

Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラ – 8890 GC を用いた日本薬局方の 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) を用いてヘリウム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。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 でシステム適合性を満たすことを確認しました。Agilent 8697 HSS-8890 GC は日本薬局方に準じた測定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で測定されています。本アプリケーションノートでは、日本薬局方の測定条件を基本として Agilent 8697 HSS- 8890 GC/FID による測定を行いましたので紹介いたします。

2. 操作法 A による測定

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

操作法 A の測定条件を表 1 に示します。

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. 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	VF-624ms (30 m, 0.53 mm, 3 μm, p/n CP9106)
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	4.9 mL/min (平均線速度 35 cm/sec) (ヘリウム)
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	40 mL/min
メークアップガス流量	50 mL/min (N2)
Air 流量	450 mL/min

2-1 結果

1. クラス 1 の溶媒

図 1、2 に非水溶性試料および水溶性試料のクラス 1 用標準液のクロマトグラムをそれぞれ示しました。いずれの試料も 1,1,1-トリクロロエタンのピークの S/N が 100 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。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 10 以上、各ピークの面積 RSD が 3.6 % 以下となり、システム適合性を満たしました。また、近接して溶出するベンゼンと 1,2-ジクロロエタンは分離度 1.2 程度でした。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。

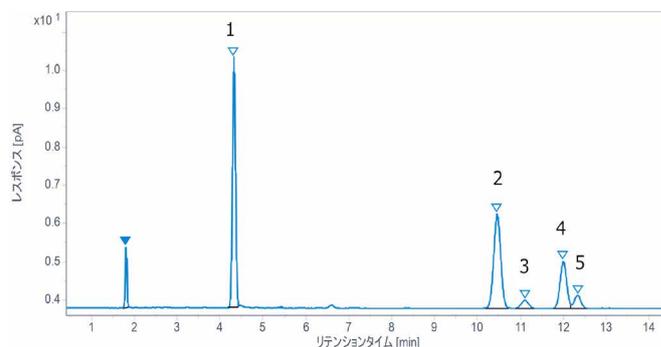


図 1. 操作法 A によるクラス 1 の標準液非水溶性試料のクロマトグラム

表 2. 操作法 A 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)	分離度	S/N	ピーク面積の相対標準偏差 (n=6) (%)
1	1,1-ジクロロエタン	32.4	21.8	197	2.7
2	1,1,1-トリクロロエタン	28.4	15.8	144	2.3
3	四塩化炭素	2.6	2.1	13	3.3
4	ベンゼン	13.5	3.0	73	1.7
5	1,2-ジクロロエタン	3.8	1.2	22	1.6

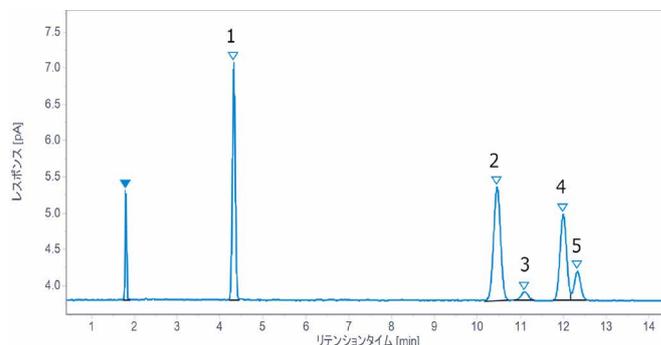


図 2. 操作法 A によるクラス 1 の標準液水溶性試料のクロマトグラム

表 3. 操作法 A によるクラス 1 の標準液水溶性試料の 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	14.9	27.5	302	1.5
2	1,1,1-トリクロロエタン	17.8	29.4	132	1.4
3	四塩化炭素	1.4	2.1	11	3.6
4	ベンゼン	12.8	3.1	110	1.5
5	1,2-ジクロロエタン	4.2	1.2	37	0.8

2. 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 3.1 となり、システム適合性を満たしました。水溶性試料の場合も分離度が 3 以上となり、クラス 2A、2B を問題なく測定できることを確認しました。

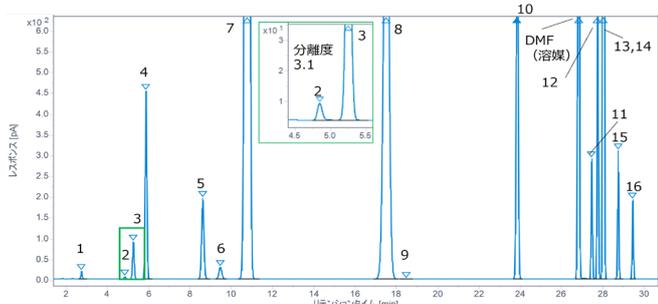


図 3. 操作法 A によるクラス 2A 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

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

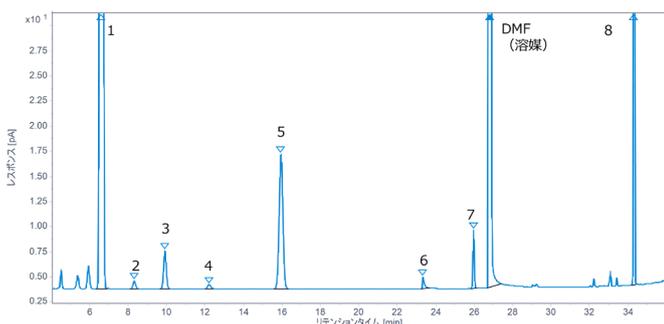


図 4. 操作法 A によるクラス 2B 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

- ヘキサン
- ニトロメタン
- クロロホルム
- 1,2-ジメトキシエタン
- トリクロロエチレン
- ピリジン
- メチルブチルケトン
- テトラリン

3. 操作法 B による測定

3-1 方法

1. 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。

2. 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、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 4. 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)
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	4.9 mL/min (平均線速度 35 cm/sec) (ヘリウム)
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	40 mL/min
メイクアップガス流量	50 mL/min (N2)
Air 流量	450 mL/min

3-2 結果

1. クラス 1 の溶媒

図 5、6 に非水溶性試料および水溶性試料のクラス 1 用標準液のクロマトグラムをそれぞれ示しました。いずれの試料もベンゼンのピークの S/N が 100 程度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。また、6 回連続測定の結果、各ピークの面積 RSD が 3 % 以下となり、システム適合性を満たしました。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。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、ノイズ範囲をブランク測定のピーク幅の時間としました。

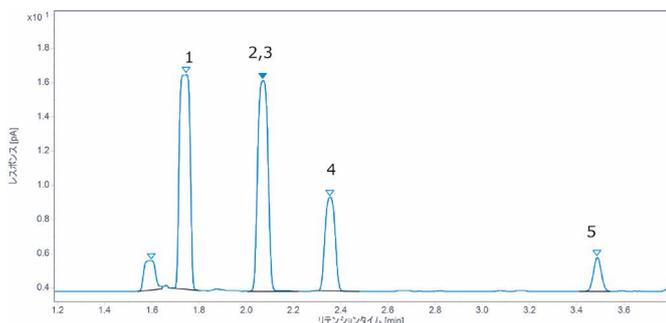


図 5. 操作法 B によるクラス 1 の標準液非水溶性試料のクロマトグラム

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	39.3	13	1.6
2,3	1,1,1-トリクロロエタン & 四塩化炭素	37.2	15	0.8
4	ベンゼン	16.2	97	0.7
5	1,2-ジクロロエタン	4.6	165	0.6

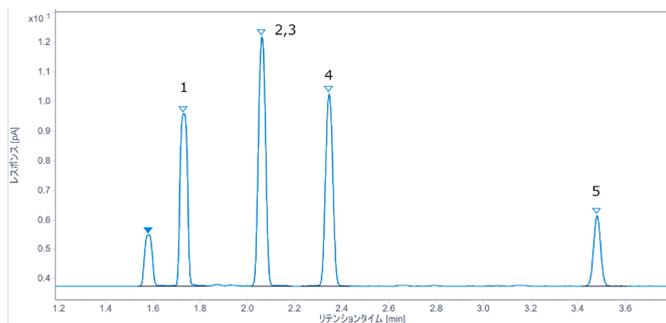


図 6. 操作法 B によるクラス 1 の標準液水溶性試料のクロマトグラム

表 6. 操作法 B によるクラス 1 の標準液水溶性試料の 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	12.1	6	2.3
2,3	1,1,1-トリクロロエタン & 四塩化炭素	17.3	360	2.2
4	ベンゼン	13.6	452	1.2
5	1,2-ジクロロエタン	5.0	208	1.1

2. クラス 2 の溶媒

図 7 にクラス 2A、図 8 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 *cis*-1,2-ジクロロエテンとアセトニトリルの分離度が 1.3 となり、システム適合性を満たしました。

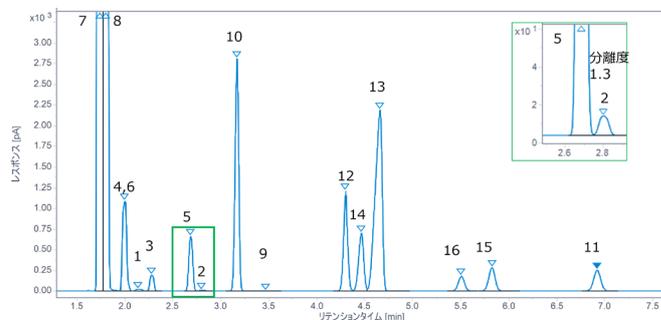


図 7. 操作法 B によるクラス 2A 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

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

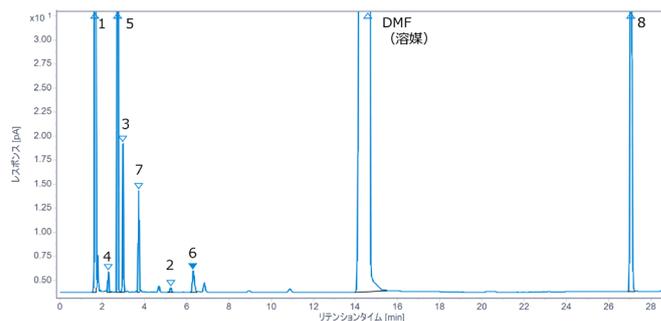


図 8. 操作法 A によるクラス 2B 標準液の非水溶性試料のクロマトグラム

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. メチルブチルケトン, 8. テトラリン

4. おわりに

Agilent 8697 HSS と 8890 GC/FID を用いて残留溶媒の分析を行いました。その結果、日本薬局方のシステム適合性を満たす十分な S/N、分離度と再現性が得られました。

参考

- 1) 第十八改正日本薬局方

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

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。

DE42121788

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, July 28, 2023
5994-6625JAJP