

すべての成分を水に溶かし、グリセリンを加える。時々激しく振り混ぜながら加熱し、1分間煮沸した後、121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpH 7.0～7.4。

(xvii) NAC カンテン培地

ペプトン	20.0 g
リン酸水素二カリウム	0.3 g
硫酸マグネシウム七水和物	0.2 g
セトリミド	0.2 g
ナリジクス酸	0.015 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

最終のpH 7.2～7.6。滅菌してはならない。加温して溶かす。

(xviii) フルオレセイン検出用シュードモナスカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
肉製ペプトン	10.0 g
リン酸水素二カリウム	1.5 g
硫酸マグネシウム七水和物	1.5 g
グリセリン	10 mL
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

すべての成分を水に溶かして、グリセリンを加える。時々激しく振り混ぜながら加熱し、1分間煮沸した後、121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpH 7.0～7.4。

(xix) ピオシアニン検出用シュードモナスカンテン培地

ゼラチン製ペプトン	20.0 g
塩化マグネシウム六水和物	3.0 g
硫酸カリウム	10.0 g
グリセリン	10 mL
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

すべての成分を水に溶かして、グリセリンを加える。時々激しく振り混ぜながら加熱し、1分間煮沸した後、121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpH 7.0～7.4。

(xx) フォーゲル・ジョンソンカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
酵母エキス	5.0 g
D-マンニトール	10.0 g
リン酸水素二カリウム	5.0 g
塩化リチウム	5.0 g
グリシン	10.0 g
フェノールレッド	0.025 g
カンテン	16.0 g
水	1000 mL

全成分を混和した後、1分間煮沸して溶かす。121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌後、45～50°Cに冷却する。滅菌後のpH 7.0～7.4。これに滅菌亜テルル酸カリウム溶液(1→100)20mLを加えて混和する。

(xxi) ベード・パーカーカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
肉エキス	5.0 g
酵母エキス	1.0 g
塩化リチウム	5.0 g
グリシン	12.0 g
焦性ブドウ酸ナトリウム	10.0 g
カンテン	20.0 g
水	950 mL

全成分を混和し、時々激しく振り混ぜながら加熱し、1分間煮沸する。121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌した後、45～50°Cに冷却する。滅菌後のpH 6.6～7.0。これに滅菌亜テルル酸カリウム溶液(1→100)10mLと卵黄乳濁液50mLを加えて穏やかに混和した後、ペトリ皿に分注する。卵黄乳濁液は卵黄約30%，生理食塩水約70%の割合で混和して調製する。

(xxii) マンニット・食塩カンテン培地

カゼイン製ペプトン	5.0 g
肉製ペプトン	5.0 g
肉エキス	1.0 g
D-マンニトール	10.0 g
塩化ナトリウム	75.0 g
フェノールレッド	0.025 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、時々激しく振り混ぜながら加熱し、1分間煮沸した後、121°Cで15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpH 7.2～7.6。

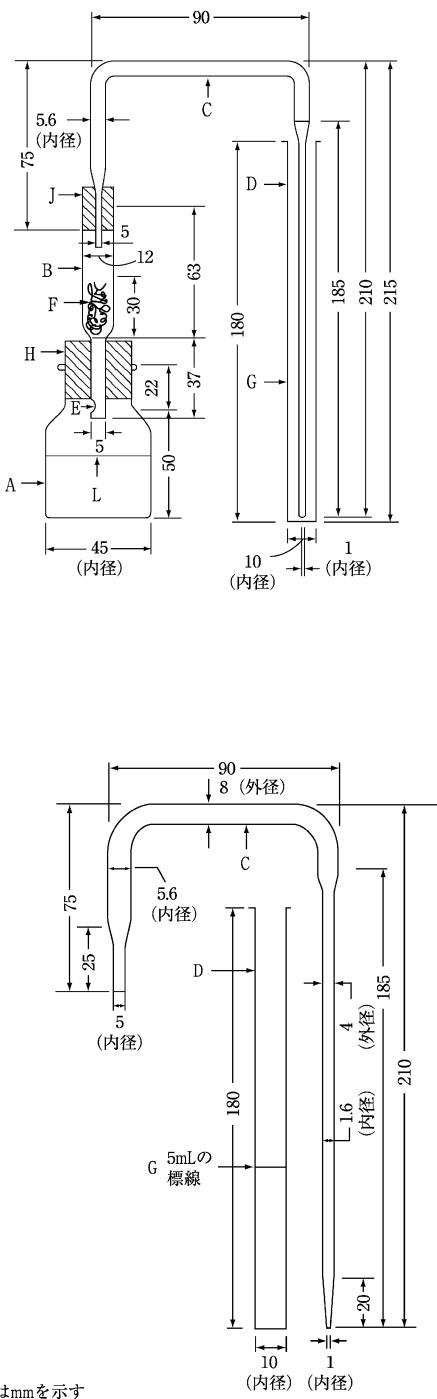
51. ヒ素試験法

ヒ素試験法は、薬品中に混在するヒ素の限度試験である。その限度は三酸化二ヒ素(As_2O_3)の量として表す。

医薬品各条には、ヒ素(As_2O_3 として)の限度をppmで()内に付記する。

装置

図 51-1 に示す装置 B を用いる。



- A : 発生瓶 (肩までの内容約 70 mL)
- B : 排気管
- C : ガラス管 (内径 5.6 mm, 吸収管を入れる部分は先端を内径 1 mm に引き伸ばす。)
- D : 吸収管 (10 mm)
- E : 小孔
- F : ガラスウール (約 0.2 g)
- G : 5 mL の標線
- H及びJ : ゴム栓
- L : 40 mL の標線

図 51-1 ヒ素試験装置 B

排気管 B に約 30 mm の高さにガラス纖維 F を詰め、酢酸鉛（II）試液及び水の等容量混液で均等に潤した後、下端から弱く吸引して、過量の液を除く。これをゴム栓 H の中心に垂直にさし込み、B の下部の小孔 E は下にわずかに突き出るようにして発生瓶 A に付ける。B の上端にはガラス管 C を垂直に固定したゴム栓 J を付ける。C の排気管側の下端はゴム栓 J の下端と同一平面とする。

検液の調製法

別に規定するもののほか、次の方法による。

(1) 第 1 法

医薬品各条に規定する量の試料を量り、水 5 mL を加え、必要ならば加温して溶かし、検液とする。

(2) 第 2 法

医薬品各条に規定する量の試料を量り、水 5 mL 及び硫酸 1 mL を加える。ただし、無機酸の場合には硫酸を加えない。これに亜硫酸水 10 mL を加え、小ビーカーに入れ、水浴上で加熱して亜硫酸がなくなり約 2 mL となるまで蒸発し、水を加えて 5 mL とし、検液とする。

(3) 第 3 法

医薬品各条に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼにとる。これに硝酸マグネシウム六水和物のエタノール（95）溶液（1→50）10 mL を加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱して灰化する。もしこの方法で、なお炭化物が残るときは、少量の硝酸で潤し、再び強熱して灰化する。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加え、水浴上で加温して溶かし、検液とする。

(4) 第 4 法

医薬品各条に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼにとる。これに硝酸マグネシウム六水和物のエタノール（95）溶液（1→10）10 mL を加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱した後、強熱して灰化する。もしこの方法で、なお炭化物が残るときは、少量の硝酸で潤し、徐々に加熱した後、強熱して灰化する。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加え、水浴上で加温して溶かし、検液とする。

(5) 第 5 法

医薬品各条に規定する量の試料を量り、N,N-ジメチルホルムアミド 10 mL を加え、必要ならば加温して溶かし、検液とする。

試 液

ヒ化水素吸収液：N,N-ジエチルジチオカルバミド銀 0.50 g をピリジンに溶かし 100 mL とする。この液は遮光した共栓瓶に入れ、冷所に保存する。

ヒ素標準原液：三酸化二ヒ素標準試薬を微細の粉末とし、105 °C で 4 時間乾燥し、その 0.100 g を正確に量り、水酸化ナトリウム溶液（1→5）5 mL に溶かす。この液に希硫酸を加えて中性とし、更に希硫酸 10 mL を追加し、新たに煮沸して冷却した水を加えて正確に 1000 mL とする。

ヒ素標準液：ヒ素標準原液 10 mL を正確に量り、希硫酸 10 mL を加え、新たに煮沸して冷却した水を加えて正確に 1000 mL とする。この液 1 mL は三酸化二ヒ素（As₂O₃）1 μg を含む。この液は用時調製し、共栓瓶に保存する。

操作法

別に規定するもののほか、装置 B を用いて試験を行う。

標準色の調製は同時に行う。

発生瓶 A に検液をとり、必要ならば少量の水で洗い込む。これにメチルオレンジ試液 1 滴を加え、アンモニア試液、アンモニア水(28)又は希塩酸を用いて中和した後、薄めた塩酸(1→2) 5 mL 及びヨウ化カリウム試液 5 mL を加え、2~3 分間放置した後、更に酸性塩化スズ(II)試液 5 mL を加え、室温で 10 分間放置する。次に水を加えて 40 mL とし、ヒ素分析用亜鉛 2 g を加え、直ちに B 及び C を連結したゴム栓 H を発生瓶 A に付ける。C の細管部の端はあらかじめヒ化水素吸收液 5 mL を入れた吸収管 D の底に達するように入れておく。次に発生瓶 A は 25°C の水中に肩まで浸し、1 時間放置する。吸収管をはずし、必要ならばビリジンを加えて 5 mL とし、吸収液の色を観察する。この色は標準色より濃くない。

標準色の調製 発生瓶 A にヒ素標準液 2 mL を正確に加え、更に薄めた塩酸(1→2) 5 mL 及びヨウ化カリウム試液 5 mL を加えて 2~3 分間放置した後、酸性塩化スズ(II)試液 5 mL を加え、室温で 10 分間放置する。以下前記と同様に操作して得た吸収液の呈色を標準色とする。この色は三酸化二ヒ素(As_2O_3) 2 μg に対応する。

注意：試験に用いる器具、試薬及び試液はヒ素を含まないか、又はほとんど含まないものを用い、必要ならば空試験を行う。

52. ビタミン A 定量法

ビタミン A 定量法は、「酢酸レチノール」、「パルミチン酸レチノール」、「ビタミン A 油」、「肝油」及びその他の製剤中のビタミン A を紫外可視吸光度測定法により定量する方法である。ただし、一般には製剤の種類、又は定量を妨害する物質の存在により、適当な前処理を行う必要がある。

1 ビタミン A 単位(1 ビタミン A 国際単位と同じ)はビタミン A(アルコール型) 0.3 μg に相当する。

試 薬

本法の 2-プロパノール及びジエチルエーテルは次のもの要用いる。

2-プロパノール 水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行うとき、波長 300 nm における吸光度は 0.05 以下、波長 320 ~ 350 nm における吸光度は 0.01 以下である。必要ならば蒸留して精製する。

ジエチルエーテル 用時蒸留し、初めと終わりのそれぞれ約 10 % を除く。

操作 法

操作は速やかに行い、できるだけ空気又は他の酸化剤との接触を避け、容器は遮光容器を用いる。

医薬品各条で別に規定するもののほか、第 1 法を用いるが、第 1 法で測定できる条件に適合しないものには第 2 法を用いる。

(1) 第 1 法

試料約 0.5 g を精密に量り、2-プロパノールに溶かし、正確に 250 mL とする。この液につき、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 326 nm における吸光度が約 0.5 となるように 2-プロパノールで正確に薄めて試料溶液とし、吸収極大の波長を測定する。また、波長 300 nm,

310 nm, 320 nm, 326 nm, 330 nm, 340 nm, 及び 350 nm における吸光度を測定し、波長 326 nm の吸光度を 1.000 としたときの各波長における吸光度の比を求める。波長 325 ~ 328 nm に吸収の極大を示し、また、各波長における吸光度の比が、それぞれ表の値の ± 0.030 の範囲内にあれば、波長 326 nm における吸光度 A から試料 1 g 中のビタミン A 単位を算出する。

$$1 \text{ g 中のビタミン A 単位数} = E_{\text{1cm}}^{1\%}(326 \text{ nm}) \times 1900$$

$$E_{\text{1cm}}^{1\%}(326 \text{ nm}) = \frac{A}{W} \times \frac{V}{100}$$

V : 試料溶液の総 mL 数

W : 試料溶液 V mL 中の試料の g 数

酢酸レチノールとパルミチン酸レチノールの確認には、次の確認試験を行う。

確認試験：試料、薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール標準品及び薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール標準品それぞれ 15000 単位に相当する量をとり、それぞれを石油エーテル 5 mL に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 μL ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次にシクロヘキサン/ジエチルエーテル混液(12:1)を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに三塩化アンチモン試液を均等に噴霧し、試料溶液及び標準溶液から得た青色に呈色した主なスポットの位置を比較して確認する。

第 1 法によって操作し、もし波長 325 ~ 328 nm に吸収の極大がないとき、又は吸光度の比が表 52-1 に示した値の ± 0.030 の範囲内にないときには第 2 法を用いる。

表 52-1

λ (nm)	酢酸レチノール	パルミチン酸レチノール
300	0.578	0.590
310	0.815	0.825
320	0.948	0.950
326	1.000	1.000
330	0.972	0.981
340	0.786	0.795
350	0.523	0.527

(2) 第 2 法

別に規定するもののほか、500 ビタミン A 単位以上に相当し、油脂 1 g 以下を含む試料を精密に量り、フラスコに入れ、無アルデヒドエタノール 30 mL 及びピロガロールのエタノール(95)溶液(1→10) 1 mL を加える。次に水酸化カリウム溶液(9→10) 3 mL を加え、還流冷却器を付け、水浴上で 30 分間加熱し、けん化する。速やかに常温まで冷却し、水 30 mL を加え、分液漏斗 A に移し、フラスコは水 10 mL、次いでジエチルエーテル 40 mL で洗い、洗液を分液漏斗 A に入れ、よく振り混ぜて放置する。水層を分液漏斗 B に分取し、ジエチルエーテル 30 mL でフラスコを洗った後、洗液を分液漏斗 B に入れ、振り混ぜて抽出する。水層はフラスコに分取し、ジエチルエーテル層は分液漏斗 A に合わせ、分取した水層は分液漏斗 B に入れ、