

# FT-IR を用いた集取農薬と農薬見本の同等性の確認

渡辺高志<sup>\*</sup>，塚田勇輝<sup>\*</sup>，岡安弘之<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>: 独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

<sup>\*\*</sup>: 独) 農林水産消費安全技術センター 業務監査室

農薬登録申請時に提出された見本と立入検査で集取した集取品の同等性を確認する方法として、FT-IR/ATR を用いて測定した IR スペクトルを比較する方法が検討され、実用的との結果が出された。この方法を用いて、見本どおりの処方で作られた農薬と、見本とは異なる処方で作られた農薬を用いて IR スペクトルを測定し、開発された方法が利用可能かどうかを検証した。さらに、補助成分の含有率を変えた試料を用いた感度分析の結果から、両者を分離するためには、各成分に十分な濃度差が必要となるが、今回の供試農薬は、この条件を満たしていなかったため、PCA で分離することはできなかった。しかし、立入検査で集取した集取品と当該農薬の登録申請時に提出され保管していた見本の IR スペクトルを PCA で解析したところ、一部の農薬において、見本と集取品の組成が異なることが示唆され、当該農薬の登録申請者に確認した結果、見本と異なる処方で作られていたことが確認された。したがって、FT-IR/ATR を用いて IR スペクトルを測定し PCA で解析する方法は、集取品と見本の同等性を確認するためのスクリーニングに利用可能と判断された。

Keywords ; 農薬, 製剤, 補助成分, 感度分析, FT-IR, ATR (Attenuated Total Reflection), PCA (Principal Component Analysis)

## 緒 言

農薬取締法（以下、「法」という。）<sup>1)</sup>では、国内で農薬（製剤）を製造、輸入、販売、使用するためには、予め農林水産大臣（以下、「大臣」という。）の登録を受ける必要があると規定されている。この登録を受けるためには、当該農薬の登録申請者（以下、「申請者」という。）は、農薬登録申請書（以下、「申請書」という。）、農薬の薬効、薬害、毒性および残留性に関する試験成績を記載した書類ならびに農薬の見本を添えて農林水産消費安全技術センター（以下、「FAMIC」という。）を経由して大臣に提出しなければならない。大臣は、これらの見本等を FAMIC に検査をさせ、法第 3 条第 1 項各号（農薬登録保留基準）に該当する場合以外、当該農薬は登録され、申請者に対して農薬登録票が交付される。

申請者は、登録申請時に提出した「農薬（製剤）および原体の成分組成、製造方法等に関する資料（以下、「成分資料」という。）」に記載した製剤の処方（見本の処方）および製造方法に基づき、見本と同等に製剤を製造する必要がある。登録後に製造される製剤が申請内容どおりに製造されているかを確認するため、FAMIC は、法第 13 条の 2 に基づき大臣の命を受けて、製造者に対する立入検査を行い、必要に応じて申請者が製造・輸

入した製剤を集取している。集取された製剤は、成分資料記載内容との整合性を確認するため、FAMIC 業務方法書<sup>2)</sup>に基づき、当該農薬等の種類を勘案の上、有効成分の検査、その他の成分の検査、物理的・化学的性状の検査、量目検査、容器包装の検査および表示検査が行われる。有効成分は「農薬登録申請見本検査書」に記載された方法等で分析を行い、その種類と含有率を確認、物理的・化学的性状は「物理性検定法」（法第 14 条第 2 項に基づく検査方法；農林省告示による公定検査法）<sup>3,4)</sup>や「農薬の登録申請書等に添付する資料等について」の運用について<sup>5)</sup>に基づく方法（生産資材課長通知法）で確認、量目は重量を測定して確認、容器包装は申請書記載内容との比較により確認、表示はラベル記載内容と申請書記載内容との整合性を確認している。その他の成分（以下、「補助成分」という。）の検査では、各成分を個別に定性・定量することが望ましいが、多大な労力と分析コストが必要となるため、申請時に提出された処方と立入検査時に集取した処方を比較することにより確認している。

このため、FAMIC 農薬検査部では、補助成分を簡易かつ科学的に検査する方法として、核磁気共鳴装置（NMR）を用いた検査方法を検討し、一部の農薬について処方検査への実用性が示された<sup>6-8)</sup>。しかし、NMR は機器単価・維持管理が高

額であり、分析コストが高くなる等の問題点があるため、簡易かつ分析コストが低く、科学的な検査方法の開発が急務であった。

諸外国では、FT-IR（フーリエ変換赤外分光）と液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを併用して、模造品や並行輸入品と疑われる製品と正規製品のスペクトルやクロマトグラム等を比較することにより適正な製品かどうかの判定に用いている<sup>9, 10)</sup>。さらに、FT-IRは、農薬の異同を識別する方法として「医薬品の有効成分の異同識別法<sup>11)</sup>」として利用されていることから、FT-IR/ATR（全反射；Attenuated Total Reflection）を用いた農薬製剤のPCA（主成分分析；Principal Component Analysis）による異同識別法が検討され、集取品中の補助成分の検査への実用性が示唆された<sup>12)</sup>。

そこで、立入検査で集取した製剤、すなわち、農薬登録を受けた後に見本どおりに製造されるべき製剤における補助成分の検査にFT-IR/ATRが利用できるかどうかを確認するため、立入検査で集取した製剤の処方成分資料に記載されている処方と異なっていた製剤と、当該資料に記載どおりの処方、すなわち、届出どおりに製造された製剤を用いて検証を行った。

## 材料および調査方法

### 1. 供試製剤等

供試製剤の一覧を表1に示す。これらのうち、SC1<sub>mnf1</sub>、RB<sub>mnf1</sub>、GR<sub>mnf1</sub>は、届出とは異なる処方

で製造されていた。

### 1.1. 供試製剤と処方

#### 1.1.1. SC1（フロアブル）

SC1<sub>mnf1</sub>は立入検査で集取した製剤で、溶剤の含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていた。また、増粘剤には見本と異なる成分が使用されたが、これは見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

SC1<sub>mnf2</sub>は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

これらの処方の抜粋を表2に示す。なお、含有率は有効数字を2桁で表記し、今回の検討に用いなかった成分の名称・含有率および見本の処方

表2. SC1の処方

種類	成分名	含有率(%)	
		SC1 <sub>mnf1</sub>	SC1 <sub>mnf2</sub>
有効成分		略	
補助成分	溶剤	0.20	0.50
	増粘剤 A	—	0.12
	増粘剤 B	0.18	—
	その他・水	略	
合計		100	100

表1. 調査研究に用いた製剤と略号

種類／農薬名	GR	RB	SC1	SC2	SC3
見本	—	—	—	SC2 <sub>ref</sub> 開封: SC2 <sub>ref1</sub> 未開封: SC2 <sub>ref2</sub>	SC3 <sub>ref</sub>
集取品等	GR <sub>mnf1</sub> <sup>*1</sup> GR <sub>mnf2</sub> <sup>*3</sup> GR <sub>mnf3</sub> <sup>*4</sup>	RB <sub>mnf1</sub> <sup>*1</sup> RB <sub>mnf2</sub> <sup>*2</sup>	SC1 <sub>mnf1</sub> <sup>*1</sup> SC1 <sub>mnf2</sub> <sup>*2</sup>	SC2 <sub>mnf</sub>	SC3 <sub>mnf</sub>

\*1: 届出とは異なる処方で製造された製剤。\*2: 届出と同じ処方で製造された製剤。

\*3: 届出と同じ処方で、A工場で製造された製剤。\*4: 届出と同じ処方で、B工場で製造された製剤。

GR: Granule, RB: Bait (ready for use), SC: Suspension concentrate.

は、企業秘密保護のため記載を省略し、製剤の記号は、International Code of Pesticide Formulation Type by CropLife International Technical Monograph<sup>13)</sup>より引用した（以下同じ）。

### 1.1.2. RB（ペイト粒剤）

RB<sub>mnf1</sub>は立入検査で集取した製剤で、見本にない補助成分が使用され、さらに、一部の補助成分の含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていた。

RB<sub>mnf2</sub>は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

これらの処方の抜粋を表3に示す。RB<sub>mnf1</sub>とRB<sub>mnf2</sub>では、色素の含有率が異なっていたため、RB<sub>mnf1</sub>の方が色調は濃かった（図1）。

表3. RBの処方

種類	成分名	含有率(%)	
		RB <sub>mnf1</sub>	RB <sub>mnf2</sub>
有効成分		略	
補助成分	植物粉A	57	61
	植物粉B	11	—
	植物粉C	2.9	3.0
	植物粉D	23	35
	植物油	2.9	—
	色素	0.029	0.020
	その他	略	
合計		100	100

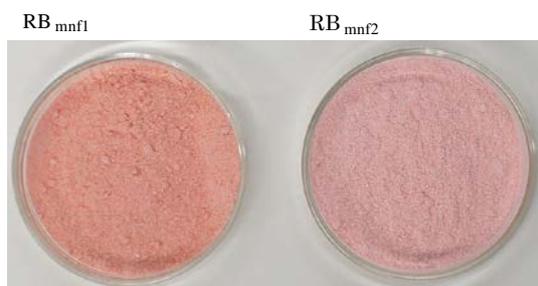


図1. RB<sub>mnf1</sub>とRB<sub>mnf2</sub>の外観（すりつぶした状態）

### 1.1.3. GR（粒剤）

GRの製造場は複数あり、GR<sub>mnf1</sub>とGR<sub>mnf2</sub>は、それぞれ、A工場、GR<sub>mnf3</sub>はB工場で製造された製剤である。

GR<sub>mnf1</sub>は立入検査で集取した製剤で、界面活性剤、ベントナイトおよびクレーには見本と異なる製品が使用され、含有率も見本と異なっていた。しかし、GR<sub>mnf1</sub>で使用されたベントナイトとクレーは、見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

GR<sub>mnf2</sub>は当該農薬製造会社より入手した製剤で、ベントナイトおよびクレーには見本と異なる製品が使用されたが、GR<sub>mnf1</sub>と同様、GR<sub>mnf2</sub>で使用されたベントナイトとクレーは、見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

GR<sub>mnf3</sub>は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

なお、GR<sub>mnf1</sub>、GR<sub>mnf2</sub>およびGR<sub>mnf3</sub>において、ベントナイトおよびクレーの製品名が異なるのは、それぞれの工場における入手先の違いによるものである。

これらの処方の抜粋を表4に示す。

### 1.1.4. 見本と集取品

立入検査で集取した水和剤2種（いずれも、フロアブルであり、それぞれSC2とSC3と表記する。）と、当該農薬の登録申請時に提出された見本2種を使用した。

SC2のうち、集取品をSC2<sub>mnf</sub>、当該農薬の見本をSC2<sub>ref</sub>、SC3のうち、集取品をSC3<sub>mnf</sub>、当該農薬の見本をSC3<sub>ref</sub>と表記する。

### 1.2. 補助成分等

SC1の補助成分である溶剤、増粘剤Aおよび増粘剤Bは、それぞれの製造会社より入手した。

RBの補助成分である植物粉A、植物粉Bおよび植物粉Dは、それぞれ当該農薬製造会社より入手、植物粉Cおよび植物油は、それぞれ市販品を使用した。また、ベントナイトA、ベントナイトB、クレーAおよびクレーBは、平成21年度調査研究で使用したものをを使用した。

GRの補助成分である界面活性剤Aおよび界面活性剤Bは、それぞれの製造会社より入手した。界面活性剤AとBの主成分は同じであるが、主成分以外の組成が異なっている。

水は、水道水をMilli-Q Advantage Elix UV3で精製したものを用い、エタノールは関東化学(株)製高速液体クマトマトグラフィー用、ポリスチレン・フィル

表 4. GR の処方

種類	成分名	含有率(%)		
		GR <sub>mnf1</sub>	GR <sub>mnf2</sub> *1	GR <sub>mnf3</sub> *2
有効成分		略		
補助成分	界面活性剤 A	—	0.21	0.21
	界面活性剤 B	0.30	—	—
	ベントナイト A	—	—	24
	ベントナイト B	22	24	—
	クレー A	—	—	61
	クレー B	62	60	—
	その他	略		
合計		100	100	100

ムは島津製作所製波数確認用をそれぞれ用いた。

## 2. IR スペクトルの測定

### 2.1. 装置

FT-IR の測定は、赤外分光光度計には島津製作所製 IRPrestige-21, ATR ユニットには SensIR Technologies 製 DuraSaml/R II を用い、測定モードを Absorbance, アポダイズ関数を Happ-Genzel, 測定範囲を 4000~650 cm<sup>-1</sup> (中赤外領域), 積算回数を 40 回, 分解能を 4.0 cm<sup>-1</sup> に設定して測定を行った。

### 2.2. 試料のスペクトルの測定

#### 2.2.1. SC1, SC2, SC3 (SC)

ATR ユニットの赤外分光光度計に取り付けた後、ATR ユニットのダイヤモンド ATR エlement 中央部にアルミニウム製スペーサーを置き、スペーサー内にスポイトを用いて試料を滴下し、IR スペクトルを測定した。なお、測定時のバックグラウンドは、Element に何も添加しない状態 (すなわち、空気) で測定し、測定は同一試料について 3~5 回繰り返した (以下同じ)。SC のスペクトルは、水のスペクトルを差し引いて求めた。

また、スペクトル測定時の環境条件 (気温, 湿度, 気圧) は、(株) ティアンドディ Thermo Recorder TR-73U を用いて、30 秒毎に測定・記録し、スペクトル測定期間中の平均値を求めた (以下同じ)。

#### 2.2.2. RB および GR

RB は粒状, GR は細粒の製剤であり、そのままの状態では ATR ユニット上で IR スペクトルを測定

できないので、乳鉢でよくすりつぶした。すりつぶした試料は、測定までの間、吸湿を防ぐためシリカゲル・デシケーター内で保存した。

これを ATR ユニットのダイヤモンド ATR Element 中央部に添加し、固体試料プレスを用いて圧力を加え、その後は 2.2.1. と同様に操作して IR スペクトルを測定した。

#### 2.2.3. ポリスチレン・フィルム

ポリスチレン・フィルムを赤外分光光度計の透過室カセットに差し込み、IR スペクトルを測定した。

## 3. PCA

PCA は、Infometrix Inc. 製 Pirouette Ver. 3.11 を用い、Preprocessing を平均化, Maximum Factor (説明変数に相当) を 2, Validation Method をなし, Rotation をノーマル, 変換を Baseline Correct (Linear Fit) に設定して行った。

## 4. 補助成分含有率の異なる試料の調製

### 4.1. SC1

SC1<sub>mnf1</sub> と SC1<sub>mnf2</sub> の処方では、溶剤の含有率において、SC1<sub>mnf1</sub> が 0.20% と SC1<sub>mnf2</sub> が 0.50%、増粘剤の種類と含有率において、SC1<sub>mnf1</sub> が増粘剤 B の 0.18% と SC1<sub>mnf2</sub> が増粘剤 A の 0.12% という点が異なっていた (表 2)。

この違いを PCA で分離できるかどうかを確認するため、基材 (主成分である水) に補助成分を添加して濃度の異なる溶液を作成した。

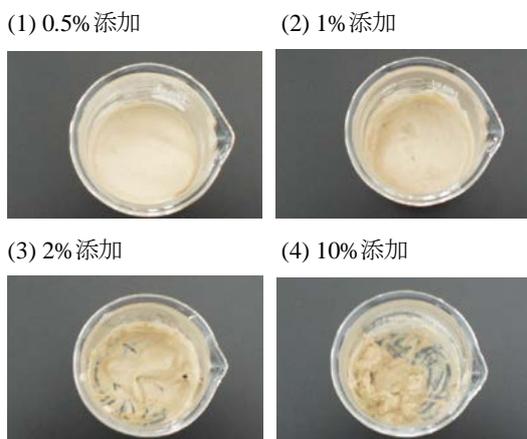


図 2. SC1<sub>mnf2</sub>に増粘剤 A を添加した試料

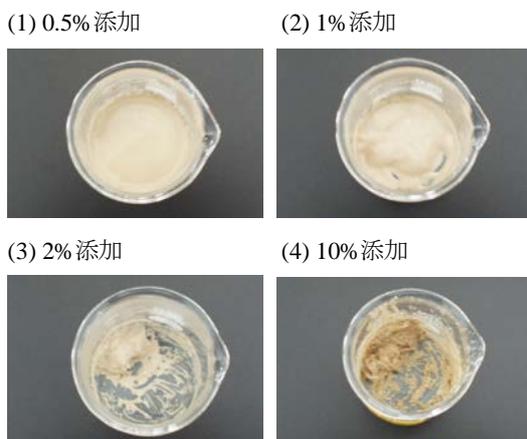


図 3. SC1<sub>mnf1</sub>に増粘剤 B を添加した試料

#### 4. 1. 1. 溶剤

溶剤は水に不溶であったので、濃度 0.1～10%のエタノール溶液を作成した。

また、SC1 に溶剤を添加して、濃度 3～35%の溶液を作成した。

#### 4. 1. 2. 増粘剤

水に増粘剤を添加して、濃度 0.1～20%の水溶液を作成した。

また、SC1<sub>mnf1</sub> に増粘剤 A、または SC1<sub>mnf1</sub> に増粘剤 B を添加して、濃度 0.5～10%の溶液を作成した。

SC1<sub>mnf2</sub> に増粘剤 A を添加した試料の外観を図 2、SC1<sub>mnf1</sub> に増粘剤 B を添加した試料の外観を図 3 に示す。いずれの試料も、増粘剤の含有率が 2%以上になると塊状となった。

## 4. 2. RB

RB<sub>mnf1</sub> と RB<sub>mnf2</sub> の処方は、植物粉 A と植物粉 D の含有率は異なっていたが、両者の IR スペクトルはほとんど同じであったので (図 21 参照)、植物粉 A と植物粉 D の合計の含有率に違いはないとみなした。

これら以外の違いは、植物粉 B の含有率において、RB<sub>mnf1</sub> が 11% と RB<sub>mnf2</sub> が 35%、植物粉 C の含有率において、RB<sub>mnf1</sub> が 2.9% と RB<sub>mnf2</sub> が 3.0%、植物油の含有率において、RB<sub>mnf1</sub> が 2.9% と RB<sub>mnf2</sub> が 0.0% であった (表 2)。

両者を PCA で分離できるかどうかを確認するため、RB<sub>mnf1</sub> の処方を基に、植物粉 A (64%)・植物粉 D (36%) の混合物 (以下、「混合植物粉」という。) を基材とし、これにその他の補助成分を添加して濃度の異なる試料の作成を行った。

### 4. 2. 1. 植物粉 C

混合植物粉に植物粉 C を添加して、濃度 5～30% の試料を作成した。

### 4. 2. 2. 植物粉 B

混合植物粉に植物粉 B を添加して、濃度 5～40% の試料を作成した。

### 4. 2. 3. 植物油

混合植物粉に植物油のアセトン溶液を添加し、アセトンは風乾により除去して、濃度 2～30% の試料を作成した。

## 4. 3. GR

GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf2</sub> の処方、GR<sub>mnf1</sub> が界面活性剤 A の 0.30% と GR<sub>mnf2</sub> が界面活性剤 B の 0.21% という点が異なっていた (表 4)。この違いを PCA で分離できるかどうかを確認するため、GR に界面活性剤を添加した濃度の異なる試料として、GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B、または GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加して、0.5～99% のおよび 100% (界面活性剤のみ) の試料を作成した。その際、界面活性剤を GR 中で均一に分散させるため、水を加えて攪拌し、熱による変質を防ぐため室温で風乾させた。

## 結果および考察

### 1. IR スペクトルの変動要因の調査

#### 1. 1. SC1

##### 1. 1. 1. 試料の乾燥

ATRユニットにSC1<sub>mmf2</sub>を1滴添加してIRスペクトルを測定したところ、吸光度は経時的に大きくなった。最大強度を示した1042 cm<sup>-1</sup>のピークの吸光度の変化を図4に示す。なお、SC1のIRスペクトルは図20参照。その際、滴下したSC1の色調が濃くなる現象が認められたため(図5)、ビーカー内にSC1を5滴添加し、精密天秤(メトラー・トレード(株)AG245)を用いて重量の変化を測定し、添加直後を100として変化率を求めた(図6)。その結果、SC1の重量は経時的に減少し、5分後は5.7%が減少、10分後は10.5%が減少した。これらの結果から、吸光度の変化は、試料成分の揮発が原因と考えられた。SC1の処方において、揮発する成分を含む補助成分は、溶剤の他は界面活性剤が該当する。しかし、界面活性剤は入手できなかったため、溶剤を用いた揮発による重量変化を調べた。その結果、5分後は0.6%、10分後には0.9%が減少したことから、SC1の揮発の主要因は溶剤ではなく、他の成分が主要因と考えられたが、揮発成分の特定はできなかった。

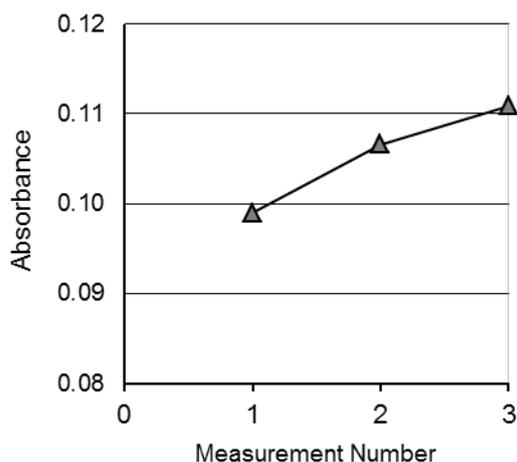


図4. SC1<sub>mmf2</sub>の1042 cm<sup>-1</sup>におけるピークのスペクトル強度の変化

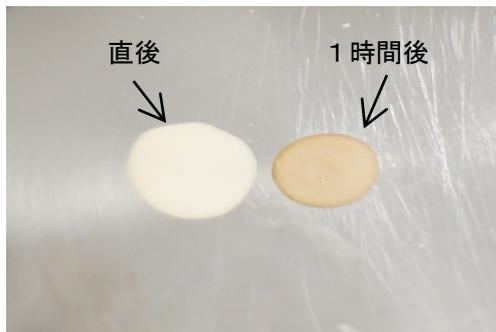


図5. SC1 試料の乾燥の様子

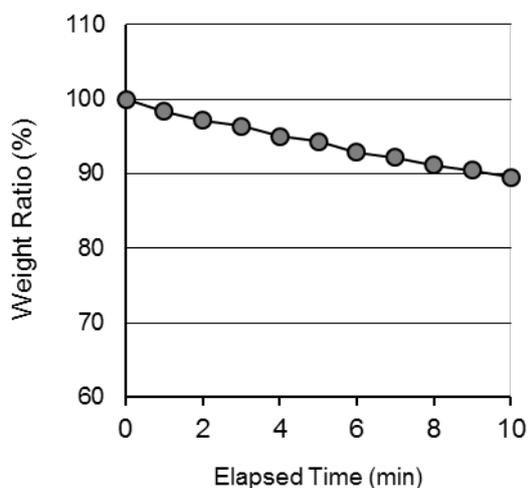


図6. SC1 重量の経時変化

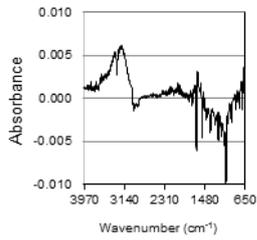
##### 1. 1. 2. 試料の厚み

ATRエレメント中央部にSC1<sub>mmf2</sub>を滴下したときの試料の乾燥を防ぐため、SC1の滴下量を増やしたところ、SC1は広がるのみで、乾燥は防げなかった。

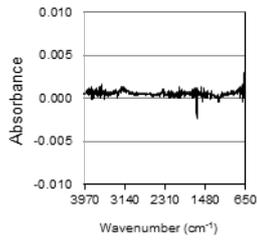
そこで、ATR上にアルミニウム製スぺーサーを置き、その中に試料を添加して試料層の厚みを確保する方法を検討した。SC1の滴下数を変えてスペクトルを測定し、n+1回目とn回目の差スペクトルを求めた(図7)。その結果、滴下数が5滴以上となると差スペクトルはほぼ0となり、スペクトル形状に変化が認められなくなった。試料をスぺーサー内に滴下する様子を図8に示す。

次に、スぺーサー内へのSC1の添加量と1042 cm<sup>-1</sup>のピークの吸光度の変動を調べた。その結果、試料を4滴以上添加すると強度の変動は少なくなった(図9)。

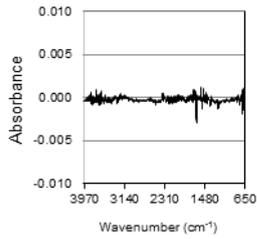
(1) 2滴-1滴



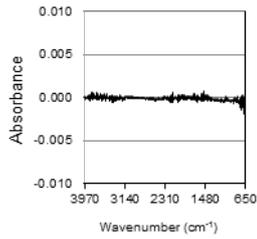
(2) 3滴-2滴



(3) 4滴-3滴



(4) 5滴-4滴



(5) 6滴-5滴

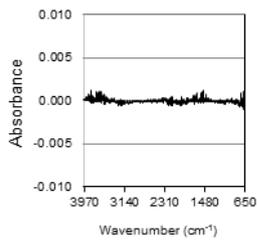


図7. SC1<sub>mm2</sub>の滴下数を変えた場合のn+1回目とn回目の差スペクトル

(1) ATRユニット

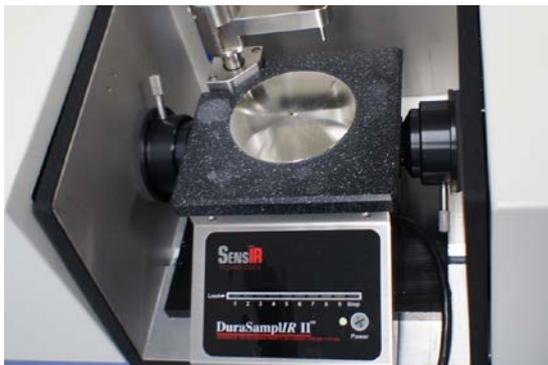
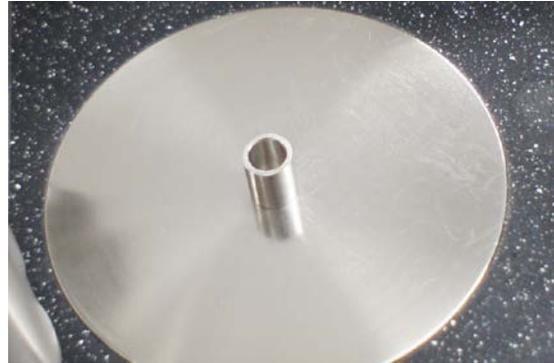


図8. SC1のATRユニットへの滴下

(2) スペーサーを置いたところ



(3) スペーサー内へのSC1の滴下



図8. SC1のATRユニットへの滴下 (続き)

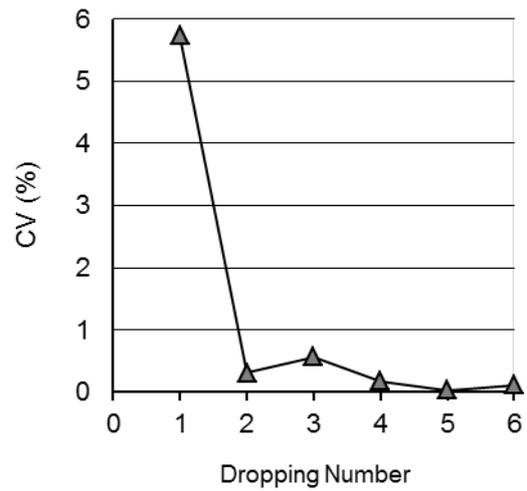


図9. ATRユニットへのSC1<sub>mm2</sub>の滴下数を変えた場合の吸光度の変動

以上のことから、ATRユニットに添加したSC1試料の乾燥によるスペクトル形状の変化を防ぐためには、ユニット中央部にスペーサーを置き、SC1を5滴以上添加する必要があると考えられた。

### 1.1.3. 環境条件

FT-IR/ATRでIRスペクトルを測定した場合のピークの吸光度のばらつきを把握するため、品質が一定であり、試料中に水分を含まないポリスチレン・フィルムを用いてIRスペクトルを30分ごとに14回測定した。なお、ポリスチレン・フィルムは、取り付け位置の変動によるばらつきを防ぐため、ATRユニットに取り付けたままとした(図10)。ポリスチレン・フィルムのIRスペクトルを図11に示す。中程度のピークの吸光度である1491, 1450, 748  $\text{cm}^{-1}$ のピークについての変動係数は1.4~2.8%であった(図12)。

次に、SC1<sub>mn2</sub>のIRスペクトル強度に対して環境条件(気温、湿度、気圧)が及ぼす影響を調べるため、気温を20~26°Cに調整してスペクトル測定を8回行い、同時に湿度と気圧も観測した。

最大値を示す1042  $\text{cm}^{-1}$ のピークの吸光度の変動を気温、湿度、気圧の要因毎に調べたところ、いずれの要因について相関は認められず、変動係数は0.6~1.4%であり(図13)、ポリスチレン・フィルムのピークの吸光度の変動係数と同等であった。なお、スペクトル形状は、環境条件が変わっても変化は認められなかった。



図10. ATRユニットへのポリスチレン・フィルムの取り付け

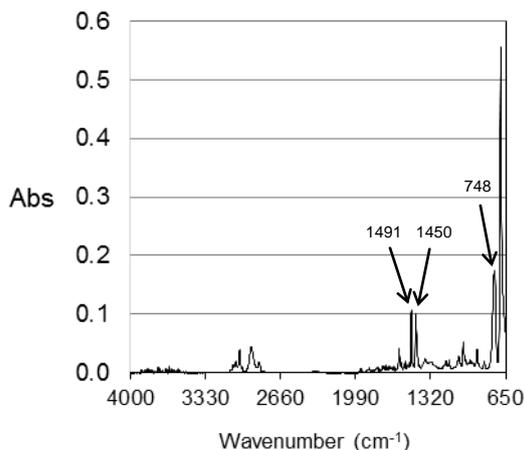


図11. ポリスチレン・フィルムのIRスペクトル(ATR法)

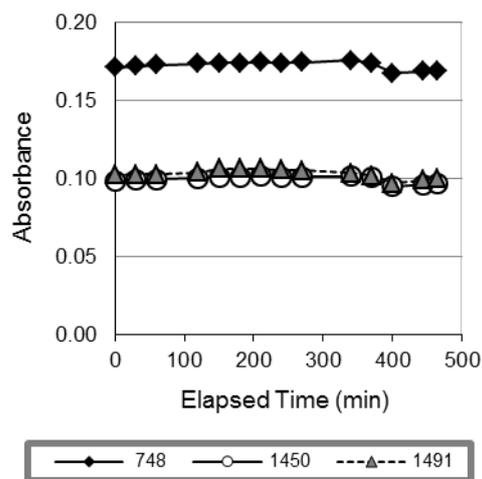
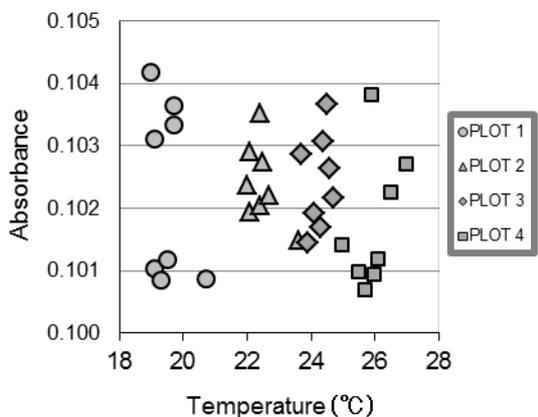


図12. ポリスチレン・フィルムを用いた場合の吸光度の変動

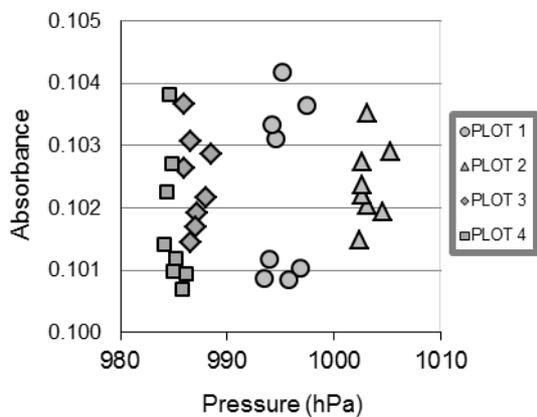
### 1.2. RB

すりつぶした試料をATRユニットに添加した後、固体試料プレスを用いて圧力を加えてエレメントに密着させてIRスペクトルを測定した。このときの圧力とスペクトル強度の関係を調べた。固体試料プレスを用いた加圧の様子を図14に示す。加える圧力が大きくなるにつれて、最大値を示す995  $\text{cm}^{-1}$ のピークの吸光度は大きくなった(図14)。RBのIRスペクトルは図21参照。

(1) 気温の違いによる変動



(3) 気圧の違いによる変動



(2) 湿度の違いによる変動

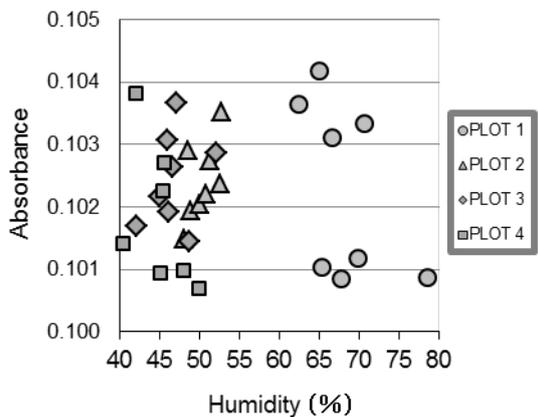


図 13. 異なる環境条件における SC1<sub>mnf2</sub> の 1042 cm<sup>-1</sup> のピークの吸光度の変動 (続き)

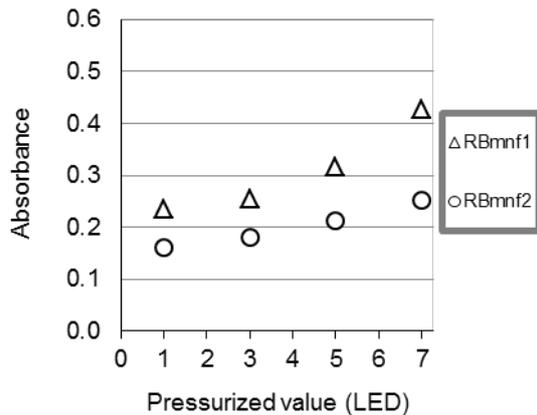


図 13. 異なる環境条件における SC1<sub>mnf2</sub> の 1042 cm<sup>-1</sup> のピークの吸光度の変動

PLOT 1~4 は、気温を 20~26°C に調整した各測定を示す。

図 15. 加えた圧力の違いによる RB の 995 cm<sup>-1</sup> のピークの吸光度の変化

(1) 加圧なし



(2) 圧力表示 3



(3) 圧力表示 7



図 14. 固体試料プレスを用いた加圧の様子

すりつぶした RB を ATR ユニットに添加後、経時的に IR スペクトルを測定し、吸光度の変化を調べた。その結果、 $995\text{ cm}^{-1}$  のピークの吸光度は、ATR ユニット添加後、徐々に大きくなり、420 分 (7 時間) 以降は一定となった (図 16)。

この変化が RB 固有のものかどうかを調べるため、SC1 と同様にポリスチレン・フィルムを用いて経時的な変化を調べた。1. 1. 3. と同様に、 $1491$ ,  $1450$ ,  $748\text{ cm}^{-1}$  のピークの吸光度を調べたところ、スペクトル強度は徐々に大きくなった。しかし、一定となるまでの時間は約 16 分であり、RB よりも早かった (図 17)。すりつぶした粒剤を ATR ユニットに添加した場合、固体試料プレスとダイヤモンド ATR エlement の間にわずかな間隔があるため、圧力を加えることにより密着が行われるものの、密着が安定するまでに時間を要するためと考えられた。

次に、ATR ユニットに試料を添加し、一定の圧力を加えてから 1 時間後に IR スペクトルを測定した。ATR エlement 中央部への圧力 (密着度) が高いほど、ピークは強くなった。圧力を変えて測定したときの IR スペクトルを図 18 に示す。試料に加える圧力が大きくなるにつれてスペクトル強度は強くなったが、相対的強度には変化がなかった。

また、圧力を変えて測定したスペクトルを用いて PCA を行った。その結果、圧力表示 1 と圧力表示 7 は分離した (図 19)。従って、試料に加える圧力を一定にしないと、同じ試料であっても分離してしまうこととなり、誤った結果を導くこととなる。圧力を加えてから 7~8 時間後にスペクトルを測定すれば吸光度は一定となるが、PCA で分離可能かどうかを判断するにはたくさんのデータが必要となることから効率的ではないと考えられた。

以上のことから、試料に加える圧力によるスペクトル強度の変動を防ぐため、圧力は限界値となる 7 と一定にし、ATR ユニットに試料を添加後、すぐにスペクトルを測定することとした。

### 1. 3. 測定条件のまとめ

スペクトル強度の変動要因の調査から、吸光度の変動の少ない条件として、次の条件が選定された。

- SC1 のような微揮発性の液体試料の場合は、試料の厚みを確保するため、スパーサーを用いて試料を添加し、滴下数は 5 滴以上とする。

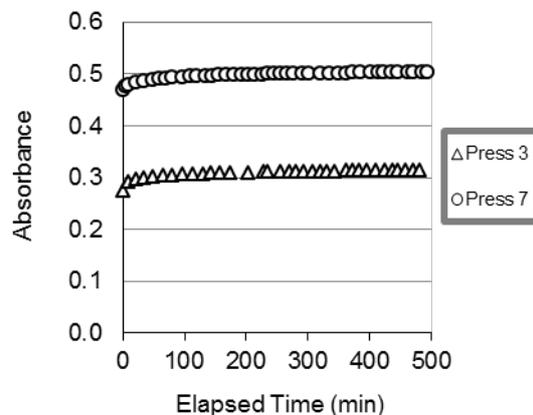


図 16. RB<sub>mnfl</sub> の  $995\text{ cm}^{-1}$  ピークの吸光度の経時変化

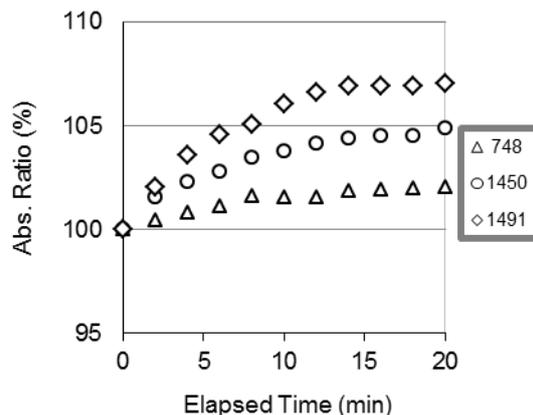


図 17. ポリスチレン・フィルムを ATR 法で測定測定したときの吸光度の経時変化

- 粒剤のような固体試料 (よくすりつぶす) の場合は、固体試料プレスで加える圧力は、限界値となる 7 と一定の値とし、圧力を加えてから測定までの時間を一定とする。

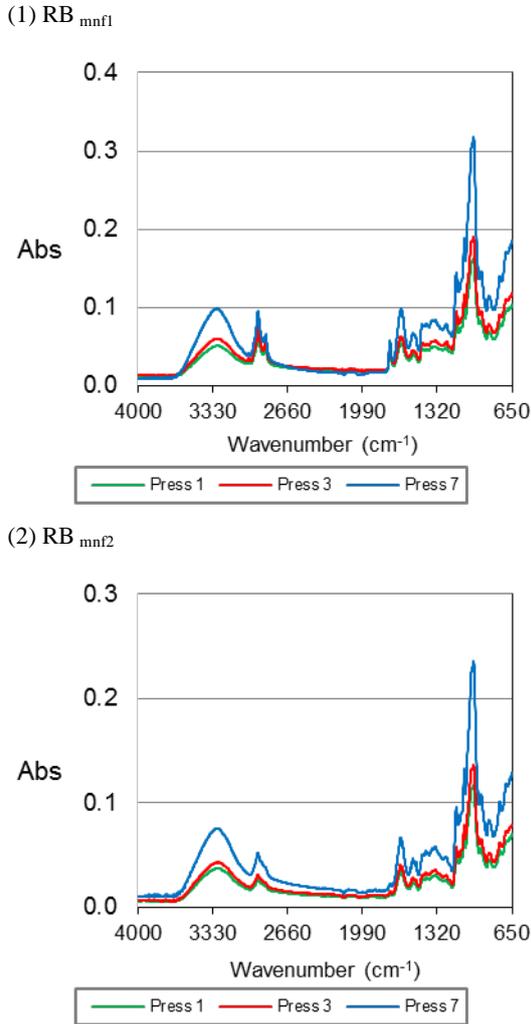


図 18. 圧力を変えて測定したときの RB の IR スペクトル

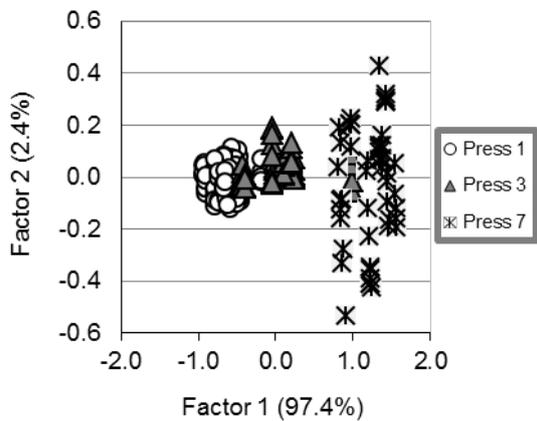


図 19. RB<sub>mnf2</sub> の圧力を変えて測定したときの PCA

括弧内の数値は、各変数の寄与率を示す（以下同じ）。

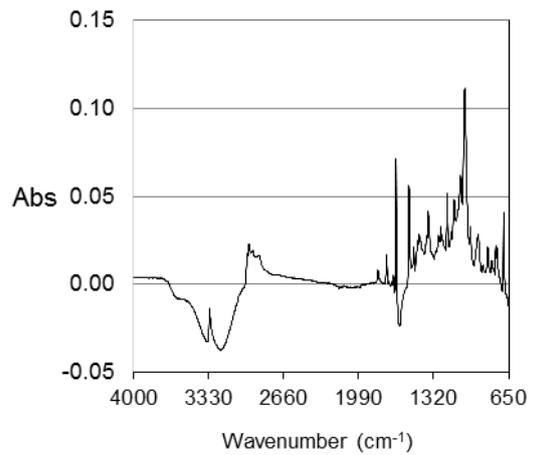
## 1. 4. 試料の IR スペクトル

### 1. 4. 1. SC1

SC1<sub>mnf1</sub>, SC1<sub>mnf2</sub>, 補助成分である溶剤と増粘剤の IR スペクトルを図 20 に示す. SC1 のスペクトルは水を差し引いて求めた.

その結果, SC1<sub>mnf1</sub> と SC1<sub>mnf2</sub> の IR スペクトルに違いは認められなかった.

#### (1) SC1<sub>mnf2</sub> (見本と同じ処方で製造された製剤)



#### (2) SC1<sub>mnf1</sub> (見本とは異なる処方で製造された製剤)

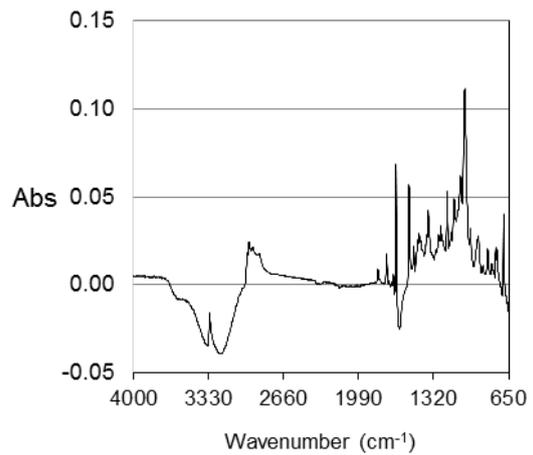
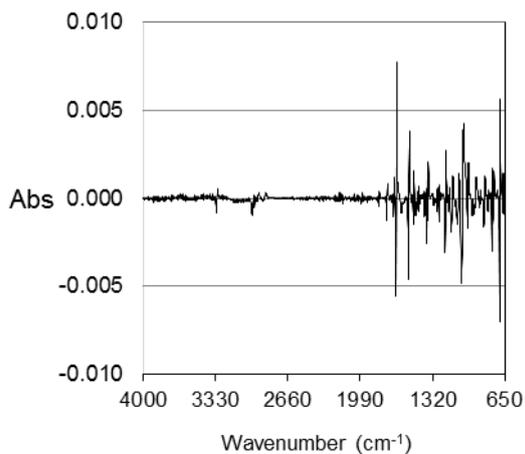
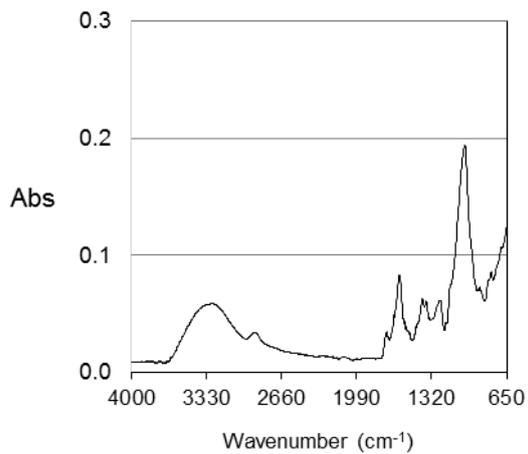


図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル

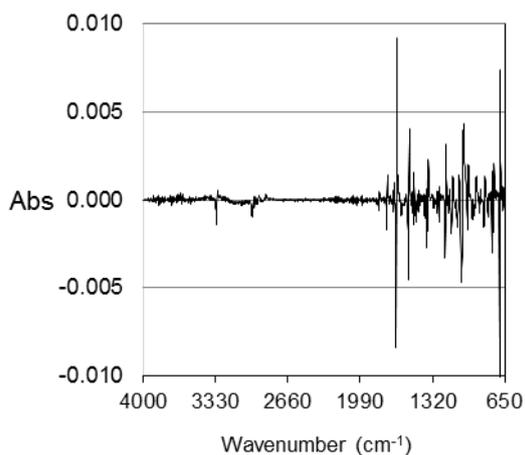
(3) SC1<sub>mnf2</sub>の微分スペクトル



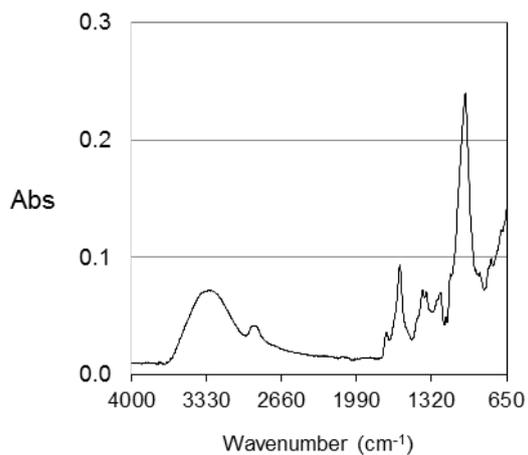
(6) 増粘剤 A (SC1<sub>mnf2</sub>で使用)



(4) SC1<sub>mnf1</sub>の微分スペクトル



(7) 増粘剤 B (SC1<sub>mnf1</sub>で使用)



(5) 溶剤 (SC1<sub>mnf1</sub>・SC1<sub>mnf2</sub>で使用)

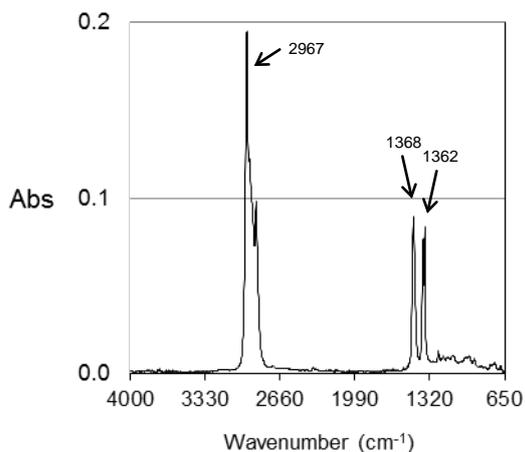


図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル (続き)

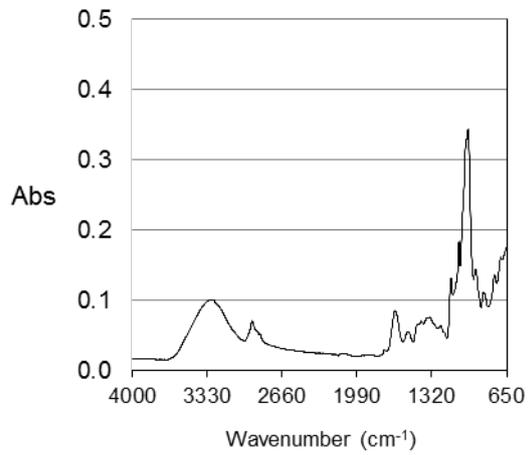
#### 1.4.2. RB

RB<sub>mnf1</sub>, RB<sub>mnf2</sub>, 補助成分である植物粉と植物油の IR スペクトルを図 21 に示す。

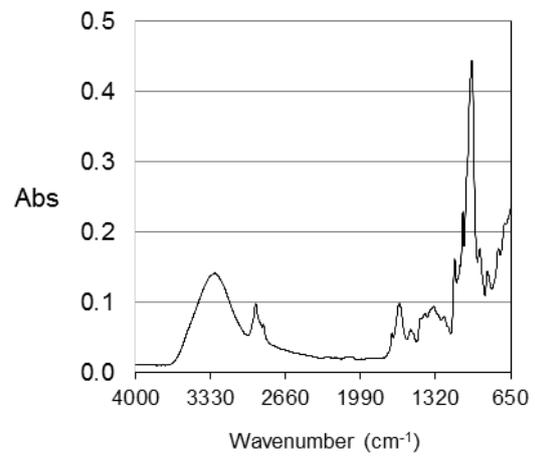
RB<sub>mnf1</sub>と RB<sub>mnf2</sub>の IR スペクトルを比較すると, RB<sub>mnf1</sub>では○を付けた部分に違いがみられた. この違いは, 表 2 に示した処方とおおり, 図 21 (6)の植物粉 B と図 21 (7)の植物油に由来すると推定された.

図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル(続き)

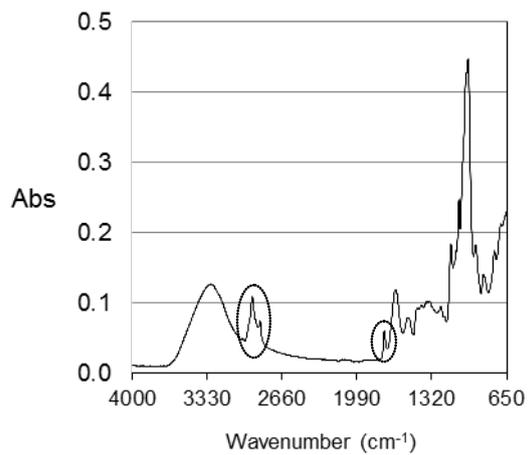
(1) RB<sub>mnf2</sub> (見本と同じ処方で製造された製剤)



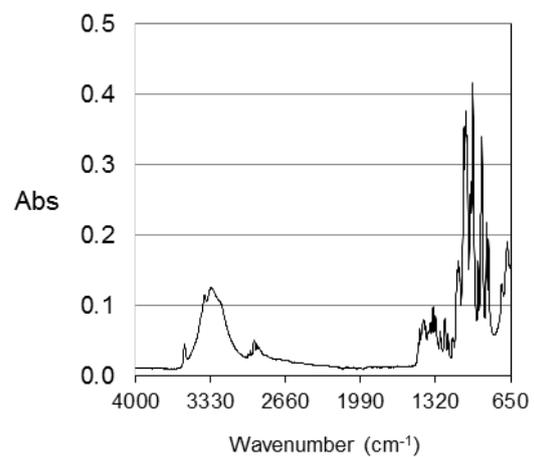
(4) 植物粉 D



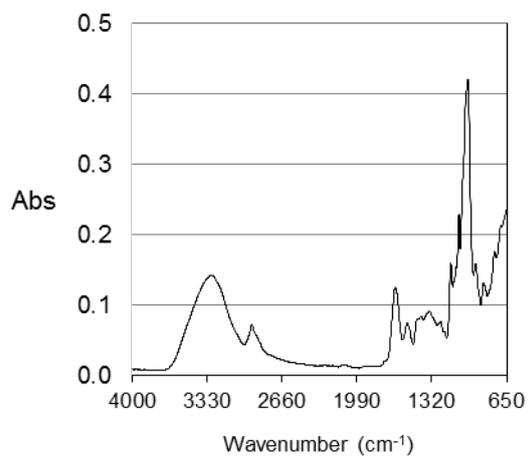
(2) RB<sub>mnf1</sub> (見本とは異なる処方で製造された製剤)



(5) 植物粉 C (RB<sub>mnf1</sub>・RB<sub>mnf2</sub>で使用)



(3) 植物粉 A



(6) 植物粉 B (RB<sub>mnf1</sub>で使用)

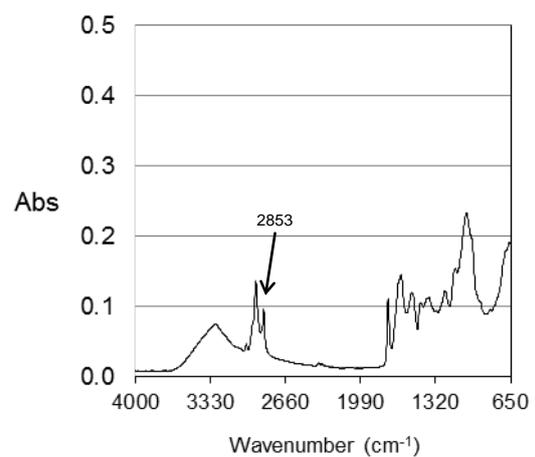


図 21. RB の IR スペクトル

(7) 植物油 (RB<sub>mnf1</sub> 使用)

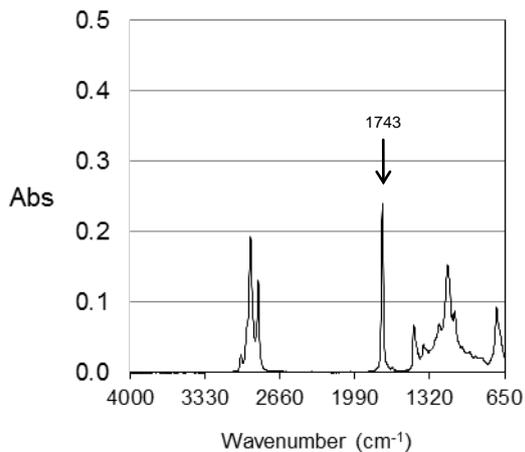
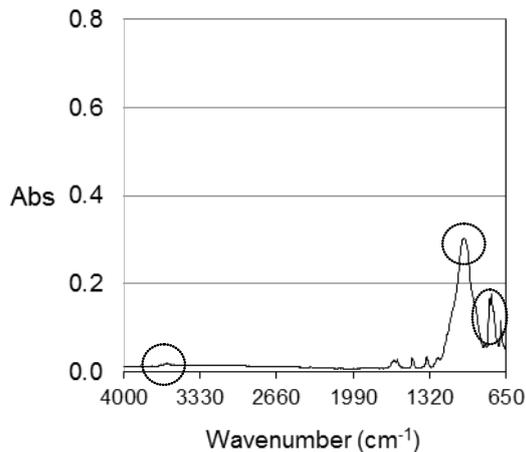
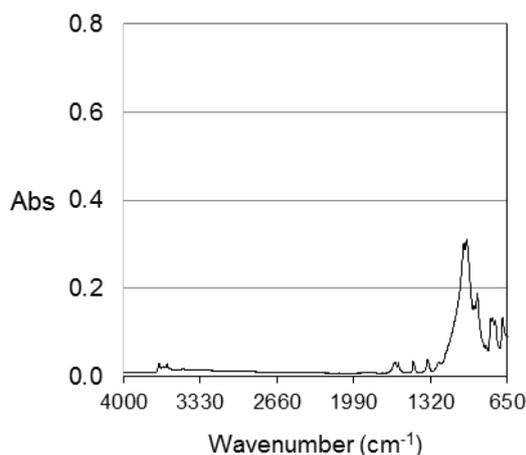


図 21. RB の IR スペクトル (続き)

(2) GR<sub>mnf1</sub> (見本と異なる処方で作られた製剤)



(3) GR<sub>mnf3</sub> (見本と同じ処方で作られた製剤)

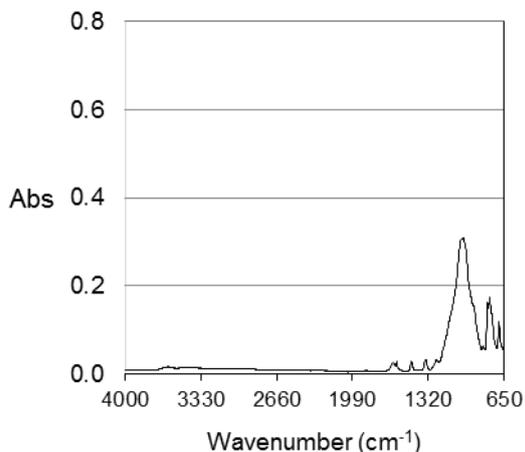


### 1.4.3. GR

GR<sub>mnf1</sub>, GR<sub>mnf2</sub>, GR<sub>mnf3</sub> および補助成分である界面活性剤、ベントナイト、クレーの IR スペクトルを図 22 に示す。

製剤は、加水して造粒し、乾燥させて製造していること、さらに、ベントナイトは加水により膨潤することが知られていることから<sup>14)</sup>、界面活性剤およびベントナイトの IR スペクトルは、そのままの状態のものと同加水・乾燥させたものを用いて測定した。なお、界面活性剤は、熱による成分の変性を防いだ

(1) GR<sub>mnf2</sub> (見本と同じ処方で作られたもの)



(4) 界面活性剤 A (そのまま測定)

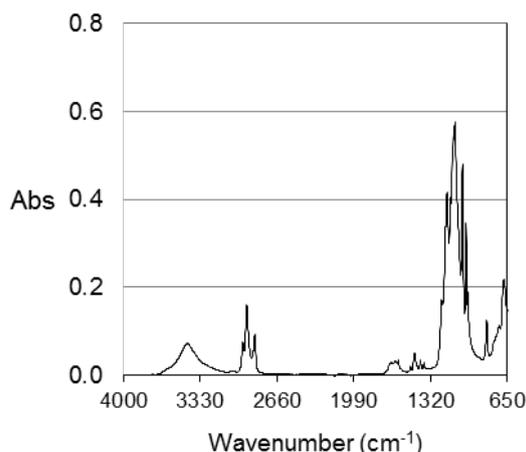
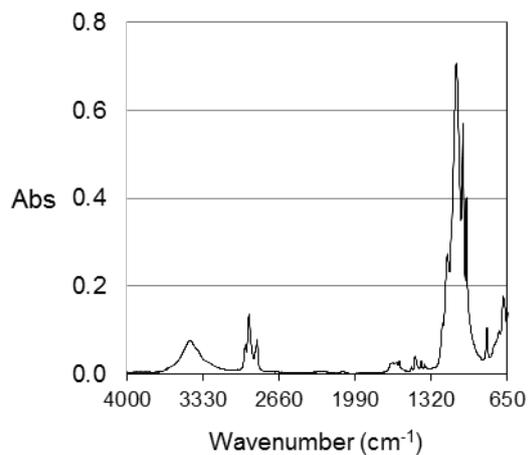
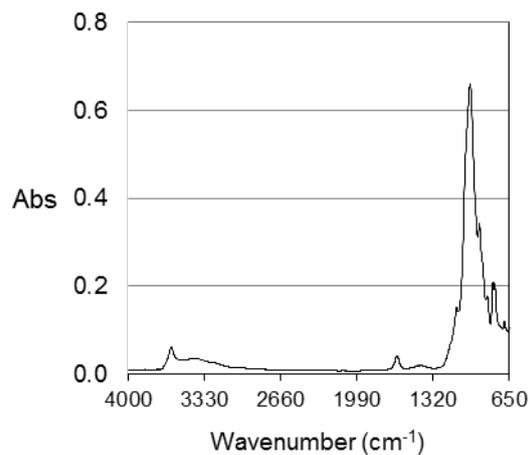


図 22. GR の IR スペクトル

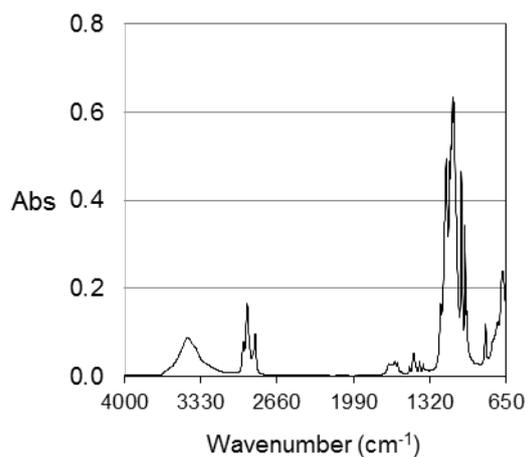
(5) 界面活性剤 A (加水・乾燥させた試料)



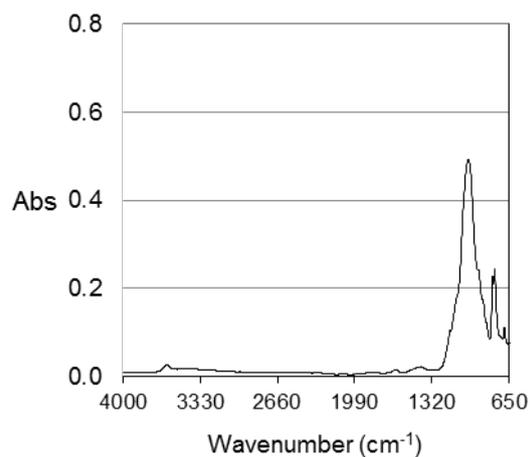
(8) ベントナイト A



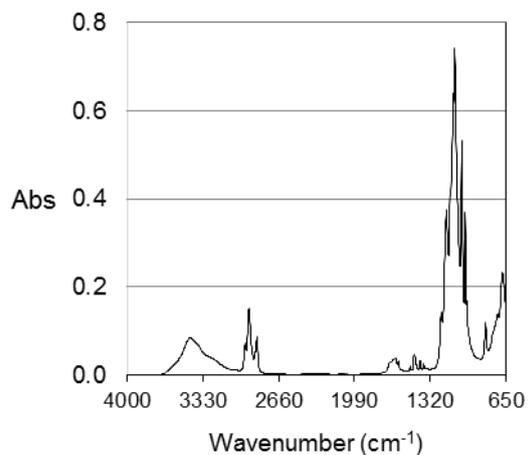
(6) 界面活性剤 B (そのまま測定)



(9) ベントナイト A (加水・乾燥させた試料)



(7) 界面活性剤 B (加水・乾燥させた試料)



(10) ベントナイト B

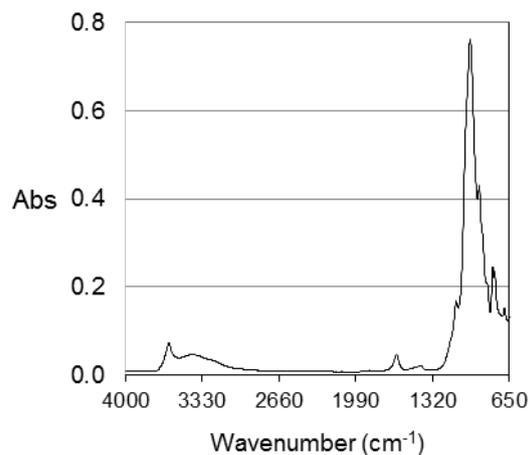
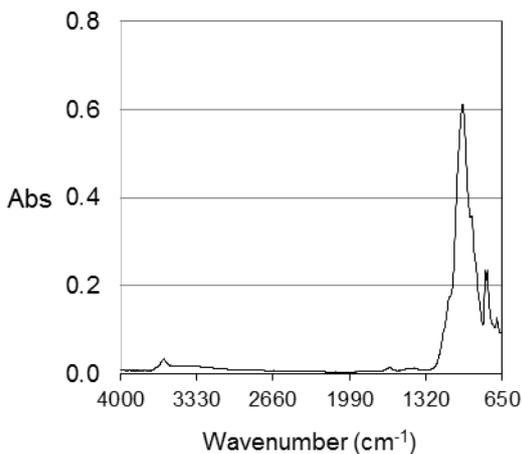
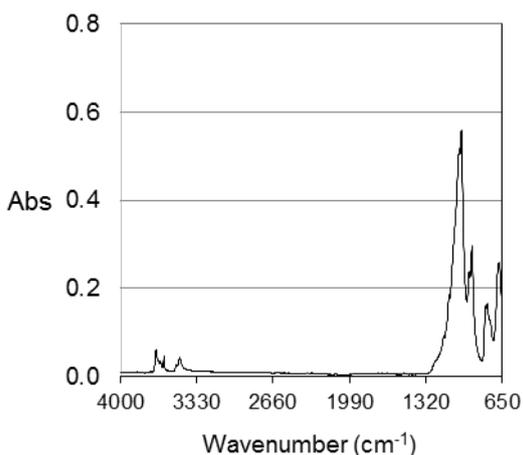


図 22. GR の IR スペクトル (続き)

(11) ベントナイト B (加水・乾燥させた試料)



(12) クレー A



(13) クレー B

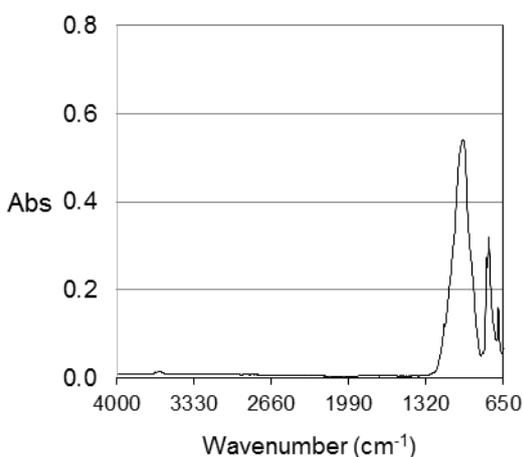


図 22. GR の IR スペクトル (続き)

め室温で乾燥させた後、シリカゲル・デシケーター内で十分に乾燥させ、乳鉢ですりつぶした。加水したベントナイトは 80℃で乾燥させた後、乳鉢ですりつぶした。クレーは加水により膨潤しないので、加水・乾燥した試料は作成しなかった。GR<sub>mnf1</sub>と GR<sub>mnf2</sub>の IR スペクトルはほぼ同じであったが、GR<sub>mnf1</sub>では○を付けた部分に違いがみられた。この違いは、表 4 に示した処方のおり、図 22 (12)のクレー A に由来すると推定された。

界面活性剤 A に水を加え、室温で乾燥させた前後のスペクトルを比較すると、最大ピークである 1106 cm<sup>-1</sup>のピークの吸光度は強くなり、1170 cm<sup>-1</sup>付近のピークは弱くなった。界面活性剤 B も、同様な傾向を示した。なお、界面活性剤 A と界面活性剤 B のスペクトルには違いは認められなかった。

ベントナイト A および B とも、加水・乾燥させる前のスペクトルと比べて加水・乾燥後は、795 と 777-773 cm<sup>-1</sup>のピークが強くなり、1115, 993, 914-912 cm<sup>-1</sup>のピークが弱くなった。

## 2. PCA

### 2.1. SC1

SC1<sub>mnf1</sub>と SC1<sub>mnf2</sub>の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。

また、微少なピークの検出や重なったピークの検出には微分したスペクトルが有効であることから、微分スペクトルを用いた PCA も行った。

その結果、いずれの場合も、SC1<sub>mnf1</sub>と SC1<sub>mnf2</sub>を分離することはできず、微分スペクトルを用いた場合でも分離の傾向に変化はなかった (図 23)。

ここで、ローディングベクトルにおける Factor 1 および Factor 2 は、それぞれ、第 1 説明変数と第 2 説明変数、括弧内の数値は各変数の寄与率であり、合計が 100%となれば、PCA に用いた変数で事象が説明できることを示している。

(1) 通常のスペクトル

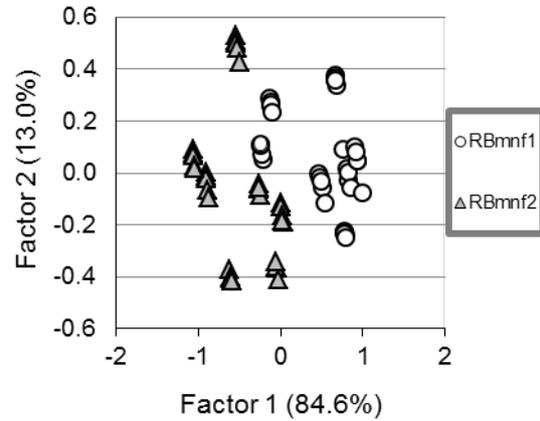
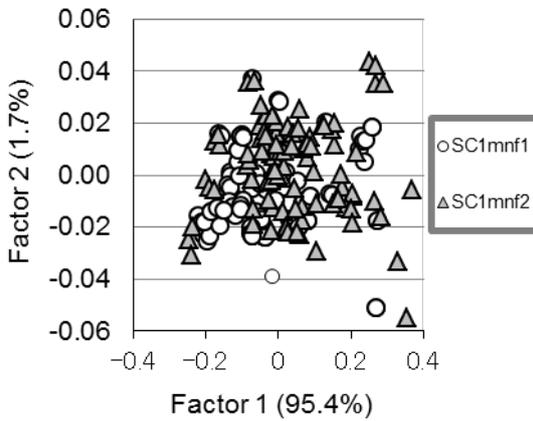


図 24.  $RB_{mnf1}$  と  $RB_{mnf2}$  を用いた PCA の結果

(2) 微分スペクトル

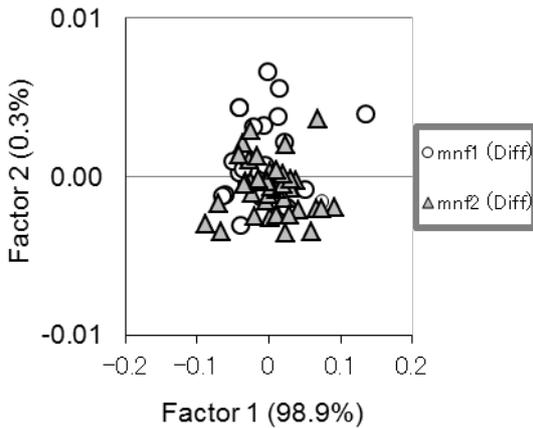


図 23.  $SC1_{mnf1}$  と  $SC1_{mnf2}$  を用いた PCA の結果

$mnf1(Dif): SC1_{mnf1}$  (微分スペクトル)  
 $mnf2(Dif): SC1_{mnf2}$  (微分スペクトル)

2.2. RB

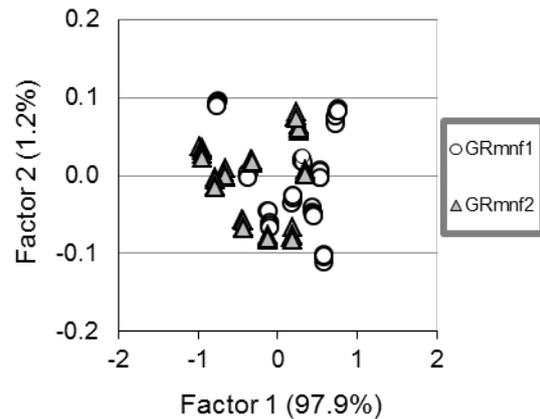
$RB_{mnf1}$  と  $RB_{mnf2}$  の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。その結果、両者を分離することはできなかった (図 24)。

2.3. GR

$GR_{mnf1}$ ,  $GR_{mnf2}$  および  $GR_{mnf3}$  の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。

その結果、図 25 に示したように、 $GR_{mnf1}$  と  $GR_{mnf2}$  は分離しなかったが、 $GR_{mnf1}$  と  $GR_{mnf3}$  または  $GR_{mnf2}$  と  $GR_{mnf3}$  は分離した。

(1)  $GR_{mnf1}$  と  $GR_{mnf2}$



(2)  $GR_{mnf1}$  と  $GR_{mnf3}$

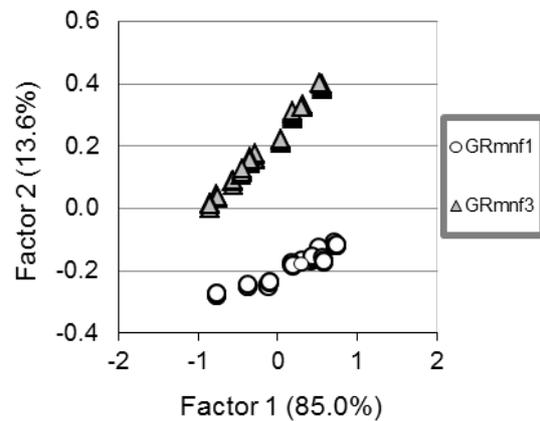


図 25. GR を用いた PCA の結果

(3) GR<sub>mnf2</sub>と GR<sub>mnf3</sub>

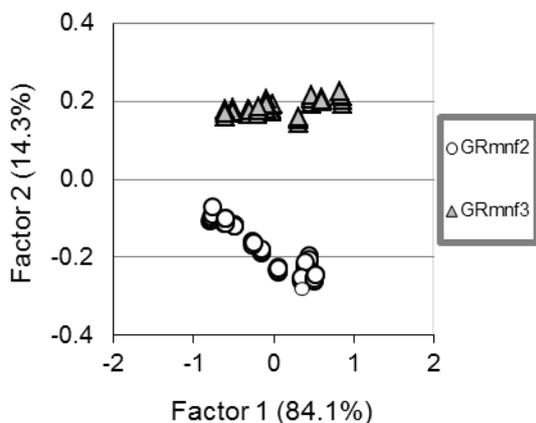


図 25. GR を用いた PCA の結果 (続き)

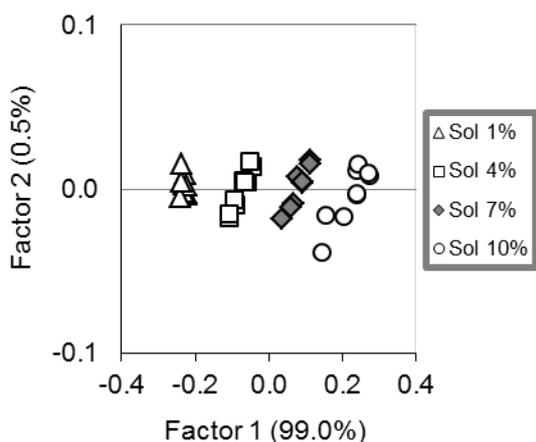


図 26. 溶剤のエタノール溶液を用いた PCA の結果

### 3. 補助成分の感度分析

#### 3.1. SC1

##### 3.1.1. 溶剤

1, 4, 7, 10%の濃度の溶剤のエタノール溶液を作成して IR スペクトルを測定し, PCA を行った. その結果, 1, 4, 7, 10%の濃度の溶液は, それぞれ分離することができた. すなわち, エタノール溶液の場合, 3%の濃度差があれば, PCA での分離が可能であった (図 26).

そこで, 実試料における分離の可否を確認するため, SC1<sub>mnf2</sub>に溶剤を添加した試料を用いて PCA での分離を検討した. その結果, SC1 に溶剤を添加した場合, 無添加と 30%添加した試料および無添加と 35%添加した試料について PCA で分離できた (表 5). すなわち, 35%以上の濃度差があれば PCA で分離可能であった. なお, 溶剤を 40%添加すると製剤中で SC1 と溶剤が分離したので, 35%を上限とした.

SC1 に溶剤を添加した試料を用いた PCA において, 分離しない例として 10%添加した試料と 35%添加した試料, 分離した例として添加していない試料と 30%添加した試料におけるスコア・プロットの例を図 27 に示す. SC1<sub>mnf2</sub>と 35%添加した試料におけるローディングベクトルを図 28 に示す.

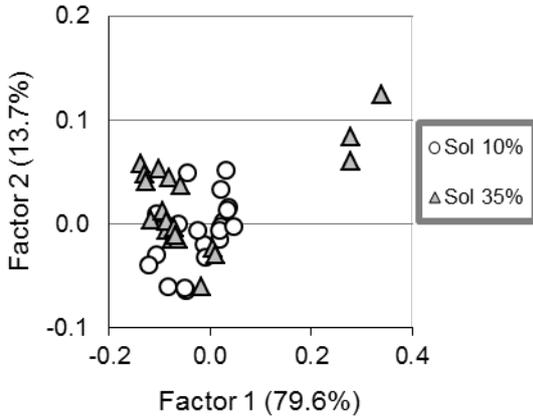
ローディングは, 各主成分に対してどの変数が最も重要であるかを示すものであるから, ローディングベクトルにおいてピークを示している変数 (図 28 (1) および図 28 (2)) が, 溶剤の IR スペクトル (図 20 (5)) におけるピーク (2967, 1368, 1362cm<sup>-1</sup>付近) と同じ場所に認められていることから, 溶剤が分離に影響したと考えられた.

表 5. SC1 に溶剤を添加した試料における PCA の結果 (抜粋)

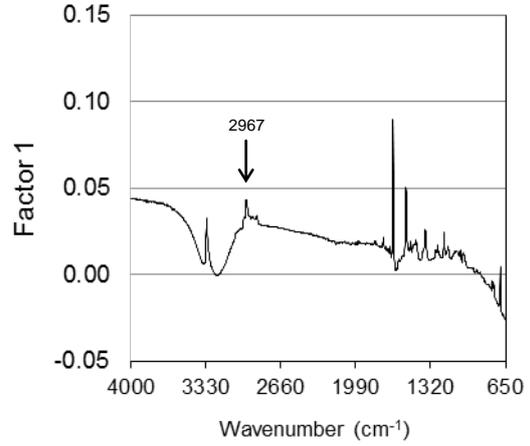
	0%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	分離	
										可能	不能
25%	×	×	×	×	×	×	×	×	×	—	≤25
30%	○	×	×	×	×	×	×	×	×	≥30	≤27
35%	○	×	×	×	×	×	×	×	×	≥35	≤32

○ : 分離する. × : 分離しない.

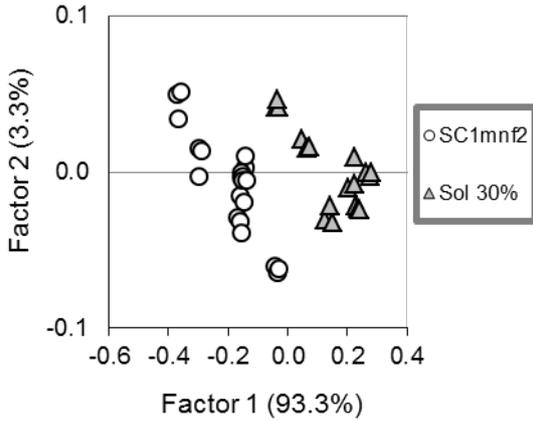
(1) 10%添加と35%添加 (分離しない例)



(1) Factor 1



(2) SC1<sub>mnf2</sub>と30%添加 (分離した例)



(2) Factor 1 (拡大図)

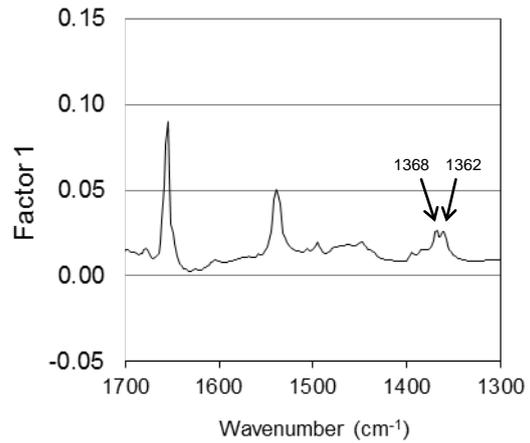


図 27. SC1<sub>mnf2</sub>に溶剤を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

### 3.1.2. 増粘剤

#### ①種類の影響

増粘剤の種類の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べるため、増粘剤 A と増粘剤 B について、そのままの状態測定した IR スペクトルを用いて PCA を行った。その結果、両者は PCA で分離しなかった (図 29)。

従って、補助成分として使用される増粘剤の種類が異なっても、PCA で区別することは困難と考えられた。

そこで、実試料における分離への適用を確認するため、SC1<sub>mnf1</sub>に増粘剤 B を添加、または SC1<sub>mnf2</sub>に増粘剤 A を添加した試料を用いて PCA での分離

(3) Factor 2

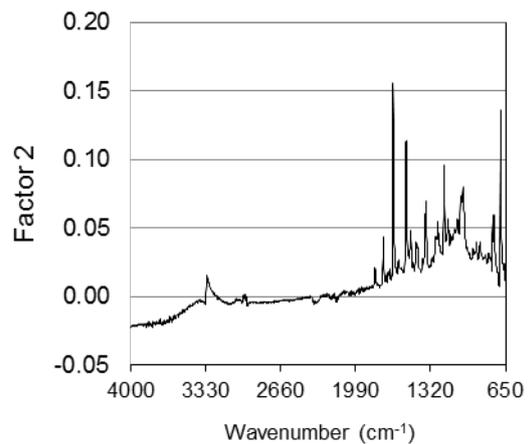


図 28. SC1<sub>mnf2</sub>と35%添加した試料を用いた PCA におけるローディングベクトル

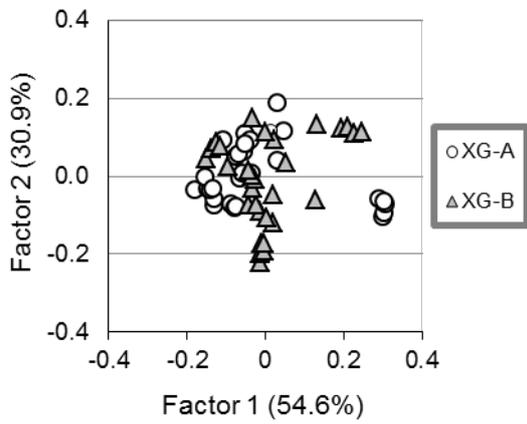


図 29. 増粘剤 A と増粘剤 B を用いた PCA におけるスコア・プロット (固体のまま測定)

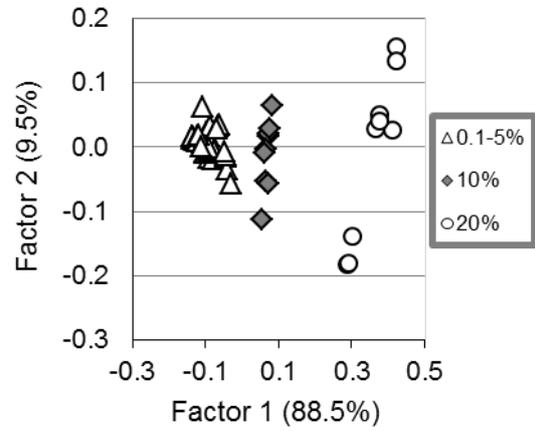


図 30. 増粘剤 A の水溶液を用いた PCA の結果

表 6. SC1<sub>mnf2</sub> に増粘剤 A を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1%	2%	5%	10%	分離	
						可能	不能
0%	×	×	×	×	○	≥10	≤5
	0.5%	×	×	×	○	≥9.5	≤4.5
		1%	×	×	×	—	≤9
			2%	×	×	—	≤8
				5%	×	—	≤5

○ : 分離する. × : 分離しない.

表 7. SC1<sub>mnf1</sub> に増粘剤 B を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1%	2%	5%	10%	分離	
						可能	不能
0%	×	×	○	○	○	≥2	≤1
	0.5%	×	×	×	○	≥9.5	≤4.5
		1%	×	×	○	≥9	≤4
			2%	×	○	≥8	≤3
				5%	○	≥5	—

○ : 分離する. × : 分離しない.

を確認した。SC1 に増粘剤を添加した場合、10%以上の濃度差があれば分離可能であった（表 6, 7）。

### ②含有率の影響

増粘剤の濃度の違いによる PCA での分離の可否を調べた。増粘剤 A の水溶液の場合、5%以上の濃度差があれば、PCA での分離が可能であった（図 30）。

#### 3.1.2.1. 増粘剤 A

SC1<sub>mnf2</sub> に増粘剤 A を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 5% 添加した試料と 10% 添加した試料、分離した例として添加していない試料と 10% 添加した試料におけるスコア・プロットの場合、SC1<sub>mnf2</sub> と 10% 添加した試料におけるローディングベクトルを図 31 に示す。ローディングベクトルにおける変量のピークは、増粘剤 A のスペクトルのピーク（図 20(6)）と一致しており、増粘剤 A の含有率が分離に影響したと考えられた。

#### 3.1.2.2. 増粘剤 B

SC1<sub>mnf1</sub> に増粘剤 B を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 1% 添加した試料と 5% 添加した試料、分離した例として添加していない試料と 10% 添加した試料におけるスコア・プロットの場合、SC1<sub>mnf1</sub> と 10% 添加試料におけるローディングベクトルを図 32 に示す。

ローディングベクトルにおける変量のピークは、増粘剤 B のスペクトルのピーク（図 20(7)）と一致しており、増粘剤 B の含有率が分離に影響したと考えられた。

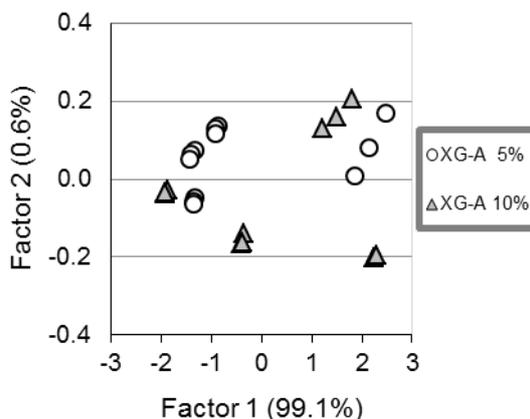
#### 3.1.3. SC1 まとめ

補助成分の感度分析の結果から、PCA で分離する場合、SC1 に溶剤を添加したときは 35%以上の濃度差、SC1 に増粘剤を添加したときは 10%以上の濃度差が必要であった。

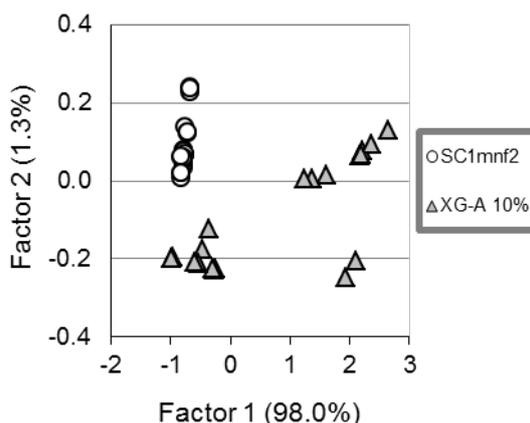
見本と集取品における溶剤の含有率は見本が 0.50%、集取品が 0.20%であり、濃度差は 0.30%であったこと、増粘剤の含有率は見本が 0.12%、集取品が 0.18%であり、濃度差は 0.06%であったことから、PCA で分離する条件を満たしていなかった。

従って、FT-IR/ATR で測定した IR スペクトルを用いた PCA では、今回供試した SC1 における処方の違いを確認できないと判断された。

(1) 5% 添加と 10% 添加（分離しない例）



(2) SC1<sub>mnf2</sub> と 10% 添加（分離した例）



(3) SC1<sub>mnf2</sub> と 10% 添加の Factor 1 のローディングベクトル

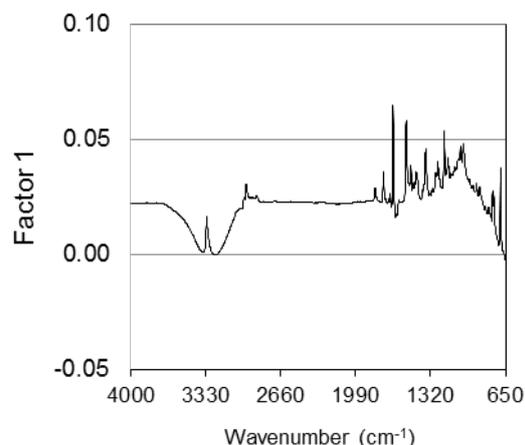


図 31. SC1<sub>mnf2</sub> に増粘剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

(4) SC1<sub>mnf2</sub>と10%添加のFactor 2のローディングベクトル

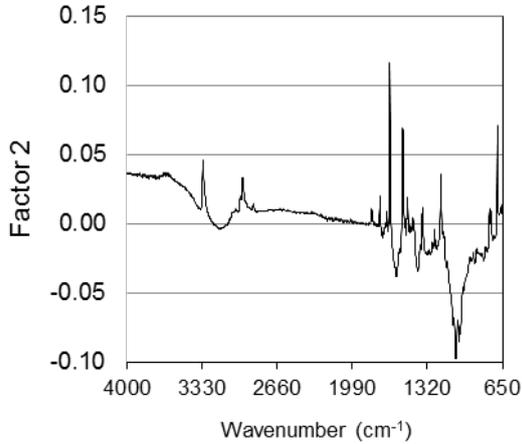
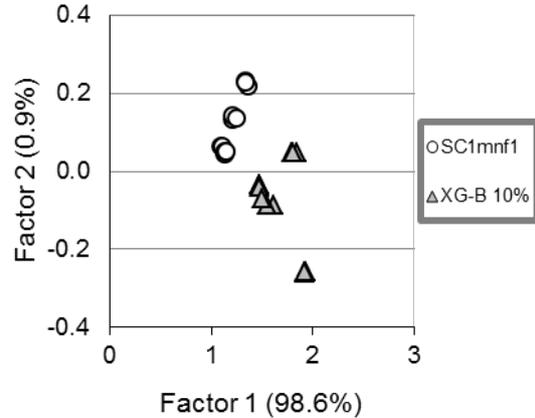
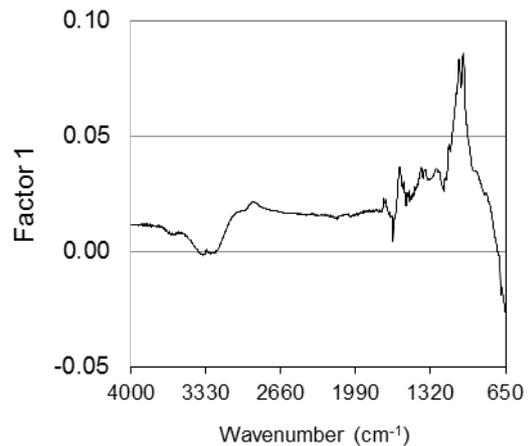


図 31. SC1<sub>mnf2</sub>に増粘剤Aを添加した試料を用いたPCAにおけるスコア・プロットとローディングベクトル

(2) SC1<sub>mnf1</sub>と10%添加(分離した例)



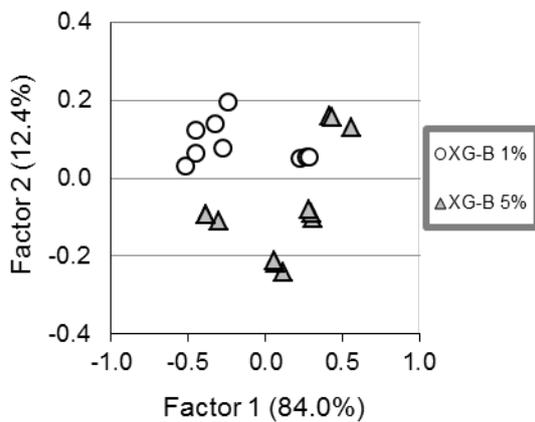
(3) SC1<sub>mnf1</sub>と10%添加のFactor 1のローディングベクトル



### 3.2. RB

RBの補助成分のうち、処方が大きく異なるのは、植物粉A, B, C, Dと植物油である(表3)。このうち、植物粉Aと植物粉Dのスペクトルはほとんど同じであったため(図21), RB<sub>mnf1</sub>とRB<sub>mnf2</sub>中の含有率には違いがないとみなした。感度分析は、植物粉Aと植物粉Dの混合植物粉を基材として、植物粉B, 植物粉Cおよび植物油の添加量を変えて実施した。

(1) 1%添加と5%添加(分離しない例)



(4) SC1<sub>mnf1</sub>と10%添加のFactor 2のローディングベクトル

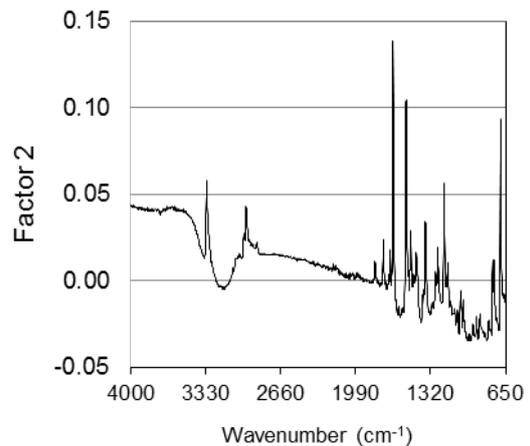


図 32. SC1<sub>mnf1</sub>に増粘剤Bを添加した試料を用いたPCAにおけるスコア・プロットとローディングベクトル

表 8. 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料における PCA の結果

	5%	6%	7%	8%	9%	10%	15%	20%	22%	23%	25%	30%	分離		
													可能	不能	
0%	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	≥10	≤9
5%		×	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	≥15	≤5
6%			×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○	≥19	≤17
7%				×	×	×	×	×	×	×	○	○	○	≥18	≤16
8%					×	×	×	×	×	×	○	○	○	≥17	≤15
9%						×	×	×	×	×	○	○	○	≥16	≤14
10%							×	×	×	×	○	○	○	≥15	≤13
15%								×	×	×	×	○	○	≥15	≤10
20%									×	×	×	×	×	—	≤10
22%										×	×	×	×	—	≤8
23%											×	×	×	—	≤7
25%												×	×	—	≤5

○ : 分離する. × : 分離しない.

### 3.2.1. 植物粉 C

基材に植物粉 C を添加した試料の場合, 19%以上の濃度差があれば, PCA で分離が可能であった (表 8).

従って, RB<sub>mn1</sub> 中の 2.9%と RB<sub>mn2</sub> 中の 3.1%含まれる植物粉 C の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる.

混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA において, 分離しない例として 15%添加した試料と 25%添加した試料, 分離した例として 6%添加した試料と 25%添加した試料におけるスコア・プロットの例, 無添加の試料と 30%添加した試料におけるローディングベクトルを図 33 に示す. ローディングベクトルにおける変量のピークは, 植物粉 C のスペクトルのピーク (図 21 (5)) と一致しており, 植物粉 C の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた.

(1) 15%添加と 25%添加 (分離しない例)

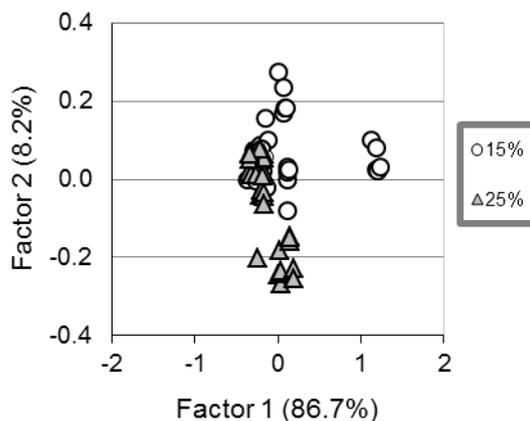
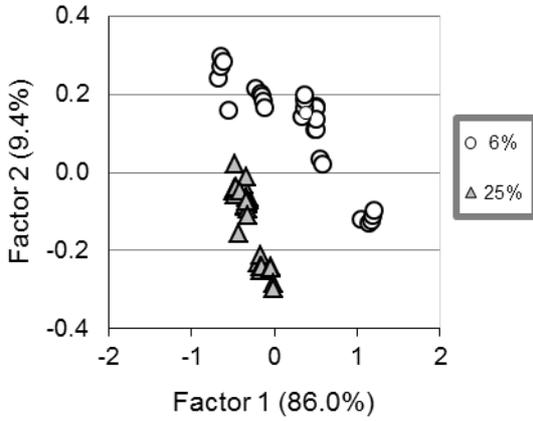
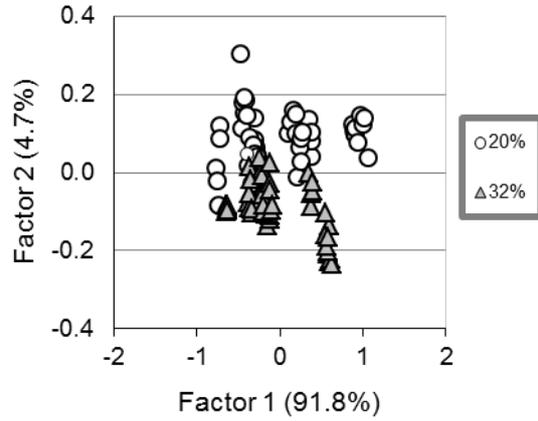


図 33. 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

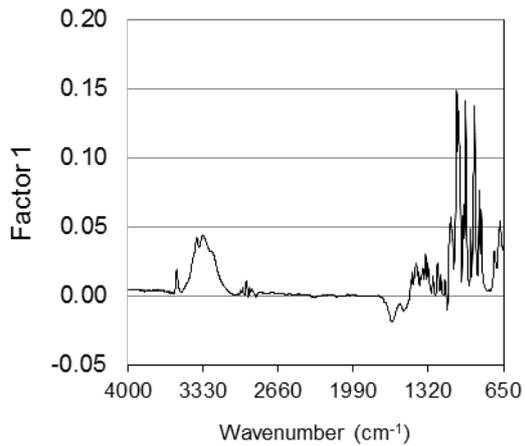
(2) 6%添加と25%添加 (分離した例)



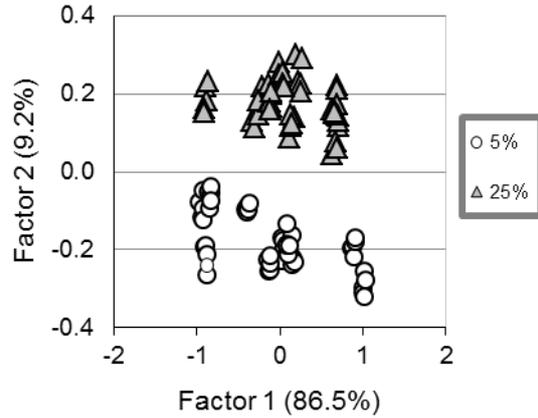
(1) 20%添加と32%添加 (分離しない例)



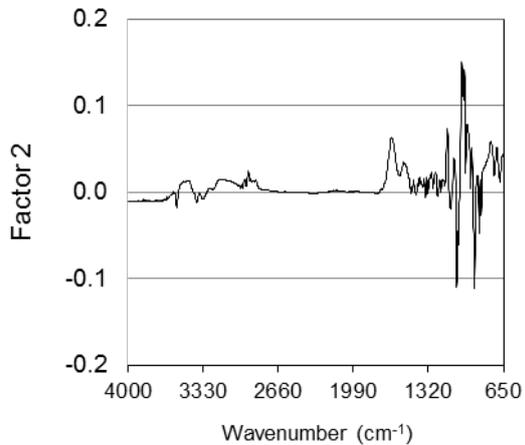
(3) 無添加と30%添加のFactor 1のローディングベクトル



(2) 5%添加と25%添加 (分離した例)



(4) 無添加と30%添加のFactor 2のローディングベクトル



(3) 無添加と40%添加のFactor 1のローディングベクトル

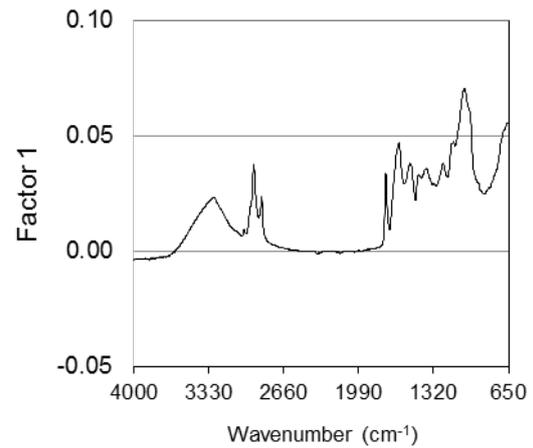


図 33 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル (続き)

図 34. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

(4) 無添加と 40%添加の Factor 2 のローディングベクトル

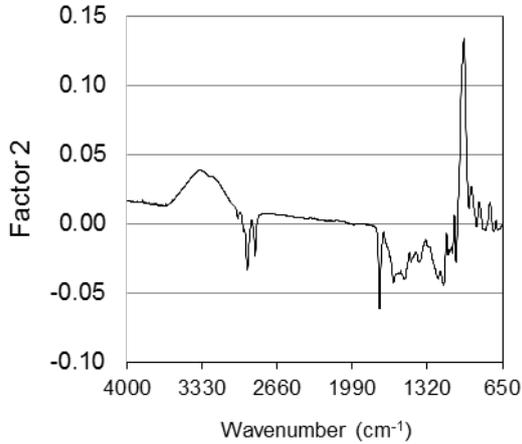


図 34. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

3.2.2. 植物粉 B

基材に植物粉 B を添加した試料の場合、20%以上の濃度差があれば、PCA で分離が可能であった (表 9)。

従って、RB<sub>mnf1</sub> 中の 11%と RB<sub>mnf2</sub> 中の 0.0%含まれる植物粉 B の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる。

混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた

PCA において、分離しない例として 20%添加した試料と 32%添加した試料、分離した例として 5%添加した試料と 25%添加した試料におけるスコア・プロットの例、無添加の試料と 40%添加した試料におけるローディングベクトルを図 34 に示す。ローディングベクトルにおける変数のピークは、植物粉 B のスペクトルのピーク (図 21 (6)) と一致しており、植物粉 B の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた。

3.2.3. 植物油

基材に植物油を添加した試料の場合、20%以上の濃度差があれば、PCA で分離が可能であった (表 10)。

従って、RB<sub>mnf1</sub> 中の 2.9%と RB<sub>mnf2</sub> 中の 0.0%含まれる植物油の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる。

混合植物粉に植物油を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 10%添加した試料と 25%添加した試料、分離した例として無添加の試料と 20%添加した試料のスコア・プロットの例、無添加の試料と 30%添加した試料におけるローディングベクトルを図 35 に示す。ローディングベクトルにおける変数のピークは、植物油のスペクトルのピーク (図 20 (7)) と一致しており、植物油の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた。

表 9. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料における PCA の結果

	5%	8%	10%	12%	15%	20%	25%	30%	32%	40%	分離	
											可能	不能
0%	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	≥20	≤15
5%		×	×	×	×	×	○	○	○	○	≥20	≤15
8%			×	×	×	×	○	○	○	○	≥17	≤12
10%				×	×	×	○	○	○	○	≥15	≤10
12%					×	×	×	○	○	○	≥18	≤13
15%						×	×	○	○	○	≥15	≤10
20%							×	×	×	○	≥20	≤12
25%								×	×	×	—	≤15
30%									×	×	—	≤10
32%										×	—	≤8

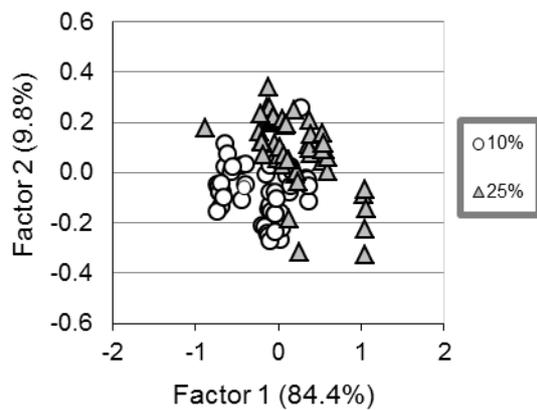
○ : 分離する. × : 分離しない.

表 10. 混合植物粉に植物油を添加した試料における PCA の結果

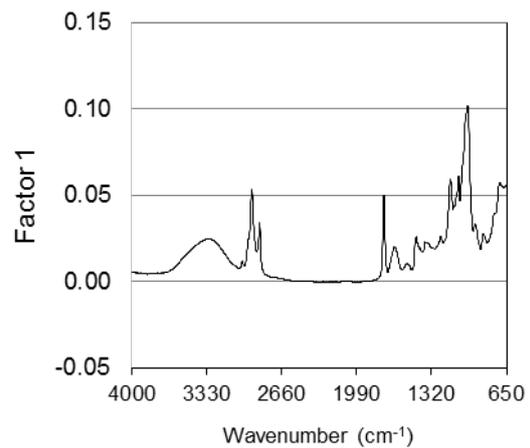
	2%	5%	10%	15%	20%	25%	30%	分離	
								可能	不能
0%	×	×	×	○	○	○	○	$\geq 15$	$\leq 10$
	2%	×	×	×	○	○	○	$\geq 18$	$\leq 13$
		5%	×	×	○	○	○	$\geq 15$	$\leq 10$
			10%	×	×	×	○	$\geq 20$	$\leq 15$
				15%	×	×	×	—	$\leq 15$
					20%	×	×	—	$\leq 10$
							25%	—	$\leq 5$

○ : 分離する. × : 分離しない.

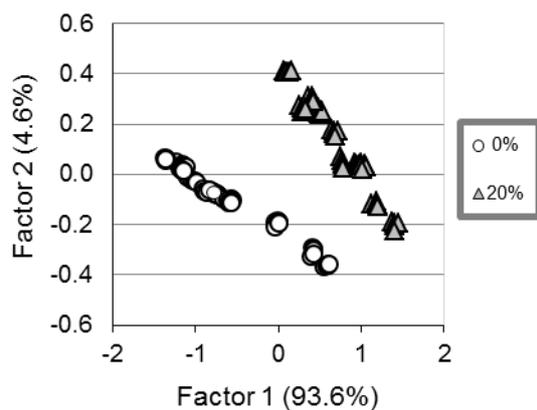
(1) 10%添加と25%添加 (分離しない例)



(3) 無添加と30%添加の Factor 1 のローディングベクトル



(2) 無添加と20%添加 (分離した例)



(4) 無添加と30%添加の Factor 2 のローディングベクトル

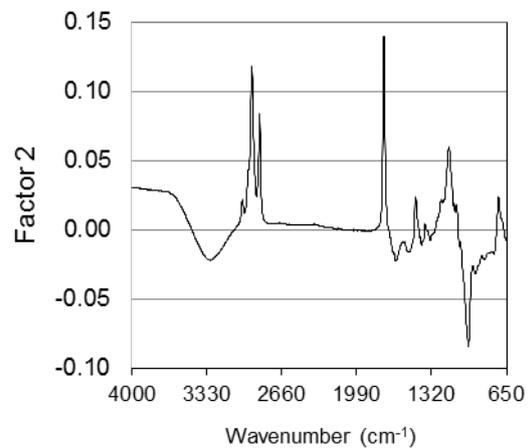


図 35. 混合植物粉に植物油を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

### 3.2.4. RB まとめ

補助成分の感度分析の結果から、PCA で分離する場合、基材である混合植物粉に植物粉 C を添加したときは 19%以上の濃度差、混合植物粉に植物粉 B を添加したときは 20%以上の濃度差、混合植物粉に植物油を添加したときは 20%以上の濃度差が必要であった。

見本と集取品における植物粉 C の濃度差は 0.1%、植物粉 B の濃度差は 11.4%、植物油の濃度差は 2.9% であったことから、PCA で分離する条件を満たしていなかった。

従って、FT-IR/ATR で測定した IR スペクトルを用いた PCA では、今回供試した RB における処方の違いを確認できないと判断された。

### 3.3. GR

GR<sub>mnf1</sub>、GR<sub>mnf2</sub>、GR<sub>mnf3</sub> における補助成分には、表 4 にまとめたとおり、界面活性剤とベントナイトおよびクレーの種類と含有率に違いがみられた。

#### 3.3.1. 界面活性剤

界面活性剤の種類・含有率の違いと PCA での分離状況は、GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf2</sub> を比較すると、種類と含有率も異なっていたが PCA では分離しない、GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf3</sub> を比較すると、種類と含有率が異なっており PCA でも分離する、GR<sub>mnf2</sub> と GR<sub>mnf3</sub> を比較すると、種類と含有率が同じであるが PCA では分離するという結果となり、一貫性は確認できなかった(表 11)。従って、界面活性剤の種類の違いは PCA における分離に影響しないことが示唆された。

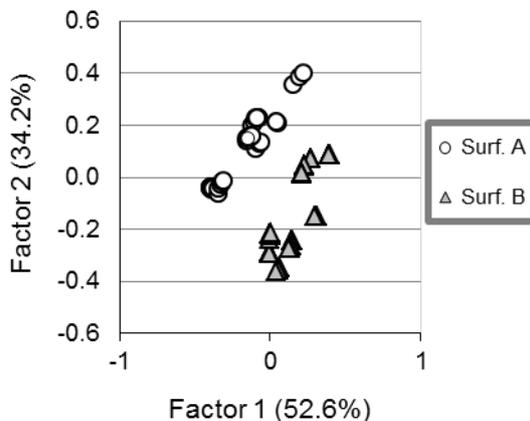
#### ① 種類の影響

界面活性剤の種類の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べた。

その結果、界面活性剤 A と界面活性剤 B は、そのままの状態の試料、加水・乾燥した試料とも PCA で分離した(図 36)。従って、界面活性剤 A と界面活性剤 B は PCA で分離することは可能である。

界面活性剤 A と界面活性剤 B について、そのままの状態で測定した IR スペクトルと加水・乾燥させた試料の IR スペクトルを用いて、PCA での分離を確認したところ、界面活性剤 A と界面活性剤 B とも、そのままの状態の試料と加水乾燥させた試料は分離した(図 37~38)。同一試料であっても、PCA で分離されたのは、加水・乾燥により結晶構造が変

(1) 加水・乾燥していない試料



(2) 加水・乾燥した試料

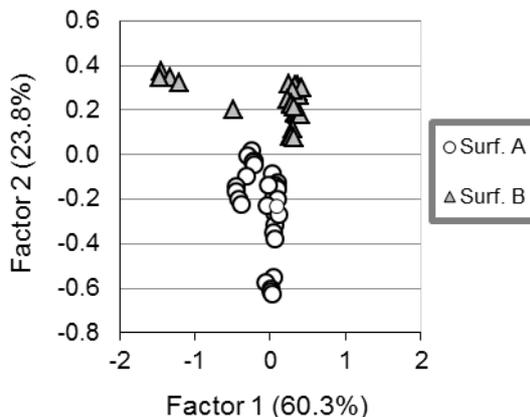


図 36. 界面活性剤 A と界面活性剤 B を用いた PCA におけるスコア・プロット

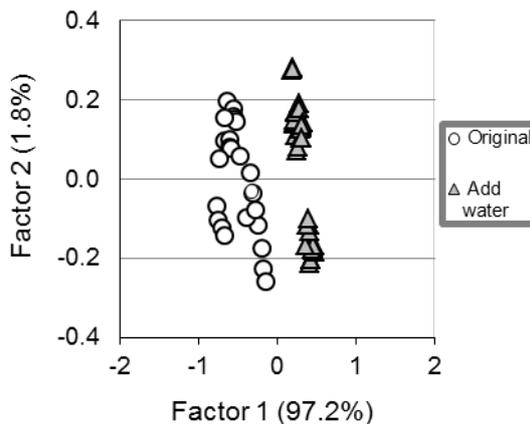


図 37. 界面活性剤 A を加水乾燥させた試料と乾燥させない試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

表 11. GR における製造処方 の比較

	界面活性剤		ベントナイト		クレー		PCA
	種類	量	種類	量	種類	量	
GR <sub>mnf1</sub> と GR <sub>mnf2</sub>	×	×	○	○	○	○	分離しない
GR <sub>mnf1</sub> と GR <sub>mnf3</sub>	×	×	△	○	△	○	分離する
GR <sub>mnf2</sub> と GR <sub>mnf3</sub>	○	○	△	○	△	○	分離する

○：種類または含有率が同等とみなせる。  
 ×：種類または含有率が同等とみなせない。  
 △：種類は物理的に同等とみなせる。

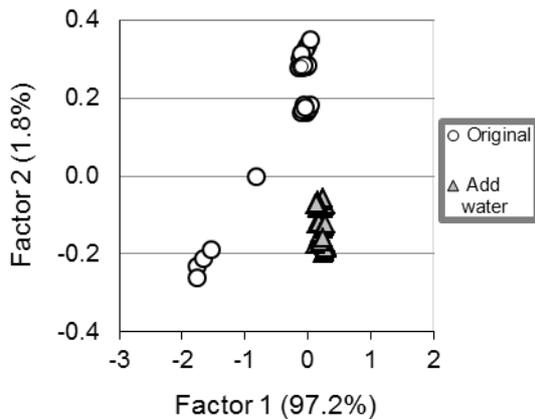


図 38. 界面活性剤 B を加水乾燥させた試料とさせない試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

化してスペクトルが変わったためと推定された (図 22 参照)。

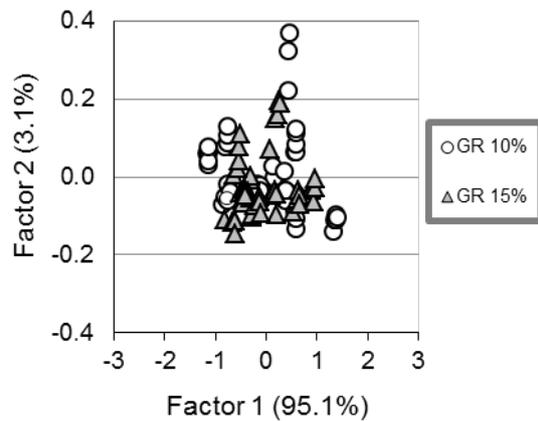
② 含有率の影響

界面活性剤の含有率の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べるため、GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A、または GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B を添加した試料を用いて感度分析を行った。

GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A、または GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B を添加した試料を用いて PCA を行った場合、いずれも、15% の濃度差があれば、PCA で分離が可能であった (表 12~13)。

GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 10% 添加した試料と 15% 添加した試料、分離した例として 1% 添

(1) 10% 添加と 15% 添加 (分離しない例)



(2) 1% 添加と 15% 添加 (分離した例)

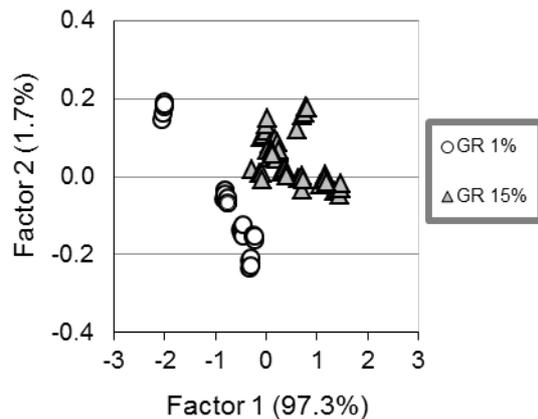


図 39. GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

表 12. GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%	10%	15%	20%	分離	
								可能	不能
0.3%	×	×	×	×	○	○	○	≥9.7	≤4.7
	0.5%	×	×	×	×	○	○	≥14.5	≤9.5
		1.0%	×	×	×	○	○	≥14	≤9
			2.0%	×	×	○	○	≥13	≤8
				5.0%	×	○	○	≥10	≤5
					10%	×	○	≥10	≤5
						15%	×	—	≤5

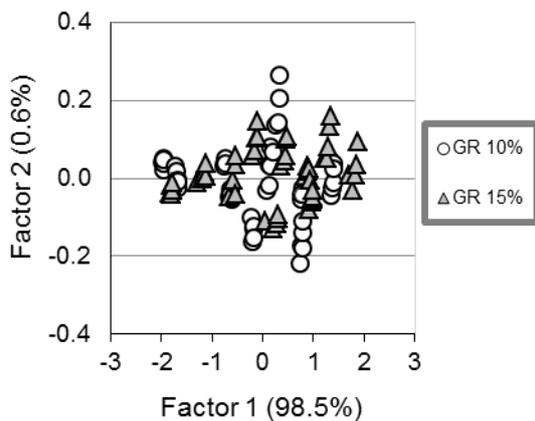
○ : 分離する. × : 分離しない.

表 13. GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%	10%	15%	20%	分離	
								可能	不能
0.2%	×	×	×	×	×	○	○	≥14.8	≤9.8
	0.5%	×	×	×	×	○	○	≥14.5	≤9.5
		1.0%	×	×	×	○	○	≥14	≤9
			2.0%	×	×	○	○	≥13	≤8
				5.0%	×	○	○	≥10	≤5
					10%	×	○	≥10	≤5
						15%	×	—	≤5

○ : 分離する. × : 分離しない.

(1) 10% 添加と 15% 添加 (分離しない例)



(2) 1% 添加と 15% 添加 (分離した例)

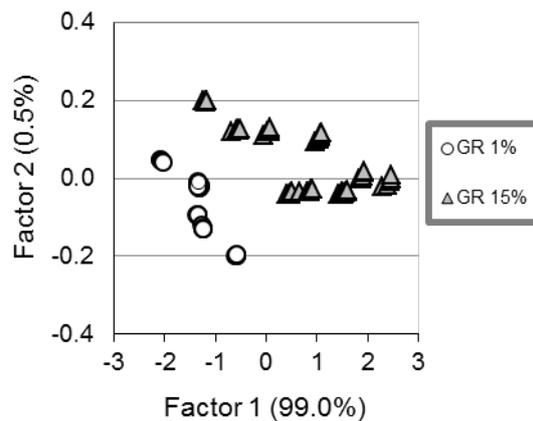


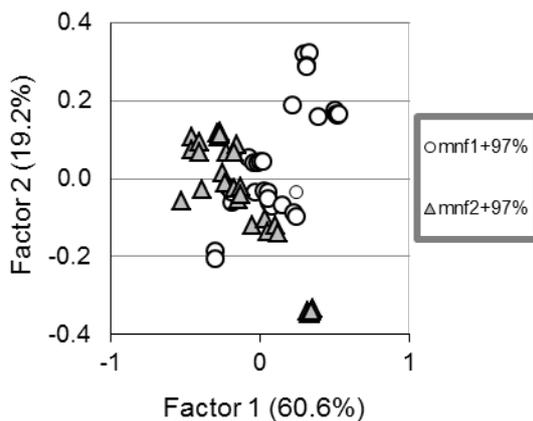
図 40. GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

加した試料と 15% 添加した試料のスコア・プロットの例を図 39 に示す。

また、GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 10% 添加した試料と 15% 添加した試料、分離した例として 1% 添加した試料と 15% 添加した試料のスコア・プロットの例を図 40 に示す。

次に、GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加した試料と GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B を添加した試料を用いて PCA を行ったところ、界面活性剤を 97% 以下で添加した試料の場合は分離せず、99% 以上添加した試料で分離した。このときのスコア・プロットの例を図 41 に示す。

(1) 97% 添加 (分離しない例)



(2) 99% 添加 (分離した例)

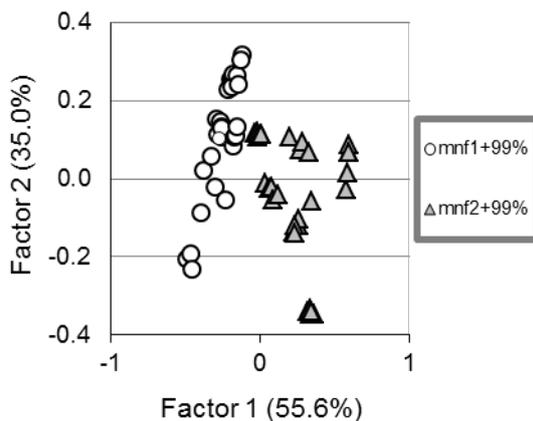
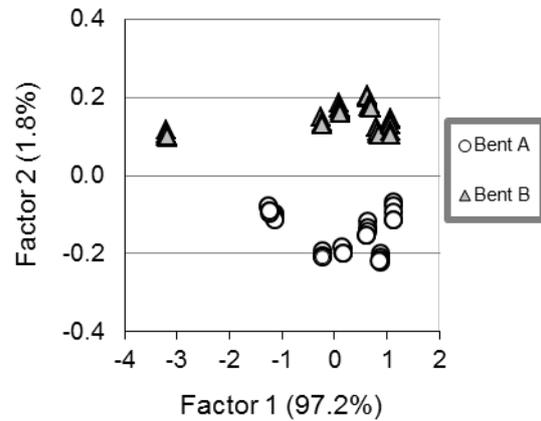


図 41. GR<sub>mnf1</sub> に界面活性剤 B および GR<sub>mnf2</sub> に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) 加水・乾燥していない試料



(2) 加水・乾燥した試料

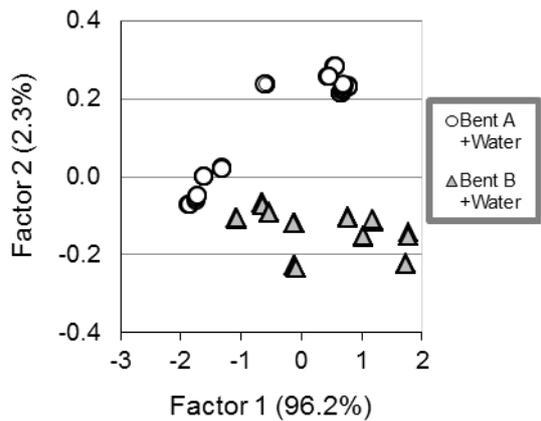


図 42. ベントナイト A とベントナイト B を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) 加水・乾燥していない試料, Factor 1

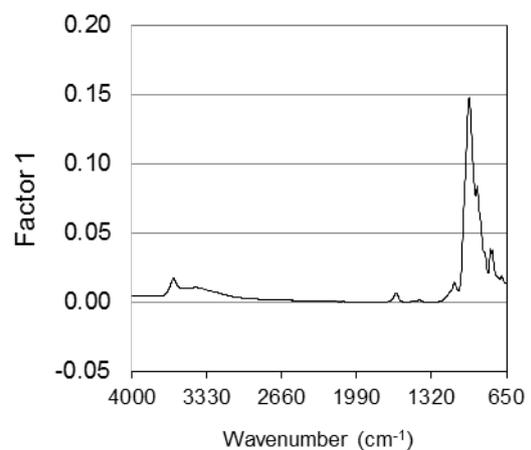
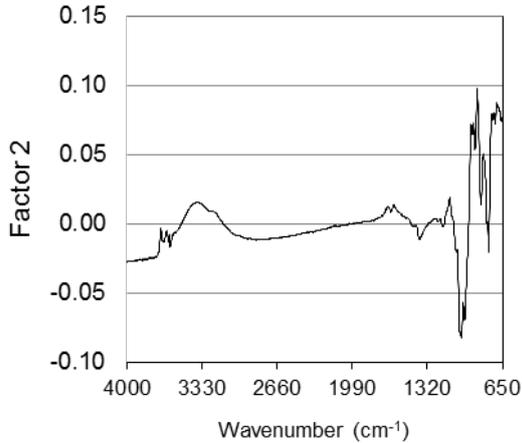
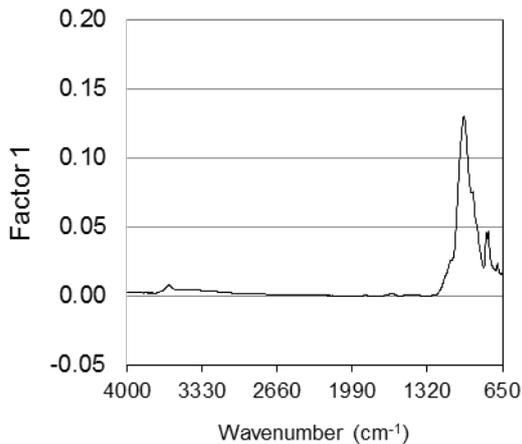


図 43. ベントナイトを用いた PCA におけるローディングベクトル

(2) 加水・乾燥していない試料, Factor 2



(3) 加水・乾燥した試料, Factor 1



(4) 加水・乾燥した試料, Factor 2

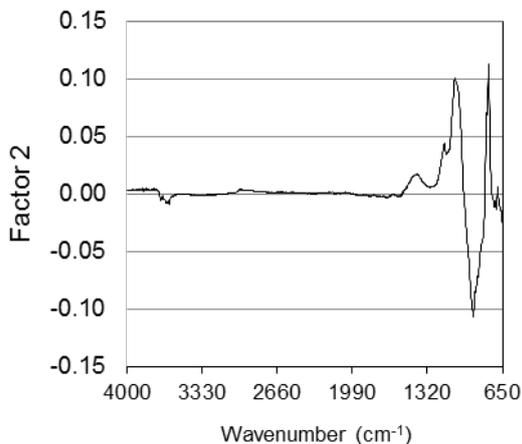


図 43. ベントナイトを用いた PCA におけるローディングベクトル (続き)

従って、界面活性剤 A と界面活性剤 B 自体は PCA で分離できるものの、製剤に添加した場合は分離できなくなった。これは、界面活性剤以外の成分が大きく影響したためと考えられた。

以上のことから、GR<sub>mnf1</sub> 中の界面活性剤 B の 0.30% と GR<sub>mnf2</sub> 中の界面活性剤 A の 0.21% を PCA で区別することは不可能といえる。

### 3.3.2. ベントナイト

ベントナイトの種類・含有率の違いと PCA での分離状況について GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf2</sub> を比較すると、種類と含有率は同じであり PCA でも分離しない、GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf3</sub> を比較すると、種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離する、GR<sub>mnf2</sub> と GR<sub>mnf3</sub> を比較すると、種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離するという結果となった (表 11)。

ベントナイトの種類の違いが PCA における分離に影響していることが示唆されたので、ベントナイト A とベントナイト B を用いた PCA を実施した。

前述のとおり、ベントナイトは加水により膨潤するので、加水・乾燥した試料についても PCA で解析した。その結果、そのままの状態の試料も、加水・乾燥した試料も、ベントナイト A とベントナイト B は PCA で分離した (図 42)。ベントナイトおよび加水・乾燥させた試料を用いた PCA におけるローディングベクトルを図 43 に示す。ローディングベクトルにおける変数のピークは、ベントナイト A (図 22 (9)) および B (図 22 (11)) のスペクトルのピークと一致しており、この違いが PCA での分離に影響したと考えられた。

しかし、製剤の物理的・化学的性状に対する影響という観点からみた場合、ベントナイト A とベントナイト B は物理的に同等と考えられるにもかかわらず、PCA では同等ではないと結論されたことから、製剤の同等性の判断に PCA を利用することは困難と考えられた。

### 3.3.3 クレー

クレーの種類・含有率の違いと PCA での分離状況について GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf2</sub> を比較すると、クレーの種類と含有率は同じであり PCA でも分離しない、GR<sub>mnf1</sub> と GR<sub>mnf2</sub> を比較すると、種類は異なるもの

の物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離する,  $GR_{mnf1}$  と  $GR_{mnf2}$  を比較すると, 種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離するという結果となった (表 11).

クレーの種類の違いが PCA における分離に影響していることが示唆されたので, クレーA とクレーB を用いた PCA を実施した.

その結果, クレーA とクレーB は PCA で分離した (図 44). クレーを用いた PCA におけるローディングベクトルを図 45 に示す. ローディングベクトルにおける変数のピークは, クレーA のスペクトルのピーク (図 22 (12)) と一致しており, クレーの種類の違いが分離に影響したと考えられた. 農薬製剤の製造会社から入手したクレーの IR スペクトルから, クレーは珪石系とろう石系の 2 種類に分類できると報告されている<sup>15)</sup>. 同報告によれば, クレーA はろう石系, クレーB は珪石系であり, この 2 種は PCA で分離可能となる場合があることが示されている.

しかし, ベントナイトと同様, 製剤の物理的・化学的性状に対する影響という観点からみた場合, クレーA とクレーB は物理的に同等と考えられるにもかかわらず, PCA では同等ではないと結論されたことから, 製剤の同等性の判断に PCA を利用することは困難と考えられた.

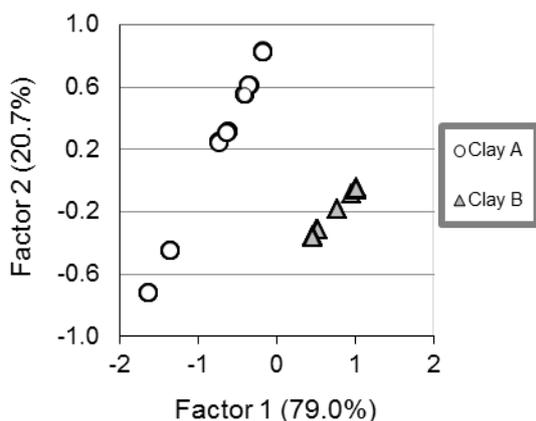
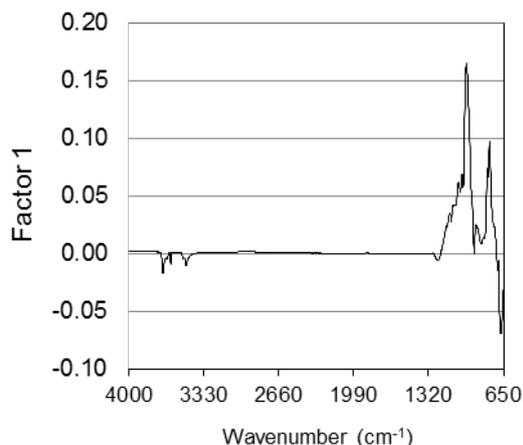


図 44. クレーA とクレーB を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) Factor 1



(2) Factor 2

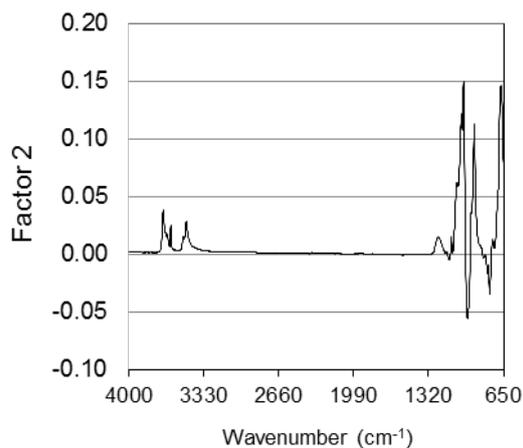


図 45. クレーを用いた PCA におけるローディングベクトル

#### 4. 集取品と見本の同等性の確認

FT-IR/ATR が集取品と見本との同等性の検査に利用できるかどうかを確認するため, 両者を用いた確認を行った.

##### 4.1. 供試農薬

SC2 および SC3 は, いずれも立入検査で集取した製剤 (フロアブル) である. これら 2 剤とも, 立入検査において製造方法が入手できなかったことから, 補助成分に係る検査は省略された.

なお、見本は当該農薬の登録検査時に開封している。SC2<sub>ref</sub>のうち、登録検査時に開封した見本をSC2<sub>ref1</sub>、当部において常温で保管してあった見本を新たに開封したものをSC2<sub>ref2</sub>と表記する。

#### 4.2. IR スペクトル測定

ダイヤモンド ATR エlement中央部にアルミニウム製スパーサーを置き、スポイトを用いてスパーサー内に試料 6 滴を滴下し、IR スペクトルを測定した。測定は、1 試料につき、3 回連続して測定した。これを 10 回繰り返した。バックグラウンドは空気で測定した。SC2 および SC3 の基材は水であることから、SC2 または SC3 のスペクトルから水のスペクトルを差し引いて試料のスペクトルとした。

#### 4.3. 結果

##### 4.3.1. IR スペクトル

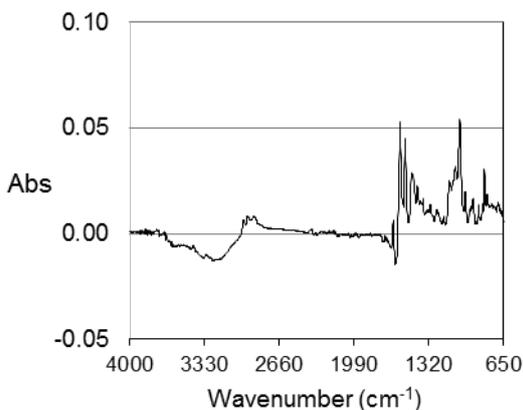
SC2 の見本と集取品の IR スペクトルを図 46 に、SC3 の見本と集取品の IR スペクトルを図 47 にそれぞれ示す。

その結果、SC2<sub>ref1</sub> と SC2<sub>ref2</sub> のスペクトルはほとんど同じであり、SC2<sub>ref2</sub> と SC2<sub>ref1</sub> の差スペクトルには主要なピークは認められなかった (図 46 (4))。

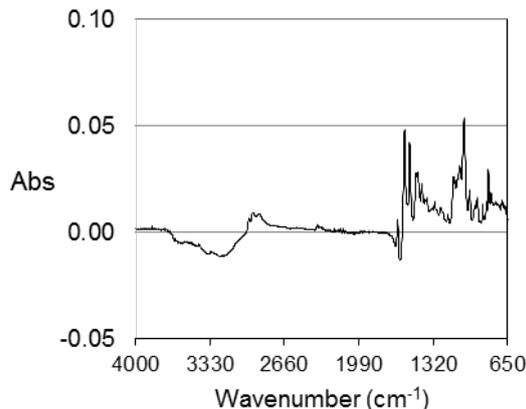
一方、SC2<sub>mnf</sub> と SC2<sub>ref1</sub> の差スペクトルには明確なピークが認められたことから、集取品には見本に含まれていない成分が含まれていることが示唆された (図 46 (5))。

また、SC3<sub>ref</sub> と SC3<sub>mnf</sub> のスペクトルはほとんど同じであり、SC3<sub>ref</sub> と SC3<sub>mnf</sub> の差スペクトルには主要なピークは認められなかった (図 47 (3))。

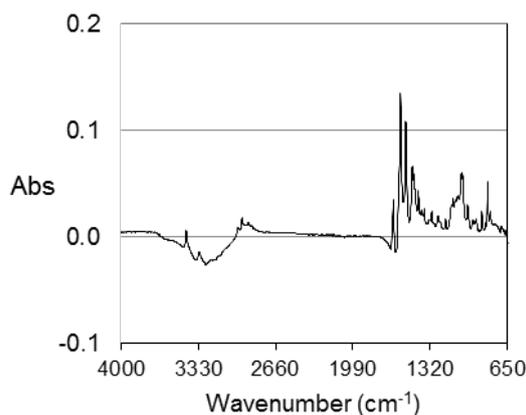
(1) SC2<sub>ref1</sub> の IR スペクトル



(2) SC2<sub>ref2</sub> の IR スペクトル



(3) SC2<sub>mnf</sub> の IR スペクトル



(4) SC2<sub>ref2</sub> の IR スペクトルから SC2<sub>ref1</sub> の IR スペクトルを引いた差スペクトル

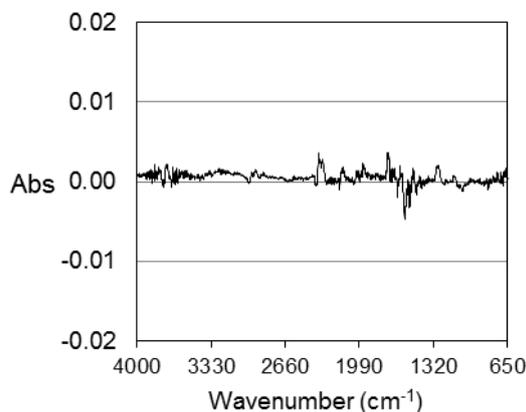


図 46. SC2 の見本と集取品の IR スペクトル

(5) SC2<sub>mnf</sub>の IR スペクトルから SC2<sub>ref1</sub>の IR スペクトルを引いた差スペクトル

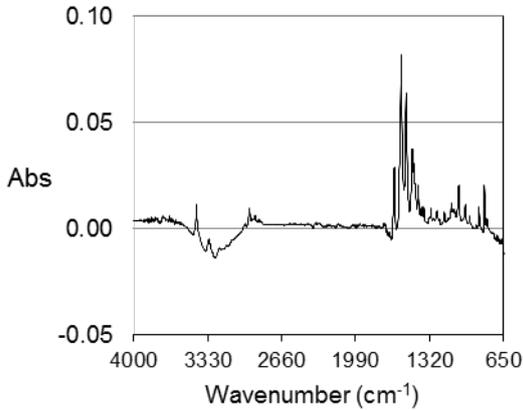


図 46. SC2 の見本と集取品の IR スペクトル (続き)

(3) SC3<sub>mnf</sub>の IR スペクトルから SC3<sub>ref</sub>の IR スペクトルを引いた差スペクトル

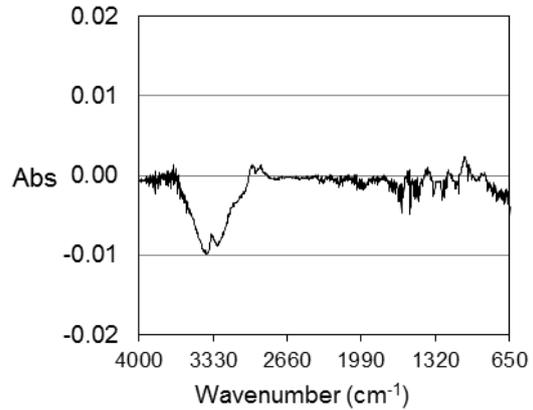
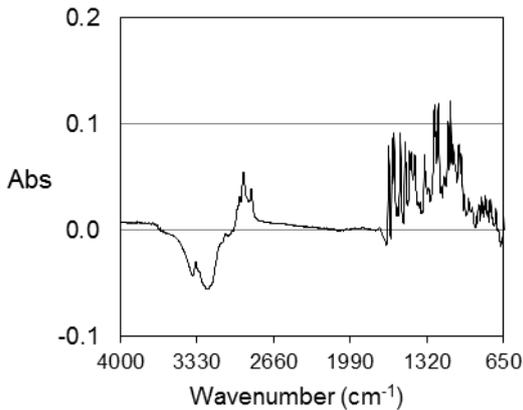


図 47. SC3 の見本と集取品の IR スペクトル (続き)

(1) SC3<sub>ref</sub>の IR スペクトル



(2) SC3<sub>mnf</sub>の IR スペクトル

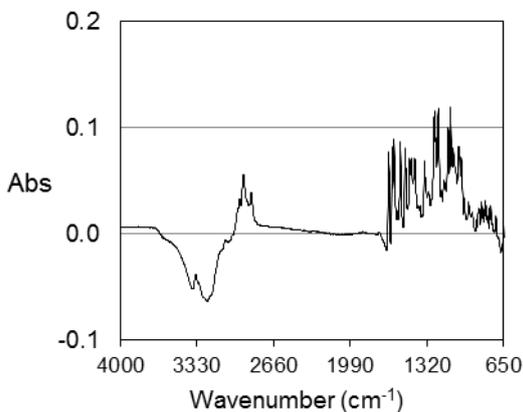


図 47. SC3 の見本と集取品の IR スペクトル

#### 4.3.2. 物理的性状

SC2 の物理的性状の測定結果を表 14 に示す。粘度、平均粒径、粒径 50%タイル値は、見本である SC2<sub>ref1</sub> を 1 とした相対値。

集取品である SC2<sub>mnf</sub> の物理性は、SC2<sub>ref1</sub> と異なっていた。

表 14. SC2 の物理的性状の測定結果

	SC2 <sub>ref1</sub>	SC2 <sub>mnf</sub>
色調	2.5Y	6.0GY
粘度*	1.00	0.55
平均粒径*	1.00	0.57
粒径 50%タイル値*	1.00	0.42

\*:SC2<sub>ref1</sub> を 1 とした相対値。

#### 4.3.3. PCA

##### 4.3.3.1. SC2

SC2 の見本と集取品を用いた PCA を図 48 に示す。

SC2<sub>ref1</sub> は登録検査に用いるために開封してあったので、経時変化の可能性が考えられたため、開封品の SC2<sub>ref1</sub> と未開封品の SC2<sub>ref2</sub> を用いた PCA を行った。その結果、両者は分離しなかったことおよび 4.3.1 で述べたように両者の IR スペクトルはほとんど同じであったことから、開封の有無による経時変化の違いは確認されなかった。

(1) 見本と集取品

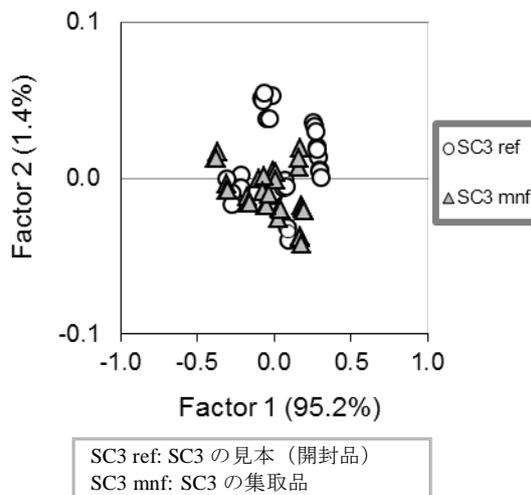
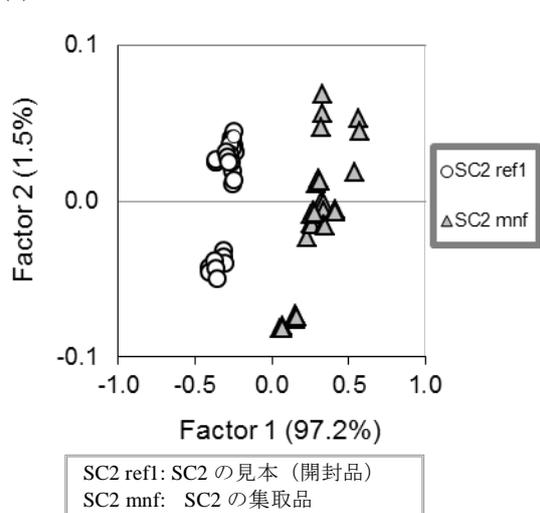


図 49. SC3 の見本と集取品を用いた PCA におけるスコア・プロット

(2) 見本の開封品と未開封品

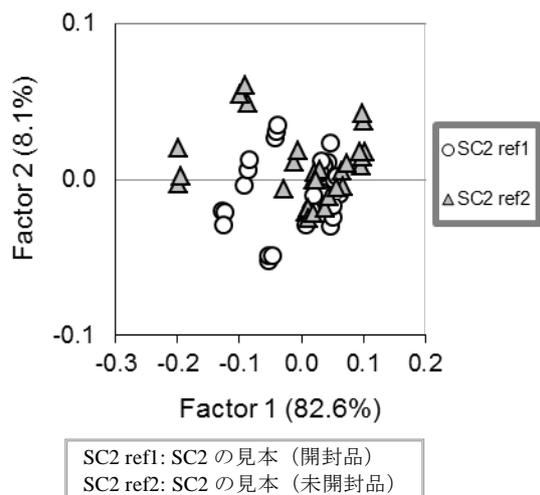


図 48. SC2 の見本と集取品を用いた PCA におけるスコア・プロット

4. 3. 1, 4. 3. 2 および 4. 3. 3. 1. の結果から、見本 SC2<sub>ref1</sub> と集取品 SC2<sub>mnf</sub> の組成が異なることが示唆された。

そこで、当該農薬登録申請者に SC2<sub>mnf</sub> の処方を確認したところ、一部の補助成分の種類および含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていたことが確認された。

#### 4. 3. 3. 2. SC3

SC3 の見本と集取品を用いた PCA を図 49 に示す。その結果、見本 SC3<sub>ref</sub> と集取品 SC3<sub>mnf</sub> は PCA で分離しなかったことから、両者は同等であることが示唆された。

#### 4. 3. 4. PCA に必要な測定回数

PCA において分離しなかった試料 (SC2<sub>ref1</sub> と SC2<sub>ref2</sub> および SC3<sub>ref</sub> と SC3<sub>mnf</sub>) を用いて、同等であることを確認するために必要な試料の IR スペクトルの測定回数を検討した。

試料の積算回数ごとのスコア・プロットについて、SC2 を図 50、SC3 を図 51 に示す。

その結果、SC2 および SC3 とも、2 回目の測定までは PCA で分離したが、3 回目よりも多い測定回数では分離しなくなった。なお、それぞれの測定の間隔は 1 時間以上空けている。

従って、IR スペクトルを用いて PCA で分離できるかどうかを確認するためには、同一試料について少なくとも 3 回は測定する必要があると考えられた。

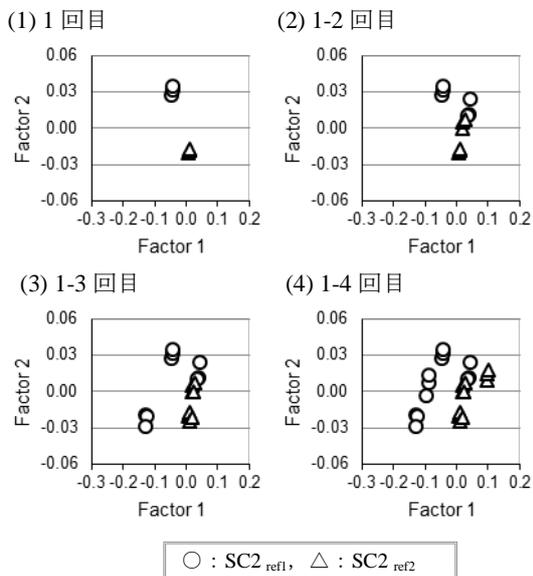


図 50. SC2 を用いた積算回数ごとのスコア・プロット

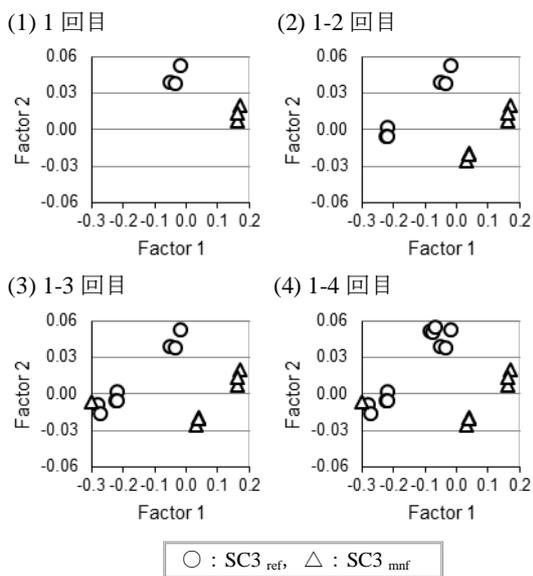


図 51. SC3 を用いた積算回数ごとのスコア・プロット

## 5. まとめ

IR スペクトル強度の変動要因の調査から、変動が最も少なくなる条件を選定し、見本どおりの処方製造された製剤と見本とは異なる処方製造さ

れた製剤の IR スペクトルを測定し、PCA で解析したところ、両者を 2 つの領域に分離できなかった。補助成分の感度分析の結果から、両者を分離するために必要な条件を満たしていないと考えられた。

しかし、農薬登録申請時に提出された見本と立入検査で集取した集取品を用いて PCA で解析したところ、一部の農薬では両者が 2 つの領域に分離され、当該農薬の登録申請者に処方を確認したところ、見本の処方とは異なる処方で製造されていたことが確認された。さらに、物理的に同等であるが異なる成分が使用されている場合 PCA で分離したことから、同等性の判断には使えないが、集取品中の補助成分の検査のためのスクリーニングには利用可能と考えられた。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、農薬の製剤あるいは補助成分の試料は、当該製造会社よりご提供いただきましたので、この場を借りてお礼申し上げます。

なお、試料名および会社名についての個別名称は、企業秘密保護のため、記載を省略させていただきました。

## 参考文献

ホームページのアドレスの確認は、2015 年 8 月 3 日に行った。

- 1) 農薬取締法 (昭和 23 年 7 月 1 日法律第 82 号), <http://www.acis.famic.go.jp/hourei/hou.pdf>.
- 2) 農林水産消費安全技術センター業務方法書 (変更認可:平成 27 年 4 月 1 日付け農林水産省指令 26 消安第 6232 号), [http://www.famic.go.jp/public\\_information/tsusoku/270401gyoumuhouhouyo.pdf](http://www.famic.go.jp/public_information/tsusoku/270401gyoumuhouhouyo.pdf).
- 3) 物理性検定法:昭和 35 年 2 月 3 日農林省告示第 71 号
- 4) 農薬取締法第 14 条第 2 項の規定に基づく農薬の検査方法:昭和 50 年 7 月 25 日農林省告示第 750 号
- 5) 「農薬の登録申請書等に添付する資料等について」の運用について (平成 14 年 1 月 10 日付け 13 生産第 3988 号農林水産省生産局生産資材課長通知), <http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/3988/3988.pdf>.
- 6) 西澤幸夫, 小倉一雄, 百弘:農薬検査所報告 29,

- 17-22 (1989), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou29.pdf>
- 7) 西澤幸夫, 廣瀬欣也, 鈴木修: 農薬検査所報告 **31**, 135-140 (1991), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou31.pdf>
- 8) 西澤幸夫: 農薬検査所報告 **32**, 21-25 (1992), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou32.pdf>
- 9) O. Nováková: Work carried out in the Czech Republic, Presentation and posters from the CIPAC-Symposium in Liège, Belgium 2014, [http://www.cipac.org/document/presentation\\_poster/2014/Work%20carried%20out%20in%20the%20CZ%20for%20website-Olga%20Nováková.pdf](http://www.cipac.org/document/presentation_poster/2014/Work%20carried%20out%20in%20the%20CZ%20for%20website-Olga%20Nováková.pdf).
- 10) A. Santilio, Analysis of plant protection product for monitoring programme, Presentation and posters from the CIPAC-Symposium in Liège, Belgium 2014, [http://www.cipac.org/document/presentation\\_poster/2014/CIPAC%20SYMPOSIUM%20SANTILIO%202014.pdf](http://www.cipac.org/document/presentation_poster/2014/CIPAC%20SYMPOSIUM%20SANTILIO%202014.pdf).
- 11) 日本薬局方, 厚生労働省告示第 111 号 (平成 13 年 3 月 30 日)
- 12) 石原悟, 豊留夏紀: 日本農薬学会誌 **37**, 190-195 (2012), [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/37/2/37\\_W12-06/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/37/2/37_W12-06/_pdf)
- 13) CropLife International (2008): Technical Monograph n°2, 6<sup>th</sup> Edition, Catalogue of pesticide formulation types and international coding system, <http://croplife.org/wp-content/uploads/2014/05/Technical-Monograph-2-Revised-May-2008.pdf>.
- 14) 株式会社ホージュン: ベントナイトの膨潤, [http://www.hojun.co.jp/54\\_bou\\_bentonite.html](http://www.hojun.co.jp/54_bou_bentonite.html).
- 15) 石原悟, 豊留夏紀: 農薬調査研究報告 **2**, 19-23 (2011), [http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2009\\_03.pdf](http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2009_03.pdf)