

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、

ジエチルエーテル 30 mL を加え、振り混ぜて抽出する。ジエチルエーテル層は分液漏斗 A に合わせる。これに水 10 mL を加え、静かに 2 ~ 3 回倒立した後、静置し、分離した水層を除く。更に水 50 mL ずつで 3 回洗い、回の進むにつれて次第に強く振る。更に洗液がフェノールフタレイン試液で呈色しなくなるまで水 50 mL ずつで洗った後、10 分間放置する。水ができるだけ除き、ジエチルエーテル抽出液を三角フラスコに移し、ジエチルエーテル 10 mL ずつで 2 回洗い込む。次に無水硫酸ナトリウム 5 g を加えて振り混ぜた後、傾斜してジエチルエーテル抽出液をナス型フラスコに移す。残った硫酸ナトリウムはジエチルエーテル 10 mL ずつで 2 回以上洗い、洗液をフラスコに合わせる。ジエチルエーテル抽出液を 45 °C の水浴中で振り動かしながら、アスピレーターを用い、濃縮して約 1 mL とし、直ちに 2-プロパノールを加えて溶かし、1 mL 中に 6 ~ 10 ビタミン A 単位を含むように正確に薄め試料溶液とする。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 310 nm, 325 nm 及び 334 nm における吸光度 A_1 , A_2 及び A_3 を測定する。

$$1 \text{ g 中のビタミン A 単位数} = E_{\text{1cm}}^{1\%} (325 \text{ nm}) \times 1830$$

$$E_{\text{1cm}}^{1\%} (325 \text{ nm}) = \frac{A_2}{W} \times \frac{V}{100} \times f$$

$$f = 6.815 - 2.555 \times \frac{A_1}{A_2} - 4.260 \times \frac{A_3}{A_2}$$

f : 補正係数

V : 試料溶液の総 mL 数

W : 試料溶液 V mL 中の試料の g 数

53. 比表面積測定法

気体吸着法は、粉末試料に吸着する気体量を吸着気体の圧力の関数として測定する方法であり、粉末試料の比表面積の算出に用いられる。通例、測定は液体窒素の沸点 (-196 °C) において行う。

粉末試料に、気体を物理吸着させたとき、吸着した気体量 V_a と吸着平衡にある吸着気体の圧力 P との間には、 P/P_o の値が 0.05 ~ 0.30 の範囲内で、次式の関係がある。

$$\frac{1}{\left\{ V_a \left(\frac{P_o}{P} - 1 \right) \right\}} = \frac{(C-1)}{V_m C} \times \frac{P}{P_o} + \frac{1}{V_m C}$$

P : 吸着平衡圧 (kPa)

P_o : 測定温度における吸着気体の蒸気圧 (kPa)

V_a : 吸着平衡時の吸着量 (mL)

V_m : 单分子層吸着量 (mL)

C : 吸着熱、凝縮熱などによる定数

粉末試料の比表面積 S は、吸着気体の单分子層吸着量 V_m から求められる。

$$S = \frac{V_m \times N \times a}{m \times 22400}$$

S : 比表面積 (m²/g)

N : アボガドロ数

a : 吸着気体分子 1 個の有効断面積 (m²)

m : 粉末試料の質量 (g)

比表面積の単位は、通例、m²/g の単位を用いて示す。

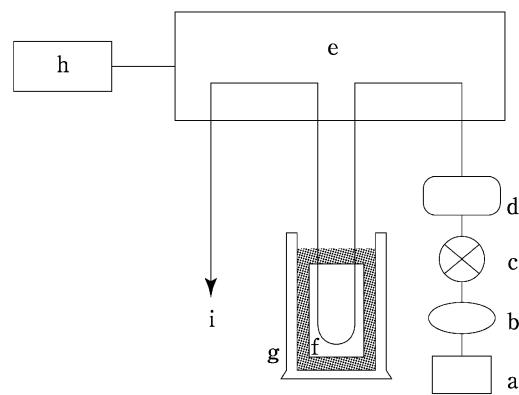
気体吸着は、次に記載する方法のいずれかにより測定する。

第1法 流動法

流動法は、吸着気体とそれを搬送するキャリヤー気体の混合気体を、試料に接触通過させ、通過前後の吸着気体の濃度変化から吸着量を求める方法である。吸着気体として、通例、窒素を用いるが、小さな比表面積をもつ試料の測定には、クリプトンなどを用いる。また、キャリヤー気体としては、ヘリウムを用いる。

装 置

本装置は、通例、試料容器、気体供給部、気体混合部、気体流量調節器、気体濃度検出器及びデュワー瓶からなる。試料容器はガラス製で、気体が流通できる U 字形である。また、気体流路と気密を保って接合できるものである。気体供給部は、吸着気体用とキャリヤー気体用の 2 種類がある。気体混合部は吸着気体とキャリヤー気体を混合するものであって、吸着気体の濃度を 5 ~ 30 vol% の範囲で変化させることができる。気体流量調節器は、混合気体を試料容器に供給する流量を調節するもので、流量計を付属している。気体濃度検出器には、通例、熱伝導度検出器を用い、混合気体中の吸着気体の濃度変化を検出する。デュワー瓶は、試料容器を冷却するための液体窒素を保存するのに用いる。



a : 気体供給部

b : 気体混合部

c : 気体流量調節器

d : 冷却装置

e : 気体濃度検出器

f : 試料容器

g : デュワー瓶

h : 記録装置、データ処理装置及び記録計

i : ガス出口

図 53-1 比表面積測定装置の模式図 (流動法)

操作法

あらかじめ試料容器の質量を精密に量る。全表面積が少なくとも 1 m²となる程度の量の粉末試料を試料容器に入れる。試料表面に物理的に吸着している気体物質を取り除くため、前処理を行う。前処理は、不活性気体あるいは測定に使用する混合気体に試料を連続曝露することにより行う。試料の物理的又は化学的特性に影響がない程度に熱を加えることもある。さらに、