

2.02 ガスクロマトグラフィー

次のように改める。

ガスクロマトグラフィーは、適当な固定相を用いて作られたカラムに、試料混合物を注入し、移動相として気体(キャリアーガス)を用い、固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、気体試料又は気化できる試料に適用でき、物質の確認、純度の試験又は定量などに用いる。

1. 装置

通例、キャリアーガス導入部及び流量制御装置、試料導入装置、カラム、カラム恒温槽、検出器及び記録装置からなり、必要ならば燃焼ガス、助燃ガス及び付加ガスなどの導入装置並びに流量制御装置、ヘッドスペース用試料導入装置などを用いる。キャリアーガス導入部及び流量制御装置は、キャリアーガスを一定流量でカラムに送るもので、通例、調圧弁、流量調節弁及び圧力計などで構成される。試料導入装置は、一定量の試料を正確に再現性よくキャリアーガス流路中に導入するための装置で、充填カラム用とキャピラリーカラム用がある。なお、キャピラリーカラム用試料導入装置には、分割導入方式と非分割導入方式の装置がある。通例、カラムは、充填カラム及びキャピラリーカラムの2種類に分けられる。充填カラムは、一定の大きさにそろえたガスクロマトグラフィー用充填剤を不活性な金属、ガラス又は合成樹脂などの管に均一に充填したものである。なお、充填カラムのうち、内径が1 mm以下のものは、充填キャピラリーカラム(マイクロパックドカラム)ともいう。キャピラリーカラムは、不活性な金属、ガラス、石英又は合成樹脂などの管の内面にガスクロマトグラフィー用の固定相を保持させた中空構造のものである。カラム恒温槽は、必要な長さのカラムを収容できる容積があり、カラム温度を一定の温度に保つための温度制御機構を持つものである。検出器は、カラムで分離された成分を検出するもので、アルカリ熱イオン化検出器、炎光光度検出器、質量分析計、水素炎イオン化検出器、電子捕獲検出器、熱伝導度検出器などがある。記録装置は検出器により得られる信号の強さを記録するものである。

2. 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。装置をあらかじめ調整した後、医薬品各条に規定する試験条件の検出器、カラム及びキャリアーガスを用い、キャリアーガスを一定流量で流し、カラムを規定の温度で平衡にした後、医薬品各条に規定する量の試料溶液又は標準溶液を試料導入装置を用いて系内に注入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置を用いてクロマトグラムとして記録させる。

3. 確認及び純度の試験

本法を確認試験に用いる場合、試料の被検成分と標準被検成分の保持時間が一致すること又は試料に標準被検試料を添加しても、試料の被検成分のピークの形状が崩れないことを確認する。

本法を純度試験に用いる場合、通例、試料中の混在物の限度に対応する濃度の標準溶液を用いる方法、又は面積百分率法により試験を行う。別に規定するもののほか、試料の異性体比は面積百分率法により求める。

面積百分率法は、クロマトグラム上に得られた各成分のピー

ク面積の総和を100とし、それに対するそれぞれの成分のピーク面積の比から組成比を求める。ただし、正確な組成比を得るためには、混在物の主成分に対する感度係数によるピーク面積の補正を行う。

4. 定量

通例、内標準法によるが、適当な内標準物質が得られない場合は絶対検量線法による。定量結果に対して被検成分以外の成分の影響が無視できない場合は標準添加法による。

4.1. 内標準法

内標準法においては、一般に、被検成分になるべく近い保持時間を持ち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質を内標準物質として選ぶ。医薬品各条に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検試料を段階的に加えて数種の標準溶液を調製する。この一定量ずつを注入して得られたクロマトグラムから、内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又は内標準物質量に対する標準被検成分量の比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で同量の内標準物質を加えた試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求め、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。

4.2. 絶対検量線法

標準被検試料を段階的にとり、標準溶液を調製し、この一定量ずつを正確に再現性よく注入する。得られたクロマトグラムから縦軸に標準被検成分のピーク面積又はピーク高さ、横軸に標準被検成分量をとって、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で試料溶液を調製する。次に検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積又はピーク高さを測定し、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。この方法は全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。

4.3. 標準添加法

試料の溶液から4個以上の一定量の液を正確にとる。このうちの1個を除き、採取した液に被検成分の標準溶液を被検成分の濃度が段階的に異なるように正確に加える。これらの液及び先に除いた1個の液をそれぞれ正確に一定量に希釈し、それぞれ試料溶液とする。この液の一定量ずつを正確に再現性よく注入して得られたクロマトグラムから、それぞれのピーク面積又はピーク高さを求める。それぞれの試料溶液に加えられた被検成分の濃度を算出し、横軸に標準溶液の添加による被検成分の増加量、縦軸にピーク面積又はピーク高さをとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から被検成分量を求める。なお、本法は、

107 絶対検量線法で被検成分の検量線を作成するとき、検量線が、
108 原点を通る直線であるときに適用できる。また、全測定操作を
109 厳密に一定の条件に保って行う。

110 5. ピーク測定法

111 通例、次の方法を用いる。

112 5.1. ピーク高さ測定法

113 (i) ピーク高さ法：ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろし
114 た垂線とピークの両裾を結ぶ接線(基線)との交点から頂点まで
115 の長さを測定する。

116 (ii) 自動ピーク高さ法：検出器からの信号をデータ処理装置
117 を用いてピーク高さとして測定する。

118 5.2. ピーク面積測定法

119 (i) 半値幅法：ピーク高さの midpoint におけるピーク幅にピーク
120 高さを乗じる。

121 (ii) 自動積分法：検出器からの信号をデータ処理装置を用い
122 てピーク面積として測定する。

123 6. システム適合性

124 液体クロマトグラフィー〈2.01〉のシステム適合性の規定を
125 準用する。

126 7. 試験条件の変更に関する留意事項

127 医薬品各条の試験条件のうち、固定相の濃度及びキャリアー
128 ガスの種類は、適切に分析性能の検証を行ったうえで一部変更
129 できる。また、ヘッドスペース用試料導入装置及びその操作条
130 件は、規定の方法以上の真度及び精度が得られる範囲内で変更
131 できる。それ以外の試験条件の変更はクロマトグラフィー総論
132 〈2.00〉に記載されているクロマトグラフィー条件の調整の内
133 容に従う。

134 8. 注意

135 標準被検試料、内標準物質、試験に用いる試薬及び試液は測
136 定の妨げとなる物質を含まないものを用いる。

137