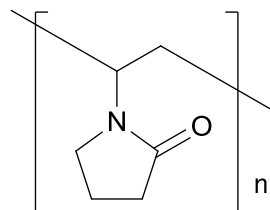


ポリビニルピロリドンの成分規格案について

※取り消し線及び下線部が平成 25 年 6 月 21 日に開催した添加物部会の報告書案からの修正箇所

1. 成分規格 (案)

ポリビニルピロリドン
Polyvinylpyrrolidone
ポビドン



$(C_6H_9NO)_n$

Poly[1-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethylene] [9003-39-8]

含 量 本品を無水物換算したものは、窒素 (N=14.01) 11.5~12.8%を含む。

性 状 本品は、白~微黄色の粉末である。

確認試験 本品を 105℃で6時間乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 (1) 液性 pH3.0~7.0 (1.0g, 水 20ml)

(2) 粘性 無水物換算して 1.00g に対応する量の本品を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とし、60 分間放置し、検液とする。検液及び水につき、25℃で粘度測定法第 1 法により試験を行い、次式により K 値を求めるとき、表示 K 値の 90~108% である。

$$K = \frac{1.5 \log v_{rel} - 1}{0.15 + 0.003 c} + \frac{\sqrt{300 c \log v_{rel} + (c + 1.5 \log v_{rel})^2}}{0.15 c + 0.003 c^2}$$

c : 検液 100ml 中の無水物換算した試料の量 (g)

v_{rel} : 水の動粘度に対する検液の動粘度比

(3) 鉛 Pb として 2.0 μ g/g 以下

本品 2.0g を量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れる。硫酸を加えて試料全体を潤した後、ホットプレート上

で、徐々に温度を上げながら、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。これを電気炉に入れ、徐々に温度を上げて 500～600℃で灰化するまで強熱する。残留物に塩酸（1→4）10ml を入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。その残留物に少量の硝酸（1→100）を加え、加温して溶かし、冷後、更に硝酸（1→100）を加えて正確に 10ml とし、検液とする。別に、鉛標準原液 1 ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。この液 4 ml を正確に量り、硝酸（1→100）を加えて正確に 10ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、鉛試験法第 1 法により試験を行う。

(4) アルデヒド アセトアルデヒドとして 500µg/g 以下

本品約 1 g を精密に量り、ピロリン酸カリウム・塩酸緩衝液（0.05mol/L, pH9.0）に溶かし、正確に 100ml とし、密栓して、60℃で 60 分間加温した後、室温になるまで放冷し、検液とする。別に、新たに蒸留したアセトアルデヒド 0.100 g を量り、4℃の水に溶かして正確に 100ml とする。この液を 4℃で約 20 時間放置し、その 1 ml を正確に量り、ピロリン酸カリウム・塩酸緩衝液（0.05mol/L, pH9.0）を加えて正確に 100ml とし、標準液とする。検液、標準液及び水 0.5ml ずつを別々のセルに入れ、ピロリン酸カリウム・塩酸緩衝液（0.05mol/L, pH9.0）2.5ml 及びβ-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド試液 0.2ml をそれぞれに正確に加えてかき混ぜた後、密栓し、22±2℃で 2～3 分間放置する。これらの液につき、水を対照として波長 340nm におけるそれぞれの吸光度 A_{T1} 、 A_{S1} 及び A_{B1} を測定する。更に、それぞれの液にアルデヒドデヒドロゲナーゼ試液 0.05ml を加え、かき混ぜた後、密栓して 22±2℃で 5 分間放置し、同様に操作し、それぞれの吸光度 A_{T2} 、 A_{S2} 及び A_{B2} を測定し、次式によりアルデヒドの量を求める。

$$\begin{aligned} & \text{アルデヒドの量 (}\mu\text{g/g)} \\ & \frac{1000}{\text{無水物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{(A_{T2} - A_{T1}) - (A_{B2} - A_{B1})}{(A_{S2} - A_{S1}) - (A_{B2} - A_{B1})} \end{aligned}$$

(5) 1-ビニル-2-ピロリドン 1-ビニル-2-ピロリドンとして 10µg/g 以下

本品約 0.25 g を精密に量り、メタノール（1→5）に溶かして正確に 10ml とし、検液とする。別に、1-ビニル-2-ピロリドン 0.050 g を正確に量り、メタノールを加えて溶かして正確に 100ml とする。この液 1 ml を正確に量り、メタノールを加えて正確に 100ml とする。更に、この液 5 ml を正確に量り、メタノール（1→5）を加えて正確に 100ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 50µl ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 1-ビニル-2-ピロリドンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し、次式により 1-ビニル-2-ピロリドンの量を求める。

$$1\text{-ビニル-2-ピロリドンの量} (\mu\text{g/g}) = \frac{2.5}{\text{無水物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S}$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 254nm)

カラム充てん剤 5 μm の液体クロマトグラフィー用オクチルシリル化シリカゲル

カラム管 内径約 4 mm, 長さ約 25cm のステンレス管

ガードカラム カラム管と同一の内径で同一の充てん剤を充てんしたもの。

カラム温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 付近の一定温度

移動相 水/メタノール混液 (4 : 1)

流量 1-ビニル-2-ピロリドンの保持時間が約 10 分になるように調整する。

カラムの選定 本品 0.010 g 及び酢酸ビニル 0.5 g をメタノール 100ml に溶かす。この液 1 ml をとり、メタノール (1 \rightarrow 5) を加えて 100ml とする。この液 50 μl につき、上記の条件で操作するとき、1-ビニル-2-ピロリドン、酢酸ビニルの順に溶出し、その分離度が 2.0 以上のものを用いる。なお、上記の条件で標準液につき、試験を 6 回繰り返すとき、1-ビニル-2-ピロリドンのピーク面積の相対標準偏差は 2% 以下である。

ガードカラムの洗浄 検液を試験した後、移動相をガードカラムに上記の流量で約 30 分間、試験操作と逆の方向に流し、~~試料を溶出させて~~洗浄する。

(6) ヒドラジン ヒドラジンとして 1 $\mu\text{g/g}$ 以下

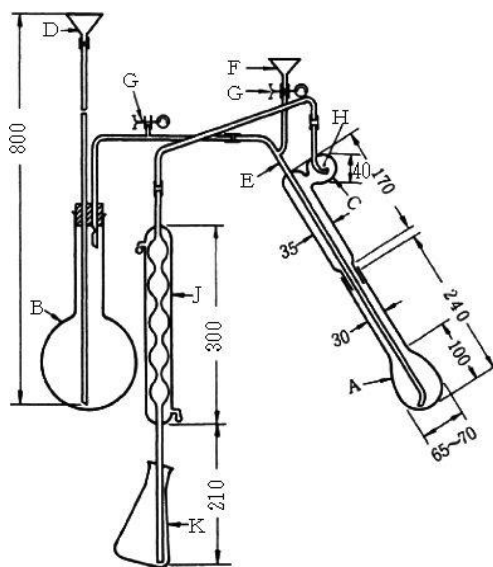
本品約 2.5 g を精密に量り、50ml の遠心管に入れ、水 25ml を加え、かき混ぜて溶かす。これにサリチルアルデヒドのメタノール溶液 (1 \rightarrow 20) 500 μl を加えてかき混ぜ、60 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で 15 分間加温する。冷後、トルエン 2.0ml を加え、密栓して 2 分間激しく振り混ぜ、遠心分離し、その上層を検液とする。別に、サリチルアルダジン 0.090 g を量り、トルエンに溶かし、正確に 100ml とし、この液 1 ml を正確に量り、トルエンを加えて正確に 100ml とし、標準液とする。検液及び標準液 10 μl を量り、メタノール溶液 (2 \rightarrow 3) を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行い、展開溶媒の先端が原線より約 15cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、暗所で紫外線 (波長 365nm) 下で観察するとき、標準液から得たスポットに対応する位置の検液から得たスポットの蛍光は標準液のそれよりも濃くない。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフィー用ジメチルシリル化シリカゲル (蛍光剤入り) を 110 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間乾燥したものを使用する。

水分 5.0% 以下 (0.5 g, 直接滴定)

強熱残分 0.1% 以下 (1 g, 600 \pm 50 $^{\circ}\text{C}$)

定量法 (1) 装置 総硬質ガラス製でその概略は次の図による。ただし、接続部は、すり合わせにしてもよい。装置に用いるゴムは、すべて水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 中で 10～30 分間煮沸し、次に水中で 30～60 分間煮沸し、最後に水でよく洗ってから用いる。

- A : ケルダールフラスコ
- B : 水蒸気発生器 (硫酸 2～3 滴を加えた水を入れ、突沸を避けるために沸騰石を入れる。)
- C : しぶき止め
- D : 給水用漏斗
- E : 蒸気管
- F : アルカリ溶液注入用漏斗
- G : ピンチコック付きゴム管
- H : 小孔 (径は、管の内径にほぼ等しい。)
- J : 冷却器 (下端は、斜めに切ってある。)
- K : 吸収用フラスコ



(単位mm)

(2) 操作法 本品約 0.1 g を精密に量り、ケルダールフラスコ A に入れ、これに硫酸カリウム 33 g、硫酸銅 (II) 五水和物 1 g 及び酸化チタン (IV) 1 g の混合物の粉末 5 g を加え、A の首に付着した試料を少量の水で洗い込み、更に A の内壁に沿って硫酸 7 ml を加える。A を徐々に加熱し、液が黄緑色澄明となり、A の内壁に炭化物を認めなくなった後、更に 45 分間加熱を続ける。冷後、水 20ml を注意しながら加えて冷却する。A を、あらかじめ水蒸気を通じて洗った蒸留装置に連結する。吸収用フラスコ K にはホウ酸溶液 (1→25) 30ml 及びブロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合試液 3 滴を入れ、適量の水を加え、冷却器 J の下端をこの液に浸す。漏斗 F から水酸化ナトリウム溶液 (2→5) 30ml を加え、注意して水 10ml で洗い込み、直ちにピンチコック付きゴム管 G のピンチコックを閉じ、水蒸気を通じて留液 80～100ml を得るまで蒸留する。J の下端を液面から離し、少量の水で J の下端を洗い込み、0.025mol/L 硫酸で滴定する。終点の判定は、液の緑色が微灰青色を経て微灰赤紫色に変わるときとする。別に空試験を行い補正する。

$$0.025\text{mol/L 硫酸 } 1\text{ ml} = 0.7003\text{mgN}$$

2. 試薬・試液

アルデヒドデヒドロゲナーゼ 本品は、白色の粉末である。

酵素活性 本品は、1 mg 当たり 2 単位以上の酵素活性を有する。

酵素活性測定法

(i) 試料溶液

本品約 20mg を精密に量り、水 1 ml に溶かし、氷冷したウシ血清アルブミン溶液 (1→100) を加えて正確に 200ml とする。

(ii) 操作法

β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (β -NAD) 20.0mg を量り、水に溶かして正確に 1 ml とする。この液 0.20ml、~~4~~ピラゾール溶液 (17→2500) 0.10ml 及び試料溶液 0.10ml をピロリン酸塩緩衝液 (pH9.0) 2.50ml に入れ、かき混ぜた後、密栓して 25±1℃ で 2 分間放置する。この液にアセトアルデヒド溶液 (3→1000) 0.01ml を加えてかき混ぜた後、密栓し、紫外可視吸光度測定法により波長 340nm における吸光度を 30 秒毎に測定し、時間と吸光度の関係が直線を示す部分より 1 分間当たりの吸光度の変化 (ΔA) を求め、次式により酵素活性を求める。その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1 分間にアセトアルデヒド 1 μ mol を酸化させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/mg)} = \frac{2.91 \times \Delta A \times 200}{6.3 \times \text{試料の採取量 (g)} \times 0.10 \times 1000}$$

アルデヒドデヒドロゲナーゼ試液 アルデヒドデヒドロゲナーゼ 70 単位に相当する量を取り、水 10ml に溶かす。用時調製する。

ウシ血清アルブミン ウシ血清からよりコーンの低温エタノール分画法により第 5 分画として得られたもので、アルブミン 95% 以上を含む。

サリチルアルダジン $C_{14}H_{12}N_2O_2$

融点 213~219℃

純度試験 本品 0.09 g を量り、トルエンに溶かし、正確に 100ml とし、この液 1 ml を正確に量り、トルエンを加えて正確に 100ml とする。この液 10 μ l を量り、「ポリビニルピロリドン」の純度試験(6)を準用し、試験を行うとき、一つのスポット以外にスポットを認めない。

酸化チタン (IV) TiO_2 [K8703]

ジチオスレイトール $C_4H_{10}O_2S_2$ 本品は、結晶である。

融点 42~43℃

ジメチルシリル化シリカゲル、薄層クロマトグラフィー用 (蛍光剤入り) 薄層クロマトグラフィー用に製造したジメチルシリル化シリカゲルに蛍光剤を添加したものをを用いる。

β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$ [β -NAD⁺, K9802, β -NAD⁺]

含量 ~~94.5% 以上~~

~~定量法 本品約 0.025 g を精密に量り、水に溶かし、正確に 25ml とする。この液 0.2ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0) を加えて正確に 10ml とし、試料液とする。試料液及びリン酸塩緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0) につき、紫外可視吸光度測定法により、水を対照として、波長 260nm における吸光度 A_x 及び A_B を測定し、次式により β -ニコチンアミドアデ~~

~~ニンジヌクレオチドの含量を求める。~~

~~β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド ($C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$) の量
 $0.6634 \times 10 \times 25$~~

~~$$\frac{\quad}{\quad} \times (A_T - A_B) \times 100 (\%)$$

試料の採取量 (mg) $\times 17.6 \times 0.20$~~

β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド試液 β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 0.04 g を水 10ml に溶かす。用時調製する。

薄層クロマトグラフィー用ジメチルシリル化シリカゲル(蛍光剤入り) ジメチルシリル化シリカゲル, 薄層クロマトグラフィー用(蛍光剤入り)を見よ。

ピラゾール $C_3H_4N_2$ 本品は, 白~微黄色の結晶又は結晶性の粉末である。
融点 67~71°C

ピロリン酸塩緩衝液 (pH9.0) ピロリン酸カリウム 3.3 g, ジチオスレイトール 15mg 及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 2 水和物 40mg を量り, 水を加えて溶かし, 70ml とした後, クエン酸 1 水和物溶液 (21→100) を加えて, pH9.0 に調整し, 更に水を加えて, 正確に 100ml とする。用時調製する。

ピロリン酸カリウム $K_4O_7P_2$ 本品は, 白色の結晶性の粉末で, 水に極めて溶けやすい。

融点 1109°C

ピロリン酸カリウム・塩酸緩衝液 (0.05mol/L, pH9.0) ピロリン酸カリウム 0.83 g を水 40ml に溶かす。これに塩酸試液 (1 mol/L) を加えて pH9.0 に調整し, 水を加えて 50ml とする。使用前に温度を $22 \pm 2^\circ C$ にする。

1-ビニル-2-ピロリドン C_6H_9NO 本品は, 澄明の液体である。

純度試験 本品 0.5 μ l につき, 次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。各々のピーク面積を測定し, 面積百分率法により 1-ビニル-2-ピロリドンの量を求めるとき, 99.0%以上である。ただし, 検出感度は本品 0.5 μ l から得た 1-ビニル-2-ピロリドンのピーク高さがフルスケールの約 70%になるように調整する。

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム 内径 0.53mm, 長さ 30m のケイ酸ガラス製の細管にガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコールを 1.0 μ m の厚さで被覆したもの。

カラム温度 80°C で 1 分間保持し, その後毎分 10°C で昇温し, 190°C に到達後 20 分間保持する。

注入口温度 190±50°C

キャリアーガス ヘリウム

流量 1-ビニル-2-ピロリドンのピークが約 15 分後に現れるように調整する。

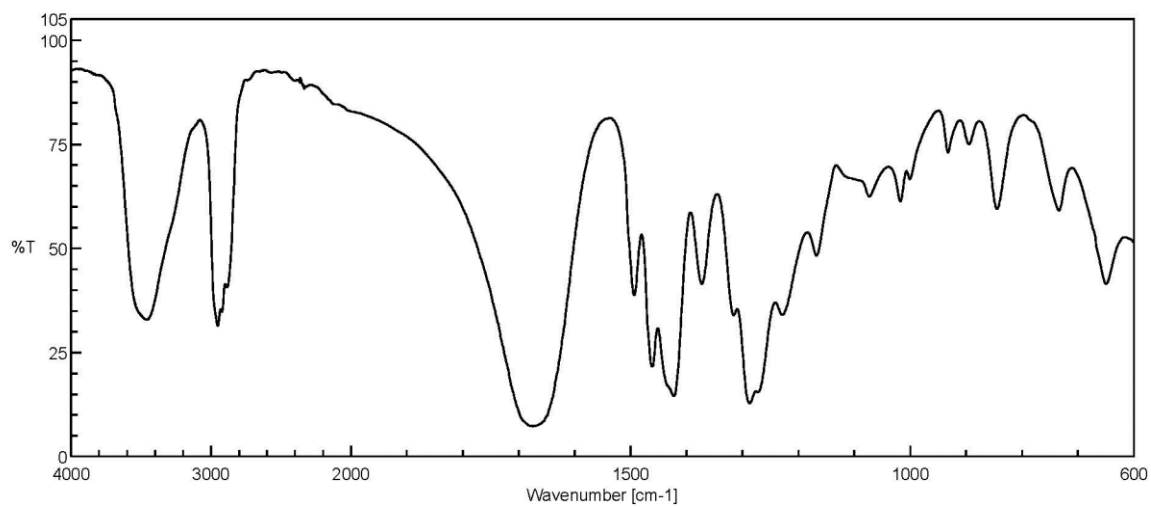
~~**リン酸塩緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0)** 第 1 液: リン酸二ナトリウム 17.9 g を水に溶かして 500ml とする。~~

~~第 2 液: リン酸二カリウム 6.8 g を水に溶かして 500ml とする。~~

~~第 1 液 2 容量と第 2 液 1 容量とを混和し, 両液を用いて pH7.0 に調整する。~~

3. 参照赤外吸収スペクトル

ポリビニルピロリドン



ポビドン

