

GC 直接进样和顶空进样法测定碘酊中乙醇浓度

刘向荣, 刘文, 邓楠(湖南省人民医院药学部临床药学实验室, 长沙 410005)

摘要: 目的 分别采用 GC 顶空进样和液体进样器进样方式测定碘酊中乙醇的含量, 并对 2 种进样方式进行比较研究。方法 采用 Agilent DB-ALC1 型气相色谱柱(30 m×0.53 mm, 3.0 μm), FID 检测器温度为 250 °C, 柱温为 80 °C, 进样口温度为 200 °C, N₂ 载气, 柱流速为 5 mL·min⁻¹, 辅助加热区 115 °C。以叔丁醇为内标进行定量, 采用顶空和液体 2 种进样方式, 液体进样量 1.0 μL, 顶空进样量 1.0 mL。结果 顶空进样时, 乙醇在 15.78~63.12 mg·mL⁻¹ 线性关系良好, $Y=3.5589X-0.3413 (R^2=0.9989)$; 回收率 ≥96.55%, RSD ≤4.30%; 日内精密度 RSD ≤3.86%; 液体进样时, 乙醇在 15.78~63.12 mg·mL⁻¹ 线性关系良好, $Y=0.015X-0.006 (R^2=0.9995)$; 回收率 ≥97.8%, RSD ≤3.22%; 日内精密度 RSD ≤3.85%。结论 这 2 种方法均能准确地测量碘酊中乙醇的浓度, 顶空进样法耗时较长但灵敏度比直接进样更高, 对色谱柱的污染也较小, 2 种方法均能用于碘酊中乙醇含量的测定。

关键词: 气相色谱法; 碘酊; 乙醇; 顶空

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)01-0049-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.01.011

引用本文: 刘向荣, 刘文, 邓楠. GC 直接进样和顶空进样法测定碘酊中乙醇浓度[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(1): 49-52.

Gas Chromatography Determination of the Concentration of Ethanol in the Iodine Tincture Using Direct Injection and Head-Space Injection

LIU Xiangrong, LIU Wen, DENG Nan(Clinical Pharmacy Laboratory, Department of Pharmacy of Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish and compare methods for detection of the ethanol in the iodine tincture by GC using direct injection and head-space injection. **METHODS** The ethanol in the iodine tincture was determined by GC with Agilent DB-ALC1 capillary column(30 m×0.53 mm, 3.0 μm) and FID detector, using nitrogen as the carries gas. The injector temperature was 200 °C; the detector temperature was 250 °C; the column temperature was 80 °C. The flow rate of N₂ was 5 mL·min⁻¹, and the auxiliary heating temperature was 115 °C. Tertbutyl alcohol was used as the internal standard, 1.0 mL sample was injected by headspace injector and 1.0 μL by direct injection. **RESULTS** With head-space injection, the calibration curves of ethanol had good linear relationship within 15.78–63.12 mg·mL⁻¹, $Y=3.5589X-0.3413 (R^2=0.9989)$; the recovery was ≥96.55%; RSD was ≤4.30%; the within-day precision was ≤3.86%. The calibration curves of ethanol between concentration of 15.78–63.12 mg·mL⁻¹ by direct injection was $Y=0.015X-0.006 (R^2=0.9995)$, the recovery was ≥97.8%(RSD≤3.22%); the within-day precision was ≤3.85%. **CONCLUSION** Both two methods are accurate and reliable, and can be used for the determination of the concentration of ethanol in the iodine tincture, and the method using head-space injection has more sensitive, less disturb and long analysis time than direct injection.

KEY WORDS: gas chromatography(GC); iodine tincture; ethanol; head space

碘酊是一种广谱、高效的化学消毒剂, 其作用机制是氧化病原体胞浆蛋白的活性基因, 并与蛋白质分子的氨基结合, 使菌体蛋白变性、坏死, 对细菌、病毒、真菌等有较强的杀灭作用, 而且能迅速杀死细菌繁殖体和芽孢, 临床上广泛应用于手术部位、皮肤、手卫生、注射部位和医疗器械等消毒工作^[1]。

湖南省人民医院制剂室自制的碘酊其主要成分有碘、碘化钾、乙醇、水等, 可以用来消毒、

杀菌, 临床应用十分广泛。中国药典 2015 年版要求对碘酊中乙醇浓度进行测定, 本研究参照中国药典 2015 年版四部通则 0711 乙醇量测定法^[2]和其他文献^[3-5]对碘酊中乙醇浓度测定方法进行改进、优化。

1 仪器与试剂

Agilent 7890A 气相色谱仪、7697A 顶空进样器、7890 化学工作站、DB-ALC1 型气相色谱柱(30 m×0.53 mm, 3.0 μm)(美国 Agilent 公司);

作者简介: 刘向荣, 男, 主任药师 Tel: (0731)83929290 E-mai: Liuxiangrong790@163.com

AG285 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司); HS6150 超声波清洗器(上海声彦超声波仪器有限公司); 漩涡振荡器(金坛市医疗仪器厂); 电热恒温水浴锅(北京医疗设备厂有限责任公司)。

无水乙醇(Sigma 公司, 色谱纯, 纯度 $\geq 99\%$); 叔丁醇(国药集团化工试剂有限公司, 批号: 20130402, 分析纯); 碘酊(自制, 批号: 140415, 140515, 140619, 140718, 141019, 141117); 氢气、氮气(长沙高科气体厂, 纯度 $\geq 99.999\%$); 水为自制二重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent DB-ALC1 型气相色谱柱(30 m \times 0.53 mm, 3.0 μ m), 柱温为 80 $^{\circ}$ C, 进样口温度为 200 $^{\circ}$ C, N₂ 载气, 流速为 5 mL \cdot min⁻¹, 分流比为 5:1。FID 检测器条件: 温度为 250 $^{\circ}$ C, H₂ 流量为 30 mL \cdot min⁻¹, 空气流量为 300 mL \cdot min⁻¹, 辅助加热区 115 $^{\circ}$ C。

顶空进样方法: 定量环温度为 95 $^{\circ}$ C, 传输线温度为 110 $^{\circ}$ C, 加热箱温度为 70 $^{\circ}$ C, GC 运行时间为 18.0 min, 样品平衡时间为 17.0 min, 循环时间为 20 min, 进样体积为 1 mL, 分流比为 5:1。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 乙醇对照品储备溶液配制 精密称取无水乙醇 7.890 g, 置 100 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 配成浓度为 78.90 mg \cdot mL⁻¹ 的乙醇对照品溶液。

2.2.2 叔丁醇内标溶液配制 精密称取叔丁醇溶液 1.567 5 g, 置 50 mL 量瓶中, 加水定容至刻度。配成浓度为 31.350 mg \cdot mL⁻¹ 的叔丁醇内标溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品约 20 mL, 置碘量瓶中, 加锌粉 4 g 使脱色, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 再加水定容, 充分摇匀, 作供试品溶液。

2.4 样品处理方法

顶空进样: 精密取供试品溶液 3.0 mL、内标叔丁醇溶液 3.0 mL, 置顶空进样瓶中, 立即盖好瓶盖, 压紧密封。漩涡振荡, 摇匀, 放入恒温水浴锅(70 $^{\circ}$ C)中热平衡 5 min, 再放入顶空进样器进样。

液体进样: 精密取供试品溶液 100.0 μ L、内标叔丁醇溶液 100.0 μ L, 混匀。在液体进样瓶中放置一 200 μ L 内衬管, 将混匀的液体转移至液体进样瓶内衬管中, 盖好瓶盖, 进样。

2.5 系统适用性

液体进样: 取乙醇对照品溶液(78.90 mg \cdot mL⁻¹) 适量, 配成浓度为 47.34 mg \cdot mL⁻¹ 的乙醇溶液, 取上述乙醇溶液 100 μ L, 加入内标叔丁醇溶液 100.0 μ L, 置顶进样瓶中, 混匀, 平行配制 6 份, 进样分析, 乙醇峰的理论板数约为 13 000, 乙醇峰与内标叔丁醇峰的分离度为 3.6, 校正因子 RSD 为 0.7%。

顶空进样: 取乙醇对照品溶液(78.90 mg \cdot mL⁻¹) 适量, 配成浓度为 47.34 mg \cdot mL⁻¹ 的乙醇溶液, 取上述乙醇溶液 3.0 mL, 加入内标叔丁醇溶液 3.0 mL, 置顶空进样瓶中, 混匀, 平行配制 6 份, 进样分析, 乙醇峰的理论板数约为 22 000, 乙醇峰与内标叔丁醇峰的分离度为 4.2, 校正因子 RSD 为 1.5%。

2.6 方法学验证

2.6.1 线性关系考察 液体进样: 取乙醇对照品储备溶液(78.90 mg \cdot mL⁻¹) 适量, 配成浓度分别为 15.78, 23.67, 31.56, 39.45, 47.34, 55.23 和 63.12 mg \cdot mL⁻¹ 的一系列对照品溶液, 取样 100 μ L, 分别加入内标叔丁醇溶液 100.0 μ L, 混匀, 置顶进样瓶中, 进样。得线性回归方程为 $Y=0.015X-0.006$ ($R^2=0.9995$)。

顶空进样: 精密量取浓度分别为 15.78, 23.67, 31.56, 39.45, 47.34, 55.23 和 63.12 mg \cdot mL⁻¹ 的一系列对照品溶液样本 3.0 mL, 再分别加入内标叔丁醇溶液 3.0 mL, 置顶空进样瓶中, 立即盖好瓶盖, 压紧密封, 漩涡振荡, 摇匀, 放入恒温水浴锅(70 $^{\circ}$ C)中热平衡 5 min, 再放入顶空进样器进样。试验结果表明, 乙醇保留时间为 1.79 min, 内标叔丁醇为 2.14 min, 线性回归方程为 $Y=3.5589X-0.3413$ ($r^2=0.9989$)。结果见图 1。

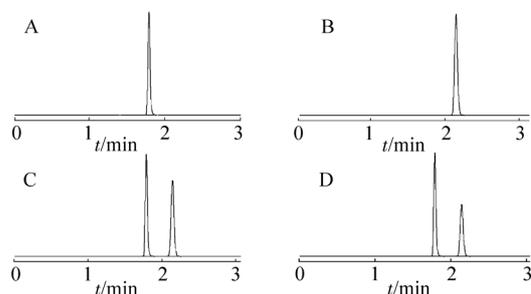


图 1 顶空进样乙醇 GC 色谱图

A-乙醇对照品溶液; B-内标溶液 C-对照品混合溶液; D-供试品溶液。

Fig. 1 GC chromatograms by headspace sampling

A-ethanol standard solution; B-internal standard solution; C-mixed reference solution; D-sample solution.

2.6.2 检测限和定量限的测定 配制无水乙醇水溶液,适当稀释直到溶液的色谱峰高是基线噪音的10倍,此浓度为最低定量限,将定量限的溶液进一步稀释到溶剂的色谱峰高是基线噪音的3倍作为检测限,结果采用顶空进样时乙醇的检测限和定量限分别是 $10.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $35.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,液体进样时乙醇的检测限和定量限分别是 $150.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $450.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.6.3 回收率 取碘、碘化钾适量,精密取乙醇对照品储备溶液($78.90 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)适量,加水稀释配制成乙醇浓度分别为23.67, 39.45和55.23 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的低、中、高3个浓度,且都含2.0%碘和1.5%碘化钾的质控样品,按“2.4”项下方法处理样品,按2种进样方法分别进样,高、中、低浓度两方法分别平行测定6次,方法回收率=实测浓度/目标浓度,结果见表1。结果显示顶空进样是方法回收率 $\geq 96.55\%$, $\text{RSD}\leq 4.30\%$ 。液体进样时方法回收率 $\geq 98.20\%$, $\text{RSD}\leq 3.22\%$ 。表明2种进样方法回收率均良好。

表1 回收率试验结果($n=6, \bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Results of recovery ($n=6, \bar{x}\pm s$)

标示浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	液体进样方法回收率/%		顶空进样方法回收率/%	
	$\bar{x}\pm s$	RSD	$\bar{x}\pm s$	RSD
23.67	98.9 \pm 2.98	3.02	96.55 \pm 4.06	4.21
39.45	98.2 \pm 2.54	2.59	97.76 \pm 4.20	4.30
55.23	97.8 \pm 3.14	3.22	98.27 \pm 3.69	3.75

2.6.4 精密度 取高、中、低3个浓度的质控样品各6份,按样品处理方法进行处理后分别进行顶空进样和液体直接进样测定,经考察,结果如表2所示,2种进样方法所得乙醇高、中、低浓度质控品 $\text{RSD}(n=6)$ 均 $<4\%$,表明2种进样方法精密度良好。

表2 日内精密度($n=6, \bar{x}\pm s$)

Tab. 2 The coefficients of variation of inter-day ($n=6, \bar{x}\pm s$)

标示浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	液体进样日内精密度/%		顶空进样日内精密度/%	
	$\bar{x}\pm s$	RSD	$\bar{x}\pm s$	RSD
23.67	97.2 \pm 2.93	3.02	97.5 \pm 3.40	3.49
39.45	98.1 \pm 3.77	3.85	97.8 \pm 3.58	3.67
55.23	98.5 \pm 3.67	3.73	98.7 \pm 3.82	3.86

2.6.5 稳定性 取配制好的供试品溶液分别于0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 h测定乙醇峰面积与内标峰面积比值,结果顶空进样法测定乙醇峰面积

与内标峰面积比值的 RSD 为 3.85%, 液体进样法测定乙醇峰面积与内标峰面积比值的 RSD 为 3.20%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 样品测定结果

取自制碘酊 6 个批次,进行测定,结果见表 3。结果表明碘酊中乙醇含量都在质量标准 45.0%~55.0%之间。

表3 样品中乙醇测定结果($n=6$)

Tab. 3 Results of samples determination ($n=6$) %

批次	顶空测定乙醇含量	液体进样测定乙醇含量
140415	48.7	48.2
140515	49.8	50.1
140619	50.4	50.0
140718	49.5	49.2
141009	51.0	50.4
141117	49.3	49.9

3 讨论

顶空进样和直接进样气相色谱法均能较准确地测定碘酊液中乙醇含量,方法简便、重复性好、准确度高。由于乙醇的挥发性强,在整个操作过程中要求实验人员应该快速准确的量取样本,减少样本暴露在空气中的时间。由于本品中含有易挥发性物质碘,且碘对测定结果有影响,采用本方法测定时应该预先对碘进行处理。采用锌对测试样品进行脱色就是要处理掉易挥发的碘,本研究参考了中国药典 2015 年版乙醇测定法,考察了在 20 mL 碘酊中加入 2, 3, 4 g 锌粉,发现在 20 mL 碘酊中加入 4 g 锌粉可以恰好达到脱色效果,为保证供试品溶液配制的平行性,加入锌粉的量应一致,故采用 4 g 锌粉对 20 mL 碘酊溶液进行脱色处理。在整个操作过程应该快速将碘量瓶密封,防止乙醇的过多挥发对结果产生影响。装样时内标和样本要迅速加好用顶空瓶盖盖好,压紧。在进样之前,应该充分的震荡顶空进样瓶,使乙醇能充分挥发。

液体进样与顶空进样相比较,液体进样的稳定性要优于顶空进样,进样量较均匀。顶空进样时,应对待检测溶液进行充分加热,促进溶液中乙醇挥发,尽快达到气液平衡,并依靠顶空瓶内的压力进样,样品平衡时间设置为 17.0 min,因此,顶空进样比液体直接进样需更长时间。液体进样时,样品中的微粒容易堵塞进样针,并且所有物质都经进样口注入色谱柱,杂质较多(图 2),对色

谱柱产生一定污染；相对液体进样，顶空进样的物质都为挥发性较好的物质，因此，顶空进样时本底较为干净(图 1)。顶空进样时，定量环为 1 mL，进样量比液体进样量大，检测限更低。

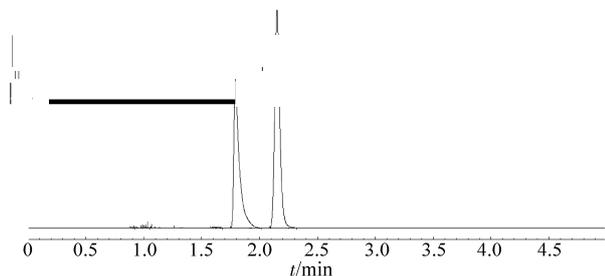


图 2 液体进样乙醇 GC 色谱图

Fig. 2 GC chromatograms by direct sampling

总的来讲，液体进样比顶空进样的稳定性好，而顶空进样比液体进样所需时间要长，灵敏度高，

进入色谱的物质更干净。2 种进样方法均能满足测定需要。

REFERENCES

- [1] 史国兵, 王敬国, 王晓波, 等. 碘酊的新用途[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 12(10): 614-615.
- [2] 中国药典. 四部[S]. 2015: 通则 0711
- [3] SUN R D, YANG R H. Determination of residual ethanol in depside salt from *Salvia miltiorrhiza* [J]. China Pharm(中国药师), 2013, 16(8): 1127-1128.
- [4] HE J, CHEN X J, YANG J Y, et. al. Gas chromatography determination of organic residual in testosterone derivatives AD using direct injection and head-space injection [J]. Sci Technol Eng(科学与工程), 2015, 15(8): 162-164.
- [5] LIU W, YU S, TAN B Y, et. al. Concentration detection of ethanol in HuaiShi Ye by headspace GC [J]. China Pharm(中国药师), 2015, 18(12): 2200-2202.

收稿日期: 2017-08-08

(本文责编: 李艳芳)