

(ii) アムホテリシン B 添加カンテン培地の調製  
 $\gamma$  線滅菌されたバイアル瓶入りアムホテリシン B 粉末 22.5 mg (添加剤としてデオキシコール酸ナトリウム使用) に滅菌精製水 9 mL を加え溶解する。121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌したカンテン培地へ使用直前に培地 1 L 当たりアムホテリシン B 液 2 mL (5 mg/L) を添加し、混和する。

(iii) ローズベンガル試液添加カンテン培地の調製  
ローズベンガル 1 g を水 100 mL に溶かし、カンテン培地 1 L 当たり 5 mL (50 mg/L) を添加し、混和後、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。

### 30. 浸透圧測定法（オスモル濃度測定法）

浸透圧測定法は、試料のオスモル濃度を凝固点降下法を用いて測定する方法である。

ある溶液につき、溶媒は自由に通すが溶質は通さない半透膜を隔てて、純溶媒をおくとき、溶媒の一部はこの膜を透過して溶液内に浸透する。この溶媒の浸透によって半透膜の両側に生じる圧力差が、浸透圧  $P$  (Pa) と定義される。浸透圧は溶液中の分子及びイオンなど粒子の総濃度に依存する物理量であり、溶質の種類によらない。浸透圧、凝固点降下、沸点上昇など、溶質の種類によらず、分子及びイオンなど総粒子濃度に依存する性質を溶液の東一的性質といいう。

高分子溶液の浸透圧は、セルロース膜などの半透膜を介しての静水圧の変化から直接測定されるが、低分子溶液の浸透圧測定のために用いられる適当な半透膜はない。低分子溶液の浸透圧を直接に測定することはできないが、ある溶液中の分子及びイオンなどの総粒子濃度を知れば、その溶液が生理的条件下に置かれたとき、細胞膜を隔てての溶媒（水）の移動の方向と大きさを知ることができる。純溶媒に対する溶液の凝固点降下、沸点上昇、蒸気圧降下など、他の東一的性質は、温度又は圧力などの直接測定から容易に求められる。溶液のこれらの東一的性質は、浸透圧と同様に総粒子濃度に依存する量であり、これらの性質を利用して測定される総粒子濃度をオスモル濃度と定義する。オスモル濃度は、質量基準で表すとき質量オスモル濃度 (osmolarity, mol/kg), 容量基準で表すとき、容量オスモル濃度 (osmolarity, mol/L) と定義されるが、実用的には容量オスモル濃度が用いられる。

別に規定するもののほか、オスモル濃度の測定には凝固点降下法を用いる。凝固点降下法は、溶媒に溶質を溶かした溶液の凝固点が低下する現象を利用し、得られた凝固点降下度  $\Delta T$  (°C) と質量オスモル濃度  $m$  の間にある次式の関係を用いて、凝固点降下度から質量オスモル濃度  $m$  を求める方法である。

$$\Delta T = K \cdot m$$

ここで  $K$  はモル凝固点降下定数であり、溶媒が水の場合 1.86 °C kg/mol である。モル凝固点降下定数は、質量モル濃度で定義されるため、上式の関係からは質量オスモル濃度が得られることになるが、希薄濃度領域では数値的にこの値を容量オスモル濃度  $c$  (mol/L) に等しいものとみなすことができる。本測定法では実用的な容量オスモル濃度を採用するものとし、その単位として Osm (osmol/L) を用いる。1 Osm は、

溶液 1 L 中にアボガドロ数 ( $6.022 \times 10^{23}/\text{mol}$ ) に等しい個数の粒子が存在する濃度を表し、1 Osm の 1000 分の 1 を 1 mOsm とする。

オスモル濃度は、通例、mOsm の単位を用いて示す。

#### 装置

通例、水の凝固点（氷点）降下度の測定から、オスモル濃度を求める。浸透圧測定装置は、一定量の溶液を入れる試料セル、温度制御用の冷却装置と冷却槽及びサーミスター温度計からなる。

#### 操作法

測定には、装置により定められた一定容量の試料溶液を用いる。

あらかじめ二点校正法により浸透圧（オスモル濃度）測定装置の校正を行う。予想される試料のオスモル濃度を挟む、高低二種の装置校正用オスモル濃度標準液を用いて凝固点温度を測定し、装置の校正を行う。なお、測定する試料のオスモル濃度が 100 mOsm 以下の場合、二種のオスモル濃度標準液のうち一種は、水 (0 mOsm) を用いることができる。次に、試料セル及びサーミスターを装置指定の方法により清浄にした後、試料溶液について凝固点温度を測定し、凝固点降下度の濃度依存性より質量オスモル濃度を求め、これを容量オスモル濃度に読み替える。

なお、オスモル濃度が 1000 mOsm を超える場合、蒸留水を用いて試料を  $n$  倍希釈し ( $1 \rightarrow n$ )、この液につき同様な測定を行うことができる。この場合、 $n$  倍希釈溶液を用いて測定され、希釈倍数を掛けて得られたみかけのオスモル濃度であることを明示する。なお、希釈測定を行う場合、生理食塩液のオスモル濃度に近くなるよう、希釈倍数を選択する。

また、凍結乾燥品など試料が固体の場合、指定された溶解液に溶かして試料溶液とする。

#### 装置の適合性

測定しようとする試料溶液のオスモル濃度に近い濃度を有する標準液の一つを選び、6 回以上の繰り返し測定を行って、装置の適合性を試験するとき、試験の再現性は、2.0 % 以内であり、規定のオスモル濃度からのずれは、3.0 % 以内である。これに適合しないとき、再度、二点校正を行った後、装置の適合性試験を繰り返す。

#### 装置校正用オスモル濃度標準液の調製

塩化ナトリウム（標準試薬）を 500 ~ 650 °C で 40 ~ 50 分間乾燥した後、デシケーター（シリカゲル）中で放冷する。下表に示した各オスモル濃度標準液に対応する量の塩化ナトリウムを正確に量り、水 100 g を正確に加えて溶かし、各オスモル濃度標準液とする。

表 30-1 装置校正用オスモル濃度標準液

装置校正用オスモル濃度標準液	塩化ナトリウムの量
100 mOsm 標準液	0.309 g
200 mOsm 標準液	0.626 g
300 mOsm 標準液	0.946 g
400 mOsm 標準液	1.270 g
500 mOsm 標準液	1.593 g
700 mOsm 標準液	2.238 g
1000 mOsm 標準液	3.223 g

### 浸透圧比

本測定法では生理食塩液の与えるオスモル濃度に対する試料溶液のオスモル濃度の比を浸透圧比と定義し、等張性の尺度とする。生理食塩液(0.900 g/100 mL)のオスモル濃度 $c_s$ (mOsm)は、一定(286 mOsm)であることから、試料溶液のオスモル濃度 $c_t$ (mOsm)を測定すれば、次式より試料溶液の浸透圧比を計算することができる。

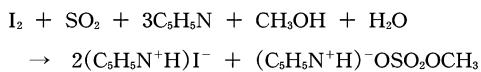
$$\text{浸透圧比} = \frac{c_t}{c_s}$$

$c_s$ : 286 mOsm

なお、1000 mOsmを超える試料につき、希釈溶液を調製して、測定を行った場合には、希釈倍数を $n$ 、測定されるオスモル濃度を $c'_t$ とするとき、溶質濃度に対するオスモル濃度の直線性を仮定して、 $n \cdot c'_t = c_t$ より、みかけの浸透圧比(オスモル比)を求める。ただし、希釈測定を行った場合、どのような希釈が行われたか、 $(1 \rightarrow n)$ のように明示する必要がある。

## 31. 水分測定法（カールフィッシャー法）

水分測定法は、メタノールなどの低級アルコール及びピリジンなどの有機塩基の存在で、水がヨウ素及び二酸化イオウと次の式に示すように定量的に反応することを利用して水分を測定する方法である。



測定法には、容量滴定法と電量滴定法がある。容量滴定法は、反応に必要なヨウ素を水分測定用試液中に溶解させ、試料中の水と反応して消費されたヨウ素の滴定量より、水分を測定する方法である。電量滴定法は、ヨウ化物イオンを混合した水分測定用試液を行い、電解によりヨウ素を発生させる。ヨウ素が定量的に水と反応することに基づき、電解に要した電気量より、水分を測定する方法である。



### 1. 容量滴定法

#### 装置

通例、自動ビュレット、滴定フラスコ、かき混ぜ機及び定電圧分極電流滴定装置又は定電流分極電位差滴定装置からなる。

水分測定用試液は吸湿性が非常に強いので、装置は外部からの吸湿を防ぐようとする。防湿には、シリカゲル又は水分測定用塩化カルシウムなどを用いる。

#### 試薬

##### (1) 水分測定用クロロホルム

クロロホルム 1000 mL に乾燥用合成ゼオライト 30 g を加えて密栓し、時々穏やかに振り混ぜ、約 8 時間放置し、更に約 16 時間静置後、澄明なクロロホルムを分取する。湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 0.1 mg 以下とする。

##### (2) 水分測定用メタノール

メタノール 1000 mL に乾燥用合成ゼオライト 30 g を加えて密栓し、時々穏やかに振り混ぜ、約 8 時間放置し、

更に約 16 時間静置後、澄明なメタノールを分取する。湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 0.1 mg 以下とする。

##### (3) 水分測定用炭酸プロピレン

炭酸プロピレン 1000 mL に乾燥用合成ゼオライト 30 g を加えて密栓し、時々穏やかに振り混ぜ、約 8 時間放置し、更に約 16 時間静置した後、澄明な炭酸プロピレンを分取する。湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 0.3 mg 以下とする。

##### (4) 水分測定用ジエチレングリコールモノエチルエーテル

ジエチレングリコールモノエチルエーテル 1000 mL に乾燥用合成ゼオライト 30 g を加えて密栓し、時々穏やかに振り混ぜ、約 8 時間放置し、更に約 16 時間静置後、澄明なジエチレングリコールモノエチルエーテルを分取する。湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 0.3 mg 以下とする。

##### (5) 水分測定用ピリジン

ピリジンに水酸化カリウム又は酸化バリウムを加え、密栓して数日間放置した後、そのまま湿気をさえぎって蒸留し、湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 1 mg 以下とする。

##### (6) 水分測定用イミダゾール

薄層クロマトグラフ用イミダゾール。ただし、本品 1 mL 中の水分は 1 mg 以下とする。

##### (7) 水分測定用 2-メチルアミノピリジン

2-メチルアミノピリジンをそのまま湿気をさえぎって蒸留し、湿気を避けて保存する。本品 1 mL 中の水分は 1 mg 以下とする。

#### 試液及び標準液の調製法

##### (1) 水分測定用試液

調製 (i), (ii) 又は (iii) のいずれかの方法により調製する。

###### (i) 調製法 1

ヨウ素 63 g を水分測定用ピリジン 100 mL に溶かし、氷冷し、乾燥二酸化イオウを通じ、その增量が 32 g に達したとき、水分測定用クロロホルム又は水分測定用メタノールを加えて 500 mL とし、24 時間以上放置した後用いる。

###### (ii) 調製法 2

水分測定用イミダゾール 102 g を水分測定用ジエチレングリコールモノエチルエーテル 350 mL に溶かし、氷冷し、液温を 25 ~ 30 °C に保ちながら、乾燥二酸化イオウを通じ、その增量が 64 g に達したとき、ヨウ素 50 g を加えて溶かし、24 時間以上放置した後用いる。

###### (iii) 調製法 3

水分測定用炭酸プロピレン 220 mL に乾燥二酸化イオウを通じ、その增量が 32 g に達したとき、水分測定用 2-メチルアミノピリジン 81 g を水分測定用炭酸プロピレン又は水分測定用ジエチレングリコールモノエチルエーテル 180 mL に溶かして氷冷した液に加え、更にヨウ素 36 g を加えて溶かし、24 時間以上放置した後用いる。

これらの試液は日時の経過とともに変化するので用時標定する。遮光して湿気を避け、冷所に保存する。

標定 操作法に従い、水分測定用メタノール適量を乾燥滴定フラスコにとる。これをあらかじめ水分測定用試液で終点