

35. 旋光度測定法

旋光度測定法は、試料の旋光度を旋光計によって測定する方法である。

一般に光線の振動は、進行の方向に垂直に起こるが、通常の光線では、その振動方向は限定されない。しかし、一般に偏光といわれる平面偏光では、振動は進行方向を含む一平面内のみ起こり、このような光線は、偏光面を有するという。薬品又はその溶液には、偏光面を右又は左に回転させる性質を持つものがある。この性質を光学活性又は旋光性といい、物質の化学構造に関係がある。

旋光度は、光学活性物質又はその溶液が偏光面を回転する角度で、旋光計によって測定する。この値は測定管の層長に比例し、溶液の濃度、温度及び波長に関係する。旋光の性質は、偏光の進行方向に向きあって、偏光面を右に回転するものを右旋性、左に回転するものを左旋性とし、偏光面を回転する角度を示す数字の前に、それぞれ、記号 + 又は - をつけて示す。例えば、 $+20^\circ$ は右に 20° 、 -20° は左に 20° 回転することを意味する。

旋光度 α_t^x とは、特定の単色光 x (波長又は名称で記載する) を用い、温度 $t^\circ\text{C}$ で測定したときの旋光度を意味し、その測定は、通例、温度は 20°C 、層長は 100 mm 、光線はナトリウムスペクトルの D 線で行う。

比旋光度 $[\alpha]_t^x$ は、次の式で表す。

$$[\alpha]_t^x = \frac{100 \alpha}{lc}$$

t : 測定時の温度

x : 用いたスペクトルの特定の単色光の波長又は名称 (D 線を用いたときは、D と記載する。)

α : 偏光面を回転した角度

l : 試料溶液の厚、すなわち、測定に用いた測定管の長さ (mm)

c : 日本薬局方では、溶液 1 mL 中に存在する薬品の g 数である。液状薬品を溶液としないでそのまま用いたときは、その密度である。ただし、別に規定するもののほか、この密度の代わりに、その比重を用いる。

医薬品各条で、例えば $[\alpha]_D^{20}$: $-33.0 \sim -36.0^\circ$ (乾燥後、 1 g 、水、 20 mL 、 100 mm) とは、本品を乾燥減量の項に規定する条件で乾燥し、その約 1 g を精密に量り、水に溶かし正確に 20 mL とし、この液につき、層長 100 mm で測定するとき、 $[\alpha]_D^{20}$ が $-33.0 \sim -36.0^\circ$ であることを示す。

2.2.7. OPTICAL ROTATION

Optical rotation is the property displayed by chiral substances of rotating the plane of polarisation of polarised light.

Optical rotation is considered to be positive (+) for dextrorotatory substances (i.e. those that rotate the plane of polarisation in a clockwise direction) and negative (-) for laevorotatory substances.

The specific optical rotation $[\alpha]_{\lambda}^t$ is the rotation, expressed in radians (rad), measured at the temperature t and at the wavelength λ given by a 1 m thickness of liquid or a solution containing 1 kg/m³ of optically active substance.

For practical reasons the specific optical rotation $[\alpha]_{\lambda}^t$ is normally expressed in milliradians metre squared per kilogram (mrad·m²·kg⁻¹).

The Pharmacopoeia adopts the following conventional definitions.

The *angle of optical rotation* of a neat liquid is the angle of rotation α , expressed in degrees (°), of the plane of polarisation at the wavelength of the D-line of sodium ($\lambda = 589.3$ nm) measured at 20 °C using a layer of 1 dm; for a solution, the method of preparation is prescribed in the monograph.

The *specific optical rotation* $[\alpha]_{\lambda}^{20}$ of a liquid is the angle of rotation α , expressed in degrees (°), of the plane of polarisation at the wavelength of the D-line of sodium ($\lambda = 589.3$ nm) measured at 20 °C in the liquid substance to be examined, calculated with reference to a layer of 1 dm and divided by the density expressed in grams per cubic centimetre.

The *specific optical rotation* $[\alpha]_{\lambda}^{20}$ of a substance in solution is the angle of rotation α , expressed in degrees (°), of the plane of polarisation at the wavelength of the D-line of sodium ($\lambda = 589.3$ nm) measured at 20 °C in a solution of the substance to be examined and calculated with reference to a layer of 1 dm containing 1 g/ml of the substance. The specific optical rotation of a substance in solution is always expressed with reference to a given solvent and concentration.

In the conventional system adopted by the Pharmacopoeia the specific optical rotation is expressed by its value without units; the actual units, degree millilitres per decimetre gram [(°)ml·dm⁻¹·g⁻¹] are understood.

The conversion factor from the International System to the Pharmacopoeia system is the following:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda}^t \times 0.1745$$

In certain cases specified in the monograph the angle of rotation may be measured at temperatures other than 20 °C and at other wavelengths.

The polarimeter must be capable of giving readings to the nearest 0.01°. The scale is usually checked by means of certified quartz plates. The linearity of the scale may be checked by means of sucrose solutions.

Method. Determine the zero of the polarimeter and the angle of rotation of polarised light at the wavelength of the D-line of sodium ($\lambda = 589.3 \text{ nm}$) at $20 \pm 0.5^\circ \text{C}$. Measurements may be carried out at other temperatures only where the monograph indicates the temperature correction to be made to the measured optical rotation. Determine the zero of the apparatus with the tube closed; for liquids the zero is determined with the tube empty and for solids filled with the prescribed solvent.

Calculate the specific optical rotation using the following formulae.

For neat liquids:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot \rho_{20}}$$

For substances in solution:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{1000\alpha}{l \cdot c}$$

where c is the concentration of the solution in g/l.

Calculate the content c in g/l or the content c' in per cent m/m of a dissolved substance using the following formulae:

$$c = \frac{1000\alpha}{l \cdot [\alpha]_{\text{D}}^{20}} \qquad c' = \frac{1000\alpha}{l \cdot [\alpha]_{\text{D}}^{20} \cdot \rho_{20}}$$

- α = angle of rotation in degrees read at $20 \pm 0.5^\circ \text{C}$,
- l = length in decimetres of the polarimeter tube,
- ρ_{20} = density at 20°C in grams per cubic centimetre.
For the purposes of the Pharmacopoeia, density is replaced by relative density (2.2.5).
- c = concentration of the substance in g/l,
- c' = content of the substance in per cent m/m .

{781} OPTICAL ROTATION

Many pharmaceutical substances are optically active in the sense that they rotate an incident plane of polarized light so that the transmitted light emerges at a measurable angle to the plane of the incident light. This property is characteristic of some crystals and of many pharmaceutical liquids or solutions of solids. Where the property is possessed by a liquid or by a solute in solution, it is generally the result of the presence of one or more asymmetric centers, usually a carbon atom with four different substituents. The number of optical isomers is 2^n , where n is the number of asymmetric centers. Polarimetry, the measurement of optical rotation, of a pharmaceutical article may be the only convenient means for distinguishing optically active isomers from each other and thus is an important criterion of identity and purity.

Substances that may show optical rotatory power are *chiral*. Those that rotate light in a clockwise direction as viewed towards the light source are *dextrorotatory*, or (+) *optical isomers*. Those that rotate light in the opposite direction are called *levorotatory* or (-) *optical isomers*. (The symbols *d-* and *l-*, formerly used to indicate dextro- and levorotatory isomers, are no longer sanctioned owing to confusion with *D-* and *L-*, which refer to configuration relative to D-glyceraldehyde. The symbols *R* and *S* and α and β are also used to indicate configuration, the arrangement of atoms or groups of atoms in space.)

The physicochemical properties of nonsuperimposable chiral substances rotating plane polarized light in opposite directions to the same extent, *enantiomers*, are identical, except for this property and in their reactions with other chiral substances. Enantiomers often exhibit profound differences in pharmacology and toxicology, owing to the fact that biological receptors and enzymes themselves are chiral. Many articles from natural sources, such as amino acids, proteins, alkaloids, antibiotics, glycosides, and sugars, exist as chiral compounds. Synthesis of such compounds from nonchiral materials results in equal numbers of the enantiomers, *racemates*. Racemates have a net null optical rotation, and their physical properties may

differ from those of the component enantiomers. Use of stereoselective or stereospecific synthetic methods or separation of *racemate* mixtures can be used to obtain individual optical isomers.

Measurement of optical rotation is performed using a polarimeter. The general equation used in polarimetry is:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{100a}{lc}$$

where $[\alpha]$ is the specific rotation at wavelength λ , t is the temperature, a is the observed rotation in degrees ($^{\circ}$), l is the pathlength in decimeters, and c is the concentration of the analyte in g per 100 mL. Thus, $[\alpha]$ is 100 times the measured value, in degrees ($^{\circ}$), in a solution containing 1g in 100 mL, measured in a cell having a pathlength of 1.0 decimeter under defined conditions of incident wavelength of light and temperature. For some Pharmaceutical articles, especially liquids such as essential oils, the optical rotation requirement is expressed in terms of the observed rotation, as measured under conditions defined in the monograph.

Historically, polarimetry was performed using an instrument where the extent of optical rotation is estimated by visual matching of the intensity of split fields. For this reason, the D-line of the sodium lamp at the visible wavelength of 589 nm was most often employed. Specific rotation determined at the D-line is expressed by the symbol

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} \text{ or } [\alpha]_{\text{D}}^{20}$$

and much of the data available are expressed in this form. Use a lower wavelength, such as those available with the mercury lines isolated by means of filters of maximum transmittance at approximately 578, 546, 436, 405, and 365 nm in a photoelectric polarimeter, has been found to provide advantages in sensitivity, with a consequent reduction in the concentration of the test compound. In general, the observed optical rotation at 436 nm is about double that at 365 nm about three times that at 589 nm. Reduction in the concentration of the solute required for measurement may sometimes be accomplished by conversion of the substance under test to one that has a significantly higher optical rotation. Optical rotation is also affected by the solvent used for the measurement, and this is always specified.

It is now common practice to use other light sources, such as xenon or tungsten halogen, with appropriate filters, because these may offer advantages of cost, long life, and broad wavelength emission range over traditional light sources.

Specific Rotation—The reference *Specific rotation* (781S) in a monograph signifies that specific rotation is to be calculated from observed optical rotations in the *Test solution* obtained as directed therein. Unless otherwise directed, measurements of optical rotation are made at 589 nm at 25°. Where a photoelectric polarimeter is used, a single measurement, corrected for the solvent blank, is made. Where a visual polarimeter is employed, the average of no fewer than five determinations, corrected for the reading of the same tube with solvent blank, is used. Temperature, which applies to the solvent and the liquid under test, should be maintained within 0.5° of the stated value. Use the same cell for sample and blank. Maintain the same angular orientation of the cell in each reading. Place the cell so that the light passes through it in the same direction each time. Unless otherwise specified, specific rotation is calculated on the dried basis where *Loss on drying* is specified in the monograph or on the anhydrous basis where *Water* is specified.

Optical rotation of solutions should be determined within 30 minutes of preparation. In the case of substances known to undergo racemization or mutarotation, care should be taken to standardize the time between adding the solute to the solvent and introduction of the solution into the polarimeter tube.

Angular Rotation—The reference *Angular rotation* (781A) in a monograph signifies, unless otherwise directed, that the optical rotation of the neat liquid is measured in a 1.0-dm tube at 589 nm at 25°, corrected for the reading of the dry empty tube.

BP

F. Determination of optical rotation and specific optical rotation

(Ph. Enc. method 2.2.7)

The *optical rotation* of a substance is the angle through which the plane of polarisation is rotated when polarised light passes through the substance, if liquid, or a solution of the substance, if solid. Substances are described as dextrorotatory or laevorotatory according to whether the plane of polarisation is rotated clockwise or anticlockwise, respectively, as determined by viewing towards the light source. Dextrorotation is designated (+) and laevorotation is designated (-).

The *optical rotation*, α , unless otherwise specified, is measured at the wavelength of the sodium D-line (589.3 nm) at a temperature of 20° in a layer 1 dm thick.

The *specific optical rotation*, $[\alpha]_D^{20}$, of a liquid is determined by measuring the angle of rotation at the wavelength of the sodium D-line at a temperature of 20°, unless otherwise specified, calculating the optical rotation with reference to a layer 1 dm thick and dividing by the *relative density* at 20°, Appendix V G.

The *specific optical rotation* of a solid substance is determined, using the solution specified in the monograph, by measuring the angle of rotation at the wavelength of the sodium D-line at a temperature of 20°, unless otherwise specified, and calculating the result with reference to a layer 1 dm thick of a solution containing 1 g of the substance per ml. The *specific optical rotation* of a solid is always expressed with reference to a given solvent and concentration.

In the conventional system adopted by the Pharmacopoeia the specific optical rotation is expressed in degree millilitres per decimetre gram.

Polarimeters

Commercial instruments are normally constructed for use with a sodium or mercury vapour lamp. For certain applications the use of a photoelectric polarimeter capable of making measurements at specified wavelengths may be necessary. The polarimeter must be capable of giving readings to the nearest 0.01°. The scale is usually checked by means of certified quartz plates. The linearity of the scale may be checked using solutions of sucrose.

Method

Determine the angle of rotation of the substance being examined at 19.5° to 20.5° , unless otherwise specified, using the D-line of polarised sodium light. Measurements may be carried out at other temperatures only where the monograph indicates the temperature correction to be made to the measured optical rotation. Determine the zero point of the polarimeter with the tube empty and closed for liquid substances and filled with the specified solvent for solutions of solid substances.

Calculate the *specific optical rotation* using the expressions:

$$\text{For liquids, } [\alpha]_D^{20} = \alpha/d,$$

$$\text{For solids, } [\alpha]_D^{20} = 1000\alpha/c,$$

where c is the concentration of the solution in g/l.

Calculate the content in g/l or in % w/w of a dissolved substance using the following formulae:

$$\text{concentration (g/l)} = 1000\alpha/[\alpha]_D^{20}$$

$$\text{concentration (\% w/w)} = 100\alpha/\rho_{20}[\alpha]_D^{20}$$

where α = angle of rotation in degrees read at $20^\circ \pm 0.5^\circ$

l = the length in dm of the polarimeter tube,

ρ_{20} = density at 20° in g per cm^3 . (For the purposes of the Pharmacopoeia, density is replaced by relative density, Appendix V (1).)

OPTICAL (SPECIFIC) ROTATION

Many chemicals in a pure state or in solution are optically active in the sense that they cause incident polarized light to emerge in a plane forming a measurable angle with the plane of the incident

light. When this effect is large enough for precise measurement, it may serve as the basis for an assay or an identity test. In this connection, the optical rotation is expressed in degrees, as either *angular rotation* (observed) or *specific rotation* (calculated with reference to the specific concentration of 1 g of solute in 1 mL of solution, measured under stated conditions).

Specific rotation usually is expressed by the term $[\alpha]_t^x$, in which t represents, in degrees centigrade, the temperature at which the rotation is determined, and x represents the characteristic spectral line or wavelength of the light used. Spectral lines most frequently employed are the D line of sodium (doublet at 589.0 and 589.6 nm) and the yellow-green line of mercury at 546.1 nm. The specific gravity and the rotatory power vary appreciably with the temperature.

The accuracy and precision of optical rotatory measurements will be increased if they are carried out with due regard for the following general considerations.

Supplement the source of illumination with a filtering system capable of transmitting light of a sufficiently monochromatic nature. Precision polarimeters generally are designed to accommodate interchangeable disks to isolate the D line from sodium light or the 546.1-nm line from the mercury spectrum. With polarimeters not thus designed, cells containing suitably colored liquids may be employed as filters (see also A. Weissberger and B. W. Rossiter, *Techniques of Chemistry*, Vol. I: *Physical Methods of Chemistry*, Part 3, Wiley-Interscience, New York, 1972).

Pay special attention to temperature control of the solution and of the polarimeter. Make accurate and reproducible observations to the extent that differences between replicates, or between observed and true values of rotation (the latter value having been established by calibration of the polarimeter scale with suitable standards), calculated in terms of either specific rotation or angular rotation, whichever is appropriate, do not exceed one-fourth of the range given in the individual monograph for the rotation of the article being tested. Generally, a polarimeter accurate to 0.05° of angular rotation, and capable of being read with the same precision, suffices for FCC purposes; in some cases, a polarimeter accurate to 0.01°, or less, of angular rotation, and read with comparable precision, may be required.

Fill polarimeter tubes in such a way as to avoid creating or leaving air bubbles, which interfere with the passage of the beam of light. Interference from bubbles is minimized with tubes in which the bore is expanded at one end. However, tubes of uniform bore, such as semimicro- or micro-tubes, require care for proper filling. At the time of filling, the tubes and the liquid or solution should be at a temperature not higher than that specified for the determination to guard against the formation of a bubble upon cooling and contraction of the contents.

In closing tubes having removable end plates fitted with gaskets and caps, the latter should be tightened only enough to ensure a leak-proof seal between the end plate and the body of the tube. Excessive pressure on the end plate may set up strains that result in interference with the measurements. In determining the specific rotation of a substance of low rotatory power, loosen the caps and tighten them again between successive readings in the measurement of both the rotation and the zero point. Differences arising from end plate strain thus generally will be revealed and appropriate adjustments to eliminate the cause may be made.

Procedure In the case of a solid, dissolve the substance in a suitable solvent, reserving a separate portion of the latter for a blank determination. Make at least five readings of the rotation of the solution, or of the substance itself if liquid, at 25° or the temperature specified in the individual monograph. Replace the solution with the reserved portion of the solvent (or, in the case of a liquid, use the empty tube), make the same number of readings, and use the average as the zero point value. Subtract the zero point value from the average observed rotation if the two figures are of the same sign, or add if opposite in sign, to obtain the corrected observed rotation.

Calculation Calculate the specific rotation of a liquid substance, or of a solid in solution, by application of one of the following formulas: (I) for liquid substances,

$$[\alpha]_t^{\lambda} = \alpha / ld,$$

(II) for solutions of solids,

$$[\alpha]_t^{\lambda} = 100\alpha / lpd = 100\alpha / lc,$$

in which α is the corrected observed rotation, in degrees, at temperature t ; λ is the wavelength of the light used; l is the length of the polarimeter tube, in dm; d is the specific gravity of the liquid or solution at the temperature of observation; p is the concentration of the solution expressed as the number of g of substance in 100 g of solution; and c is the concentration of the solution expressed as the number of g of substance in 100 ml of solution. The concentrations p and c should be calculated on the dried or anhydrous basis, unless otherwise specified.

SPECIFIC ROTATION

Optical rotation of chemicals is generally expressed in degrees, as either "angular rotation" (observed) or "specific rotation" (calculated with reference to the specific concentration of 1 g of solute in 1 ml of solution, measured under stated conditions).

Specific rotation usually is expressed by the term $[\alpha]_x^t$, in which t represents, in degrees centigrade, the temperature at which the rotation is determined, and x represents the characteristic spectral line or wavelength of the light used. Spectral lines most frequently employed are the D line of sodium (doublet at 589.0 and 589.6 nm and the yellow-green line of mercury at 546.1 nm). The specific gravity and the rotatory power vary appreciably with the temperature.

The accuracy and precision of optical rotatory measurements will be increased if they are carried out with due regard for the following general considerations.

The source of illumination should be supplemented by a filtering system capable of transmitting light of a sufficiently monochromatic nature. Precision polarimeters generally are designed to accommodate interchangeable disks to isolate the D line from sodium light or the 546.1 nm line from the mercury spectrum. With polarimeters not thus designed, cells containing suitably coloured liquids may be employed as filters [see "Technique of Organic Chemistry", A. Weissberger. Vol. I, Part II, 3rd ed. (1960), Interscience Publishers, Inc., New York, N.Y.].

Special attention should be paid to temperature control of the solution and of the polarimeter. Observations should be accurate and reproducible to the extent that differences between replicates, or between observed and true values of rotation (the latter value having been established by calibration of the polarimeter scale with suitable standards), calculated in terms of either specific rotation or angular rotation, whichever is appropriate, shall not exceed one-fourth of the range given in the individual monograph for the rotation of the article being tested. Generally, a polarimeter accurate to 0.05' of angular rotation, and capable of being read with the same precision, suffices. In some cases, a polarimeter accurate to 0.01' or less, of angular rotation, and read with comparable precision, may be required.

Polarimeter tubes should be filled in such a way as to avoid creating or leaving air bubbles which interfere with the passage of the beam of light. Interference from bubbles is minimized with tubes in which the bore is expanded at one end. However, with tubes of uniform bore, such as semimicro- or micro-tubes, care is required for proper filling. At the time of filling, the tubes and the liquid or solution should be at a temperature not higher than that specified for the determination, to guard against the formation of a bubble upon cooling and contraction of the contents.

In closing tubes having removable end-plates fitted with gaskets and caps, the latter should be tightened only enough to ensure a leak-proof seal between the end-plate and the body of the tube. Excessive pressure on the end-plate may set up strains that result in interference with the measurements. In determining the specific rotation of a substance of low rotatory power, it

第7版 食品添加物公定書

酸価測定法

酸価とは、試料1 gを中和するのに要する水酸化カリウム (KOH) のmg数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、6.0以下(香料試験法)と規定する場合は、次の方法によるとき、酸価が、6.0以下であることを示す。

操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料約10 gを精密に量り、中和エタノール約50mlを加え、必要があれば加温して溶かし、フェノールフタレイン試液数滴を加え、しばしば振り混ぜながら、0.1mol/L水酸化カリウム溶液でマイクロビュレットを用い、30秒間持続する淡紅色を呈するまで滴定し、又は電位差計を用いて滴定する。

酸価 = (0.1mol/L水酸化カリウム溶液の消費量 (ml) × 5.611) / 試料の採取量 (g)

酸価

F C C

ACID VALUE

Dissolve about 10 g of the sample, accurately weighed, in 50 mL of alcohol, previously neutralized to phenolphthalein with 0.1 *N* sodium hydroxide. (Add 50 g of ice when testing cinnamyl formate, citronellyl formate, geranyl formate, isoamyl formate, and linalyl formate.) Add 1 mL of phenolphthalein TS, and titrate with 0.1 *N* sodium hydroxide until the solution remains faintly pink after shaking for 10 s, unless otherwise directed in the individual monograph. Calculate the acid value (AV) by the formula

$$AV = (5.61 \times S)/W,$$

in which *S* is the number of mL of 0.1 *N* sodium hydroxide consumed in the titration of the sample, and *W* is the weight, in g, of the sample.

When phenol red TS is specified as the indicator in the individual monograph, proceed as directed above, and titrate with 0.1 *N* sodium hydroxide to the appearance of the first endpoint, a yellow-orange color.

E P

2.5.1. ACID VALUE

The acid value I_A is the number that expresses in milligrams the quantity of potassium hydroxide required to neutralise the free acids present in 1 g of the substance.

Dissolve 10.00 g of the substance to be examined, or the quantity prescribed (m g) in 50 ml of a mixture of equal volumes of *alcohol R* and *ether R*, previously neutralised with 0.1 M potassium hydroxide, unless otherwise specified, using 0.5 ml of *phenolphthalein solution R1* as indicator. When the substance to be examined has dissolved, titrate with 0.1 M potassium hydroxide until the pink colour persists for at least 15 s (n ml of 0.1 M potassium hydroxide).

$$I_A = \frac{5.610n}{m}$$

B. Acid Value

(Ph. Eur. method 2.5.1)

The acid value is the number of mg of potassium hydroxide required to neutralise the free acid in 1 g of the substance when determined by the following method, unless otherwise specified in the monograph.

Unless otherwise specified in the monograph weigh 10 g of the substance being examined and add 50 ml of a mixture of equal volumes of *ethanol* (96%) and *ether* that has been neutralised with 0.1M *potassium hydroxide VS* using 0.5 ml of *phenolphthalein solution R1* as indicator. When the substance has completely dissolved, titrate with 0.1M *potassium hydroxide VS*, shaking constantly until a pink colour that persists for at least 15 seconds is produced.

Calculate the acid value from the expression $5.610v/w$, where v is the volume, in ml, of potassium hydroxide solution required and w is the weight, in g, of substance taken.

J E C F A

ACID VALUE

Dissolve about 10 g of sample, accurately weighed, in 50 ml of ethanol, previously neutralized to phenolphthalein TS with 0.1 N sodium hydroxide. Add 1 ml of phenolphthalein TS and titrate with 0.1 N sodium hydroxide until the solution remains faintly pink after shaking for 10 sec, unless otherwise directed. Calculate the Acid Value (AV) by the formula:

$$AV = \frac{5.61 \times S}{W}$$

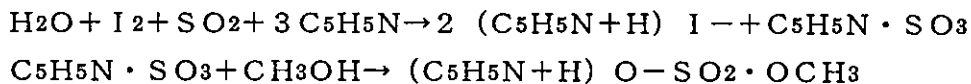
in which

- S = the number of ml of 0.1 N sodium hydroxide consumed in the titration of the sample, and
W = the weight of the sample in g.

第7版 食品添加物公定書

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下で、水がヨウ素及び二酸化硫黄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用い、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から、電解に要した電気量に基づき水分を測定する方法である。

以下、本試験を用いる場合において、例えば、「4.0%以下 (0.5 g、逆滴定)」とあるのは、試料約 0.5 g を精密に量り、逆滴定により試験するとき、その水分が試料の採取量の 4.0% 以下であることを示す。

1. 容量滴定法

装置

通例、自動ビュレット、逆滴定フラスコ、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に工夫する。防湿にはシリカゲル又は水分測定用塩化カルシウム等を使用する。

操作法

水分測定用試液による滴定は、湿気を避けて行い、原則として、これを標定したときの温度と同一の温度で行う。

被滴定液中に2本の白金電極を浸し、可変抵抗器を適当に調整して電極間に微小電圧を加え、水分測定用試液を滴下するとき変化する電流（マイクロアンペア）を測定する（定電圧分極電流滴定法）。滴定の進むにつれて回路中の電流が大きくなり変化し、数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると、この電流の変化が30秒間又はそれ以上の間持続する。この状態になったときを滴定の終点とする。

または、電極間に微小電流を流しておき、水分測定用試液を滴下するとき変化する電位差（ミリボルト）を測定する（定電流分極電位差滴定法）。滴定の途中で回路中の電圧計の値が数百ミリボルトの分極状態から急に減少し、消極状態となり、数秒で再び元の状態に戻る。滴定の終点に達すると、消極状態が一定時間持続する（通例、10～30秒間又はそれ以上）。この状態になったときを滴定の終点とする。

ただし、逆滴定により定電圧分極電流滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に残存する間は、電流計の針が振り切れ、終点に達すると急に元の位置に戻る。定電流分極電位差滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に存在する間は、ミリボルトメーターの値が元の位置にあり、終点に達すると一定の電圧がかかる。

水分測定用試液による滴定は、別に規定するもののほか、次のいずれの方法によってもよい。終点は、通例、逆滴定を行う場合の方が明りょうに判別できる。

(1) 直接滴定 別に規定するもののほか、次の方法による。

水分測定用メタノール 25ml を乾燥滴定フラスコに入れ、水分測定用試液を終点まで加える。次に、別に規定するもののほか、水分 10~50mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら水分測定用試液で終点まで滴定する。試料が溶剤に溶けないときは手早く粉末とし、その重量を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、湿気を避けて 30 分間かき混ぜた後、激しくかき混ぜながら滴定を行う。

なお、試料がカールフィッシャー反応を妨害するときは、水分気化装置を用いて試料を加熱し、窒素をキャリアーとして試料中の水分を滴定フラスコ中に導入することができる。

$$\text{水分 (H}_2\text{O)} = \frac{\text{水分測定用試液の滴定量 (ml)} \times f}{\text{試料の採取量 (mg)}} \times 100 (\%)$$

出典：食品衛生関係法規集

(2) 逆滴定 別に規定するもののほか、次の方法による。

水分測定用メタノール 20ml を乾燥滴定フラスコに入れ、水分測定用試液を加える。次に、水分 10~50mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、過量の水分測定用試液の一定量を加え、湿気を避けて 30 分間かき混ぜた後、激しくかき混ぜな

$$\text{水分 (H}_2\text{O)} = \frac{\left[\frac{\text{水分測定用試液の量 (ml)} \times f}{\text{試料の採取量 (mg)}} \right] - \left[\frac{\text{水・メタノール標準液の滴定量 (ml)} \times f'}{\text{試料の採取量 (mg)}} \right]}{\text{試料の採取量 (mg)}} \times 100 (\%)$$

ただし、f：水分測定用試液の 1 ml に対応する水 (H₂O) の mg 数

f'：水・メタノール標準液 1 ml 中の水 (H₂O) の mg 数

出典：食品衛生関係法規集

がら滴定を行う。

2. 電量滴定法

装置

通例、ヨウ素発生用電解槽、かき混ぜ機、滴定フラスコ及び定電流分極電位差滴定装置からなる。

ヨウ素発生用電解槽は、隔壁で隔てられた陽極及び陰極で構成され、陽極は水分測定用陽極液（発生液）中に、陰極は水分測定用陰極液（対極液）中に浸される。通例、両極とも白金網が用いられる。

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にする。防湿には、シリカゲル、水分測定用塩化カルシウム等を用いる。

操作法

滴定フラスコ中に水分測定用陽極液を入れた後、この液中に定電流分極電位差滴定装置の一对の白金電極又は双白金電極を浸す。別に、水分測定用陰極液を満たしたヨウ素発生装置を水分測定用陽極液中に浸す。あらかじめ電解電流を流して、滴定フラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分1～5mgを含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら終点まで滴定する。試料が陽極液に溶けないときは、手早く粉末とし、その重量を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、湿気を避けて5～30分間かき混ぜた後、激しくかき混ぜながら滴定を行う。

滴定開始より終点に至るまでのヨウ素の発生に要した電気量（C）（電流（A）×時間（秒））を測定し、次の式により試料中の水分（%）を求める。

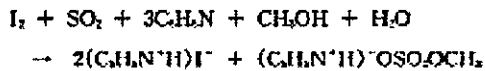
なお、試料がカールフィッシャー反応を妨害するときは、水分気化装置を用いて試料を加熱し、窒素をキャリアーとして試料中の水分を滴定フラスコ中に導入することができる。

$$\text{水分 (H}_2\text{O)} = \text{ヨウ素の発生に要した電気量 (C)} / (10.72 \times \text{試料の採取量 (mg)}) \times 100 (\%)$$

第 14 改正 日本薬局方

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用い、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つき、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、かき混ぜ機及び定置圧分極電流測定装置又は定電流分極電位差測定装置からなる。

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にする。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、そのまま湿気をとえぎって蒸留し、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とえぎって蒸留し、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、その増量が 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、その増量が 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、その増量が 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検定する。遮光して湿気を避け、冷所に保存する。

検定 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

まで滴定してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水約 30 mg を精密に盛り、速やかに滴定フラスコに入れ、激しくかき混ぜながら水分測定用試液で終点まで滴定する。水分測定用試液の 1 mL に対応する水 (H₂O) のミリグラム数 f (mg/mL) を次の式によって求める。

$$f \text{ (mg/mL)} = \frac{\text{水 (H}_2\text{O) の採取量 (mg)}}{\text{水 (H}_2\text{O) の滴定に要した水分測定用試液の量 (mL)}}$$

(2) 水・メタノール標準液

調製 水分測定用メタノール 500 mL を 1000 mL の乾燥フラスコにとり、水 2.0 mL を加え、水分測定用メタノールを加えて 1000 mL とする。

この標準液の標定は、水分測定用試液の標定に続いて行う。透光して湿気を避け、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り、これをあらかじめ水分測定用試液で終点まで滴定してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分測定用試液 10 mL を正確に加え、調製した水・メタノール標準液で終点まで滴定する。水・メタノール標準液 1 mL 中の水 (H₂O) のミリグラム数 f (mg/mL) を次の式によって求める。

$$f \text{ (mg/mL)} = \frac{f \text{ (mg/mL)} \times 10 \text{ (mL)}}{\text{滴定に要した水・メタノール標準液の量 (mL)}}$$

操作法

水分測定用試液による滴定は湿気を避けて行い、原則としてこれを標定したときの温度と同一の温度で行う。被滴定液中に一封の白金電極又は双白金電極を浸し、可変抵抗器を適当に調節して電極間に微小電圧を加え、水分測定用試液を滴加するとき変化する電流 (μ A) を測定し (定電圧分極電流滴定法)、滴定の進むにつれて回路中の電流が大きくなり変化し、数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると、この電流の変化が一定時間持続する (通例、30 秒間以上)、この状態になったときを滴定の終点とする。又は電極間に微小電流を流しておき、水分測定用試液を滴加するとき、変化する電位差 (mV) を測定し (定電流分極電位差滴定法)、滴定の進むにつれて回路中の電圧計の値が数百ミリボルトの分極状態から急に減少し、消極状態となり、数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると、消極状態が一定時間持続する (通例、30 秒間以上)、この状態になったときを滴定の終点とする。ただし、逆滴定により定電圧分極電流滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に存在する間は電流計の針が振り切れ、終点に達すると急に元の位置に戻る。定電流分極電位差滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に存在する間は電圧計の値が元の位置にあり、終点に達すると一定の電圧がかかる。

水分測定用試液による滴定は、別に規定するもののほか、次のいずれの方法によってもよい。終点は、通例、逆滴定を行う場合の方が明りょうに判別できる。

(1) 直接滴定

別に規定するもののほか、次の方法による。

水分測定用メタノール適量を乾燥滴定フラスコにとり、これをあらかじめ水分測定用試液で終点まで滴定してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分 5 ~ 30 mg を含む

ような量の試料を精密に盛り、速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら水分測定用試液で終点まで滴定する。試料が溶剤に溶けないときは手早く粉末とし、水分 5 ~ 30 mg を含むような量の試料を精密に盛り、速やかに滴定フラスコに入れ、湿気を避けて 5 ~ 30