

# 代替キャリアガスを用いた GC による 日本薬局方残留溶媒分析

## 著者

伊藤 結花

アジレント・テクノロジー  
株式会社

## 要旨

Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラ (HSS) と水素炎イオン化検出器 (FID) を搭載した 8890 ガスクロマトグラフ (GC) を用いて窒素、水素キャリアガスにより日本薬局方残留溶媒試験のクラス 1、クラス 2A、クラス 2B の溶媒を測定しました。適切な条件を設定することで、水溶性試料および非水溶性試料それぞれについて操作法 A と B でシステム適合性基準と同等の S/N や分離度、再現性が得られました。Agilent 8697 HSS-8890 GC は代替キャリアガスを用いた残留溶媒試験を行うことが可能なシステムです。

## 1. はじめに

日本薬局方において、ヘッドスペース法ーガスクロマトグラフィーを用いた医薬品中残留溶媒の試験法が定められています。残留溶媒は毒性や環境への影響の強さなどからクラス 1、2、3 に分類され、一般的にヘリウムキャリアガスを用いて分析されます。アプリケーションノート「Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラー- 8890 GC を用いた日本薬局方の残留溶媒分析」で紹介しています<sup>1)</sup>。しかし、近年のヘリウムガスの供給の不安定さから代替キャリアガスの需要が高まっています。GC/FID では、GC/MS と異なり、キャリアガスの種類による感度の差がほとんどないため、比較的容易にキャリアガスを変更することが可能です。本アプリケーションノートでは、Agilent 8697 HSS- 8890 GC/FID を用い、窒素および水素キャリアガスによる条件検討を行いましたので紹介いたします。

## 2. 窒素キャリアガスによる操作法 A の測定

### 2-1 方法

#### 1. 装置構成

8697 HSS を接続した Agilent 8890 GC/FID を使用しました。

#### 2. サンプル

標準溶液は残留溶媒試験用のクラス 1、2A、2B 標準品（医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）を使用しました。薬局方の手順に従い、水溶性試料の場合は水、非水溶性試料の場合は N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）で希釈し、サンプル調製を行いました。

#### 3. 測定条件

測定条件を表 1 に示します。非水溶性試料については、薬局方の試験条件に窒素キャリアガスが記載されていませんが、条件検討を行いました。スプリット比は、感度を最適化するために適宜変更するパラメータですが、薬局方に記載されているスプリット比を設定しました。

表 1. 窒素キャリアガスによる操作法 A の測定条件

Agilent 8697 HSS	
オープン温度	80 °C
ループ温度	85 °C
トランスファライン温度	100 °C
注入時間	1 min
バイアル平衡化時間	30 min
バイアル攪拌	レベル 5 (71 回/min)
バイアル加圧ガス	窒素
バイアル充填圧力	15 psi
ループ最終圧力	10 psi
バイアルサイズ	10 mL
ループサイズ	1 mL
Agilent 8890 GC	
カラム	DB-Select 624UI (30 m, 0.32 mm, 1.8 µm, p/n 123-0334UI)
注入口温度	140 °C
スプリット比	水溶性試料 1:5、非水溶性試料 1:3
カラム流量	2.2 mL/min (平均線速度 約 35 cm/sec) (窒素)
オープン温度	40 °C (20 min) -10 °C /min- 240 °C (20 min) (測定時間 60 min)
FID 温度	250 °C
H2 流量	30 mL/min
メークアップガス流量	30 mL/min (N2)
Air 流量	400 mL/min

### 2-2 結果

#### 1. 操作法 A によるクラス 1 の溶媒の測定

図 1、2 に非水溶性試料のクラス 1 用標準液のクロマトグラムを示しました。1,1,1-トリクロロエタンのピークの S/N が 200 以上となり、薬局方の定める S/N 5 以上を大きく上回りました。S/N は peak to peak ノイズにより計算しました。ノイズ範囲はブランク測定のピーク周りの半値幅 20 倍の時間です。また、6 回連続測定の結果、最も感度の得にくい四塩化炭素の S/N の平均値が 21、各ピークの面積 RSD が 1.3 % 以下となり、システム適合性と同等の精度が得られました。近接して溶出するベンゼンと 1,2-ジクロロエタンの分離度は 1 程度でしたが、内径 0.53 mm カラムを使用するとその分離度は 0.5 程度に低下しました。窒素キャリアガスを用いた場合の分離に最適な線速度に設定すると、分離度は改善されるものの注入口圧力が約 10 KPa と低くなり、安定した圧力制御が難しくなることが懸念されるため、窒素キャリアガスの場合には内径 0.32 mm カラムが適していると考えられます。

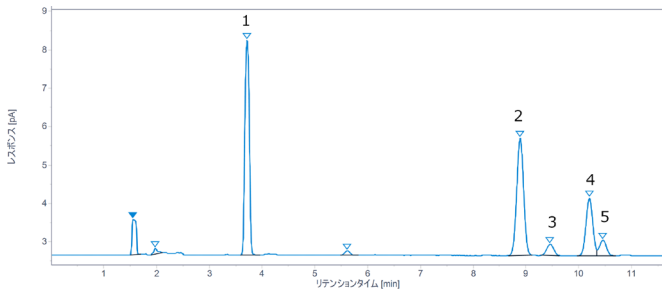


図 1. 操作法 A によるクラス 1 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム (内径 0.32 mm カラム)

1. 1,1-ジクロロエテン, 2. 1,1,1-トリクロロエタン, 3. 四塩化炭素, 4. ベンゼン, 5. 1,2-ジクロロエタン

表 2. 操作法 A によるクラス 1 標準液の非水溶性試料の 6 回連続測定結果

6 回測定平均					
	化合物	ピーク面積 (pA·s)	分離度	S/N	ピーク面積の相対標準偏差 (n=6) (%)
1	1,1-ジクロロエテン	32.0	13.2	250	1.3
2	1,1,1-トリクロロエタン	27.6	15.5	224	0.6
3	四塩化炭素	2.7	2.3	21	0.4
4	ベンゼン	13.4	3.0	128	0.4
5	1,2-ジクロロエタン	3.6	1.1	35	1.0

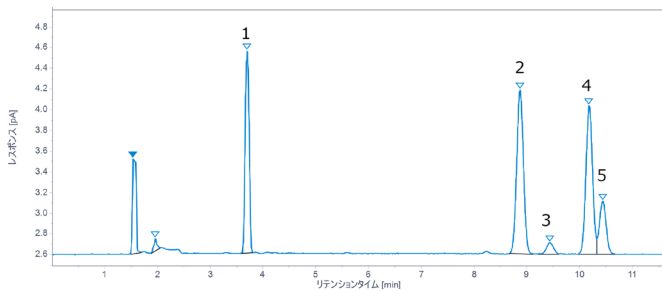


図 2. 操作法 A によるクラス 1 標準液の水溶性試料のクロマトグラム (内径 0.32 mm カラム)

表 3. 操作法 A によるクラス 1 標準液の水溶性試料の 6 回連続測定結果

6 回測定平均					
	化合物	ピーク面積 (pA·s)	分離度	S/N	ピーク面積の相対標準偏差 (n=6) (%)
1	1,1-ジクロロエテン	10.0	14.4	307	1.8
2	1,1,1-トリクロロエタン	13.7	26.9	194	2.2
3	四塩化炭素	1.0	2.4	14	1.1
4	ベンゼン	12.3	3.1	287	1.3
5	1,2-ジクロロエタン	4.5	1.1	103	0.8

## 2. 操作法 A によるクラス 2 の溶媒

図 3 にクラス 2A、図 4 にクラス 2B の非水溶性試料標準液のクロマトグラムを示しました。クラス 2A のアセトニトリルとジクロロメタンの分離度が 1.6 となり、薬局方のシステム適合性基準以上の分離度が得られました。水溶性試料の場合も分離度が 2.1 となり、クラス 2A、2B を問題なく測定できることを確認しました。

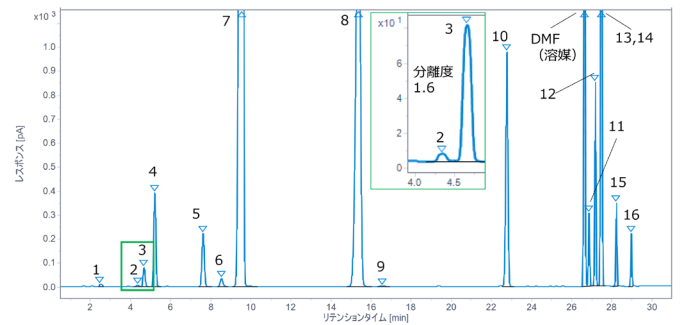


図 3. 操作法 A によるクラス 2A 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

1. メタノール, 2. アセトニトリル, 3. ジクロロメタン, 4. *trans*-1,2-ジクロロエテン, 5. *cis*-1,2-ジクロロエテン, 6. テトラヒドロフラン, 7. シクロヘキサン, 8. メチルシクロヘキサン, 9. 1,4-ジオキサン, 10. トルエン, 11. クロロベンゼン, 12. エチルベンゼン, 13. *m*-キシレン, 14. *p*-キシレン, 15. *o*-キシレン, 16. クメン

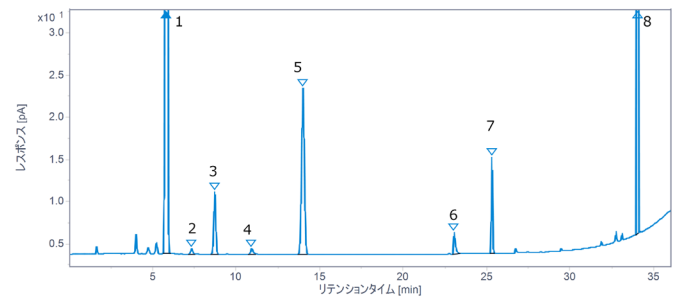


図 4. 操作法 A によるクラス 2B 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

1. ヘキサン, 2. ニトロメタン, 3. クロロホルム, 4. 1,2-ジメトキシエタン, 5. トリクロロエチレン, 6. ピリジン, 7. メチルプチルケトン, 8. テトラリン

### 3. 窒素キャリアガスによる操作法 B の測定

#### 3-1 方法

- 装置構成およびサンプル  
操作法 A による測定と同様の装置およびサンプルを使用しました。
- 測定条件  
操作法 B の測定条件を表 4 に示します。  
スプリット比は、薬局方に記載されているスプリット比を変更しました。

表 4. 窒素キャリアガスによる操作法 B の測定条件

Agilent 8697 HSS	
操作法 A と同様	
Agilent 8890 GC	
カラム	DB-WAX (30 m, 0.53 mm, 0.25 μm, p/n 125-7031) または DB-HeavyWAX (30 m, 0.32 mm, 0.25 μm, p/n 123-7132)
注入口温度	140 °C
スプリット比	1:3-1:20 (内径 0.32 mm カラムの場合は 1:5 以上を推奨)
カラム流量	平均線速度 35 cm/sec (内径 0.53 mm カラム 4.9 mL/min, 内径 0.32 mm カラム 2.2 mL/min) (窒素)
オープン温度	50 °C (20 min) -6 °C /min- 165 °C (20 min) (測定時間 59.2 min)
FID 温度	250 °C
H2 流量	30 mL/min
メークアップガス流量	30 mL/min (N2)
Air 流量	400 mL/min

#### 3-2 結果

- 操作法 B によるクラス 1 の溶媒  
図 5 に非水溶性試料のクラス 1 用標準液のクロマトグラムを示しました。四塩化炭素と 1,1,1-トリクロロエタンが共溶出するため全てのピークの S/N に余裕があり、ベンゼンのピークの S/N が 100 以上でした。S/N は peak to peak ノイズにより計算しました。ノイズ範囲はブランク測定のピーク周りの半値幅 20 倍の時間です。ただし、1,1-ジクロロエテンはエアピークの影響を受けるため、ノイズ範囲をピーク幅としました。また、6 回連続測定の結果、各ピークの面積 RSD が 1 % 以下となり、システム適合性基準を十分に満たす精度が得られました。

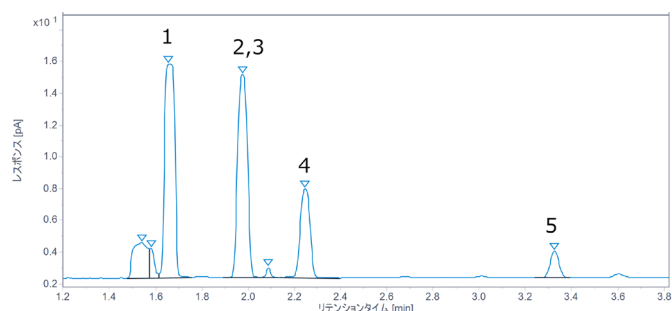


図 5. 操作法 B によるクラス 1 の標準液非水溶性試料のクロマトグラム (内径 0.53 mm カラム)

- 1,1-ジクロロエテン, 2. 1,1,1-トリクロロエタン, 3. 四塩化炭素, 4. ベンゼン, 5. 1,2-ジクロロエタン

表 5. 操作法 B によるクラス 1 の標準液非水溶性試料の 6 回連続測定結果

6 回測定平均				
	化合物	ピーク面積 (pA·s)	S/N	ピーク面積の相対標準偏差 (n=6) (%)
1	1,1-ジクロロエテン	40.8	69	1.0
2,3	1,1,1-トリクロロエタン & 四塩化炭素	37.4	220	0.7
4	ベンゼン	16.5	116	0.3
5	1,2-ジクロロエタン	2.7	253	0.4

- 操作法 B によるクラス 2 の溶媒

図 6 にカラム内径、スプリット比の違いによるクラス 2A 標準液のクロマトグラムを示しました。内径 0.32 mm カラムによる測定では、溶出の早い成分の分離度が著しく低下しました。キャリアガスの種類に関わらず、カラム内径を細くすると注入口トータル流量が減少し、また、カラム負荷量が減少するため、特に溶出の早いピークが広がる傾向がみられます。操作法 B では、ピークの S/N に余裕があるためスプリット比を上げることを検討しました。内径 0.32 mm のカラムではスプリット比を 1:20 に上げることでトータル流量が増加しカラムへの導入時間が短くなるとともに導入量が減少したためピークがシャープになり分離が改善されました。クラス 2B ではすべてのピークの感度、分離に余裕があるため、いずれの内径のカラム、スプリット比でも問題なく検出が可能でした。

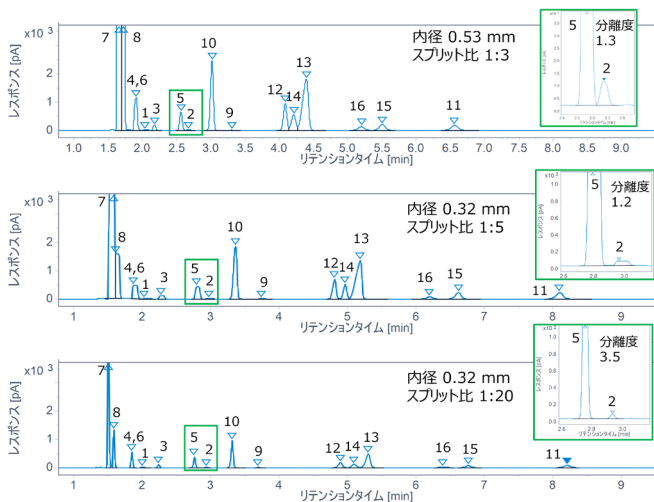


図 6. カラム内径、スプリット比の影響

操作法 B によるクラス 2A 標準液のクロマトグラム

1. メタノール, 2. アセトニトリル, 3. ジクロロメタン, 4. *trans*-1,2-ジクロロエテン,
5. *cis*-1,2-ジクロロエテン, 6. テトラヒドロフラン, 7. シクロヘキサン, 8. メチルシクロヘキサン, 9. 1,4-ジオキサン, 10. トルエン, 11. クロロベンゼン, 12. エチルベンゼン,
13. *m*-キシレン, 14. *p*-キシレン, 15. *o*-キシレン, 16. クメン

## 4. 水素キャリアガスによる操作法 A の測定

### 4-1 方法

1. 装置構成およびサンプル

窒素キャリアガスによる測定と同様の装置およびサンプルを使用しました。

2. 測定条件

水素キャリアガスは、薬局方の試験条件に記載されていませんが、できるだけ薬局方の条件を使用しました。

水素キャリアガスでカラム流量を 35 cm/sec に設定すると、内径 0.53 mm カラムでは初期注入圧力が約 10 kPa と非常に低く、圧力制御が不安定になる可能性があります。内径 0.32 mm カラムでは、初期注入圧力約 30 kPa と十分な圧力を維持できるため、内径 0.32 mm カラムが適していると考えられます。

Agilent 8697 HSS および Agilent 8890 GC

窒素キャリアガスと同様。

ただし、カラム流量は 1.8 mL/min (平均線速度 35 cm/sec)

### 4-2 結果

1. 操作法 A によるクラス 1 および 2 標準液の溶媒

図 7 に操作法 A によるクラス 1 および 2 標準液の非水溶性試料のクロマトグラムを示します。クラス 1 および 2 の溶媒について薬局方のシステム適合性基準と同等以上の分離度や S/N が得られました。S/N は peak to peak ノイズにより計算しました。ノイズ範囲はプランク測定のピーク周りの半値幅 20 倍の時間です。

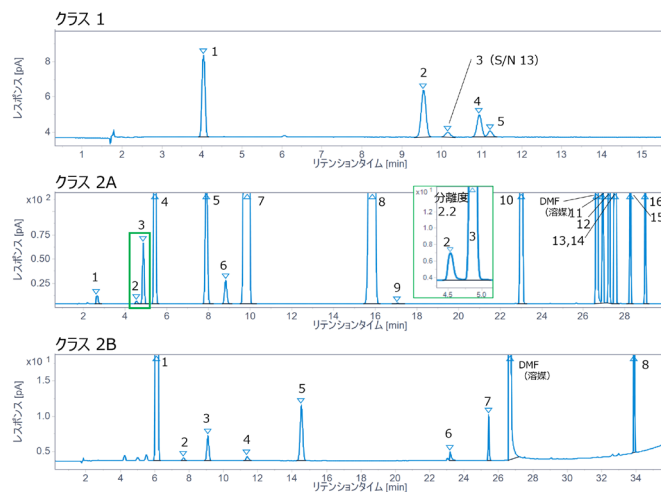


図 7. 操作法 A によるクラス 1 および 2 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

クラス 1

1. 1,1,1-ジクロロエタン, 2. 1,1,1-トリクロロエタン, 3. 四塩化炭素, 4. ベンゼン,
5. 1,2-ジクロロエタン

クラス 2A

1. メタノール, 2. アセトニトリル, 3. ジクロロメタン, 4. *trans*-1,2-ジクロロエテン,
5. *cis*-1,2-ジクロロエテン, 6. テトラヒドロフラン, 7. シクロヘキサン, 8. メチルシクロヘキサン, 9. 1,4-ジオキサン, 10. トルエン, 11. クロロベンゼン, 12. エチルベンゼン,
13. *m*-キシレン, 14. *p*-キシレン, 15. *o*-キシレン, 16. クメン

クラス 2B

1. ヘキサン, 2. ニトロメタン, 3. クロロホルム, 4. 1,2-ジメトキシエタン, 5. トリクロロエチレン, 6. ピリジン, 7. メチルプチルケトン, 8. テトラリン

## 5. 水素キャリアガスによる操作法 B の測定

### 5-1 方法

1. 装置構成およびサンプル

窒素キャリアガスによる測定と同様の装置およびサンプルを使用しました。

2. 測定条件

水素キャリアガスは、薬局方の試験条件に記載されていませんが、できるだけ薬局方の試験条件を使用して条件検討を行いました。

水素キャリアガスで内径 0.53 mm カラムを使用する場合、適した注入圧力を維持するのに必要なカラム流量は 65 cm/sec 以上でした。操作法 B では、特に溶出の早い成分がほとんどカラムに保持されず、分離度が低下するため、スプリット比を上げた条件が効果的でした。

Agilent 8697 HSS および Agilent 8890 GC

窒素キャリアガスと同様。

ただし、カラム流量は内径 0.32 mm カラムの場合 1.8 mL/min (平均線速度 35 cm/sec)、内径 0.53 mm カラムの場合 8.8 mL/min (同 65 cm/sec)。スプリット比 1 : 10。

## 5-2 結果

### 1. 操作法 B によるクラス 1 および 2 標準液の溶媒

図 8 に内径 0.53 mm カラムを用いて平均線速度 65 cm/sec、スプリット比 1:10 で測定した場合のクラス 1 および 2 標準液の非水溶性試料のクロマトグラムを示します。クラス 1 および 2 の溶媒について薬局方のシステム適合性基準と同等以上の分離度や S/N が得られました。S/N は peak to peak ノイズにより計算しました。ノイズ範囲はブランク測定のパーク周りの半値幅 20 倍の時間です。ただし、1,1-ジクロロエテンはエアピークの影響を受けるため、ノイズ範囲をピーク幅としました。

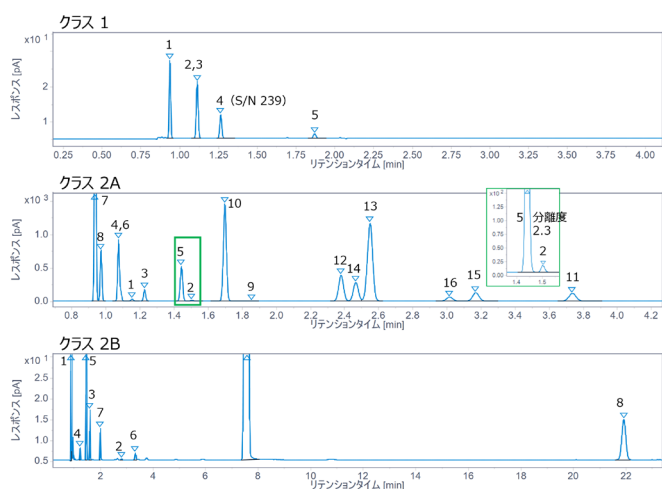


図 8. 操作法 B によるクラス 1 および 2 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム  
各ピーク番号は図 7 と同様。

表 6. 操作法 B によるクラス 1 の標準液非水溶性試料の 6 回連続測定結果

6 回測定平均				
	化合物	ピーク面積 (pA·s)	S/N	ピーク面積の相対標準偏差 (n=6) (%)
1	1,1-ジクロロエテン	14.5	67	2.5
2,3	1,1,1-トリクロロエタン & 四塩化炭素	13.9	205	2.1
4	ベンゼン	6.2	239	1.0
5	1,2-ジクロロエタン	1.7	12	1.2

## 6. おわりに

代替キャリアガスを用いて医薬品中残留溶媒の分析を行えるよう、条件検討を行いました。その結果、注入口圧力や分離の観点から、操作法 A で代替キャリアガスを用いる場合は内径 0.32 mm カラムによる測定が適すと考えられました。操作法 B ではスプリット比やカラム流量を調整することで内径 0.53 mm と 0.32 mm のいずれのカラムも使用可能でした。条件を最適化することで日本薬局方のシステム適合性基準と同等以上のレスポンスと再現性が得られました。なお、一部の項目については、日本薬局方に試験条件が記載されていないため、代替キャリアガスを使用する場合はバリデーションを取る必要があります。

## 参考文献

- 1) Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラー 8890 GC を用いた日本薬局方残留溶媒分析、アジレント・テクノロジー アプリケーションノート Pub No. 5994-6625JAJP
- 2) 第十八改正日本薬局方

本アプリケーションノートは研究用途にのみ使用できます。診断目的では使用できません。

※水素ガスの取り扱いについて 水素ガスは酸素との混合により引火爆発を起こしやすいガスです。水素 ガスは水素ガス供給源、ガスを導入する分析機器および途中配管を含めた使用環境、機器操作等に、使用者の責任において細心の注意の上で取り扱う必要があります。各 GC に関するより詳細な情報は、下記の技術概要をご確認ください。

技術概要：Agilent 8860 GC システムにおける水素の安全性（資料番号 5994-5419JAJP）

[Agilent 8860 GC システムにおける水素の安全性 \(chem-agilent.com\)](https://chem-agilent.com)

技術概要：Agilent 8890 GC システムにおける水素の安全性（資料番号 5994-5413JAJP）

[Agilent 8890 GC システムにおける水素の安全性 \(chem-agilent.com\)](https://chem-agilent.com)

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE70619923

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2023  
Printed in Japan, August 1, 2023  
5994-6639JAJP