

Agilent 8860 GC と水素炎イオン化検出器 (FID) による手指消毒剤の分析

著者

Jie Zhang
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、エタノールおよびイソプロパノールベースの手指消毒剤の分析を紹介します。Agilent J&W DB-WAX カラムを用いて、クロマトグラフィー分離能とピーク形状を最適化しました。検出には、水素炎イオン化検出器 (FID) を用いました。定量分析では、米国薬局方 (USP) <611> メソッドの推奨事項に従って内部標準溶液 (IS) を使用しました。ピークテーリングファクター、内部標準に対するアルコール分離度、および定量の再現性の観点から機器の適合性を調査しました。

はじめに

エタノールおよびイソプロピルアルコール（IPA）は手指消毒剤中の主要有効成分です。有効性を維持するために、エタノールおよびイソプロピルアルコール（IPA）の濃度を適切な範囲にする必要があります。これは通常、消毒剤容器のラベル表示のように 65 ～ 75 % です。消毒剤の製品中には、他のアルコールも不純物として、あるいは偽造製品を製造するための不適切な添加物として存在する可能性があります。正しいアルコールを適切な濃度で測定することが重要になります。ガスクロマトグラフィー（GC）は、アルコール濃度測定用に USP が推奨する手法の 1 つです。GC は、アルコールの同定を検証するためのリテンションタイム情報も提供できるため、消毒剤が汚染されていないことを確認できます。また、定性および定量分析機能を備えており、消毒剤の品質管理において重要な役割を果たします。

USP <611>¹ や ASTM D3695² のようなアルコール測定用メソッドでは、アルコール成分の適切な分離とレスポンスを実現するために、中極性または極性カラムを推奨しています。以前の研究³より、Agilent J&W DB-Wax または Agilent DB-624 ウルトライナートカラムを用いることで、アルコールに対してよりシャープで対称性の高いピーク形状が得られます。アルコールの検出には FID が推奨されています。これは、使いやすく、またサンプル前処理プロセス時にアルコールを希釈した後、テスト濃度範囲内で安定した適切なレスポンスを生成できるためです。この研究では、Agilent 8860 GC と FID を組み合わせたシステムで Agilent DB-Wax ウルトライナートカラムを使用することにより、アルコール分析を実施しました。

リテンションタイム再現性、ピーク分離度、ピークテーリングファクター、および定量精度の観点から、システム性能を評価しました。この評価により、消毒剤中のアルコール分析において、Agilent 8860 GC/FID システムと Agilent ウルトライナートカラムを組み合わせた際の適合性について示しました。

実験方法

Agilent 8860 GC は、スプリット/スプリットレス注入口と FID を搭載し、Agilent 7693A オートサンプラ（ALS）と 5 µL シリンジを使用して、液体サンプルを注入しました。分析パラメータを表 1 に示します。

試薬および標準試料の調製

アルコール溶媒とアセトニトリルは、ANPEL Scientific Instrument（上海）から購入しました。グリセリン実用標準溶液は、58.4 mg のグリセリン（約 50 µL）を計量し、蒸留水で希釈して 1 mL に調製しました。グリセリン実用標準溶液の算出された体積濃度は 4.6 %（v/v）でした。アルコール標準溶液は、少量の純アルコールまたはその実用標準溶液を蒸留水に加えて最終的に 1 mL の量に調製しました。エタノール、IPA、グリセリンは、グループ

1 のキャリブレーション溶液です。エタノールと IPA のキャリブレーション範囲は 1 ～ 4 %（v/v）です。グリセリン濃度は 0.01 ～ 0.18 %（v/v）です。メタノールと *n*-プロパノール（*n*-PA）は、グループ 2 のキャリブレーション溶液に調製しました。メタノールのキャリブレーション範囲は 1 ～ 4 %（v/v）で、*n*-プロパノールのキャリブレーション範囲は 0.1 ～ 1.5 %（v/v）でした。内部標準（IS）アセトニトリル（ACN）を、濃度 5 %（v/v）のキャリブレーション溶液に加えました。表 2 に示すようにキャリブレーション溶液を調製しました。25 µL のエタノール、25 µL の IPA、および 50 µL のアセトニトリルを蒸留水に希釈して 1 mL にすることにより、QC サンプルを調製しました。

消毒剤ゲルサンプルは液体に直接注入するには粘性が高すぎたため、注入前に Agilent 7693A オートサンプラで希釈する必要がありました。このため、実際のサンプルと標準溶液を溶媒希釈により調製しています。1 mL のガスタイトシリンジを用いて、50 µL の消毒剤サンプルをフラスコに分注しました。次に、50 µL のアセトニトリルを IS に加え、サンプルを蒸留水で 1 mL に希釈してから分析を実施しました。

表 1. Agilent 8860 GC-FID の分析パラメータ

Agilent 8860 GC パラメータ	
S/SL 注入口	250 °C、スプリット比 20:1
注入量	0.2 µL
キャリアガス	He
カラム流量	7 mL/min、定流量モード
オープン	50 °C（5 分間保持）、30 °C /min で 230 °C まで加熱（3 分間保持）
FID	250 °C、空気：400 mL/min、燃料ガス（H ₂ ）：30 mL/min、定メークアップ（N ₂ ）：18 mL/min
カラム	Agilent J&W DB-WAX UI、30 m、530 µm、1 µm（p/n 125-7032UI）
注入口ライナ	Agilent ウルトライナート、低圧力損失、ガラスウール入り（p/n 5190-2295）

結果と考察

このアプリケーションノートでは、消毒剤中の主要なアルコール成分と、存在する可能性のあるメタノール汚染物質の分析に注目しました。標準溶液中には、5 種類のアルコールが含まれていました。これらは、メタノール、エタノール、IPA、*n*-プロパノール、グリセリンでした。この中で、エタノール、IPA、*n*-プロパノールの濃度は通常、ラベルに表示されています。その理由は、これらのアルコールがウイルス除去の効果に密接に関連しているためです。実際のサンプルでグリセリンとその他の種類のアルコールは検出できますが、これらのアルコールに対して、メーカーはラベルに特定の濃度は表示していません。標準溶液にグリセリンを含める目的は、今回のシステムがいかに適切なピークを生成して、グリセリンのような溶出が遅く粘性の高いアルコールを適切に検出できるかを示すためです。

ウルトラライナート DB-WAX カラムにおいて、濃度範囲が 1.0 ~ 4 % (v/v) の成分を含む水溶液中の 5 種類のアルコールと 1 種類の内部標準を分離しました。このサンプルは、グリセリン実用標準を含む、グループ 1 とグループ 2 の中レベル濃度の標準溶液の混合

表 2. アルコール標準溶液の調製

	グループ 1 標準溶液			グループ 2 標準溶液	
レベル番号	エタノール (μL)	IPA (μL)	グリセリン実用標準溶液 (μL)	メタノール (μL)	n-プロパノール (μL)
1	40 (4.0%)	10 (1.0%)	2 (0.0092%)	49 (4.9%)	1 (0.1%)
2	35 (3.5%)	15 (1.5%)	5 (0.023%)	45 (4.5%)	5 (0.5%)
3	30 (3.0%)	20 (2.0%)	10 (0.046%)	40 (4.0%)	10 (1.0%)
4	25 (2.5%)	25 (2.5%)	20 (0.092%)	35 (3.5%)	15 (1.5%)
5	20 (2.0%)	30 (3.0%)	40 (0.184%)	30 (3.0%)	NA
6	15 (1.5%)	35 (3.5%)	NA	25 (2.5%)	
7	10 (1.0%)	40 (4.0%)		20 (2.0%)	
8	NA	NA		15 (1.5%)	
9				10 (1.0%)	

各レベルのキャリブレーション溶液の最終容量は 1 mL です。各レベルのアルコール濃度を、括弧内に示しています。

物でした。クロマトグラム (図 1) と表 3 に示すように、すべてのピークのテーリングファクターは 1.2 を下回っていました。メタノールと IPA はエタノールより前に溶出しました。アセトニトリル (IS) に対する *n*-プロパノールの分離度は 9 で、アセトニトリルに対するエタノールの分離度は 12 でした。USP <611> 標準では、アルコールピークのテーリングファクターが 2.0 を下回り、内部標準に対するピーク分離度が 4.0 を上回ることを要求しています。流路が S/SL 注入口から始まり、分析カラムを

通って、FID で終わる Agilent 8860 GC で得られた分離度とピーク形状は、システムがターゲットアルコール分析に最適であることを証明しました。

エタノールと IPA の分離度は 1.31 でした。これはベースライン分離ではありませんが、通常はエタノールや IPA の正確な定量に影響はありません。多くの場合、エタノールと IPA は同じ消毒剤中に共存していないためです。

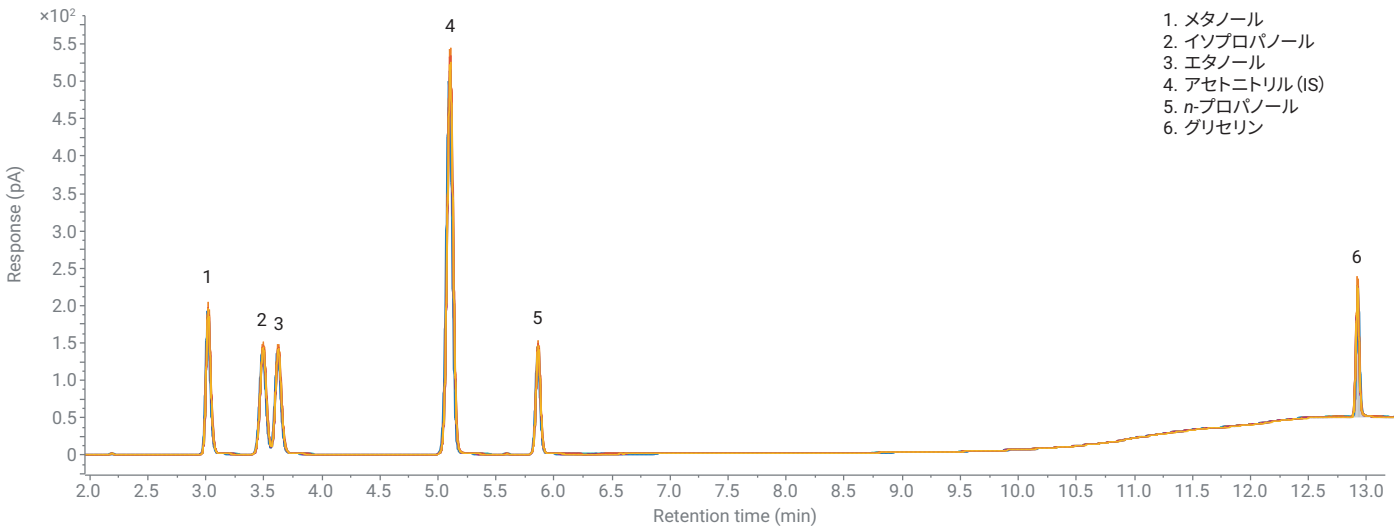


図 1. Agilent 8860 GC-FID で分析したアルコール標準のクロマトグラムの重ね表示 (Agilent DB-WAX ウルトラライナートカラム使用)

共存していたとしても、分離度 1.31 は主要なアルコールに関して正確な定量を実行するのに十分な値であり、このことは消毒剤ゲルサンプルに関する次の分析結果に示されています。

アルコールの検量線は、内部標準キャリブレーションメソッドを用いて作成しました。図 2 と表 3 に示すように、キャリブレーション範囲全体におけるアルコールの相関係数 (R^2) は 0.997 ~ 0.999 でした。

各アルコールの濃度範囲が 1 ~ 2 % (v/v) のアルコール混合物を 7 回注入することにより、定量精度を評価しました。クロマトグラムの重ね表示を図 1 に示します。7 回注入時のアセトニトリルに対するアルコールのレスポンス比の相対標準偏差 (RSD) に基づいて、定量精度を評価しました。大部分の定量精度は 1 % を上回っていましたが、グリセリンは RSD% が 1.7 % でした。USP <611> 標準では、内部標準のピークに対するアルコールのピーク比の RSD が 4.0 % を超えないことを要求しています。テストしたプラットフォームにおける精度性能は USP <611> の要件を上回っていました。

市販の 2 種類の消毒剤ゲルおよび 1 種類の消毒剤スプレーに対してアルコール分析を実施しました。3 種類の製品のクロマトグラムを図 3 に示します。各サンプル中の主要なアルコールのテスト結果を、クロマトグラム右上の表に示しました。消毒剤ゲルサンプル 1 では、エタノール、*n*-プロパノール、グリセリンが同定されています。エタノール、*n*-プロパノール、グリセリンの測定濃度は、61.0 % (v/v)、10.4 % (v/v)、0.3 % (v/v) です。メーカーがラベルに表示しているエタノールおよび *n*-プロパノールの濃度は、54 ~ 66 % (v/v) および 9 ~ 11 % (v/v) です。ゲルサンプル 1 の測定濃度とラベル表示濃度は、互いによく一致していました。

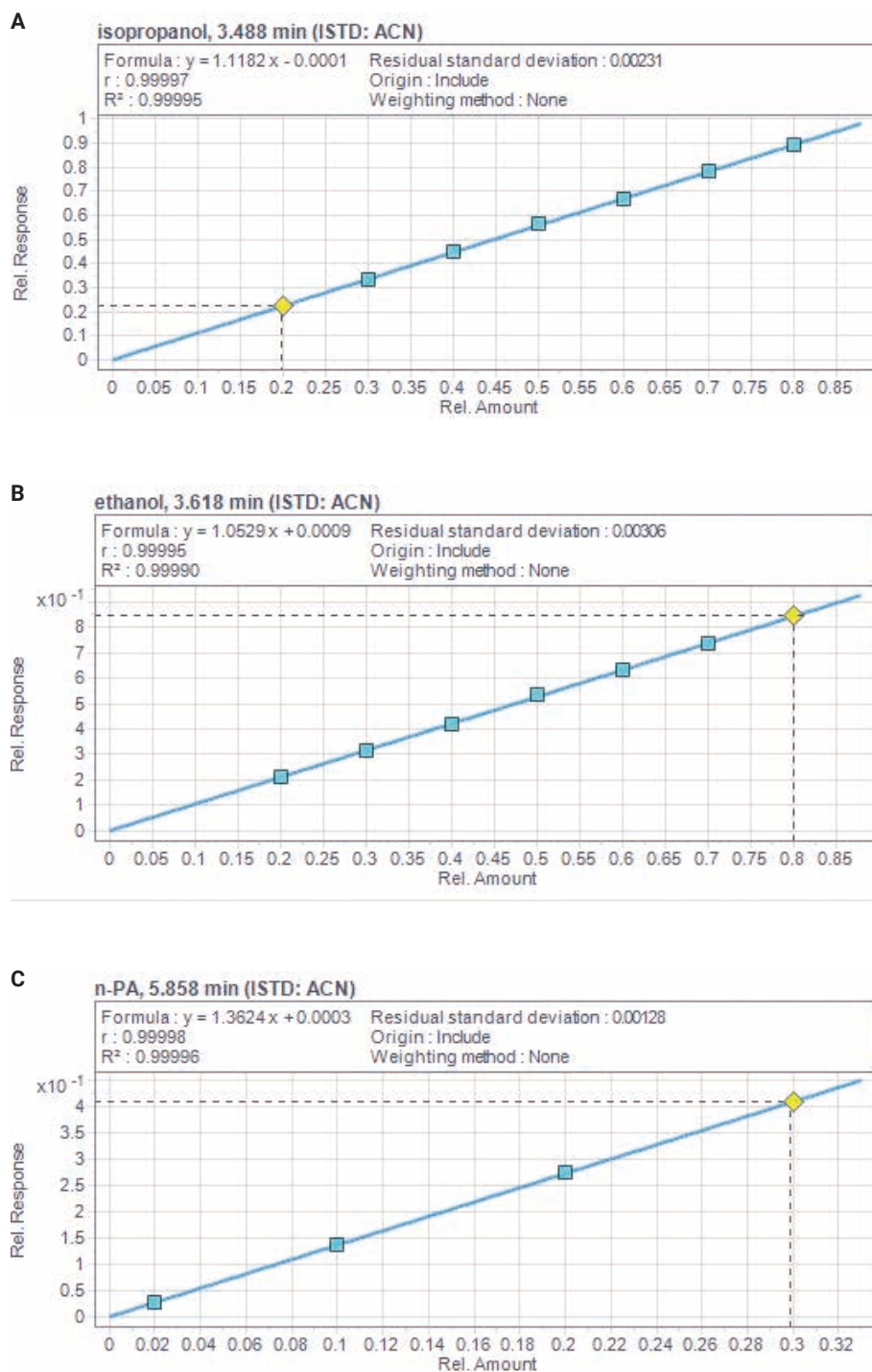


図 2A、B、C. IPA (A)、エタノール (B)、*n*-プロパノール (C) の検量線 ($R^2 > 0.999$)

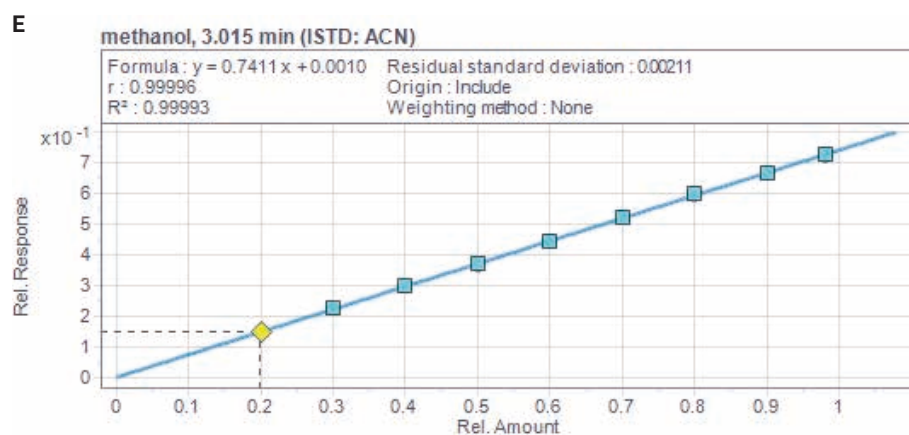
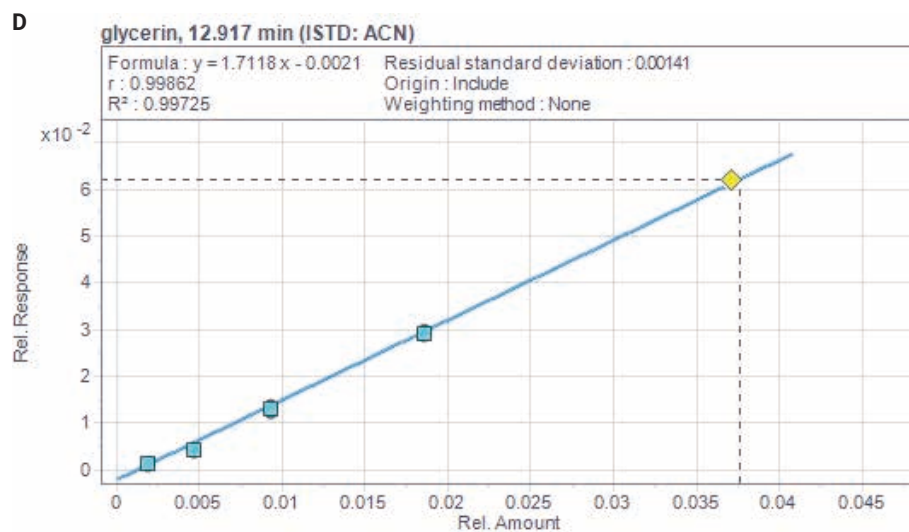


図 2D、E. グリセリン (D)、メタノール (E) の検量線 ($R^2 > 0.995$)

表 3. アルコール分析に対するシステム適合性の実証結果

化合物	平均 RT (分)	RT RSD%	定量精度 (%)	検量線の相関係数	キャリブレーション範囲 (v/v)	ピークテーリングファクター	IS に対する分離度
メタノール	3.015	0.025	0.3	0.9999	1 ~ 4.9 %	1.2	> 15
IPA	3.488	0.028	0.41	0.9999	1 ~ 4 %	1.1	> 15
エタノール	3.618	0.026	0.16	0.9999	1 ~ 4 %	1.0	15
n-プロパノール	5.858	0.008	0.29	0.9999	0.1 ~ 1.5 %	1.1	9
グリセリン	12.917	0.006	1.67	0.9970	0.0092 ~ 0.184 %	1.0	> 9

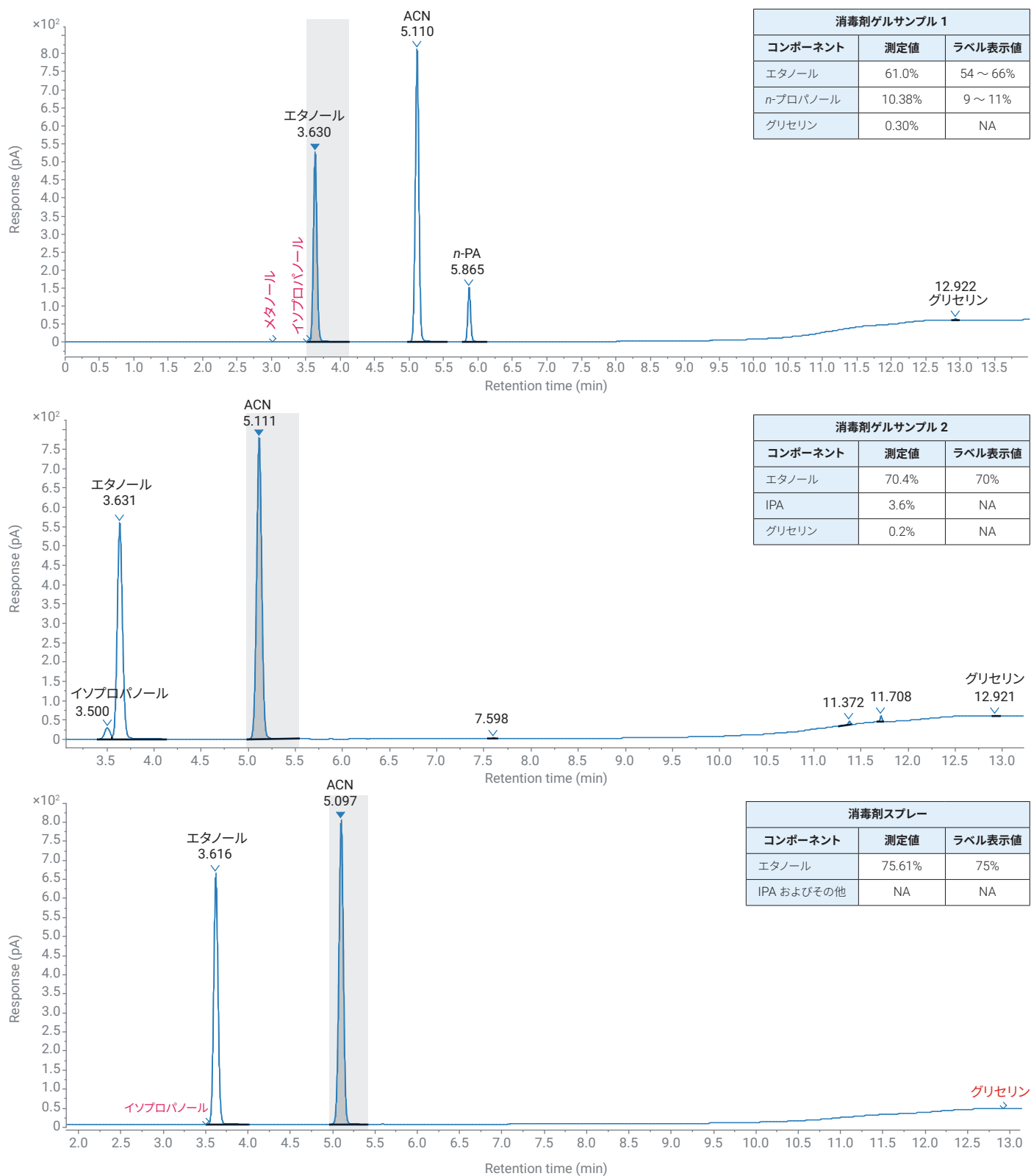


図 3. 消毒剤ゲルとスプレーのクロマトグラムおよび同定結果

ゲルサンプル2では、70.4 % (v/v) のエタノール、3.6 % (v/v) のIPA、0.2 % (v/v) のグリセリンが同定されました。ラベルに表示されているエタノールの濃度は 70 % (v/v) で、これもテスト結果とよく一致していました。ゲルサンプル2では、IPA とエタノールはベースラインレベルで分離されませんでしたが、エタノールの定量結果は正確です。アルコールスプレー中のエタノール濃度は、ラベル表示値が 75 % (v/v) で、測定値が 75.6 % です。アルコールスプレーでは、グリセリンは検出されませんでした。消毒剤ゲルサンプル2では別のピークが検出されており、7.6、11.4、11.7 分に溶出していました。これらの成分は、抗菌原材料、保湿剤

などとしてメーカーが消毒剤に添加している可能性があります。グリセリンの相対レスポンス係数を用いて、これらの成分の濃度を 1 % (v/v) 未満であると見積もりました。3 種類の消毒剤サンプルでは、メタノールは検出されていません。

システムの安定性をテストするために、長いシーケンスの分析を実施しました。消毒剤ゲルサンプルを合計 40 回注入し、5 種類の QC サンプルを分析しました。このシーケンスは QC サンプルから開始して、次に消毒剤ゲルサンプル 1 を 5 回注入し、最後にゲルサンプル 2 を 5 回注入しました。次に、1 回の QC サンプル注入と 10 回の実際のサンプル注入を別に 3

ラウンド実施してから、最後に 5 回目の QC サンプル注入を実施しました。QC サンプル中のエタノールと IPA の公称濃度は 50.0 % (v/v) でした。5 種類の QC サンプルのクロマトグラムの重ね表示を図 4 に示します。5 種類の QC サンプルの RT および定量結果を表 4 に示します。エタノールおよび IPA の平均測定濃度は 50.2 % (v/v) および 51.2 % (v/v) でした。QC サンプルの定量真度は 101 % および 102 % でした。IPA およびエタノールの定量精度は 0.715 % および 1.11 % でした。RT 再現性は 0.03 % および 0.04 % でした。

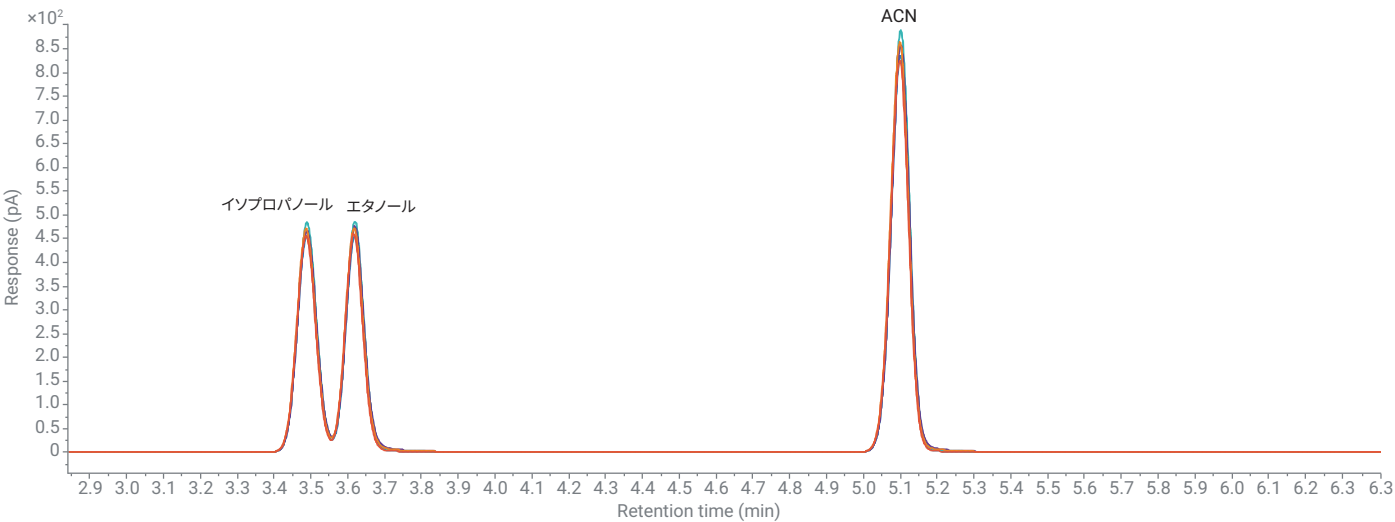


図 4. 5 種類の QC サンプルのクロマトグラムの重ね表示

表 4. 実サンプルの分析を 40 回実施した際の 5 種類の QC サンプルの定量および RT 精度

定量 (Vol%)	QC1	QC2	QC3	QC4	QC5	定量RSD%
IPA	50.363	50.038	49.958	50.045	50.821	0.71%
エタノール	50.544	51.061	52.067	51.473	51.051	1.11%
リテンションタイム (分)	QC1	QC2	QC3	QC4	QC5	RT RSD%
IPA	3.487	3.488	3.488	3.486	3.486	0.03%
エタノール	3.617	3.618	3.618	3.616	3.615	0.04%

ゲルサンプル 1 と 2 の 20 回注入の結果を表 5 に示します。実際の消毒剤サンプルの 40 回注入で測定した濃度は、ラベルに表示されている濃度範囲によく一致していました。サンプル 1 中のエタノールおよび *n*-プロパノールの定量精度はそれぞれ 0.45 %、0.38 % で、サンプル 2 中の IPA およびエタノールの定量精度はそれぞれ 0.55 %、0.31 % でした。20 回注入時のエタノール、IPA、*n*-プロパノールの RT 再現性は 0.02 ~ 0.04 % の範囲でしたが、これは表 3 に示す 7 回連続注入時の RT RSD% が 0.01 ~ 0.03 % であることに相当します。QC および実際のサンプルの定量精度と真度により、Agilent 8860 GC-FID システムとウルトライナート DB-WAX カラムを組み合わせると、信頼性の高い正確なアルコール分析を実施できることがわかりました。

結論

この研究では、FID を備えた Agilent 8860 GC システムをウルトライナート DB-WAX カラムと組み合わせ、手指消毒剤のアルコール分析を実施しました。ウルトライナートラインおよびウルトライナートカラムで構成された不活性ガス流路により、ターゲットアルコールのシャープで対称性の高いピーク、さらに 1.2 未満のピークテーリングファクター得られました。内部標準に対するアルコールの分離度は、USP <611> メソッドの要件を上回っていました。揮発性アルコールの平均定量精度は 1 % 未満です。5 種類のアルコールすべてのキャリブレーション性能は非常に優れており、直線性を示す相関係数は 0.995 を上回っています。実際に市販されている消毒剤ゲルおよび消毒剤スプレーに関する分析では、正確な定量結果を達成しました。システム性能から判断し、8860 GC/FID とウルトライナートカラムによるシステムが手指消毒剤のアルコール分析において非常に優れていることがわかりました。

ホームページ
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

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おりません。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。

表 5.安定性テスト時の消毒剤ゲルサンプルの結果

ゲル 1					ゲル 2				
注入 回数	RT (分)	定量 (Vol%)	RT (分)	定量 (Vol%)	注入 回数	RT (分)	定量 (Vol%)	RT (分)	定量 (Vol%)
	エタノール		n-プロパノール			IPA		エタノール	
2	3.618	61.59	5.858	10.48	7	3.49	3.63	3.62	69.93
3	3.62	61.55	5.856	10.48	8	3.491	3.63	3.621	70.39
4	3.618	61.54	5.858	10.49	9	3.49	3.65	3.619	70.38
5	3.618	61.02	5.857	10.41	10	3.491	3.65	3.623	70.45
6	3.619	61.56	5.856	10.48	11	3.493	3.63	3.623	70.40
13	3.62	61.59	5.856	10.48	18	3.49	3.65	3.621	70.02
14	3.618	61.57	5.856	10.48	19	3.492	3.61	3.622	70.29
15	3.62	61.85	5.858	10.53	20	3.492	3.62	3.623	70.39
16	3.619	61.73	5.857	10.51	21	3.492	3.65	3.622	70.56
17	3.618	61.75	5.856	10.52	22	3.492	3.63	3.622	70.30
24	3.619	61.42	5.856	10.47	29	3.491	3.65	3.622	70.40
25	3.617	61.76	5.855	10.51	30	3.49	3.61	3.621	70.34
26	3.619	61.74	5.857	10.51	31	3.49	3.62	3.62	70.41
27	3.619	61.89	5.856	10.53	32	3.49	3.63	3.62	70.36
28	3.619	61.80	5.856	10.53	33	3.491	3.66	3.622	70.60
35	3.618	61.93	5.856	10.55	40	3.489	3.64	3.619	70.97
36	3.617	62.02	5.855	10.55	41	3.49	3.64	3.62	70.49
37	3.618	62.28	5.857	10.60	42	3.49	3.64	3.62	70.58
38	3.619	62.09	5.857	10.55	43	3.487	3.70	3.617	70.52
39	3.617	62.07	5.856	10.55	44	3.488	3.61	3.619	70.71
平均値	3.62	61.74	5.86	10.51		3.49	3.64	3.62	70.42
RSD%	0.03%	0.45%	0.02%	0.38%		0.04%	0.55%	0.04%	0.31%

参考文献

1. USP <611> Alcohol Determination, Monograph US Pharmacopeia, **2020**.
2. ASTM D3695-95(2013), Standard Test Method for Volatile Alcohols in Water by Direct Aqueous-Injection Gas Chromatography, ASTM International, West Conshohocken, PA, **2013**.

3. Abercrombie, V. et al. Analysis of Ethanol and Isopropyl Alcohol in Alcohol-Based Hand Sanitizers by Direct Injection GC/FID, Agilent Technologies application note, publication number 5994-1923EN.