

使用配备火焰离子化检测器的 Agilent 8860 GC 进行手部消毒液分析

作者

Jie Zhang
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了对乙醇和异丙醇类手部消毒液的分析。使用 Agilent J&W DB-WAX 色谱柱优化色谱分离度和峰形。采用火焰离子化检测器 (FID) 进行检测。根据美国药典 (USP) <611> 方法的建议，使用内标 (IS) 进行定量。从峰拖尾因子、乙醇与内标的分离度和定量重现性几个方面考察了仪器的适用性。

前言

乙醇和异丙醇 (IPA) 是手部消毒液中的主要活性成分。为了保持有效性，乙醇或异丙醇 (IPA) 的浓度应保持在适当范围内，通常为手部消毒液包装上所标示的浓度，即 65%–75%。由于手部消毒液产品中可能存在其他醇类杂质或一些用于生产假冒产品的不当添加物，因此测定所需醇类处于适当浓度范围内非常重要。气相色谱 (GC) 是 USP 建议的用于测定乙醇浓度的技术之一。GC 还可以提供用于鉴定醇类型的保留时间信息，确保手部消毒液不含污染物。凭借其定性和定量分析功能，气相色谱将继续在手部消毒液的质量控制中发挥关键作用。

乙醇测定方法（例如 USP <611>^[1] 和 ASTM D3695^[2]）推荐使用中等极性或极性色谱柱，以实现醇类组分的良好分离和响应。根据我们之前的研究^[3]，Agilent J&W DB-Wax 或 Agilent DB-624 超高惰性色谱柱可为醇类分析提供更尖锐、更对称的峰形。建议使用 FID 进行醇类检测，因为它易于使用，并且在样品前处理过程中将醇类稀释后，仍可以在检测浓度范围内产生稳定且足够高的响应。本研究在配备 FID 的 Agilent 8860 GC 上使用 DB-WAX 超高

惰性色谱柱进行醇类分析。评估了保留时间重现性、峰分离度、峰拖尾因子和定量精度等系统性能。目的在于证明 8860 GC/FID 系统配合安捷伦超高惰性色谱柱对于手部消毒液醇类分析的适用性。

实验部分

Agilent 8860 GC 配备了分流/不分流进样口和 FID 检测器。采用配备 5 µL 进样针的 Agilent 7693A 自动液体进样器 (ALS) 进行液体进样。分析参数见表 1。

试剂与标准品

醇类溶剂和乙腈 (IS) 均购自上海安谱科学仪器有限公司。称取 58.4 mg (约 50 µL) 甘油并用蒸馏水稀释至 1 mL，制得甘油工作溶液。甘油工作溶液的体积浓度经计算为 4.6% (v/v)。将醇类纯样品或其工作溶液加入蒸馏水中，使最终体积为

1 mL，从而制得醇类校准标样。乙醇、IPA 和甘油归为第 1 组校准溶液。乙醇和 IPA 的校准范围为 1%–4% (v/v)。甘油的浓度范围为 0.01%–0.18% (v/v)。制得的甲醇和正丙醇 (n-PA) 归为第 2 组校准溶液。甲醇的校准范围为 1%–4% (v/v)，正丙醇为 0.1%–1.5% (v/v)。将内标 (IS) 乙腈 (ACN) 以 5% (v/v) 的浓度加入校准溶液中。制得的校准溶液如表 2 所示。用蒸馏水将 25 µL 乙醇、25 µL IPA 和 50 µL 乙腈稀释至 1 mL，制得 QC 样品。

由于手部消毒液凝胶样品黏度过高，无法直接进行液体进样，在使用 7693A 自动液体进样器进样前必须稀释。因此实际样品和校准标准液均采用溶剂稀释制得。使用 1 mL 气密进样针将 50 µL 手部消毒液样品加入烧瓶中。然后加入 50 µL 乙腈作为内标，用蒸馏水将样品稀释至 1 mL，用于后续分析。

表 1. Agilent 8860 GC-FID 分析醇类标准品的分析参数

Agilent 8860 气相色谱参数	
分流/不分流进样口	250 ，分流比 20:1
进样量	0.2 µL
载气	He
色谱柱流速	7 mL/min，恒流模式
柱温箱	50 °C (5 min)，以 30 °C/min 升至 230 °C (3 min)
FID	250 °C，空气：400 mL/min，燃气 (H ₂): 30 mL/min，恒定尾吹气 (N ₂): 18 mL/min
色谱柱	Agilent J&W DB-WAX UI, 30 m, 530 µm, 1 µm (部件号 125-7032UI)
进样口衬管	安捷伦超高惰性低压降衬管，带玻璃毛 (部件号 5190-2295)

结果与讨论

本应用简报重点分析手部消毒液中的主要醇类成分和可能的甲醇污染。校准标样中包括 5 种醇类，分别为甲醇、乙醇、IPA、正丙醇和甘油。其中，乙醇、IPA 和正丙醇的浓度通常会有标识，因为它们与灭病毒效果密切相关。在实际样品中还可以检测到甘油和其他醇类，但生产商没有特别标出这些醇类的浓度。校准标样中包含甘油的目的是证明所述系统可产生合适的峰形并足以检测出甘油等后洗脱的高粘度醇类。

在 DB-WAX 超高惰性色谱柱上分离 5 种醇类和 1 种内标的水性溶液，组分浓度范围为 1.0%–4% (v/v)。此样品为第 1 组和第 2 组的中等浓度校准标样与甘油工作标样的混合物。如色谱图（图 1）和表 3 所示，所有峰的拖尾因子均小于 1.2。甲醇和 IPA 在乙醇之前洗脱。正丙醇与乙

表 2. 醇类校准标样的配制

浓度等级	第 1 组校准标样			第 2 组校准标样	
	乙醇 (μL)	IPA (μL)	甘油工作溶液 (μL)	甲醇 (μL)	正丙醇 (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%)	NA
6	15 (1.5%)	35 (3.5%)	NA	25 (2.5%)	
7	10 (1.0%)	40 (4.0%)		20 (2.0%)	
8	NA	NA		15 (1.5%)	
9				10 (1.0%)	

不同浓度校准溶液的最终体积为 1 mL。括号中的数值为不同浓度等级下的醇类浓度。

腈 (IS) 之间的分离度为 9，乙醇与乙腈因子小于 2.0，与内标之间的峰分离度大于 4.0。8860 GC 的流路从分流/不分流进样口开始，经过分析柱，最后在 FID 处结束，此流路上实现的分离度和峰形证明该系统适用于目标醇类的分析。

乙醇和 IPA 的分离度为 1.31。虽然并未实现基线分离，但由于大多数情况下乙醇和 IPA 不会同时存在于同一种手部消毒液中，因此通常不会影响定量准确性。即使两者同时存在，1.31 的分离度也足以对主要醇类进行准确定量，如下面的手部消毒液凝胶样品分析结果所示。

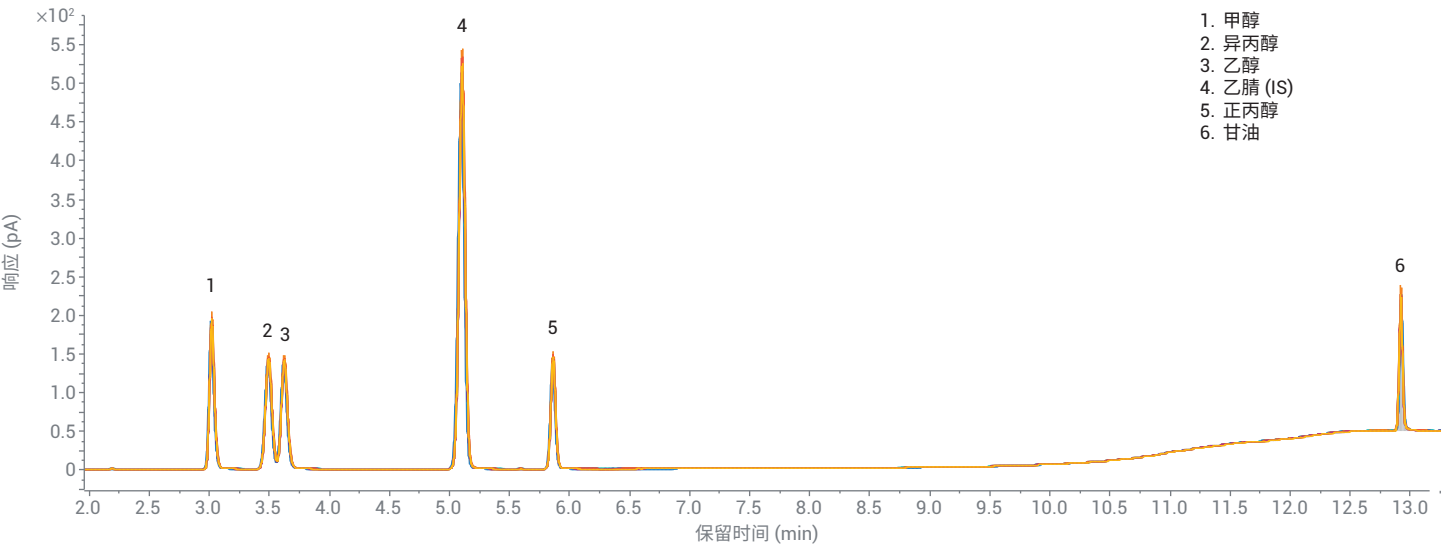


图 1. 使用配备 DB-WAX 超高惰性色谱柱的 Agilent 8860 GC-FID 分析醇类标准品获得的叠加色谱图

使用内标校准方法绘制醇类校准曲线。如图 2 和表 3 所示，醇类在其校准范围内的相关系数 (R^2) 为 0.997–0.999。

对醇类混合物进行 7 次进样以评估定量精度，每种醇类的浓度范围为 1%–2% (v/v)。图 1 为叠加色谱图。根据 7 次进样中醇类相对乙腈的响应比的相对标准偏差 (RSD) 来评估定量精度。除甘油的 RSD% 为 1.7% 外，大多数醇类的定量精度均优于 1%。USP <611> 标准要求醇类与内标的峰比值的 RSD 不超过 4.0%。因此，所测试平台的精度超出了 USP <611> 的要求。

对来自不同供应商的两种不同类型的手部消毒液凝胶和一种手部消毒液喷雾剂进行了醇类分析。3 种产品的色谱图如图 3 所示。每个样品中主要醇类的测试结果如表格中所示。在手部消毒液凝胶样品 1 中检测出乙醇、正丙醇和甘油，测得的浓度分别为 61.0% (v/v)、10.4% (v/v) 和 0.3% (v/v)。生产商标示的乙醇和正丙醇浓度分别为 54%–66% (v/v) 和 9%–11% (v/v)。凝胶样品 1 的实测浓度与标示浓度非常符合。

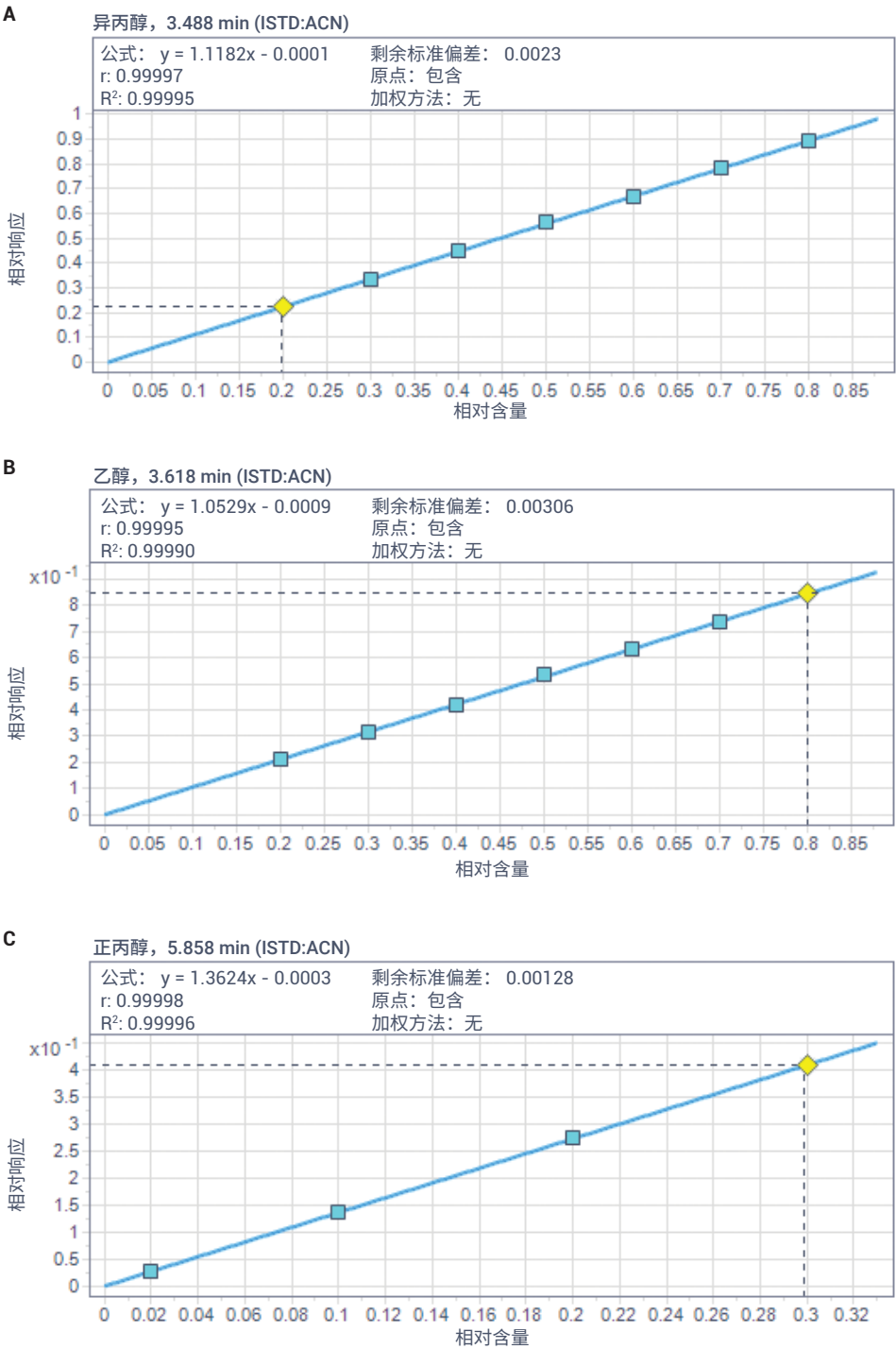


图 2A、B、C. IPA (A)、乙醇 (B) 和正丙醇 (C) 的校准曲线，相关系数大于 0.999

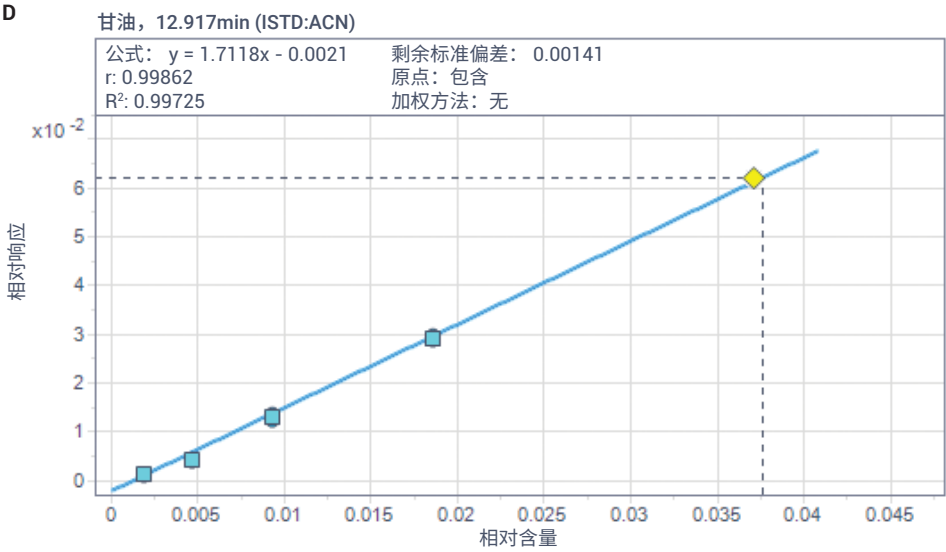


图 2D、E. 甘油 (D) 和甲醇 (E) 的校准曲线，相关系数大于 0.995

表 3. 系统对醇类分析的适用性

化合物	平均 RT (min)	RT RSD%	定量精度 (%)	校准相关系数	校准范围 (v/v)	峰拖尾因子	相对于内标的分离度
甲醇	3.015	0.025	0.3	0.9999	1%–4.9%	1.2	> 15
IPA	3.488	0.028	0.41	0.9999	1%–4%	1.1	> 15
乙醇	3.618	0.026	0.16	0.9999	1%–4%	1.0	15
正丙醇	5.858	0.008	0.29	0.9999	0.1%–1.5%	1.1	9
甘油	12.917	0.006	1.67	0.9970	0.0092%–0.184%	1.0	> 9

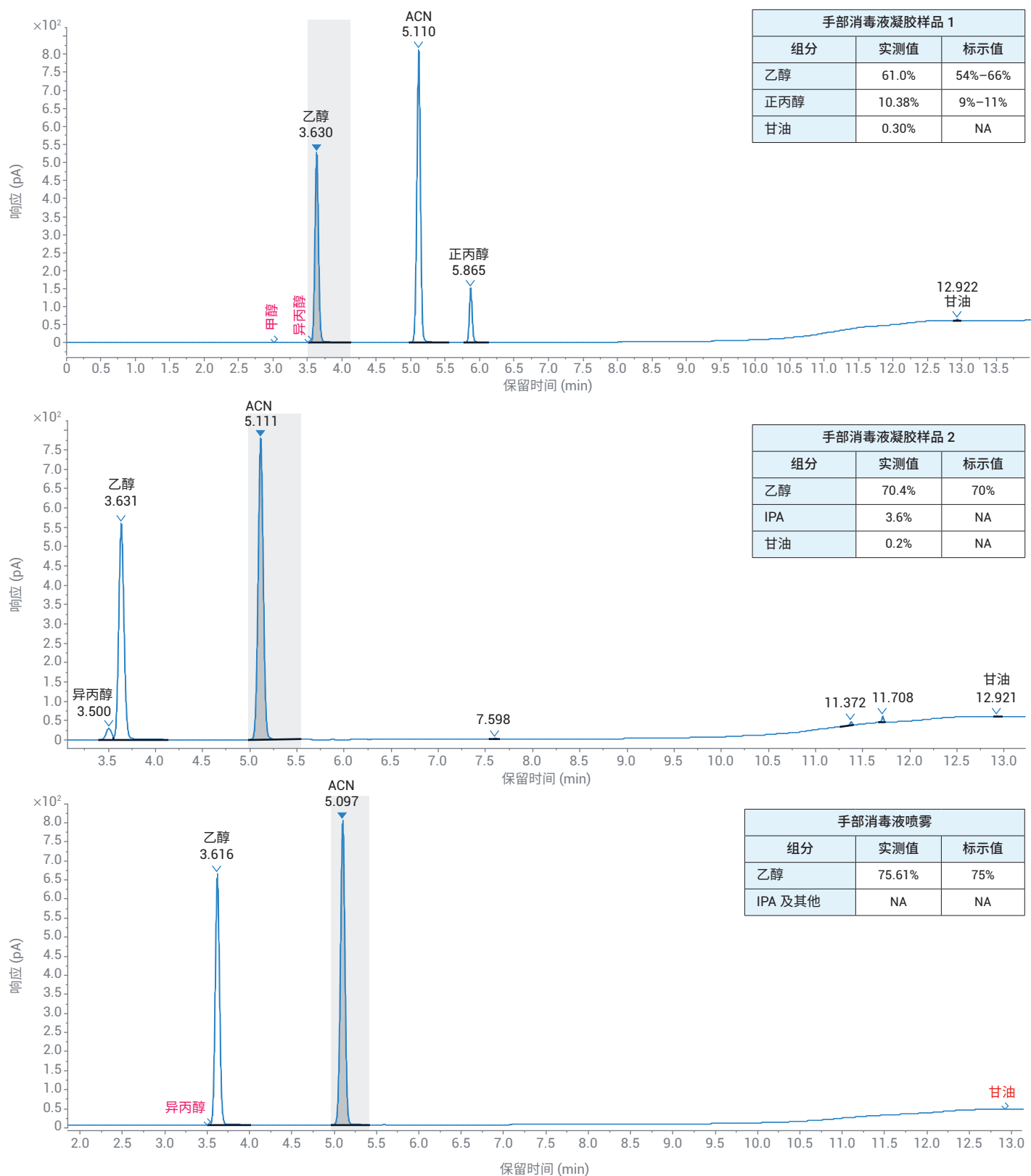


图 3. 手部消毒液凝胶和喷雾的色谱图及其鉴定结果

凝胶样品 2 经鉴定含有 70.4% (v/v) 乙醇、3.6% (v/v) IPA 和 0.2% (v/v) 甘油。产品标示的乙醇浓度为 70% (v/v)，与检测结果同样十分符合。凝胶样品 2 中的 IPA 和乙醇未能实现基线分离，但对乙醇的定量仍然准确。酒精喷雾的乙醇标示浓度为 75% (v/v)，实测浓度为 75.6%。酒精喷雾中未检测到甘油。在手部消毒液凝胶样品 2 中还检测到其他峰，分别在 7.6、11.4 和 11.7 min 处洗脱。这些可能是生产商添加

到手部消毒液中的抗菌成分或保湿剂等。利用甘油的相对响应因子进行估算，这些成分的浓度低于 1% (v/v)。3 种手部消毒液样品中均未检测到甲醇。

运行了一个较长的序列以测试系统的稳定性。总共进行了 40 次手部消毒液凝胶样品进样和 5 个 QC 样品进样。该序列从 QC 样品开始，然后是 5 次手部消毒液凝胶样品 1 进样和 5 次凝胶样品 2 进样。随后进行另外 3 轮进样，每一轮包括 1 次

QC 样品进样和 10 次实际样品进样，最后是第 5 次 QC 样品进样。QC 样品中乙醇和 IPA 的浓度为 50.0% (v/v)。5 个 QC 样品的叠加色谱图如图 4 所示。5 个 QC 样品的保留时间和定量结果列于表 4 中。乙醇和 IPA 的平均实测浓度为 50.2% (v/v) 和 51.2% (v/v)。QC 样品的定量准确度为 101% 和 102%。IPA 和乙醇的定量精度为 0.715% 和 1.11%。保留时间重现性为 0.03% 和 0.04%。

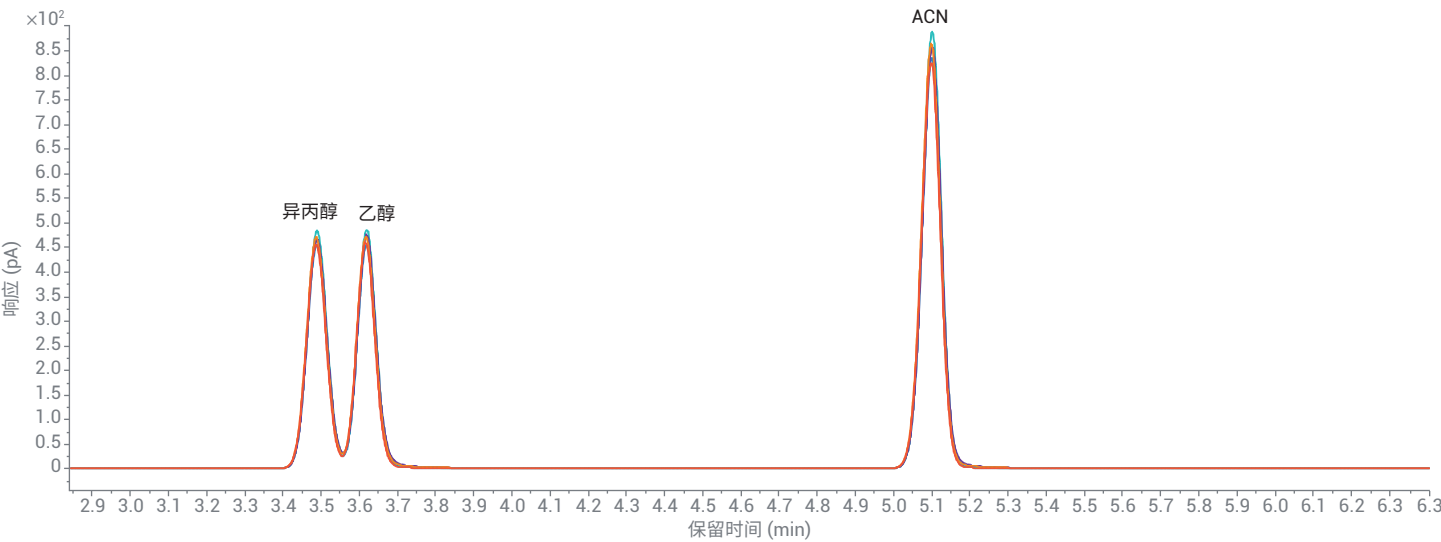


图 4. 5 个 QC 样品的叠加色谱图

表 4. 40 次实际样品分析过程中 5 个 QC 样品的定量和保留时间精度

定量浓度 (Vol%)	QC1	QC2	QC3	QC4	QC5	定量 RSD%
IPA	50.363	50.038	49.958	50.045	50.821	0.71%
乙醇	50.544	51.061	52.067	51.473	51.051	1.11%
保留时间 (min)	QC1	QC2	QC3	QC4	QC5	RT RSD%
IPA	3.487	3.488	3.488	3.486	3.486	0.03%
乙醇	3.617	3.618	3.618	3.616	3.615	0.04%

表 5 汇总了 20 次凝胶样品 1 和 2 进样的结果。实际手部消毒液样品 40 次进样所测得的浓度非常符合标示的浓度范围。样品 1 中乙醇和正丙醇的定量精度分别为 0.45% 和 0.38%，样品 2 中 IPA 和乙醇的定量精度为 0.55% 和 0.31%。20 次进样中乙醇、IPA 和正丙醇的保留时间重现性范围为 0.02%–0.04%，与表 3 所示的 7 次连续进样得到的保留时间 RSD% (0.01%–0.03%) 相当。QC 和实际样品的定量准确度和精度表明，8860 GC-FID 系统配合 DB-WAX 超高惰性色谱柱能够实现可靠、准确的醇类分析。

结论

本研究在配备 FID 的 Agilent 8860 GC 系统上使用 DB-WAX 超高惰性色谱柱对手部消毒液中的醇类进行了分析。超高惰性衬管和超高惰性色谱柱所提供的惰性气体流路有助于获得目标醇类尖锐且对称的峰形，并且峰拖尾因子小于 1.2。醇类相对于内标的分离度超过了 USP <611> 方法的要求。挥发性醇类的平均定量精度优于 1%。所有 5 种醇类的校准性能均十分出色，线性相关系数优于 0.995。对实际手部消毒液凝胶和喷雾进行分析获得了准确的定量结果。出色的系统性能证明了采用超高惰性色谱柱的 8860 GC/FID 系统可用于分析手部消毒液中的醇类。

表 5. 稳定性测试中手部消毒液凝胶样品的结果汇总

凝胶 1					凝胶 2				
进样次数	保留时间 (min)	定量浓度 (Vol%)	保留时间 (min)	定量浓度 (Vol%)	进样次数	保留时间 (min)	定量浓度 (Vol%)	保留时间 (min)	定量浓度 (Vol%)
	乙醇		正丙醇			IPA		乙醇	
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
均值	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%

参考文献

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 (使用直接进样 GC/FID 分析醇类手部消毒液中的乙醇和异丙醇)，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-1923EN

www.agilent.com

DE.5224768519

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020
2020 年 6 月 29 日，中国出版
5994-2089ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

