

含醇手消毒剂中有效成分及杂质的测定方法比较研究

卢珩俊*, 沈宋利, 蔡振杭, 叶涛, 鹿燕

浙江方圆检测集团股份有限公司化工产品检验所, 浙江 杭州

收稿日期: 2023年8月22日; 录用日期: 2023年11月3日; 发布日期: 2023年11月10日

摘要

在对现有方法进行分析比较的基础上提出了4种可行的适用于含醇消毒剂中有效成分及有害杂质的测定方法。提出的方法对于四种目标物的标准曲线线性相关系数介于0.9972~1.0000之间, 检出限介于0.02 (V/V)%~2.22 (V/V)%之间, 定量限介于0.05~7.39 (V/V)%, 峰面积或校正因子的精密度介于0.1%~3.8%之间, 加标回收率介于95.7%~101.7%之间, 并据此对实际检测工作流程给出了相应建议。结果显示, 提出的4种方法均可用于含醇消毒剂中有效成分及有害杂质的测定, 其中内标法的准确度优于外标法, 建议将内标法作为仲裁方法加入标准。

关键词

甲醇, 异丙醇, 乙醇, 正丙醇, 外标法, 内标法, 顶空进样, 直接进样

A Comparative Study on Determination Methods for Active Ingredients and Impurities in Alcohol-Containing Hand Disinfectants

Hengjun Lu*, Songli Shen, Zhenhang Cai, Tao Ye, Yan Lu

Institute of Chemical Product Inspection, Zhejiang Fangyuan Test Group Co., Ltd., Hangzhou Zhejiang

Received: Aug. 22nd, 2023; accepted: Nov. 3rd, 2023; published: Nov. 10th, 2023

Abstract

Based on the analysis and comparison of the existing methods, four feasible methods for the de-
*通讯作者。

文章引用: 卢珩俊, 沈宋利, 蔡振杭, 叶涛, 鹿燕. 含醇手消毒剂中有效成分及杂质的测定方法比较研究[J]. 分析化学进展, 2023, 13(4): 466-481. DOI: 10.12677/aac.2023.134051

termination of active components and harmful impurities in alcohol-containing disinfectants were proposed. The linear correlation coefficient of the standard curves of the proposed method ranged from 0.9972 to 1.0000; the detection limit ranged from 0.02 to 2.22 (V/V)%; the quantitation limit ranged from 0.05 to 7.39 (V/V)%; and the precision of the peak area or correction factor ranged from 0.1 to 3.8%. The recovery rate of standard addition is between 95.7% and 101.7%, and the corresponding suggestions are given for the actual testing process. The results show that the four methods proposed can be used for the determination of active components and harmful impurities in alcohol-containing disinfectants, and the accuracy of the internal standard method is better than that of the external standard method. It is suggested that the internal standard method should be added to the standard as an arbitration method.

Keywords

Methanol, Isopropyl Alcohol, Ethanol, N-Propyl Alcohol, External Standard Method, Internal Standard Method, Headspace Injection, Direct Injection

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

自 COVID-19 新型冠状病毒肺炎疫情爆发以来, 醇类消毒剂产品由于肤感清爽, 安全无毒, 可有效灭活病毒等特性, 在我国和世界各国疫情防控工作中发挥了关键作用[1]。由于含醇手部消毒剂的功效与其中含有的醇类物质体积分数及复配的其他有效成分密切相关, 因此疫情期间各主管部门发布的文件都对醇类消毒剂产品中的有效成分含量做出了明确规定[2] [3]。

随着国内外疫情的持续发展, 市场对于各类消毒剂需求的显著增加, 手部消毒剂产品快速迭代并衍生出了多个新品类, 就配方而言, 除了传统的单方醇类消毒液外, 目前已有多种含乙醇和正(异)丙醇复配消毒剂上市销售[4]; 就剂型而言, 除了传统的消毒液、消毒喷剂外, 还出现了免洗手消毒凝胶和免洗消毒膏等产品, 这类消毒剂多数以消毒凝胶或膏体等形式存在, 它们都以凝胶为载体, 均匀附载一种或多种消毒成分, 由于这类产品具有免洗、应用方便, 性质稳定, 而且在使用过程中不易洒漏、存储期间低挥发性等特点, 在一定程度上丰富和扩展了醇类消毒剂的应用场景。然而彼时借疫情期间紧急上市的醇类手消毒剂产品中难免存在产品质量良莠不齐[5]等问题, 因此导致的消毒剂含量不足可能引发潜在的耐药性等安全风险甚至出现假冒伪劣产品[6]等, 逐渐引起公众的普遍关注。

此前已有的标准方法多数仅适用于单方液态醇类消毒剂, 对于标准限定范围以外的新剂型和复配醇类消毒剂等较复杂样品中有效成分的测定时, 如直接使用上述方法往往测试效果不尽理想, 其中主要有比重法和气相色谱法, 前者显然无法直接用于测定凝胶类样品, 而后者操作耗时费力不利于分析通量的提升。已有文献[7] [8]中规定了消毒剂中乙醇含量的测定方法, 气相色谱法采用玻璃填充柱和外标法进行测定, 由于填充柱目前在气相色谱检测的应用已经非常有限, 醇类消毒剂的气相色谱检测多采用毛细管柱进行, 故填充柱法并无实际的应用案例可循; 比重法仅适用于快速测定只含乙醇和水的溶液[9]。关于固体、半固体消毒剂中乙醇含量测定已有蒸馏法[10], 但该方法显著增加了操作过程的复杂程度, 又因方法耗时费力而不利于分析通量的提升。此外还有研究者尝试使用甲醇作为溶剂测定醇类消毒剂中乙醇的含量, 测试效果也较可靠, 但该方法使用的甲醇溶剂将直接干扰甲醇残留量的判断, 因而并不完全适用[11]。

以上这些新情况都凸显了对于醇类消毒剂中的有效成分及可能存在的禁用添加剂同时进行准确测定

的重要性。因此亟需建立一套操作简便、结果准确的新方法体系并根据样品给出适配的检测方法,以满足由于醇类消毒剂产品迭代给后续分析检测工作提出的新要求。建立的成套方法对于生产企业的原料核查、生产内控及市场监管等阶段也具有一定的参考意义。

2. 材料与方法

2.1. 试剂和仪器

甲醇(99.9%, 上海麦克林有限公司); 乙醇(99.5%, 河北百灵威有限公司); 正丙醇(99%, 上海麦克林有限公司); 异丙醇(99.5%, 上海麦克林有限公司); 正丁醇($\geq 99.7\%$, 阿拉丁试剂有限公司); 1,2-丙二醇($\geq 99.7\%$, 阿拉丁试剂有限公司); 1,3-丙二醇($\geq 99.7\%$, 阿拉丁试剂有限公司); 丙三醇($\geq 99.7\%$, 阿拉丁试剂有限公司); 无水乙醇(分析纯 AR, 安徽安特股份有限公司); 超纯水(Milli-Q, 电阻率 $18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, 美国 Millipore 公司)。

万分之一电子天平(感量 0.1 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司); 涡旋混匀器(MS3 basic, 德国 IKA 公司); 超声波清洗器(KMDOS, 上海科超有限公司); 多功能循环恒温水浴(HWY-10 上海昌吉地质仪器有限公司); 数字密度仪(DMA 4501, 奥地利 AntonPaar 公司); iS50 FT-IR 傅里叶变换红外光谱仪($15\sim 27,000\text{ cm}^{-1}$ 之间分辨率优于 0.09 cm^{-1} , 美国 ThermoScientific 公司) Agilent 气相色谱仪, 配氢火焰离子化检测器(FID) (7890A, 美国 Agilent 公司), 配 HP-INNOWAX 色谱柱(HP-INNOWAX $30\text{ m}\times 0.320\text{ mm}\times 0.5\text{ }\mu\text{m}$ 、HP-INNOWAX $60\text{ m}\times 0.320\text{ mm}\times 0.5\text{ }\mu\text{m}$)及顶空进样器(PETuboMatrix 40 Trap, 美国 Perkin Elmer 公司); 载气及驱动气均为高纯氮(市售, $\geq 99.999\%$)。

2.2. 测试条件

2.2.1. 气相色谱条件

色谱柱 HP-INNOWAX $60\text{ m}\times 0.320\text{ mm}\times 0.5\text{ }\mu\text{m}$, 载气为高纯氮, 载气保持恒定流速 1 mL/min , 进样口温度 $230\text{ }^\circ\text{C}$, 样品进样量 $0.2\text{ }\mu\text{L}$, 分流比 30:1, 程序升温初始值 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 保持 7 min, 以每分钟 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 升温至 $220\text{ }^\circ\text{C}$ 并保持 10 min, 检测器 $230\text{ }^\circ\text{C}$, 氮气 30 mL/min , 氢气 30 mL/min , 空气流速 300 mL/min 。升温程序结束后以 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 初温后运行 5 min 后准备下一进样。

2.2.2. 顶空法测试条件

顶空样品瓶炉温 $90\text{ }^\circ\text{C}$, 样品平衡时间 30 min, 进样针温度 $95\text{ }^\circ\text{C}$, 取样体积 1.0 mL , 加压时间 2 min, 进样时间 0.05 min, 拔针时间 0.2 min, 进样压力 45 psi。传输线温度 $150\text{ }^\circ\text{C}$, 进样口温度 $230\text{ }^\circ\text{C}$, 分流比 10:1, 其余色谱条件参照 2.2.1。

2.2.3. 密度仪法测试条件

密度仪经空气校准和水标定后, 将单方乙醇消毒剂样品小心注入密度仪, 并确保注入的样品无气泡引入, 待样品降至 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 时可直接读取密度值, 取 3 次稳定测量的数据进行曲线拟合, 用拟合曲线计算样品中的乙醇含量。

2.3. 色谱条件预实验及理论计算

2.3.1. 预实验及现有方法相关参数分析

现有方法文本所列色谱条件汇总于表 1, 为筛选潜在的参考方法配制含甲醇、异丙醇、乙醇、仲丁醇、正丙醇、异丁醇、正丁醇的分离度验证溶液, 在各色谱条件下分别进样分析, 预实验选用 Agilent HP-INNOWAX ($30\text{ m}\times 0.320\text{ mm}\times 0.5\text{ }\mu\text{m}$)色谱柱, 载气为高纯氮, 载气保持恒定流速 1 mL/min , 进样口

温度 230℃, 分流比 30:1, 样品进样量、标准曲线建立方法和色谱柱程序升温详见表 1, 检测器温度为 230℃, 氮气 30 mL/min, 氢气 30 mL/min, 空气 300 mL/min。直接进样的色谱图见图 1, 根据色谱图可得, 方法 1 和方法 3 所列填充柱主要色谱条件完全一致, 鉴于目前已鲜有实验室配备填充柱, 相关的应用也极少, 暂用毛细管柱在上述方法所示条件下的分离结果代替, 色谱图如图 1(a(b))图中可见毛细管柱上试验时分离度极差, 故不再进行后续条件试验; 而方法 2 [图 1(a(a))]和方法 4 [图 1(a(c))]所列毛细管柱色谱谱法所分离度较优, 适合作为后续方法开发的参照。

以顶空法为例, 优化后的色谱条件典型色谱图见图 1(b(b)), 其中图 1(b(a))为四种目标物与内标物谱图, 图 1(b(c))与图 1(b(d))分别为 2 种含凝胶样品的典型色谱图分离度验证溶液见图 1(b(b)), 由图中可得, 优化后的色谱条件峰型对于上述目标物均可实现较优的基线分离度且单样分析时间较为合理, 适用于实际样品分析。

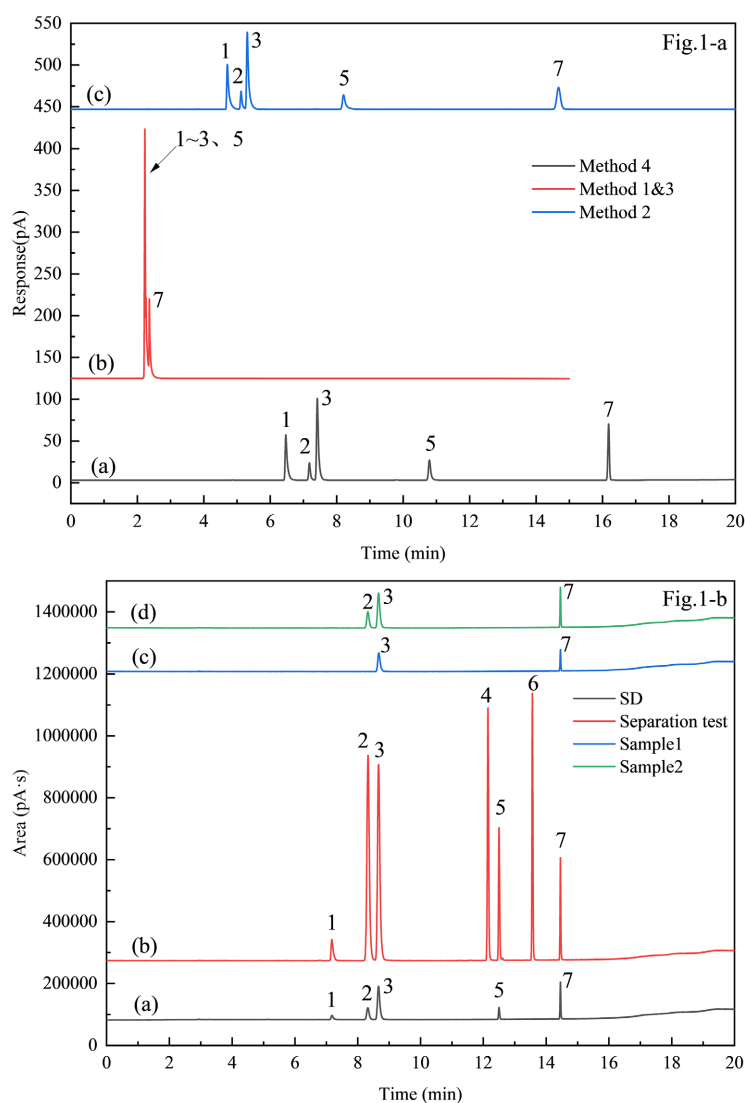


Figure 1. A chromatogram comparison of the existing method versus post-optimized method. In which: 1. Methanol; 2. Iso-propanol; 3. Ethanol; 4. Sec-butanol; 5. n-propanol; 6. Isobutanol; 7. n-Butanol

图 1. 现有方法与经方法优化后的色谱图比较。其中: 1. 甲醇; 2. 异丙醇; 3. 乙醇; 4. 仲丁醇; 5. 正丙醇; 6. 异丁醇; 7. 正丁醇

Table 1. GC chromatographic condition of methods that is currently available
表 1. 现有方法的色谱条件

色谱参数	方法1	方法2	方法3	方法4
方法来源	GB/T 26373-2020	GB/T 26373-2020	消毒技术规范 2002年版	中国药典 2020 年版
色谱柱*	填充柱GDX-102	毛细管柱 DW-WAX	填充柱GDX-102	毛细管柱 DW-WAX
进样口温度/°C	230	230	230	230
升温程序	180°C	60°C保持10 min	180°C	40°C(2 min)-3°C/min-65°C-25°C/min-200°C
进样量/μL	1.0	1.0	1.0	1.0
工作曲线参数	峰高/峰面积 - 含量	峰高/峰面积 - 含量	峰高 - 含量	峰高/峰面积 - 含量
膨胀体积估计值 /μL	1146	1146	1146	1146
色谱图	图1(a(b))	图1(a(a))	图1(a(b))	图 1(a(c))

2.3.2. 气相色谱进样口样品膨胀体积的估算

由于一般乙醇消毒剂的含醇量普遍较高(约为 60 V/V%~80 V/V%), 色谱法无法直接进样测定, 在实际检测时需要用去离子水稀释样品后才可进样分析, 因此实际用于进样的样品是含有醇类的水溶液。由 2.3.1 中表 1 可知, 已有方法的色谱条件下由于忽略了样品水溶液在进样口的膨胀体积已超过一般气相色谱用衬管的容积(一般约为 900 μL, 衬管负荷应小于 75% [12]), 故应用这些条件进样时, 进样口在进样瞬间将处于过载状态, 而这将导致样品蒸汽逆流损失使得数据准确度降低。作者所在实验室日常检测过程中也时有发生因方法缺陷致使分析数据异常的情况, 实际检测时样品溶剂蒸汽体积 V_g 可根据公式(1)进行估算[13]。

$$V_g = 22,400 \times A \times B \times C \times I \quad (1)$$

(1)式中: A : 样品溶剂密度(g/mL)/溶剂分子量(g/mol); B : $15/(15 + \text{色谱柱头压[psi]})$; C : $(\text{进样口温度}[^\circ\text{C}] + 273)/273$; I : 液体进样体积(μL)。

根据(1)式估算了含醇手消毒剂配方中可能出现的有效成分、辅料和杂质在进样口 230°C, 柱前压为 15 psi, 进样量 1 μL 时各物质估计膨胀体积比汇总于表 2, 其中沸点、密度和相对分子质量引自文献[14]。

根据表 2 的膨胀体积估算结果可知, 若要在上述条件下应用直接液体进样法分析醇类物质, 且要同时保持样品膨胀体积≤75%衬管容积, 则样品的进样量应控制在 0.3 μL 以下。

2.3.3. 含凝胶样品直接进样法数据稳定性的潜在影响因素

根据作者所在实验室的日常检测和前期调研, 目前应用于醇类消毒剂的凝胶类物质主要是卡波姆和透明质酸钠, 其中卡波姆(Carbopol)是丙烯酸键合烯丙基蔗糖或季戊四醇烯丙醚的高分子聚合物。作为一种新型的高分子材料和优良的药用辅料, 它已在制剂领域已有广泛的应用[15] [16] [17]。透明质酸钠是一种天然直链多糖, 由(1→4)-β-D 葡萄糖醛酸和(1→3)-2-乙酰氨基-β-D-葡萄糖结合而成的双糖结构单元所组成的高分子聚合物[18]。根据这两种物质的结构式(图 2(c))可知由他们组成的高分子聚合物上应含有较多的羟基、亚胺、酮和醚等官能团。

Table 2. An estimated expansion volume of the solvent in sample after vaporization
表 2. 样品中溶剂气化后的膨胀体积估算

物质名称	沸点	20℃下密度	相对分子质量	膨胀体积比估算	备注
甲醇	64.8	0.790	32	509:1	杂质
乙醇	78.3	0.789	46	354:1	有效成分
正丙醇	97.4	0.804	60	277:1	有效成分
异丙醇	82.5	0.785	60	270:1	有效成分
正丁醇	117.5	0.810	74	226:1	内标物
1,2-丙二醇	184.8	1.038	76	282:1	辅料
1,3-丙二醇	210	1.053	76	286:1	辅料
丙三醇	290	1.297	92	291:1	辅料
水	100	1.000	18	1146:1	样品稀释溶剂

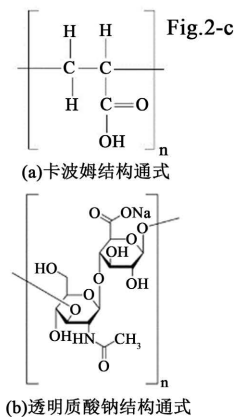
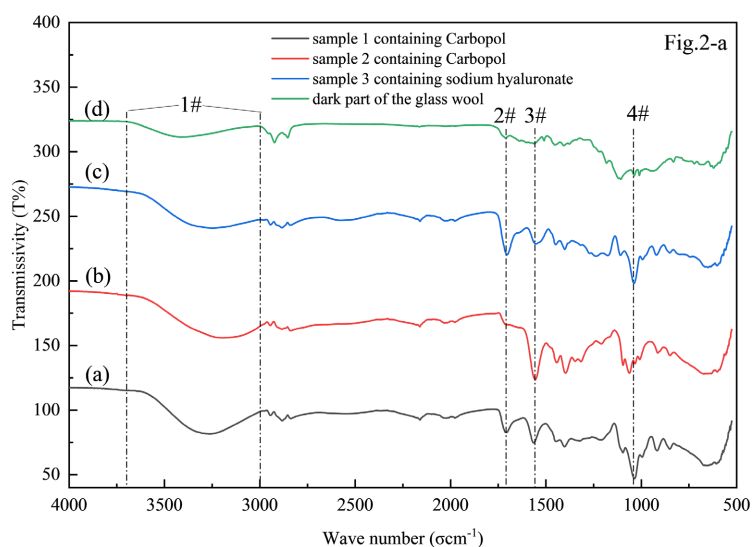


Figure 2. Structural and infrared spectra of hydrophilic thickener found in gel-containing samples
图 2. 含凝胶样品中常见增稠剂的结构通式及其红外光谱图

作为消毒剂中凝胶的主要成分,这类物质在进样过程中残留在进样口衬管的玻璃棉上,并伴随进样过程而逐渐积累,而且由于其自身的不挥发特性及附带的额外醇羟基等活性基团的存在,而对后续进样的峰型和定量结果造成影响。对于这一问题,我们考察了一根应用于凝胶类乙醇消毒剂样品直接液体进样约100次后的衬管玻璃棉(扣背景后)上的深棕色残留物质及三个含凝胶样品在230℃下烘干48h的实际样品残留物分别进行红外光谱扫描,结果如图2(a),衬管使用前外观对比见图2(b),结构通式见图2(c)。

图2(a)中可见1#峰较宽,3000~3600 cm⁻¹属于O-H键的伸缩振动峰,据此可推断衬管中的主要残留物可能含有丰富的羟基;2#峰1700 cm⁻¹附近来自饱和脂肪酮的振动吸收峰;3#峰1560 cm⁻¹附近主要由亚胺基上C-N键的弯曲振动贡献,4#峰1090~1020 cm⁻¹附近主要来自脂肪胺类物质C-N键和醚C-O键的伸缩振动。综上可知,所得红外光谱结果均符合上述两种凝胶残余物的红外光谱特征。

因此如果选用直接液体进样,实验过程中应随时关注样品峰型变化,且进样序列不可过长,建议每个序列每个批次每批实验完成后都应重新更换衬管和隔垫,以免造成不同批次数据的批间差异。

2.3.4. 醇类物质含量的计算公式

现有标准[7][8][10]给出的计算公式均只适用于含乙醇水溶液产品,对于含凝胶的醇类消毒剂中的醇类物质含量计算暂未见诸报道,因此补充了公式(2)~(4),经验证(2)式和(3)式对单方、复配醇类消毒剂及含凝胶的醇类消毒剂剂型均适用,(4)式用于内标法涉及的校正因子计算[19]。

$$\omega_{v,E} \% (V/V) = \frac{C_i \cdot V \cdot \rho_s}{10^6 \cdot m \cdot \rho_i} \times 100\% \quad (2)$$

$$\omega_{m,E} \% (m/m) = \frac{C_i \cdot V}{m \cdot 10^6} \times 100\% \quad (3)$$

$$f_i = \frac{m_i \cdot A_{Bu}}{m_{Bu} \cdot A_i} \quad (4)$$

(2)~(4)式中: $\omega_v \% (V/V)$: 目标物的体积百分数 $\omega_m \% (V/V)$: 目标物的质量百分数, C_i : 经外标法或内标法计算的试样中各醇类物质含量(mg/L); V : 样品定容体积(mL); ρ_s : 原始样品在20℃下的密度(g/cm³); m : 试样中的样品称样量(g); ρ_i : 各醇类物质在20℃下的密度(g/cm³); f_i : 各醇类物质的相对校正因子; m_i : 校正曲线测试时校正样中各醇类物质标品的称样量(g); m_{Bu} : 校正曲线测试时校正样中正丁醇标品的称样量(g); A_i : 校正曲线测试时校正样中各醇类物质标品的峰面积; A_{Bu} : 校正曲线测试时校正样中正丁醇标品的峰面积。

3. 结果与讨论

3.1. 初筛方法

单方乙醇消毒剂成分一般比较简单,主要由乙醇和去离子水经简单混合而成。对于不同浓度的乙醇水溶液,可先测定样品密度再查表[20]确定其中乙醇的体积分数(V/V)%。为验证不同浓度的乙醇水溶液实测密度与乙醇体积百分比之间的相关关系,使用市售无水乙醇和纯水配置如表3所示乙醇水溶液浓度系列,通过所得数据建立的拟合模型反推其中乙醇的体积分数(V/V)%并与气相色谱法的测定结果进行交叉比对并分别计算相对偏差,结果列于表3,拟合曲线见图3(a)。

由表3可知对于单方乙醇消毒剂而言,通过密度仪测定的密度数据与查表给出的乙醇密度相对偏差<1%,根据建立的数学模型反推得到的乙醇查表所得的乙醇的体积比(V/V)%与经气相色谱法测定结果的相对偏差也<1%,以较高精度确认了通过密度法测定单方乙醇消毒剂中乙醇的体积比(V/V)%的精密度和准确度满足常规检测的需求。经实际样品验证应用该拟合曲线初测126批次单方乙醇消毒剂样品时,预

测结果与实际气相色谱法测定结果存在 2.4%~9.8%的相对偏差, 平均偏差为 5.2%, 模拟样品测定与实际样品初测之间存在平均 5.2%的相对偏差, 可能原因包括但不限于不同厂商潜在的表外添加剂、去离子水纯度影响及实验期间的密度测定误差等。总之, 密度法尽管存在一定的偏差, 但仍可作为单方乙醇消毒剂中乙醇体积分数(V/V)%的快速初筛方法并根据密度测定值, 大致预判样品中醇类物质的含量区间, 实际样品拟合曲线见图 3(b), 模拟样品和实际样品的拟合函数及其反函数结果见表 4。

3.2. 气相色谱仪器测定方法

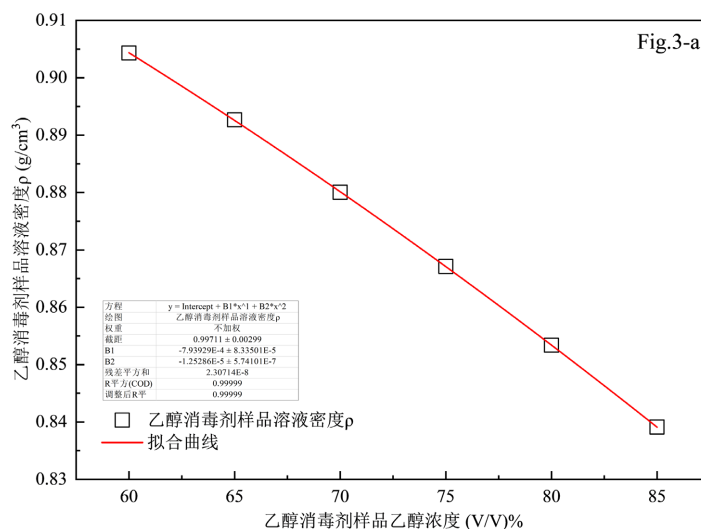
3.2.1. 标准曲线系列的配置

在万分之一天平上分别准确称取甲醇、正丙醇、异丙醇标准品各约 1.0 g、正丁醇约 0.5 g, 乙醇约 4.0 g 分别至于已事先加入约 30 mL 去离子水的不同的 50 mL 容量瓶中, 初步摇晃使各单物质标准溶液溶解后分别用 20℃去离子水定容至 50.00 mL 刻线, 得到含有上述各单一物质的储备液, 再次混匀后备用, 使用时, 根据样品中各物质含量, 合理设置各分析物的标准曲线浓度点。上述单物质溶液可在 4℃冰箱稳定保存 2 个月。

Table 3. Comparison of quantitative results between density method and gas chromatography method for unilateral ethanol disinfectant

表 3. 单方乙醇消毒剂密度法和气相色谱法定量结果比较

配制乙醇溶液浓度 (V/V)%	实测密度均值 (n = 3)	20℃乙醇水溶液的理论密度 [20]	密度测定值与理论值相对偏差%	根据样品密度计算乙醇体积分数(V/V)%	GC测定结果均值(n = 3) (V/V)%	GC法与密度法结果的相对偏差%
60.00	0.90432	0.90911	-0.5	60.02	60.19	0.3
65.00	0.89268	0.89753	-0.5	64.96	64.75	-0.3
70.00	0.88006	0.88549	-0.6	70.03	69.69	-0.5
75.00	0.86711	0.87275	-0.6	74.99	75.20	0.3
80.00	0.85338	0.85930	-0.7	80.01	79.77	-0.3
85.00	0.83912	0.84493	-0.7	85.00	85.57	0.7



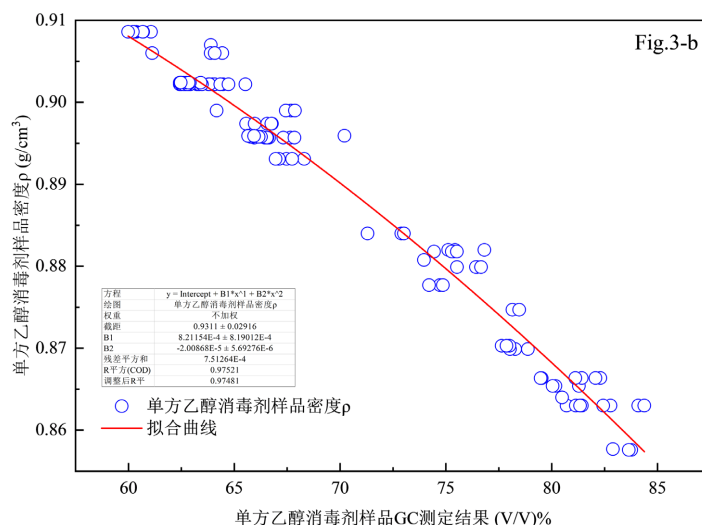


Figure 3. The data fitting results of simulated samples and real samples
图 3. 模拟样品与实际样品的数据拟合结果

Table 4. Data fitting functions and their inverse functions
表 4. 数据拟合函数及其反函数

项目	拟合函数	拟合函数的反函数	相关系数r
模拟样品	$y = -1.25286 \times 10^{-5} x^2 - 7.93929 \times 10^{-4} x + 0.99711$	$x = \frac{5\sqrt{3}\sqrt{16866630880347 - 16704800000000 * y}}{125286}$	0.99999
实际样品	$y = -2.00868 \times 10^{-5} x^2 - 8.21154 \times 10^{-4} x + 0.93110$	$x = \frac{5\sqrt{3}\sqrt{6290464317643 - 6695600000000 * y - 2052885}}{100434}$	0.98732

3.2.2. 样品前处理

1) 对于有效成分检测时,在万分之一天平上准确称取约 1.0 g 样品于预先装有约 50 mL 去离子水的 100 mL 容量瓶中, 2) 对于甲醇杂质成分的检测, 样品称样量应为 5.0 g, 称样时样品应直接滴入去离子水中, 尽可能避免沾到容量瓶内壁, 否则应立即用去离子水冲入容量瓶中, 应用内标法时还应按照要求称取相应质量的内标物质详见 2.2.4, 空白试验同法测定, 样品应平行测定 2 份, 称样量均精确至±0.2 mg。样品经初步混合后再加入去离子水至 100 mL 容量瓶的刻线下方并密塞, 将容量瓶置于恒温水槽中, 待容量瓶中的样品溶液液温平衡后再用恒温至 20℃ 的去离子水定容至刻线并在涡旋混合器上经 3000 r/min 涡旋 1 min, 此后将容量瓶置于 20℃ 恒温水浴的超声清洗器超声分散 10 min 后再次混匀样品溶液置于恒温水槽中备用。

3.2.3. 直接液体进样

3.2.2 中样品用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 并弃去前 1 mL 初滤液, 取续滤液装入样品瓶加盖密封, 仪器条件设置见 2.2.1, 实验过程中样品所在区域也保持 20℃ 恒温;

3.2.4. 顶空进样

用经 20℃ 热平衡后的 10 mL 单刻度移液管准确移取 10.00 mL 样品溶液于预先加入 0.1 g 分析纯 NaCl 的 20 mL 顶空瓶后立即用封口钳将顶空瓶盖密封, 顶空仪及气相色谱条件详见 2.2.1 和 2.2.2。

3.2.5. 内标法

上述 3.2.2 中样品称量结束后分别再称取约 0.35 g 正丁醇对照品, 后续定容及样品处理方法见 3.2.2~3.2.4。

3.3. 方法学

3.3.1. 工作曲线、检出限和定量限

使用选定的色谱条件分别测定空白溶液和 2.3.3 中配制的阴离子标准溶液稀释系列, 根据连续基线噪音和标准曲线第一点各离子的峰高分别计算方法检出限和定量限, 其中方法检出限为 3 倍空白溶液的标准偏差($S/N = 3$), 定量限为 10 倍的空白溶液的标准偏差($S/N = 10$), 各离子的工作曲线、相关系数、检出限和定量限如下表 5 所示。

根据表 5 可知, 优化后的直接进样气相色谱法即使将进样量降至表 1 所示标准方法的 1/3 以下(0.3 μL) 时, 计算得到的方法检出限仍然能与标准方法或此前文献报道方法处于同一水平, 显示出本法提出的上述色谱条件具备良好的实际应用效果。

Table 5. Operating curve, Limit of detection and Limit of quantitation

表 5. 工作曲线、检出限和定量限

测定方法	目标物	工作曲线	相关系数 r	检出限 LOD (m/m)%	定量限 LOQ (m/m)%	检出限 LOD (V/V)%	定量限 LOQ (V/V)%	文献检出限 ⁽²⁾ LOD (V/V)%
1. 直接进样 气相色谱法 (外标法)	甲醇	$y = 0.0594x + 0.0759$	0.9972	0.05	0.17	0.06	0.21	/
	异丙醇	$y = 0.0833x + 0.6262$	0.9981	0.04	0.14	0.05	0.18	/
	乙醇	$y = 0.0789x + 7.453$	0.9991	0.05	0.16	0.06	0.21	(E) 0.03 [8]
	正丙醇	$y = 0.1002x + 0.3743$	0.9981	0.01	0.04	0.02	0.05	/
2. 顶空进样 气相色谱法 (外标法) ⁽¹⁾	甲醇	$y = 440.51x - 529.65$	0.9999	1.46	4.87	1.85	6.16	(E) 6.34 [11]
	异丙醇	$y = 2038.5x - 32731$	0.9998	0.54	1.80	0.69	2.29	/
	乙醇	$y = 873.09x - 43193$	0.9997	1.24	4.12	1.57	5.23	(E) 6.34 [11]
	正丙醇	$y = 1092.1x - 32371$	0.9992	0.49	1.64	0.61	2.04	/
3. 直接进样 气相色谱法 (内标法)	甲醇	$y = 0.7012x - 0.0046$	0.9993	0.06	0.20	0.08	0.25	/
	异丙醇	$y = 0.9845x - 0.0025$	0.9999	0.03	0.09	0.03	0.11	/
	乙醇	$y = 0.9331x - 0.0476$	1.0000	0.02	0.08	0.03	0.10	(I) 0.02 [12]
	正丙醇	$y = 1.1846x - 0.0071$	0.9998	0.01	0.04	0.02	0.05	/
4. 顶空进样 气相色谱法 (内标法)	甲醇	$y = 0.7176x + 0.0017$	0.9998	1.75	5.84	2.22	7.39	/
	异丙醇	$y = 3.0473x + 0.0039$	0.9999	0.34	1.14	0.44	1.46	/
	乙醇	$y = 1.3984x + 0.0039$	0.9999	0.59	1.96	0.75	2.49	/
	正丙醇	$y = 1.3984x - 0.00005$	1.0000	0.48	1.59	0.60	1.98	/

(1) 注: 表中所列顶空-气相色谱法(外标法)使用在 GC-MS 仪器加装的 GC-FID 数据工作站, 故积分所得响应值、积分结果所代表的物理意义与直接进样(外标法)所用 FID 的信号强度不一致, 所得工作曲线斜率不同由换算基准差异造成, 并不直接反映该 FID 检测器对目标物的响应差异。

(2) 注: 本列检出限数据系文献报告值代入 2.3.4 式(2)并按照本法的取样和稀释倍数换算后的等效值, 前缀(E)表示外标法, (I)表示内标法。

3.3.2. 精密度

如 2.3.4 所示, 通过向超纯水中加入不同质量的醇类物质及杂质对照品的储备溶液, 制成相当于各自

标准曲线 20% (低)、50% (中)和 80% (高)浓度的模拟加标样品连续测定 6 次(n = 6), 所得结果计算相对标准偏差(RSD%), 得出低、中、高浓度的精密度, 结果均在 5% 以内, 如下表 6 所示。

Table 6. Standard precision of different analytes
表 6. 不同分析物精密度

测定方法	目标物	低、中、高浓度样品峰面积(pA×s)						均值	精密度/%	精密度均值%	
1. 直接进样 气相色谱法 (外标法)	甲醇	71.78767	69.38342	72.97574	67.04163	71.56781	72.78636	70.9238	3.2	3.2	
		190.91642	188.04407	194.53936	182.31585	184.31106	184.67641	187.467	2.5		
		251.60204	263.69354	279.91418	269.61719	264.49409	264.30886	265.605	3.5		
	异丙醇	63.25581	63.30594	60.69897	65.10207	66.78952	66.12895	64.2135	3.5		
		314.30928	309.63774	318.21363	299.17551	304.39637	299.0042	307.456	2.6		
		457.78438	483.52903	511.73715	489.51441	480.78733	482.25386	484.268	3.6		
	乙醇	666.2105	660.80841	634.04551	682.0617	705.03779	689.52865	672.949	3.7		
		4299.4602	4238.0084	4369.0074	4105.6561	4130.7013	4085.4475	4204.71	2.7		
		8386.7538	8832.388	9353.4794	8969.6349	8787.8221	8837.6214	8861.28	3.5		
		54.70244	54.00607	52.10513	56.38366	57.85451	56.58211	55.2723	3.8		
	正丙醇	265.07039	261.12904	269.48001	253.64079	254.63055	252.19434	259.358	2.7		
		383.9113	404.65696	428.45534	410.22781	402.12167	404.31321	405.614	3.5		
	2. 顶空进样 气相色谱法 (外标法) ⁽¹⁾	甲醇	128877.9	135321.8	132744.3	131455.5	130166.7	130166.7	131455.5		1.8
			374620.4	374620.4	401654.9	393930.7	393930.7	366896.3	384275.6		3.6
525676.4			499907.9	515369.0	510215.3	510215.3	530830.1	515369.0	2.2		
异丙醇		507858.8	482465.8	482465.8	507858.8	497701.6	492623	495162.3	2.3		
		1102843	1136603	1136603	1125350	1080336	1170364	1125350	2.8		
		1729829	1799022	1643338	1677934	1695233	1747127	1715414	3.2		
乙醇		261886.8	269903.7	280593	272576	259214.5	264559.1	268122.2	2.9		
		1423582	1452635	1481687	1438108	1525266	1525266	1474424	3.0		
		2770393	2741535	2972401	2770393	2943543	2741535	2823300	3.7		
		226480.6	224145.8	224145.8	235820	231150.3	224145.8	227648.0	2.1		
正丙醇		475872.8	480882.0	525964.7	495909.5	480882.0	475872.8	489230.6	4.0		
		654994.7	648635.5	648635.5	604121.3	667713.0	629558.0	642276.3	3.5		
测定方法		目标物	低、中、高浓度样品中内标物对目标物的校正因子 f						均值	精密度/%	精密度均值%
3. 直接进样 气相色谱法 (内标法) ⁽¹⁾		甲醇	1.463	1.475	1.469	1.479	1.474	1.475	1.473	0.4	
	1.446		1.46	1.478	1.472	1.468	1.481	1.468	0.9		
	1.451		1.459	1.460	1.442	1.47	1.458	1.457	0.6		
	异丙醇	1.05	1.054	1.047	1.074	1.059	1.039	1.054	1.1		
		1.041	1.041	1.045	1.038	1.033	1.046	1.041	0.5		
		1.045	1.042	1.044	1.045	1.045	1.048	1.045	0.2		

Continued

		1.097	1.101	1.099	1.098	1.100	1.100	1.099	0.1	
	乙醇	1.089	1.087	1.087	1.091	1.087	1.087	1.088	0.2	
3. 直接进样 气相色谱法 (内标法) ⁽¹⁾		1.086	1.087	1.087	1.084	1.087	1.085	1.086	0.1	0.5
		0.894	0.864	0.873	0.878	0.879	0.864	0.875	1.3	
	正丙醇	0.875	0.872	0.874	0.874	0.873	0.873	0.874	0.1	
		0.860	0.859	0.859	0.858	0.861	0.859	0.859	0.1	
		13.760	13.896	13.351	13.896	14.035	13.624	13.760	1.8	
	甲醇	14.064	13.513	14.012	13.851	13.924	13.651	13.836	1.5	
		13.592	13.679	13.867	13.588	13.456	13.730	13.652	1.0	
		3.183	3.215	3.261	3.220	3.151	3.247	3.213	1.3	
	异丙醇	3.251	3.283	3.284	3.276	3.251	3.316	3.277	0.7	
4. 顶空进样 气相色谱法 (内标法)		3.308	3.275	3.241	3.253	3.279	3.328	3.281	1.0	1.2
		7.226	7.046	7.173	7.083	7.225	7.011	7.127	1.3	
	乙醇	7.224	7.153	7.114	7.153	7.139	7.153	7.156	0.5	
		7.218	7.165	7.29	7.147	7.218	7.172	7.202	0.7	
		7.132	6.922	6.852	7.107	7.062	7.009	7.014	1.6	
	正丙醇	7.137	6.857	6.997	6.927	7.067	7.067	7.009	1.5	
		6.991	7.024	7.013	6.949	7.129	7.005	7.018	0.9	

(1)注: 同表 5 (1)注。

根据表 6 可知, 4 种方法六次重复进样的峰面积或校正因子的 RSD% 在 0.1%~3.8% 之间, 其中, 内标法的精密数据显著地优于外标法, 对此我们认为原因主要是自动进样器无法保证每次的进样量完全一致, 若可接受的 RSD% 在 5% 以内, 则上述 4 种方法均可使用。表中可见顶空进样的内标法的校正因子要大于直接进样的内标法, 可能原因是内标法的进样过程与外标法不一致, 直接进样时, 包括内标物在内的所有醇物质在进样口的气化过程无歧视效应, 而顶空进样时由于各种醇类物质的沸点不同, 故沸点最高的正丁醇挥发量因显著低于甲醇、异丙醇和正丙醇, 因此顶空进样的响应因子要高于直接进样。

3.3.3. 加标回收率

如 2.3.4 所示通过向空白样品中加入不同质量的阴离子混合储备溶液, 制成低、中、高浓度的阴离子溶液加标样品, 根据加入阴离子标准溶液的质量浓度, 计算阴离子的加标回收率, 所得加标回收率在 97.2%~101.7% 之间, 实验数据如下表 4 所示。

从表 7 可得异丙醇、乙醇、正丙醇三种有效成分和杂质甲醇的加标回收率在 95.7%~101.7% 之间, 加标回收率验证结果满意, 从数据准确度而言, 内标法相对于外标法更具优势。

3.4. 优化的日常检测工作流程

为了定量说明上述 4 种测定方法适用的场景根据此前实验获得的数据, 编制表 8, 其中制样所需时间的估算过程如下: 每次测定 5 个不同样品, 每个样品称取 2 份平行样, 色谱仪器维护、色谱柱更换时间以 10 min 计, 另需配制一条包含 6 个点的标准曲线, 其他操作参见 4.2 节, 由于所建立的方法色谱运行时间基本一致, 故分析时间不列入比较范围。

Table 7. Precision of different anion labeling experiments in ultrapure water
表 7. 超纯水中不同阴离子加标实验的精密度

测定方法	目标物	加标量 mg/L	加标 1#	加标 2#	加标 3#	均值	加标回收率%	加标回收率均值%
1. 直接进样 气相色谱法 (外标法)	甲醇	70	65.4	68.5	69.3	67.7	96.7	99.7
		190	188.1	192.6	189.7	190.1	100.1	
		250	249.8	249.1	249.8	249.6	99.8	
	异丙醇	60	57.6	60.4	56.9	58.3	97.2	
		310	313.1	312.5	310.8	312.1	100.7	
		460	463.1	459.3	446.2	456.2	99.2	
	乙醇	650	656.5	657.1	647.7	653.8	100.6	
		4300	4429	4340	4311	4360	101.4	
		8800	8712	8712	8799	8741	99.3	
	正丙醇	55	55.55	53.9	55.5	55	100.0	
		260	263.2	258.8	261.7	261.2	100.5	
		380	383.4	391.4	379.7	384.8	101.3	
2. 顶空进样 气相色谱法 (外标法) ⁽¹⁾	甲醇	70	68.9	70.4	69.7	69.7	99.6	99.7
		190	193.8	189.9	195.6	193.1	101.6	
		250	245	249.9	242.4	245.8	98.3	
	异丙醇	60	59.4	59.4	59.4	59.4	99	
		310	303.8	297.7	288.8	296.8	95.7	
		460	450.8	455.3	469	458.4	99.7	
	乙醇	650	663	656.4	636.7	652	100.3	
		4300	4343	4430	4341	4371	101.7	
		8800	8976	8707	8533	8739	99.3	
	正丙醇	55	54.5	54.5	56.1	55	100	
		260	257.4	257.4	262.5	259.1	99.7	
		380	380	380	391.4	383.8	101	
3. 直接进样 气相色谱法 (内标法) ⁽¹⁾	甲醇	70	69.7	70.2	70.6	70.2	100.3	100.2
		190	191.9	189.8	190.8	190.8	100.4	
		250	250	250	250	250	100	
	异丙醇	60	60	59.4	60.4	59.9	99.8	
		310	310	310	313.1	311	100.3	
		460	460	462.6	463.2	461.9	100.4	

Continued

		650	656.5	649.9	643.4	649.9	100		
	乙醇	4300	4300	4343	4343	4371	101.7		
3. 直接进样 气相色谱法 (内标法) ⁽¹⁾		8800	8888	8799.1	8887.1	8739	99.3	100.2	
		55	55	54.5	54	54.5	99.1		
	正丙醇	260	262.6	261.2	263.7	262.5	101		
		380	376.2	380	383.8	380	100		
		70	69.7	70.1	69.5	69.8	99.7		
	甲醇	190	188.1	191.4	190.7	190.1	100.1		
		250	252.5	248.6	253.4	251.5	100.6		
		60	59.7	60.4	59.3	59.8	99.7		
	异丙醇	310	310	310.7	313.1	311.3	100.4	100.1	
4. 顶空进样 气相色谱法 (内标法)		460	459.4	460.8	455.3	458.5	99.7		
		650	648.5	650.9	649.4	649.6	99.9		
		4300	4300	4343	4386	4371	101.7		
		8800	8888	8977	8887	8739	99.3		
		55	55	55.6	56.2	55.6	101.1		
		正丙醇	260	260	257.4	254.8	257.4	99	100.1
			380	383.8	380	376.2	380	100	

Table 8. Characteristic parameter of the four proposed methods

表 8. 四种测定方法的特性参数

方法名称	总体 RSD% 均值	加标回收 率均值%	加标回收率与 100%的绝对差%	线性相关 系数均值	线性相关系数 与 1 的绝对差	制样所需时 间(min)
直接进样 - 外标法	3.2	99.7	0.3	0.9981	0.0019	45
顶空进样 - 外标法	2.9	99.7	0.3	0.9996	0.0004	70
直接进样 - 内标法	0.5	100.2	0.2	0.9997	0.0003	50
顶空进样 - 内标法	1.2	100.1	0.1	0.9999	0.0001	90

对表 8 中对应列数据用最值归一化方法处理, 所得数据汇总于表 9, 计算公式见式(5)。

$$x_{new,i} = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (5)$$

(4)式中: $x_{new,i}$: 表 7 中选定列第 i 行参数归一化后的赋值; x_i : 表 7 中选定列第 i 行的值; x_{\min} : 表 7 中选定列数据的最小值; x_{\max} : 表 7 中选定列数据的最大值。

根据表 9 数据可知, 外标法的归一化总分也都比内标法高, 意味着外标法的数据精度略逊于内标法, 为校正这种定量方法引入的偏差, 必须引入内标物做相应的校正, 因此我们在日常检测过程中推荐如图 4

的检测工作流程供参考。

Table 9. Normalized scores of the four proposed methods
表 9. 四种方法的归一化得分

方法名称	方法精密度 归一化赋值	加标回收率 归一化赋值	线性相关系数 归一化赋值	所需工时归 一化赋值	归一化得分 加和	归一化总分 排序
直接进样 - 外标法	1	1	1	0	3	1
顶空进样 - 外标法	0.89	1	0.14	0.56	2.62	2
直接进样 - 内标法	0	0.5	0.08	0.11	0.72	4
顶空进样 - 内标法	0.26	0	0	1	1.26	3

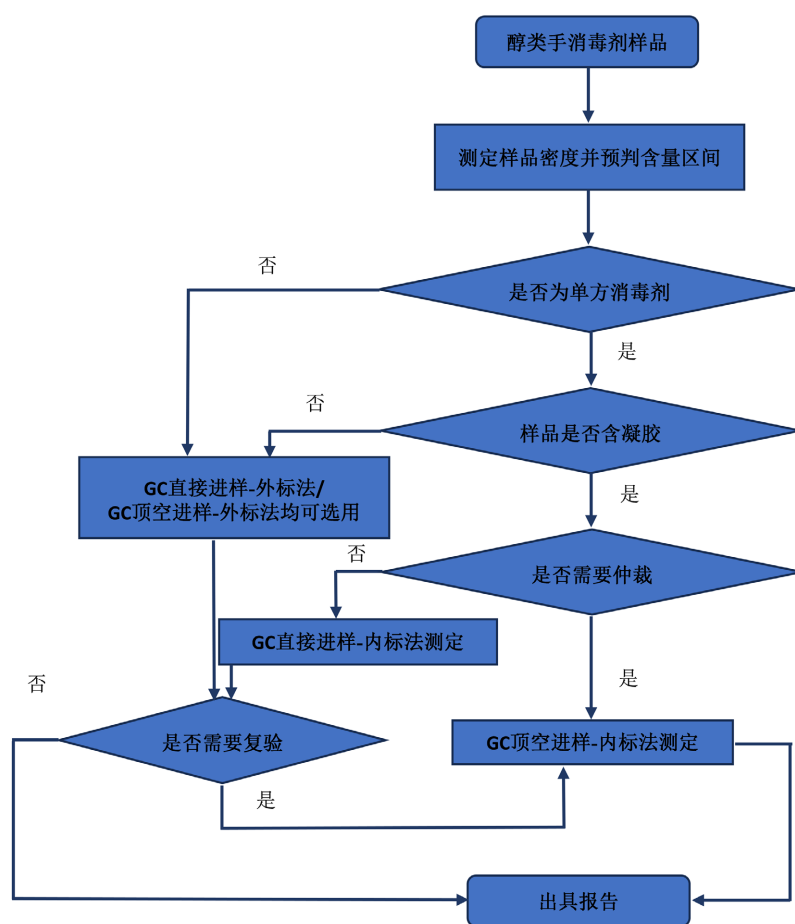


Figure 4. Recommended inspection workflow
图 4. 推荐的检测工作流程

4. 结论

因现有测试方法数据精密度欠佳的原因，本文在此基础上进行系统地分析，提出了含醇手消毒剂中醇类物质有效成分及其中有害杂质的成套的新测试方法，实现在低于传统方法进样量时对于异丙醇、乙醇、正丙醇三种表内有效成分和一种有害杂质甲醇的同时测定，且方法检出限基本处于同一水平。针对

含醇手消毒剂的新剂型, 提供了 4 种备选方法, 并分别对各方法的线性、精密度加标回收率做了详细验证, 结果显示对于一般应用, 4 种方法的准确度均符合要求, 其中内标法的准确度优于外标法, 显示内标法有望作为仲裁方法。此外还在实验基础上对 GB 26373《乙醇消毒剂卫生标准》的计算公式做了增加, 新增的公式可以完全覆盖含醇手消毒剂的所有剂型。并且进一步提出了含醇手消毒剂检测工作的推荐工作流程。总之, 优化后的方法组合可以满足含醇手消毒剂中有效成分及其中有害杂质的分析测定需求, 检出限基本相当于或优于现有方法, 可为日常检查提供有益的参考。

基金项目

浙江省市场监督管理局科技计划项目(ZC2023045)。

参考文献

- [1] Jang, M., Yang, H., Shin, G.Y., *et al.* (2022) Determination of Methanol in Commercialized Alcohol-Based Hand Sanitizing and Other Similar Products Using Headspace GC-MS. *Current Analytical Chemistry*, **18**, 774-780. <https://doi.org/10.2174/1573411018666220107145321>
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于部分消毒剂在新型冠状病毒感染的肺炎疫情防控期间紧急上市的通知[EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/077eea9dc23841e0b3a37af2369138aa.shtml>, 2020-02-04.
- [3] 中华人民共和国中央人民政府. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)的通知[EB/OL]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2022-03/15/content_5679257.htm, 2022-03-14.
- [4] 银燕, 张聿为. 醇类消毒剂及其制剂的发展[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 30(11): 1062-1065.
- [5] 劳动报. 假消毒液岂能堂而皇之网售[EB/OL]. <https://www.51ldb.com/shsldb/tj/content/2c595a77-58d0-4d3e-b35f-4b28b0b1a731.html>, 2022-06-15.
- [6] 中国长安网. 标注含量 75% 仅为 41%, 甘肃敦煌公安破获一起重大生产销售伪劣酒精消毒液案[EB/OL]. http://www.chinapeace.gov.cn/chinapeace/c100064/2023-02/28/content_12636609.shtml, 2023-02-28.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范(2002 年版) [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002: 185-187.
- [8] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T26373-2020 醇类消毒剂卫生要求[S]. 2020. <https://openstd.samr.gov.cn/bzgk/gb/newGbInfo?hcno=684D80BED8AA57856EB79584286A2834>, 2020-06-02.
- [9] 赵同刚. 化妆品卫生规范[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2007: 116.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 96-97.
- [11] 安代志, 艾君涛, 岳丽君, 等. 消毒液中乙醇含量测定方法研究[J]. 中国消毒学杂志, 2012, 29(6): 474-475.
- [12] 刘虎威. 气相色谱方法及应用[M]. 第 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2023: 48-50.
- [13] 安捷伦科技(中国)有限公司. AgilentGC 化学工作站标准操作培训 中文版工作站 R1778A[M]. 成都: 安捷伦科技(中国)有限公司, 2016: 18-62.
- [14] 程能林. 溶剂手册[M]. 第 4 版. 北京: 化学工业出版社, 2008: 385-396.
- [15] 张志燕, 平其能, 胡淼, 等. 树脂微囊混悬剂物理稳定性及其基质研究[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 527-530.
- [16] Bromberg, L.E. (2001) Enhanced Nasal Retention of Hydrophobically Modified Polyelectrolytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **53**, 109-114. <https://doi.org/10.1211/0022357011775082>
- [17] 卢耀茹, 张钧涛, 杨敏, 等. 多潘立酮胃内滞留型缓释片的制备[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(4): 327-329.
- [18] 刘颖玲. 顶空气相色谱法测定医用透明质酸钠凝胶中乙醇残留量的不确定度[J]. 化学分析计量, 2013, 22(3): 81-83.
- [19] 梅杰, 巫俊峰, 钱军, 等. 对 GB26373《乙醇消毒剂卫生标准》中乙醇测定方法的改进[J]. 广东化工, 2020, 47(13): 161-175.
- [20] 贾树彪, 李盛贤, 吴国峰. 新编酒精工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 260-266.