

# 水希釈及び塩析効果によるヘッドスペースガスクロマトグラフィーの高感度化の検討と医薬品残留溶媒分析への応用

長井 裕美\*

(1992 年 4 月 17 日受理)

ヘッドスペース GC における検出感度は測定成分の蒸気圧に比例する。蒸気圧に関係するパラメーターの一つに活量係数があり、これは保温温度、溶媒組成、共存成分の組成などにより変化する。従って、分析試料の前処理として溶媒組成を変えたり塩析効果の利用により、測定成分の活量係数を高め、その結果として検出感度を向上させることができる。本研究において、1 ppm 標準溶液（溶媒: *N,N*-ジメチルホルムアミド）を用いて、20 種類の有機溶剤に対する、水及び塩の添加による感度向上を検討した。その結果を顆粒剤及び錠剤医薬品の残留溶媒分析に応用した。

## 1 緒 言

スタティックヘッドスペース法は、試料中の低沸点揮発成分の分析法として有効な方法である。この方法は、試料を密封し気液平衡下においてその気相の一定量を GC に導入するため、各成分の検出感度は、気相中の分圧すなわち蒸気圧に比例する。一定容量の容器に一定量の試料を封入したとき、試料中の成分 A の蒸気圧  $P_A$  は、 $P_A^0$ : 成分 A の純物質状態における蒸気圧、 $X_A$ : 試料中の成分 A の濃度、 $\gamma_A$ : 試料中の成分 A の活量係数、として、次の式で表される。

$$P_A = P_A^0 X_A \gamma_A$$

ここで、 $P_A^0$  は平衡時の温度で決まる値である。ところが、 $\gamma_A$  は温度だけでなく、試料溶媒の組成、他の共存成分の種類や量など様々なパラメーターによって変化する。

そこで、溶媒の組成を変えたり塩析効果を用いて活量係数 ( $\gamma_A$ ) を増大させれば、蒸気圧 ( $P_A$ ) が大きくなり、その結果としてヘッドスペース法における感度の向上が期待できる。

既報<sup>1)</sup>において、活量係数の増大による感度向上を酒類の香気成分について検討した結果、溶媒に水を添加したり、適当な無機塩を加えることにより、各香気成分の

感度向上が得られるという知見を得た。この研究においては、主にエステル類及びアルコール類について検討した。

一方、医薬品残留溶媒分析も食品香気成分分析と並んでヘッドスペース法が広く用いられており、一般的には、固体医薬品試料をなんらかの溶剤に溶解又は懸濁させたものを密封し、気液平衡下においてその気相を分析している<sup>2)~4)</sup>。そこで、本研究において、種々の有機溶剤についての水の添加と塩析効果を調べ、その結果を医薬品残留溶媒分析に応用した。

## 2 分析条件

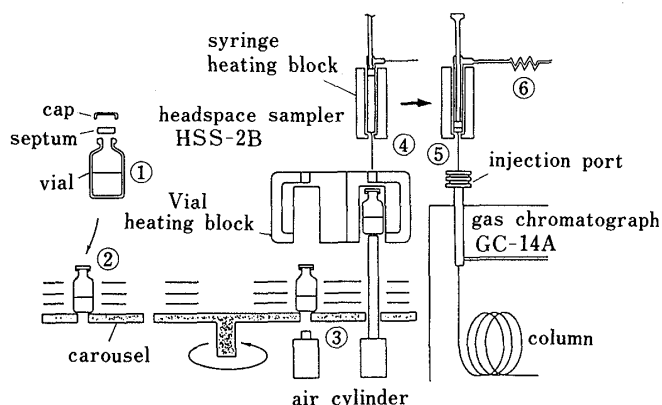
分析装置として、島津全自動ヘッドスペースガス分析システム HSS-2B+GC-14A を用いた。装置の概要を Fig. 1 に示す。試料を 20 ml 容バイアル（耐圧性: 最大 5 気圧）に封入 (①) し、HSS-2B のターンテーブルにセットする (②)。試料の保温条件や分析カラムの昇温条件などをデータ処理装置 (C-R4A) から入力すれば、その後は全自動で試料の保温、ヘッドスペースガスのサンプリング、及び GC 分析を行う。なお、ヘッドスペースガスのサンプリングの前後に⑥のラインから、不活性ガスでシリンジ内をパージすることにより、クロスコンタミネーションを除去した。

分析条件は以下のとおりである。

試料保温条件: 100°C, 30 分

ガスタイトシリンジ保温温度: 120°C

\* (株)島津製作所応用技術部京都分析センター: 604 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1



**Fig. 1** Schematic diagram of headspace analysis system (HSS-2B+GC-14A)

ヘッドスペースガスサンプリング量: 0.8 ml

GC 分離カラム: 溶融シリカキャピラリーカラム

CBJWAX-W30-100 (PEG-20 M 相当,

長さ 30 m, 内径 0.53 mm, 膜厚 1  $\mu$ m)

カラム温度: 45°C (5 min)  $\rightarrow$  190°C at 10°C/min

キャリアガス: He 4.8 ml/min

スプリット比: 1 : 3.2

### 3 検討用試料

代表的な有機溶剤を 20 種類選択し, 各々 1 ppm の標準溶液を調製して, 検討用試料とした。検討した有機溶剤を同族体ごとにまとめて Table 1 に示す。なお, 溶媒には, 医薬品残留溶媒分析において溶媒としてしばしば用いられている *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) を用いた<sup>2)</sup>。

**Table 1** Organic components of standard solutions (1 ppm each)

Alcohols	methanol, ethanol, 2-propanol, isobutanol 1-butanol
Esters	ethyl acetate, isobutyl acetate
Ketones	acetone, methyl ethyl ketone, methyl isobutyl ketone
Ethers	diethyl ether, isopropyl ether, THF
Paraffins	hexane, heptane
Aromatics	toluene, <i>p</i> -xylene, <i>o</i> -xylene
Chlorinated hydrocarbons	methylene chloride, chloroform

Solvent: *N,N*-dimethylformamide

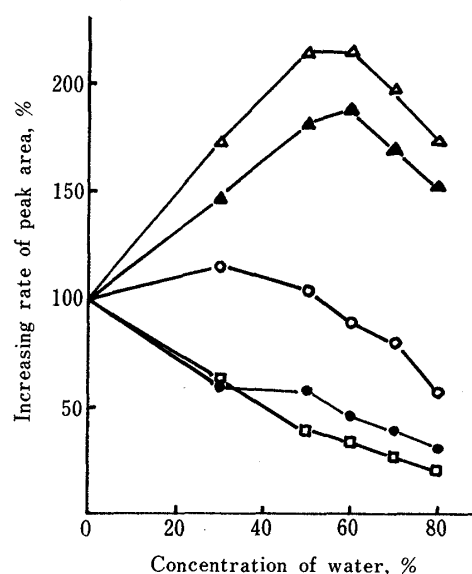
### 4 溶媒組成 (水の添加)

酒類の香気成分分析<sup>1)</sup>において, 溶媒組成の検討で劇的な効果がみられたのが水である。特にエステル類において顕著であった。そこで, 上記検討用試料を水で段階的に希釈したものをそれぞれ 2 ml ずつバイアル瓶に封入し, 同様に保温分析して, 各成分のピーク面積を比較した。Fig. 2 は, アルコール類を例にとり, 水を添加しない試料の各成分のピーク面積をそれぞれ 100 とし, 20~80% の割合で水を添加し希釈した試料のピーク面積の変化率をプロットしたものである。

仮に水が活量係数に全く影響を与えないとすると, ピーク面積は試料中のモル濃度に比例するから, 水による試料希釈度に比例してピーク面積は減少するはずである。メタノールがこの仮定にほぼ近い挙動を示している。

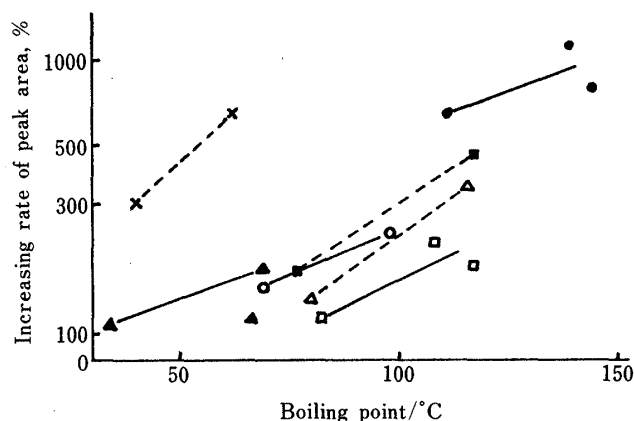
しかしながら, 他の成分については, そのピーク面積の減少はモル濃度の減少に比例しないばかりか, 逆に増大する成分もある。すなわち, 水による活量係数の増大がモル濃度の低下に打ち勝って感度の向上が認められる。その効果は沸点の高いものほど顕著であることが分かる。なお, 他の同族体においても同様の傾向が認められた。

従って, 異種グループ間の効果の違いを比較するためにはその沸点を考慮する必要がある。Fig. 3 は横軸に各



**Fig. 2** Effect of water on sensitivity for alcohols

□: methanol; ●: ethanol; ○: 2-propanol; ▲: 1-butanol; △: isobutanol



**Fig. 3** Effect of water on sensitivity for various organic components

□: alcohols; ■: esters; △: ketones; ○: paraffins;  
●: aromatics; ×: chlorinated hydrocarbons; ▲: ethers

成分の沸点を、縦軸に水添加によるピーク面積増加率の最大値をプロットし、同族体同士を直線で結んだものである（縦軸は対数目盛り）。

Fig. 3 より、塩素系炭化水素及び芳香族炭化水素において特に顕著な結果が得られていることが分かる。逆にエーテル類やアルコール類については比較的效果は小さい。すなわち疎水性の高いものほど効果的であると言える。

## 5 塩析効果

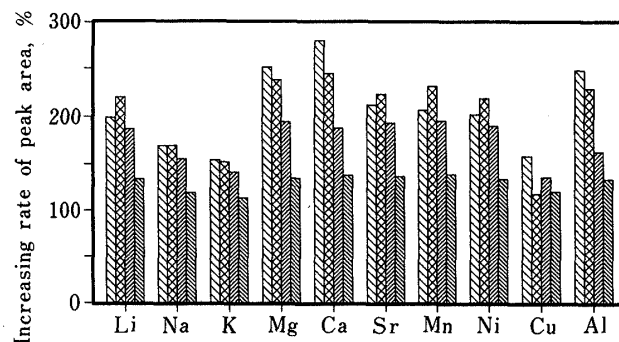
次に共存成分の影響の検討として、各種イオンの塩析効果を検討した。

### 5.1 陽イオン

実験として、検討用試料 0.8 ml に蒸留水又は各種陽イオン塩化物の飽和水溶液（又は濃厚水溶液）1.2 ml を加えてバイアル瓶に封入し、同様に保温分析した。

各陽イオンの塩析効果を、蒸留水を添加したもの（Fig. 2 における水 60% の試料に相当する）のピーク面積を 100 として比較した。塩析効果においても、水の添加と同様、同族体では沸点の高いものほど効果が高くなる傾向が認められた。そのうち、沸点 110°C 前後の 4 成分について各陽イオンの塩析効果をプロットしたものが Fig. 4 である。

イオンの中で特に効果的なものは、マグネシウム、カルシウム及びアルミニウムなどであり、沸点の高いアルコール類及びケトン類では、2.5 倍近くの感度向上が認



**Fig. 4** Effect of salting out of cations on sensitivity for some organic components

▨: 1-butanol; ▩: methyl isobutyl ketone; ▤: isobutyl acetate; ▥: toluene

められている。これらの陽イオンは、他の成分に対して、相対的に効果が高かった。

### 5.2 陰イオン

陽イオンと同様の実験を陰イオンのナトリウム塩（又はカリウム塩）について行った。

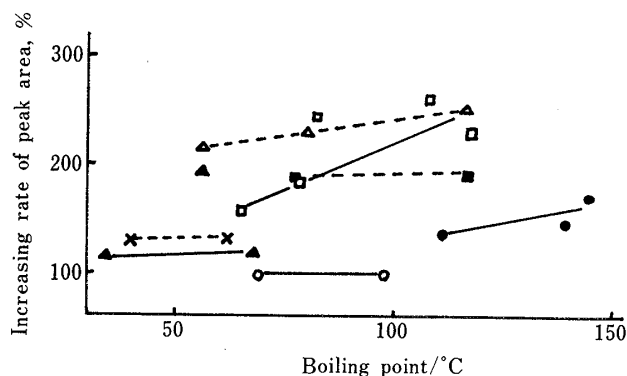
その結果、塩によってその効果に多少の違いは認められた。硝酸イオン ( $\text{NaNO}_3$ ) 及び亜硝酸イオン ( $\text{NaNO}_2$ ) が塩化物イオン ( $\text{KCl}$ ) よりもわずかに効果が高かった。しかしながら、Fig. 4 の陽イオンと比較すると陰イオンでは目立った効果はみられなかった。

### 5.3 塩析効果の評価

各種陽イオン及び陰イオンの検討結果から、更に塩化カルシウム、硝酸カルシウム、塩化マグネシウム及び硝酸マグネシウムについて同様の実験を行い、その効果を比較したがカルシウム塩もマグネシウム塩も塩化物塩のほうが硝酸塩を上回った。

そこで最終評価として、ナトリウム、カルシウム、マグネシウム及びアルミニウム塩についてその塩析効果の濃度依存性を調べた結果、最も効果の大きかったのはカルシウム塩であった。塩析効果は塩化カルシウムの濃度に依存して大きくなるが、4 M から 5 M にかけて効果の上昇は鈍くなった。

Fig. 5 は異種グループ間の効果を比較するために、塩化カルシウム 5 M を添加したときの各成分の塩析効果と沸点の関係をプロットしたものである。ケトン類、エステル類及びアルコール類に対して効果が大きいことが分かる。逆にパラフィン類に対してはほとんど効果はない。



**Fig. 5** Effect of salting out of calcium chloride on sensitivity for various organic components

□: alcohols; ■: esters; △: ketones; ○: paraffins; ●: aromatics; ×: chlorinated hydrocarbons; ▲: ethers

## 6 医薬品残留溶媒分析への応用

### 6.1 顆粒剤

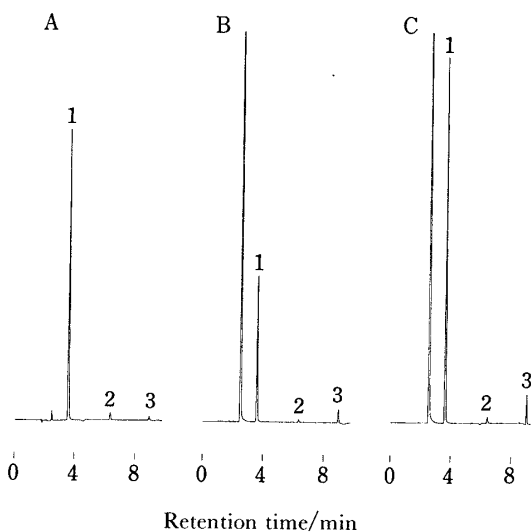
市販顆粒剤の分析例を Fig. 6 に示す。(A) は顆粒剤 0.2 g 及び DMF 1 ml をバイアル瓶に封入し、加温 (約 60°C) と振り混ぜを繰り返して懸濁液にしたもの、(B) は (A) に水 1.5 ml を添加したもの、(C) は (A) に 5 M 塩化カルシウム水溶液 1.5 ml を添加したものをそれぞれバイアル瓶に封入し、2 の条件で保温分析したものである (これらのクロマトグラムは、島津データ処理装置クロマトパック C-R4A によるベースライン補正処理を行っている)。

アセトン、エタノール及びトルエンが検出されている。アセトンは水の添加によって感度が 0.5 倍に減少している (A→B) が、塩析効果により感度は 2.5 倍になり (B→C)、最終的に塩化カルシウム水溶液の添加によって 1.2 倍の感度向上が認められる (A→C)。

又、トルエンについては、水の添加で 3.4 倍、更に塩析効果で 1.5 倍となり最終的に 4.9 倍の感度向上となる。なお、この条件下で標準添加法によるトルエンの定量値は 1.8 ppm であった。

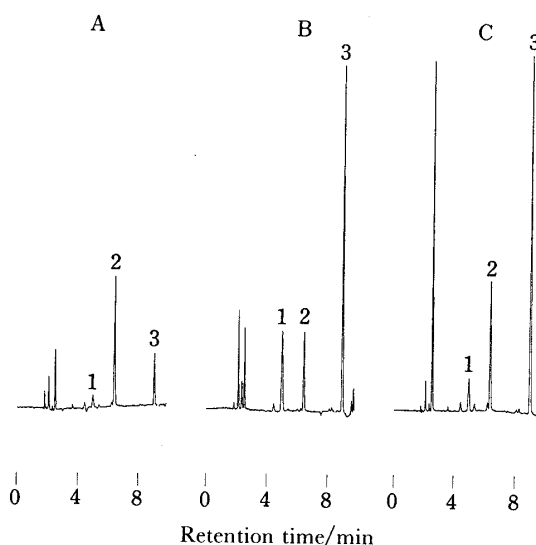
### 6.2 錠剤

錠剤の分析例を Fig. 7 に示す。錠剤 1 個 (0.2 g) を用いて Fig. 6 の顆粒剤と同様の実験を行った。水の添加により酢酸エチルの感度は 5.1 倍、トルエンについては 7.2 倍の感度上昇という結果が得られている。しかしこの試料のこれら 2 成分については、塩化カルシウムによる塩析効果は認められない。



**Fig. 6** Analysis of residual solvents in granular medicine

A: sample 0.2 g+DMF 1 ml; B: A+water 1.5 ml; C: A+5 M of  $\text{CaCl}_2$  water solution 1.5 ml; 1: acetone, 2: ethanol, 3: toluene



**Fig. 7** Analysis of residual solvents in tablet medicines

A: sample 0.2 g+DMF 1 ml; B: A+water 1.5 ml; C: A+5 M of  $\text{CaCl}_2$  water solution 1.5 ml; 1: ethylacetate, 2: ethanol, 3: toluene

これらのデータに見られるように、実試料の場合は複雑な組成をもつために、標準溶液で得られた結果と全く同様の効果を予想することは難しい。しかしながら、実試料においても、水の添加や塩析効果により感度を向上

させることができること、又標準試料による検討結果がその指針となることが分かった。

(1991 年 5 月, 第 52 回分析化学)  
(討論会にて一部発表)

#### 文 献

1) 長井裕美: 日本食品工業学会誌, **39**, 264 (1992).

- 2) 矢谷幸三, 清水禮治, 上野政一, 松尾賢明, 綱川延孝, 村山 晋, 堀内幸生: 医薬品研究, **21**, 125 (1990).
- 3) J. P. Guimbard, M. Person, J. P. Vergnaud: *J. Chromatogr.*, **403**, 109 (1987).
- 4) C. B'Hymer: *J. Chromatogr.*, **438**, 103 (1988).



**Improved sensitivity of headspace gas chromatography and its application to residual solvents analysis of medicines.** Yumi NAGAI (Kyoto Analytical Application Center, Shimadzu Corporation, 1, Nishinokyo, Kuwabara-cho, Nakagyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 604)

The sensitivity of headspace gas chromatography depends on the vapor pressure of the object component, and the vapor pressure depends on several parameters. One of these is the active coefficient which is influenced by solvent composition and coexisting components (*e.g.* salting effect). Improved sensitivity for various organic components in standard solution was investigated by dilution with water and salting effect, and applied to the analysis of residual solvents in medicines. Generally, sensitivity was highest when a 1.5 times volume of water was added to the standard solution using the salting effect with calcium chloride. In the case of a tablet in DMF solution, the peak area of toluene from a 1 ml sample with 1.5 ml of calcium chloride water solution (5 M) is 6.8 times larger than that from a sample without calcium chloride water solution.

(Received April 17, 1992)

#### **Keyword phrases**

improved sensitivity of headspace gas chromatography; active coefficient; residual solvents analysis of medicines.