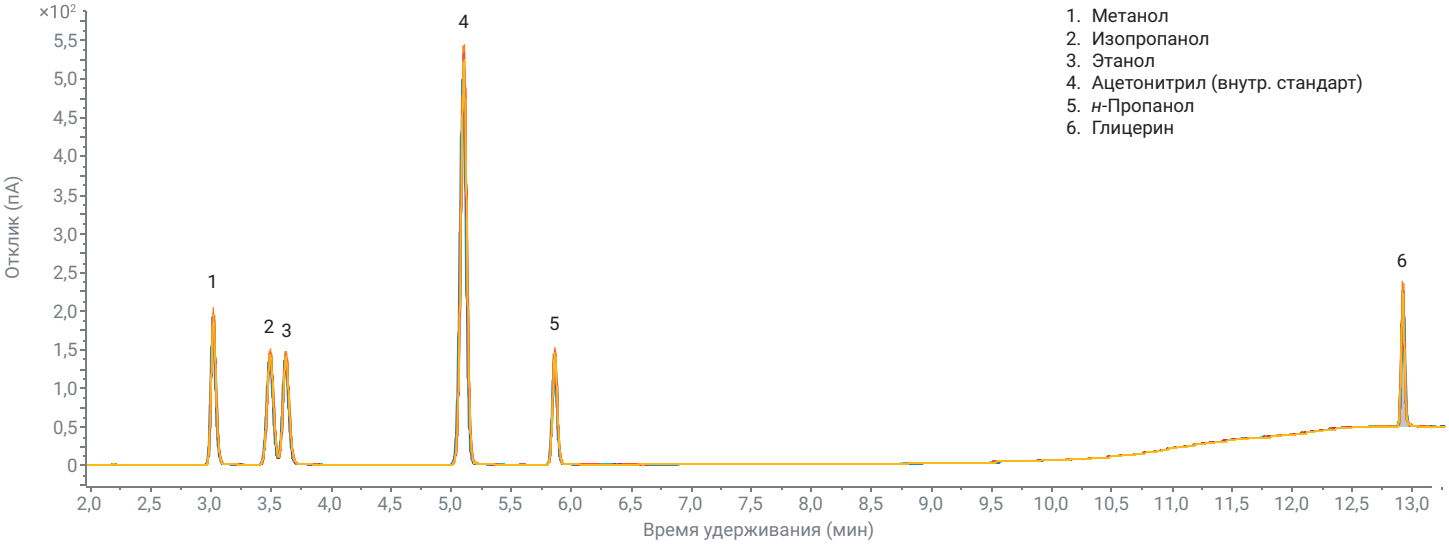
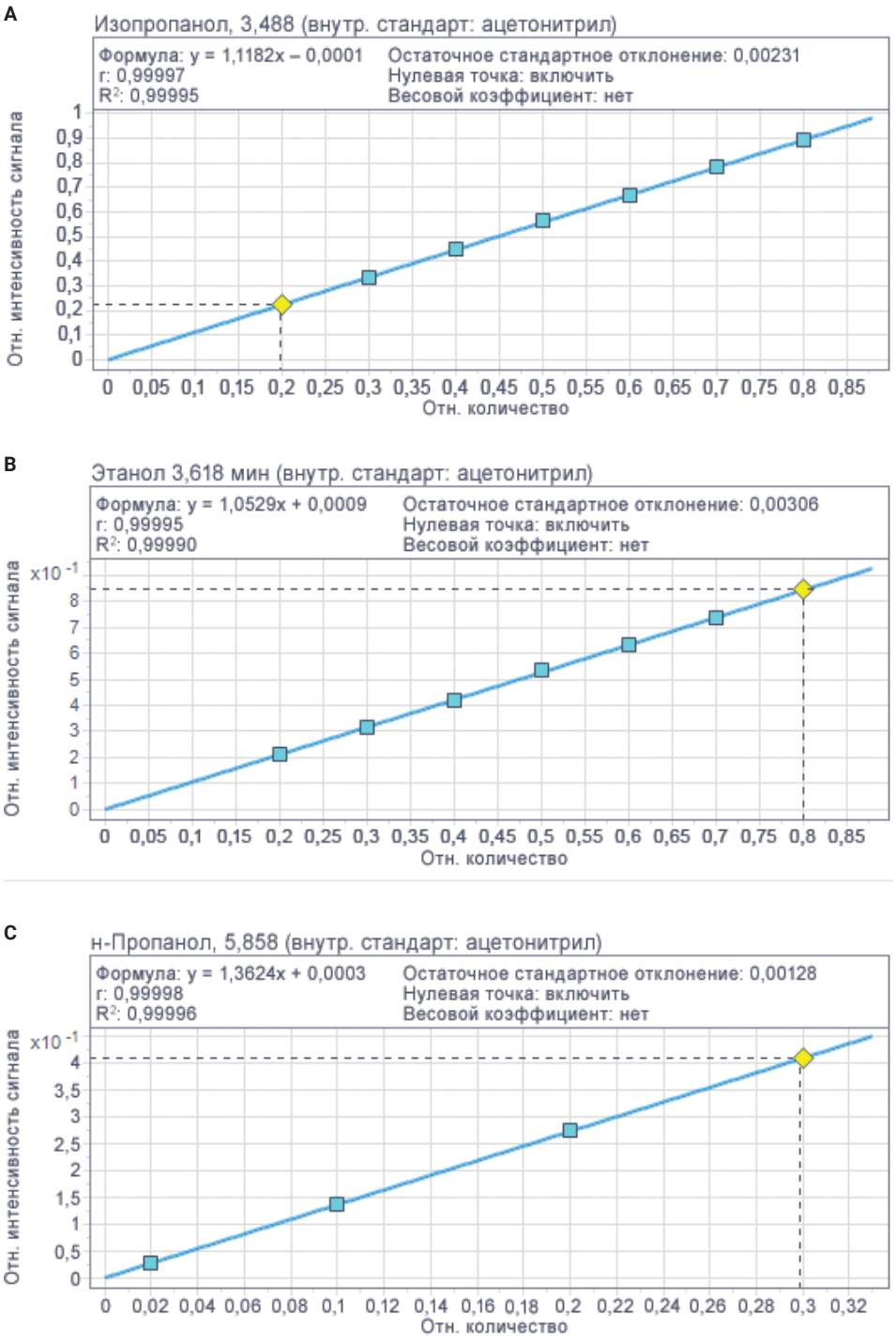


Рисунок 1. Наложенные друг на друга хроматограммы стандартов спиртов, проанализированные на ГХ Agilent 8860 с ПИД и колонкой Agilent DB-Wax Ultra Inert.

Калибровочные кривые для спиртов строились с использованием метода внутреннего стандарта. Как показано на рис. 2 и в табл. 3, коэффициенты корреляции R^2 для всех спиртов во всем диапазоне калибровки были от 0,997 до 0,999.

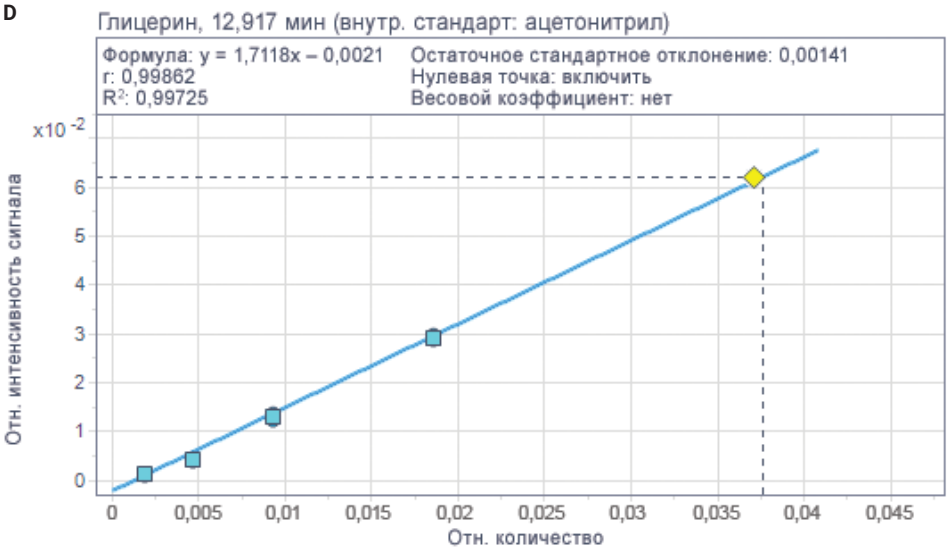
Точность количественного анализа оценивалась по результатам семи анализов смеси спиртов, в которой концентрация каждого из спиртов лежала в диапазоне от 1 до 2% (об/об.). Полученные совмещенные хроматограммы показаны на рис. 1. Точность количественного анализа оценивалась по относительному стандартному отклонению (ОСО) отношения интенсивности сигнала спирта к интенсивности сигнала ацетонитрила для семи анализов. В большинстве случаев разброс не превышал 1%, за исключением глицерина, для которого разброс ОСО был равен 1,7%. Методика <611> Фармакопеи США требует, чтобы ОСО отношения пика спирта к пику внутреннего стандарта не превышало 4,0%. Точность анализов на данной платформе ГХ превосходила требования методики <611> Фармакопеи США.

В работе было проведено определение спирта в двух антисептических гелях и в одном антисептическом аэрозоле для рук от разных производителей. Хроматограммы всех трех продуктов показаны на рис. 3. Результаты количественного определения основных спиртов в каждой из проб показаны в таблицах во врезках. В антисептическом геле 1 были найдены этанол, *н*-пропанол и глицерин. Определенные концентрации этанола, *н*-пропанола и глицерина составляли, соответственно, 61,0% (об/об.), 10,4% (об/об.) и 0,3% (об/об.). Указанные производителем концентрации этанола и *н*-пропанола составляли 54–66% (об/об.) и 9–11% (об/об.). Измеренные и указанные производителем концентрации для геля 1 хорошо совпадали друг с другом.

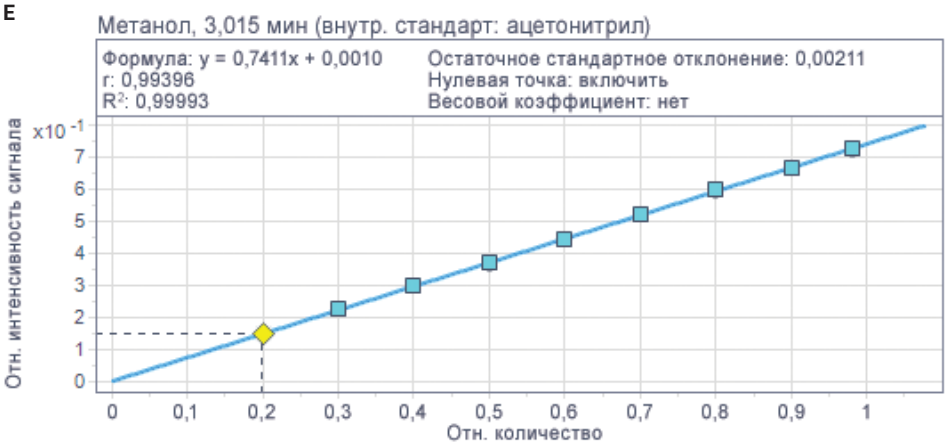


Рисунки 2A, B, C. Калибровочные кривые изопропанола (A), этанола (B) и *н*-пропанола (C) с коэффициентами корреляции выше 0,999.

D



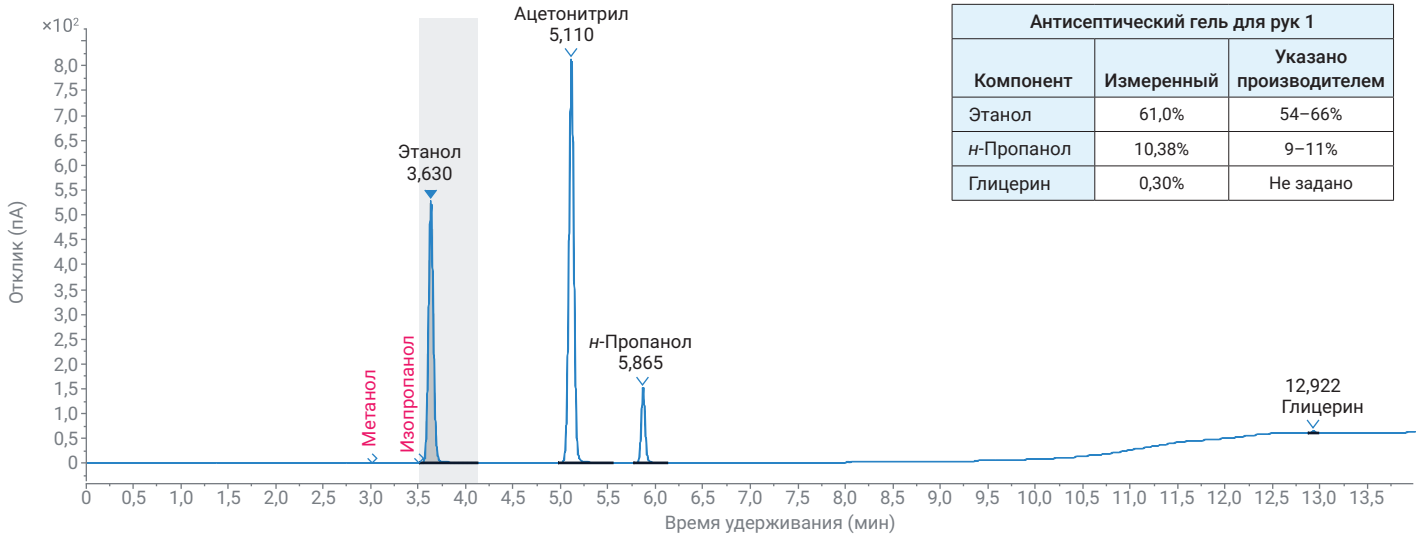
E



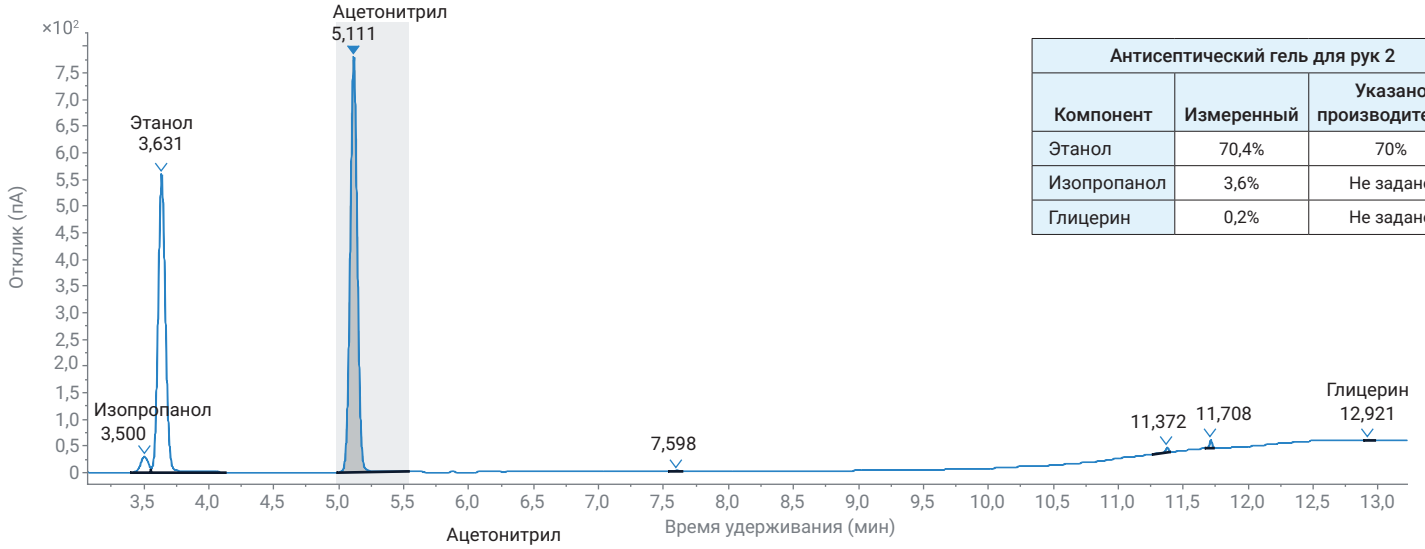
Рисунки 2D, E. Калибровочные кривые глицерина (D) и метанола (E) с коэффициентами корреляции выше 0,995.

Таблица 3. Демонстрация возможности выполнения анализа на системе для определения спиртов.

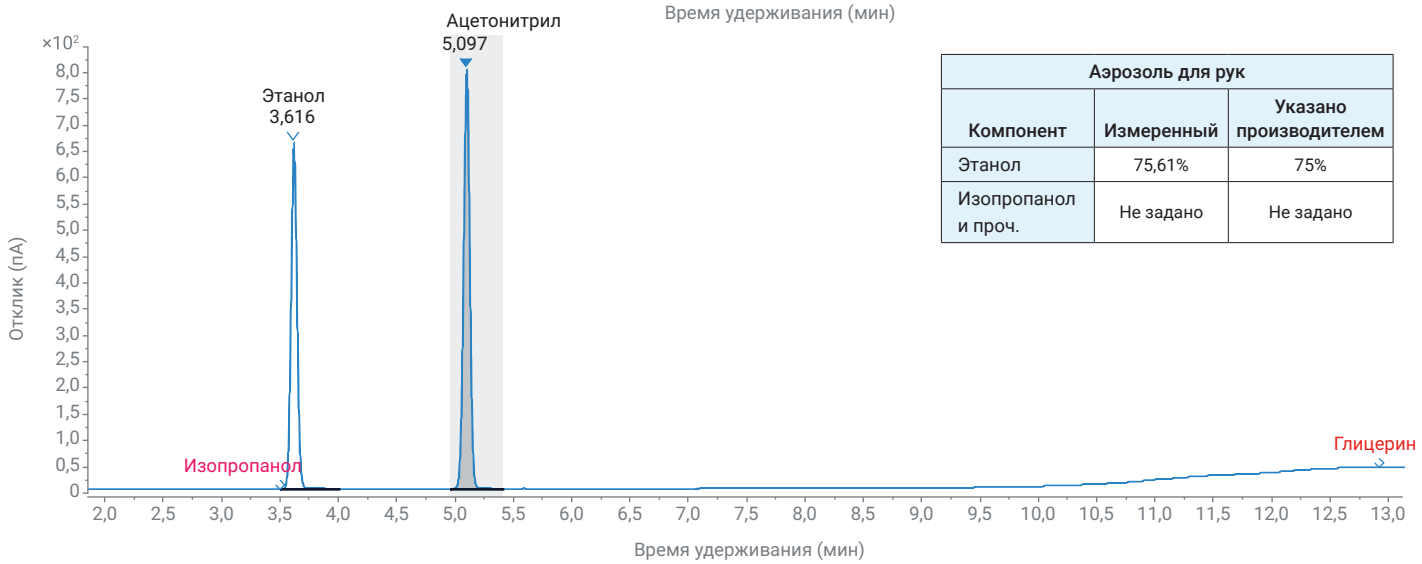
Соединение	Среднее ВУ (мин)	ОСО ВУ (%)	Разброс колич. анализа (%)	Коэффициент корреляции калибровки	Диапазон калибровки (об/об.)	Коэффициент асимметрии пика	Разделение с пиком внутр. стандарта
Метанол	3,015	0,025	0,3	0,9999	1–4,9%	1,2	> 15
Изопропанол	3,488	0,028	0,41	0,9999	1–4%	1,1	> 15
Этанол	3,618	0,026	0,16	0,9999	1–4%	1,0	15
н-Пропанол	5,858	0,008	0,29	0,9999	0,1–1,5%	1,1	9
Глицерин	12,917	0,006	1,67	0,9970	0,0092–0,184%	1,0	> 9



Антисептический гель для рук 1		
Компонент	**Измеренный**	**Указано производителем**
Этанол	61,0%	54–66%
н-Пропанол	10,38%	9–11%
Глицерин	0,30%	Не задано



Антисептический гель для рук 2		
Компонент	**Измеренный**	**Указано производителем**
Этанол	70,4%	70%
Изопропанол	3,6%	Не задано
Глицерин	0,2%	Не задано



Аэрозоль для рук		
Компонент	**Измеренный**	**Указано производителем**
Этанол	75,61%	75%
Изопропанол и проч.	Не задано	Не задано

Рисунок 3. Хроматограммы и результаты количественного анализа антисептических гелей и аэрозоля для рук.

В геле 2 были найдены 70,4% (об/об.) этанола, 3,6% (об/об.) изопропанола и 0,2% (об/об.) глицерина. На упаковке была указана концентрация этанола 70% (об/об.) еще одно хорошее совпадение с результатами анализа. В геле 2 изопропанол и этанол не были разделены до базовой линии, однако это не помешало точно определить концентрацию этанола. Указанная концентрация этанола в спиртовом аэрозоле составляла 75% (об/об.), определенная — 75,6% (об/об.). В аэрозоле глицерина найдено не было. В антисептическом геле 2 были найдены другие пики с временами удерживания 7,6, 11,4 и 11,7 мин. Скорее всего, этими компонентами были добавленные производителем консерванты, влагоудерживающие добавки и т. д. Их концентрация, определенная с использованием относительного коэффициента чувствительности детектора к глицерину, была менее 1% (об/об.). Ни в одном из трех антисептиков для рук метанол найден не был.

Для проверки стабильности системы была выполнена длинная серия анализов. Всего в эту серию входили 40 анализов антисептических гелей и пять проб контроля качества. Серия начиналась с пробы контроля качества, за которой следовали пять анализов антисептического геля 1 и пять анализов геля 2. Затем последовательность из одной пробы контроля качества и десяти реальных проб повторялась еще три раза, после чего серия завершалась пятым анализом пробы контроля качества. Номинальная концентрация этанола и изопропанола в пробе контроля качества составляла 50% (об/об.). Совмещенные хроматограммы пяти проб контроля качества показаны на рис. 4. Времена удерживания и результаты количественного анализа пяти проб контроля качества приведены в табл. 4. Средние измеренные концентрации этанола и изопропанола составляли 50,2% (об/об.) и 51,2% (об./об.) соответственно. Точность количественного анализа проб контроля качества составляла 101% и 102%. Разброс результатов количественного анализа изопропанола и этанола составлял, соответственно, 0,715% и 1,11%. Повторяемость времен удерживания составляла 0,03% и 0,04%.

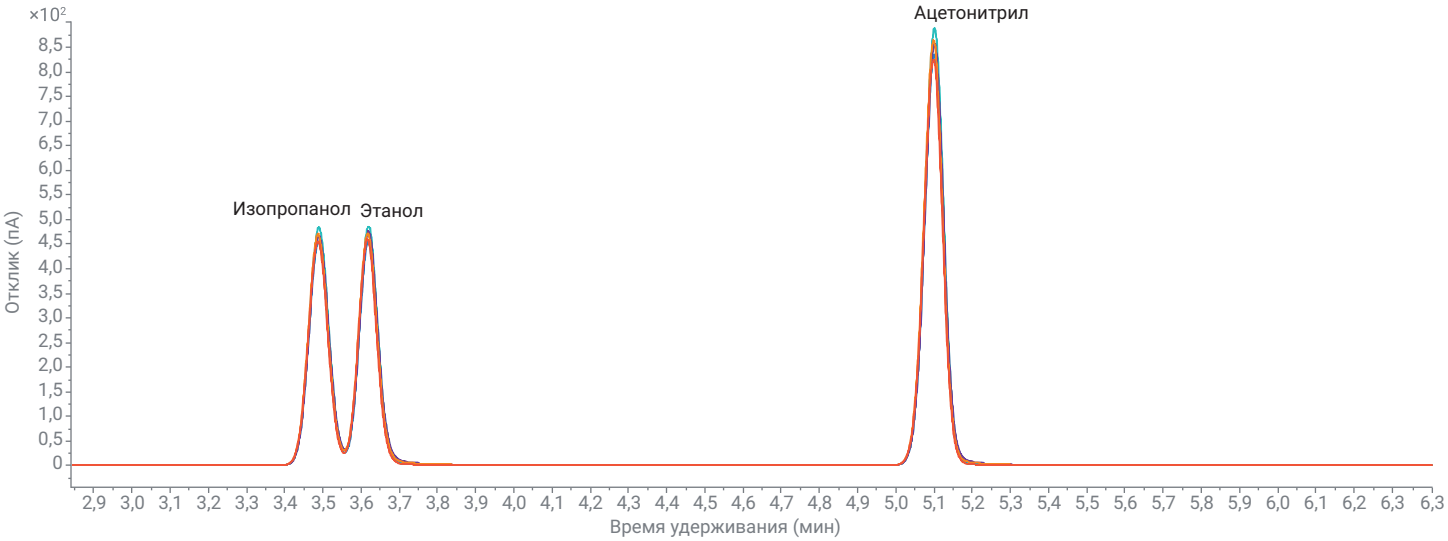


Рисунок 4. Совмещенные хроматограммы пяти проб контроля качества.

Таблица 4. Разброс результатов количественного анализа и ВУ пяти проб контроля качества в ходе серии из 40 анализов реальных проб.

Результаты количественного анализа (об. %)	**КК1**	**КК2**	**КК3**	**КК4**	**КК5**	**Кол-во ОСО**
Изопропанол	50,363	50,038	49,958	50,045	50,821	0,71%
Этанол	50,544	51,061	52,067	51,473	51,051	1,11%
Время удерживания (мин)	**КК1**	**КК2**	**КК3**	**КК4**	**КК5**	**ОСО ВУ (%)**
Изопропанол	3,487	3,488	3,488	3,486	3,486	0,03%
Этанол	3,617	3,618	3,618	3,616	3,615	0,04%

Сводная информация по результатам 20 анализов антисептических гелей 1 и 2 приведена в табл. 5. Измеренная концентрация для 40 анализов реальных образцов антисептика для рук хорошо совпадала с указанным на упаковке диапазоном концентраций. Разброс результатов количественного анализа этанола и *н*-пропанола в пробе 1 составлял 0,45% и 0,38% соответственно, а изопропанола и этанола в пробе 2 — 0,55% и 0,31%. Воспроизводимость времен удерживания для этанола, изопропанола и *н*-пропанола на протяжении 20 анализов колебалась от 0,02 до 0,04%, что сравнимо с ОСО для ВУ от 0,01 до 0,03%, полученным по результатам семи последовательных анализов, как показано в табл. 3. Точность и разброс результатов количественного анализа проб контроля качества и реальных продуктов продемонстрировали, что система ГХ Agilent 8860 с ПИД и колонкой Agilent Ultra Inert DB-WAX обеспечивает надежное и точное определение спиртов.

Таблица 5. Сводная информация о результатах анализа проб антисептического геля в ходе исследования стабильности.

Гель 1					Гель 2				
Номер анализа	ВУ (мин)	Кол-во (об.%)	ВУ (мин)	Кол-во (об.%)	Номер анализа	ВУ (мин)	Кол-во (об.%)	ВУ (мин)	Кол-во (об.%)
	Этанол		н-Пропанол			Изопропанол		Этанол	
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
Средн.	3,62	61,74	5,86	10,51		3,49	3,64	3,62	70,42
ОСО	0,03%	0,45%	0,02%	0,38%		0,04%	0,55%	0,04%	0,31%

Выводы

В данной работе система ГХ Agilent 8860 с ПИД и колонкой Agilent Ultra Inert DB-WAX использовалась для определения спиртов в антисептиках для рук. Инертный хроматографический тракт, в который входили также лайнер и колонка Ultra Inert, помогли добиться узких и симметричных пиков определяемых спиртов с коэффициентом асимметрии, не превышающим 1,2. Разделение пиков спиртов и пика внутреннего стандарта превосходило требования методики <611> Фармакопеи США. Средний разброс результатов количественного анализа летучих спиртов был ниже 1%. Все пять спиртов продемонстрировали отличные калибровочные характеристики. Для всех них линейный коэффициент корреляции был не хуже 0,995. Анализ реальных антисептических гелей и антисептического аэрозоля для рук продемонстрировал высокую точность количественного анализа. Эффективность системы ГХ Agilent 8860 с ПИД и колонкой Ultra Inert показывает, что эта система отлично подходит для определения спиртов в антисептиках для рук.

Литература

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, *рекомендации по применению Agilent Technologies*, номер публикации 5994-1923EN.

www.agilent.com/chem

DE.5224768519

Информация в этом документе может быть изменена без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2020

Напечатано в США 29 июня 2020 г.
5994-2089RU

Agilent
Trusted Answers