

FT-IRを用いた製剤分析方法の確立（第三報）

石原 悟，豊留夏紀

独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

フロアブル剤、液剤など水分を多量に含有する農薬製剤について、赤外スペクトル波形の比較から処方検査を行う手法を検討した。その結果、フロアブル剤および水分含有率の極めて高い (>95%) 製剤を除く液剤については、ATR 法（全反射測定法）で測定した赤外スペクトルから水の吸収ピークを差し引いて得られた差スペクトルが処方検査に有用であることが示唆された。一方、水分含有率の極めて高い液剤については、製剤中に含まれる一部の成分をジクロロメタン相に転溶・濃縮した溶液を測定試料とすることで、処方検査に利用可能な赤外スペクトルを測定できると考えられた。

Keywords : 赤外分光法，農薬製剤，処方検査

結 言

赤外分光法は振動分光法の一つであり、極めて高い物質同定能力を有している。固体、液体、気体など様々な状態にある試料に適用でき、エネルギーの低い電磁波が測定に用いられていることから、試料を損傷することなく非破壊分析が可能である。測定が簡易で高い物質同定能力を有することから、赤外分光法は様々な分野において品質管理や品質検査などに利用されている¹⁾。

農薬製剤は有効成分と補助成分で構成されており、登録申請時に各製剤の詳細な処方が提出されている。登録された農薬製剤は、申請時の処方と製造された製剤を用いて毒性、薬害の有無など各種安全性が確認されていることから、原則的には登録時の処方を変更することは認められていない。現在、農薬製剤の処方検査（申請処方と上市された製品における処方の異同識別の検査）は、申請時の処方と製造現場で確認した処方の比較による検査および各補助成分の個別分析で対応しているが、各補助成分の分析により処方の異同識別を行うことは、多大な労力を必要とするため、簡易に各製剤の処方判別ができる科学的な手法の開発が求められている。そこで本研究では、医薬品の確認試験法²⁾としても採用されている赤外分光法に注目し、同法を用いた農薬製剤処方の異同識別手法の開発を目的とした。

農薬製剤の形状は、粉末、粒状、液体、ペースト状など多様であることから、それぞれの形状・性状に適した測定・解析手法の検討を進める必要があった。平成 20 年度は、乳剤などの水分を含まない液

体制剤について、21 年度は粉剤、粒剤などの固形農薬製剤について測定・解析手法の検討を行った。これまでの検討の結果、乳剤や固形農薬製剤の測定手法としては ATR 法（全反射測定法）が、解析手法としては、PCA（主成分分析）の利用が有用であることが示された³⁾⁴⁾。

22 年度は、水分を多量に含有する製剤（フロアブル剤、液剤）について検討した。水分子は赤外領域に極めて強い吸収があるため、赤外スペクトルを処方検査に利用することは困難であることが予測された。そこで、水分が製剤の赤外スペクトルに及ぼす影響を除去する解析手法として差スペクトルの利用を検討した。

材料および方法

1. 測定試料

登録申請時に提出されたフロアブル剤（20 剤）および液剤（23 剤）の見本品を測定試料とした。測定した液剤のうち、水分含有率が 97%を超える 8 剤については、原液での測定に加え、以下に示す手順で製剤中に含まれる一部の成分をジクロロメタン相に転溶・濃縮した溶液も測定試料とした。

転溶・濃縮の手順：液剤原液 10 ml にジクロロメタン 0.5 ml を加えて 10 分間振とうした。静置後、ジクロロメタン相の溶液を約 0.1 ml 採取し、測定試料とした。

差スペクトルの計算に使用した水の赤外スペクトルは、水道水を測定試料として測定した赤外スペクトルを利用した。

2. 測定機器

フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR)

FT-IR (IRPrestige-21, SHIMADZU 製) を用い、中赤外領域の赤外スペクトルを測定した。液膜法による測定では、水に難溶である KRS-5 (臭化タリウムとヨウ化タリウムの混晶) 液体セルを使用した。ATR 法 (Attenuated Total Reflection, 全反射法) による測定では、FT-IR 本体に全反射測定装置 (DurasamplIR II, 1 回反射型ダイヤモンド・ZnSe 結晶, Smith 製) を付属し測定を行った。測定は表 1 に示す条件で各試料 3 回実施した。

表 1. FT-IR の測定条件

分解	4 cm ⁻¹
波数範囲	4000-650 cm ⁻¹
積算回数	40 回
検出器	DLATGS
光源	Infrared

3. PCA

赤外スペクトルの PCA による解析は、全て市販のケモメトリックス用ソフトウェア (Pirouette, GLSciences 製) を用いて行った。

結果および考察

1. フロアブル剤

フロアブル剤は粘稠な懸濁液体であり、通常水分を 50%以上含有している。測定試料が水分を多量に含有する懸濁液体であることから、赤外スペクトルの測定手法として、KRS-5 液体セルを用いた液膜法および ATR 法について検討を行った。

液膜法でフロアブル剤原液の測定を行ったところ、水に帰属する吸収ピークが強すぎたため (ピークが飽和する)、波数 850 cm⁻¹ 以下、1650-1600 cm⁻¹ 付近および 3700-3000 cm⁻¹ 付近の領域で正しいスペクトル波形が得られなかった (図 1)。一方、ATR 法は液膜法と比較し感度が低いことから、水道水を含め、全ての試料で測定波数範囲 (4000-650 cm⁻¹) においてピークの飽和は確認されなかった (図 1)。

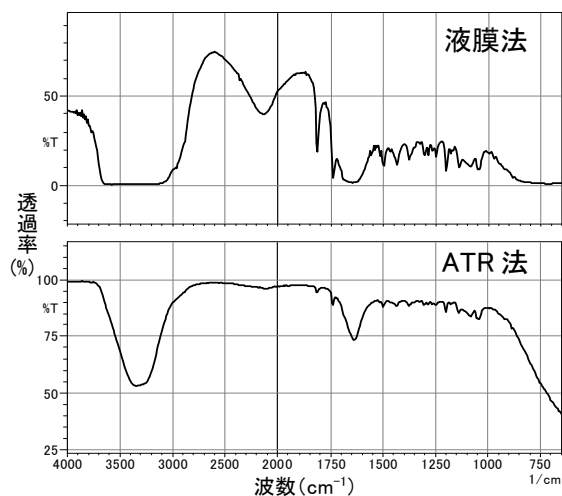


図 1. フロアブル剤 A (水分含有率 > 69.2%) の赤外スペクトル

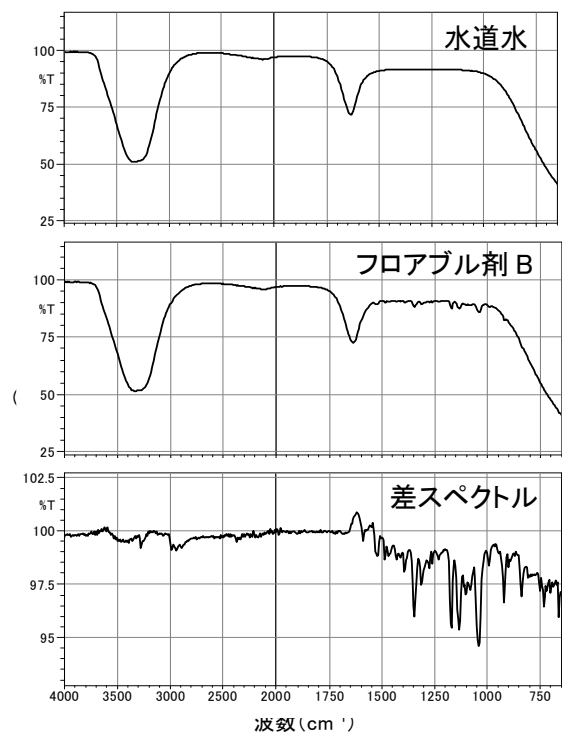


図 2. ATR 法で測定した水道水およびフロアブル剤 B (水分含有率 > 88.6%) の赤外スペクトルとフロアブル剤 B から水の吸収ピークを差し引いて得られた差スペクトル

水分子は赤外領域に極めて強い吸収があるため、水分を多量に含有するフロアブル剤の赤外スペクトル波形は、水の赤外スペクトル波形と相似する傾向を示した（図 2）。また、フロアブル剤の水分以外の成分に帰属する吸収ピークは、水に帰属する吸収ピークと比較し、微弱なシグナルである傾向があったため、赤外スペクトル波形（生データ）の比較から処方の一貫性を検査することは困難であり、生データを処方検査に利用することは効率的でないと考えられた。そこで、ATR 法によるフロアブル剤の測定結果から水の吸収（図 2）を差し引いた差スペクトルの計算を行ったところ、差スペクトルではフロアブル剤の水分以外の成分特有のピークが鮮明に確認でき、スペクトル波形の比較が容易になった（図 2）。

図 3 に 20 種フロアブル剤の赤外スペクトルの生データおよび水との差スペクトルの測定値に、PCA を施した結果（二次元散布図）を示す。各試料の座標間の距離は、生データの結果と比較して差スペクトルで離れることが確認された。本結果は、生データと比較し差スペクトルでスペクトル波形の違いの検出が容易であることを示しており、差スペクトルの利用が処方検査に有用であることが示唆された。

2. 液剤

液剤は、水溶性が高く溶剤に溶けにくい有効成分を水に溶かし、界面活性剤などを添加した製剤である。水分を多量に含有する透明な液体であり、液剤の中には、AL（Applicable Liquid）剤のように水分含有率が極めて高い製剤の登録も多い。

フロアブル剤の検討結果から、フロアブル剤と同程度以上に水分を含有する液剤の測定に液膜法を適用することはできないと考えられた。そこで、液剤の赤外スペクトルの測定法は ATR 法についてのみ検討を行った。

液剤の ATR 法による測定では、フロアブル剤の測定結果と同じく、水に帰属する吸収ピークが強く検出され、生データを処方検査に利用することはできないと考えられた。水分以外の成分を一定程度（概ね 4%程度）以上含有する液剤については、フロアブル剤での解析手法と同様に、水の吸収ピークを差し引いて得られた差スペクトルを利用することで、液剤の水分以外の成分特有のピークを検出できた。図 4 に水分以外の成分を約 4%含む液剤の測

定結果を示す。微弱ながらも液剤の水分以外の成分特有のピークが検出された（図 4）。一方、水分含有率が 96%を超える液剤では、水との差スペクトルを計算しても、処方検査に利用可能なスペクトルは得られない傾向にあった（図 5）。

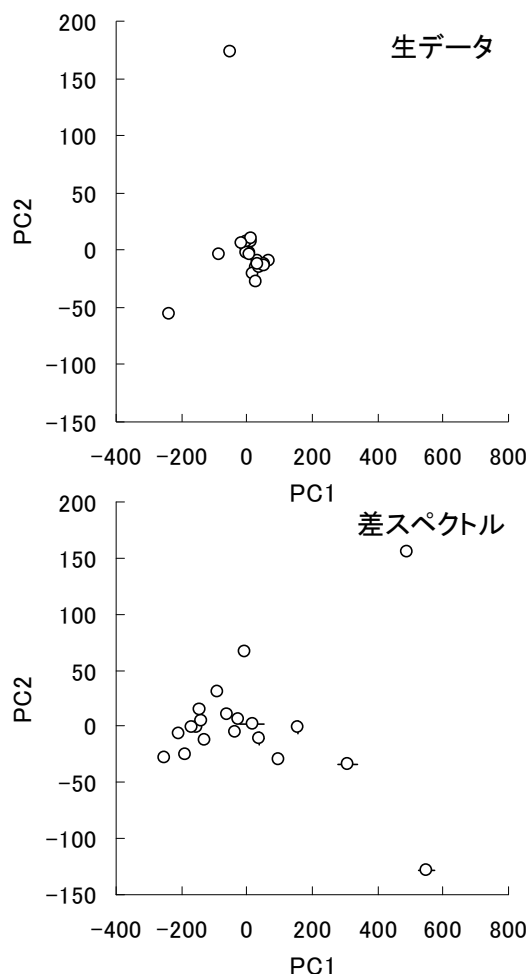


図3. 20 種フロアブル剤の赤外スペクトルの生データおよび水との差スペクトルの測定値（波数範囲；4000–650 cm^{-1} ）に対し主成分分析を施した結果（二次元散布図）

エラーバーは標準誤差を示す($n=3$)

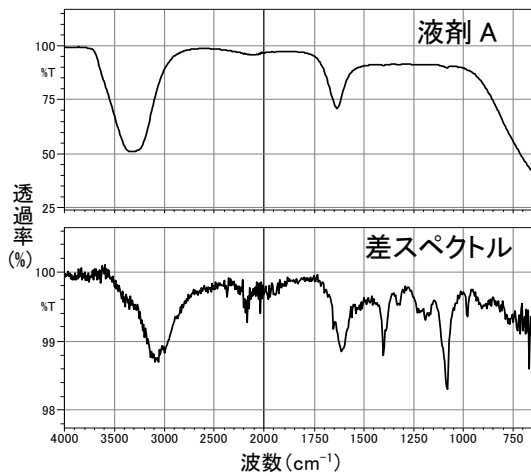


図4. ATR法で測定した液剤A(水分含有率>95.8%)の赤外スペクトルと液剤Aから水の吸収ピークを差し引いて得られた差スペクトル

水分含有率が97%を超える液剤8剤について、製剤中に含まれる一部の成分をジクロロメタン相に転溶・濃縮し、ジクロロメタン相を測定試料として赤外スペクトルを測定した。ジクロロメタン相に転溶された液剤中の成分のみに帰属する赤外スペクトルの測定を行うため、測定は全反射測定装置のATRエレメント上で設置した試料を一定時間放置し、ジクロロメタンを完全に蒸発してから行った。その結果、ジクロロメタン相に転溶された成分に限定されるが、液剤中の成分帰属のピークが鮮明に検出された(図5)。

図6に8種液剤のジクロロメタン濃縮試料の測定値について、PCAを施した結果(二次元散布図)を示す。各試料が二次元散布図上で異なる座標にプロットされていることから、原液の測定では判別不能な液剤の処方の違いがジクロロメタン濃縮試料で、判別できると考えられた。PCAの結果、フロアブル剤での解析結果(図3)と比較して誤差が大きくなる傾向が認められたが、これは測定試料に前処理(転溶・濃縮)が必要であること、ATRエレメント上でジクロロメタンを蒸発させて試料を設置したことなどが要因であると考えられた。

以上の結果から、水分含有率の極めて高い液剤については、製剤中に含まれる一部の成分をジクロロメタン相に転溶・濃縮した溶液を測定試料とすることで、処方検査に赤外スペクトルの測定が有用であることが示唆された。

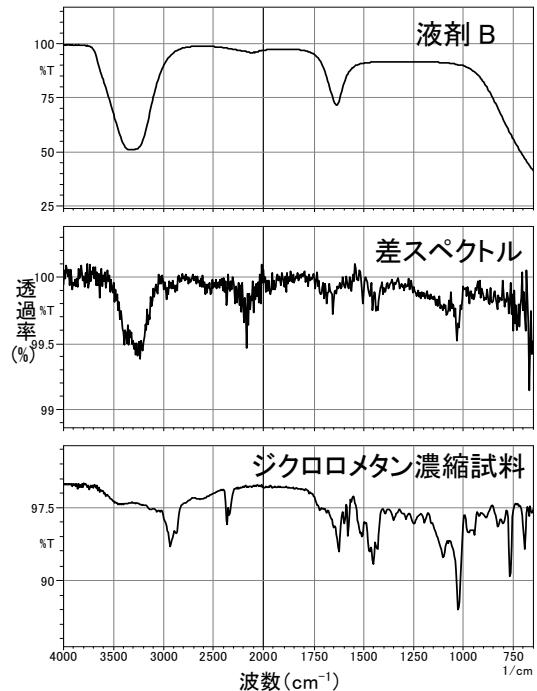


図5. ATR法で測定した液剤B(水分含有率>99.8%)の赤外スペクトルと液剤Bから水の吸収ピークを差し引いて得られた差スペクトル

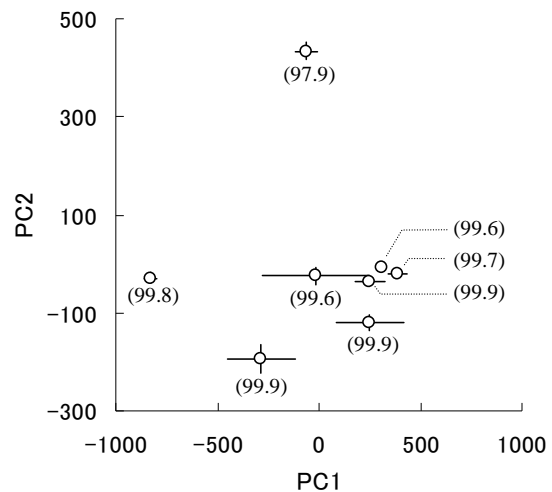


図6. 水分含有率が97%を超える8種液剤のジクロロメタン濃縮試料の測定値(波数範囲: 4000-650 cm^{-1})に対し主成分分析を施した結果(二次元散布図) 括弧内の数値は水分含有率(%)を示す エラーバーは標準誤差を示す($n=3$)

引用文献

- 1) 尾崎幸洋編, 実用分光法シリーズ赤外分光法, アイピーシー出版部, 1998.
- 2) 厚生労働省告示第 111 号, 2001.
- 3) 石原 悟, 豊留夏紀, 横山央子, 池長 宙, 斎藤玲奈, 野口雅美: 農薬調査研究報告 1, 24-27 (2009)
- 4) 石原 悟, 豊留夏紀: 農薬調査研究報告 2, 19-23 (2010)