[農化 第 46 卷, 第 5 号, p. 267~271, 1972]

ポリビニルピロリドンの定量法

石川鹿生, 古市幸生, 中村 滋

(三重大学農学部農芸化学科)

昭和 46 年 8 月 19 日 受理

Determination of Polyvinylpyrrolidone [Note]

By Shikao ISHIKAWA, Yukio FURUICHI and Shigeru NAKAMURA

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Mie University, Tsu

A simple spectrophotometric method was developed for the quantitative estimation of polyvinylpyrrolidone in some pharmaceuticals and biological materials.

The turbidity of polyvinylpyrrolidone precipitated by perchloric acid was measured turbidimetrically at 370 m μ . The absorbance due to the turbidity was directly proportional to the concentration of the polymer ranging from 1 to 4 mg per 100 ml of the final test solution. Biological materials should be extracted by water and be pretreated with Somogyi's precipitants in order to remove interference of turbidity with other materials.

(Received August 19, 1971)

ポリビニルピロリドン (PVP) は, 現在医薬品として使用されているが, 多くの興味ある性質を有する水溶性重合体である⁽¹⁾. その高い溶解性と広い生理的適合性から, 本重合体は動物の消化吸収を追跡するための指標物質としても, 適格有用であると考えられる⁽²⁾. そこで, 薬剤および生体試料中の PVP について 2, 3 の定量法を試みてみた. その中で, 過塩素酸により生成する濁度を測定する方法が比較的簡易であり, Shiraeff⁽³⁾ がビール中の高分子量の PVP K⁽⁴⁾-90 の定量に試みている.

著者らは, 低分子量の PVP の濁り測定を採り上げ, 若干の検討を加え, 動物の消化吸収研究のための指標物質として用いる場合を想定して, その定量法を考案した.

試料, 試薬および装置

試料 PVP として K-30 (General Aniline & Film Corp.) を対象とし, ほかに比較のため K-15 (General Aniline & Film Corp.), K-25 (Badische Anilin u. Soda Fabrik) を用いた. 山本らにより求められたこれらの粘度平均分子量は, それぞれ 37, 200, 7, 420, 21, 900 である⁽⁵⁾.

Levy ら⁽⁶⁾ の方法により測定した水分と不飽和度, キェルダール法による窒素および常法⁽⁷⁾ による灰分は, Table I に示すとおりである.

0.1% PVP 液: PVP K-30 1.000 g を常温にて純水に溶かし, 1 l にする.

BaCl₂ 含有 (10% w/v) 25.8% w/v HClO₄ 液: 60% HClO₄ (特級試薬) 100 ml に, 純水 260 ml を加える. この溶液で BaCl₂·2H₂O (1 級試薬) 29.33 g を溶解せしめ, 250 ml とする.

0.3 N Ba(OH)₂ 液: Ba(OH)₂·8H₂O (1 級試薬) 47.3 g を CO₂ を除去した純水に溶かして, 1 l にする.

2.7% ZnSO₄ 液: ZnSO₄·7H₂O (1 級試薬) 10 g を純水に溶かして, 200 ml にする.

Table I. Grades of PVP Products

	K-15	K-25	K-30
Moisture	0.98%	2.42%	3.84%
Nitrogen	11.88	10.65	10.71
Ash	0.01	0.01	0.01
Unsaturation as monomer	0.85	0.14	0.39

吸光度の測定には、島津 QB-50 型分光光度計を使用し、幅 10 mm のガラス製液槽を用いる。ただし、Fig. 1 の吸収曲線を求める際には、幅 10 mm の石英製液槽を用いた。

操作法

PVP (5~20 mg) を含む生体試料 0.5~1.0 g を秤取りし、純水 20 ml を加えて室温下で浸出する（液状試料はこの操作を必要としない）。Ba(OH)₂ 液 5.5 ml, ZnSO₄ 液 5 ml（試料を多く取らねばならぬ場合は、両液の容積比を変えずに適当に増量する）を添加して攪拌し、生じた沈殿を遠心分離して上澄液を 250 ml 定容フラスコに移す。遠沈管の残渣に 20~30 ml の純水を注加して残存する PVP を浸出し、再び遠心分離して得られる上澄液を同フラスコに取り入れ、純水を加えて 250 ml に定容する。PVP を含む薬剤では、PVP の予想含量が 0.002~0.008% の範囲に入るように、定容の純水に溶かす。

試料溶液と等容の BaCl₂ 含有 HClO₄ 液を混合して白濁させ、室温下で 60 分放置後、波長 370 mμ における吸光度を純水を標準として測定する。あらかじめ作成した検量式により、PVP の含量を算出する。

検量式の作成

0.1% PVP 液の 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ml を各々 100 ml 定容フラスコに取り、純水を加えて 100 ml に定容する。各溶液 5 ml に BaCl₂ 含有 HClO₄ 液 5 ml を加えて白濁させ、60 分放置後、純水を標準として波長 370 mμ における吸光度を測定する。PVP に対する吸光度の回帰は、Fig. 2 に示す。これより、次の検量式が求められる。

$$y = 13.7255x + 0.0088$$

x : 吸光度

y : 最終溶液 100 ml 中の PVP mg 数

本定量操作における PVP 水溶液の濁度の吸光度に及ぼす影響と、PVP 以外の白濁を起こす物質の存在が考えられる生体試料の処理方法について検討した。

PVP の白濁反応

PVP は、その水溶液に過塩素酸を加えると、沈降しがたい白色の分散粒子の形態をとる。この粒子は 1500×g 程度の遠心力により沈降し、液体部は透明となり、また 1 昼夜の放置によってもその大部分が沈殿する。添加する過塩素酸の濃度が高いと、生じた粒子は溶解され消失する。白濁を肉眼で識別できる PVP 下限濃度は、最終溶液 ml 当り 3 μg である。Fig. 1 に示すように、吸収

Fig. 1. Spectral Absorption of PVP-perchloric Acid Turbidity 30 μg PVP/ml of Final Solution.

Fig. 2. Regression Curve.

曲線には極大点、極小点がみられない。Shiraeff⁽³⁾が対象としている K-90 (分子量 200,000) に比べ、低分子量の K-30 の濁度はきわめて低いので、可視光線の範囲で測定感度を高くするねらいから、370 mμ を測定波長として採択した。この場合、最終溶液 ml 当り PVP 10~40 μg の濃度範囲において、Beer の法則にしたがう。

過塩素酸の濃度

PVP 溶液に等容の過塩素酸を加えて白濁させることにし、両溶液の濃度を変えて吸光度を測定した結果は、Fig. 3 に示すとおりである。過塩素酸の濃度が 20~30 % w/v 付近で、極大吸光度を示すことがわかる。このことから本法では、25.8% w/v HClO₄ 液を用いている。

PVP の重合度の影響

K 値すなわち重合度が高いほど吸光度は高い値を示す

Fig. 3. Variations in Absorbance at Different Concentrations of Perchloric Acid.

PVP/ml of final solution: 1) 50 μ g, 2) 20 μ g, 3) 10 μ g, 4) 5 μ g.

Fig. 4. Relation between K-value and Absorption.

PVP/ml of final solution: 1) 35 μ g, 2) 25 μ g, 3) 15 μ g.

ことが, Fig. 4 より明らかである. したがって本法による場合は, PVP の重合度別に, それぞれの検量式を作成せねばならない.

濁度促進物質

三塩化酢酸により生成するポリエチレングリコールの濁度が, バリウムイオン存在下で促進されることが知られている⁽⁸⁾. 本法においても同じような現象が類推されるので, 2 価の陽イオンであるカルシウム, マグネシウム, バリウム, 亜鉛について検討してみた. すなわち, これらの塩化物をそれぞれ 5% 含有する HClO_4 液によ

り PVP 液を白濁させ, 吸光度を比較測定したところ, バリウムと亜鉛がわずかに白濁を促進することがわかった. 後に述べる沈殿剤の選択との関連を考慮して, バリウムを使用することにし, その添加割合と PVP 粒子の濁度の関係を調べた結果が, Table II である. 塩化バリウムの添加量による影響はほとんどみられず, いずれも吸光度値が対照より約 10% 上昇する. したがって本法では, 塩化バリウムを 10% w/v 含有する HClO_4 液を発色試薬とすることにした. 測定波長の選択と相まって, 本操作により測定感度を高くすることが可能になった.

濁度の安定性

室温下で PVP 液を発色試薬で白濁させ, 経時的に吸光度を測定した結果は Fig. 5 のとおりである. 白濁直後から徐々に吸光度は上昇し, 60 分経過後はほぼ安定を保ち, 120 分経過すると, わずかに低下する傾向がみられる. なお HClO_4 液添加時の攪拌は, 吸光度の経時的変化に影響を及ぼさない.

Table II. Effect of Barium Chloride on Absorbance

PVP/ml of final solution μ g	BaCl ₂ contents in perchloric acid (w/v %)			
	0	5	10	15
15	0.0854 (100)	0.1051 (123)*	0.1068 (125)	0.1068 (125)
25	0.1650 (100)	0.1824 (111)	0.1844 (112)	0.1858 (113)
35	0.2351 (100)	0.2541 (108)	0.2534 (108)	0.2549 (108)

* Ratio to control absorbance expressed as 100.

Fig. 5. Effect of Time on Absorbance.

PVP/ml of final solution: 1) 35 μ g, 2) 25 μ g, 3) 15 μ g.

Fig. 6. Effect of Temperature on Absorbance.

PVP/ml of final solution : 1) 35 μ g,
2) 25 μ g, 3) 15 μ g.

温度の影響

室温付近の各温度に PVP 液, 発色試薬を調節し, 白濁せしめた場合の吸光度は Fig. 6 に示すとおりで, 温度による影響はないと考えられる。

無機塩の影響

General Aniline & Film Corp. の説明書⁽¹⁾によると, 10% PVP 溶液に Table III の各無機塩溶液を混合すると, コロイド状を呈するとしている。この現象が, 本法による PVP 定量に及ぼす影響について検討した。炭酸ソーダと混合すると白濁コロイド状を呈するが, 他の無機塩との混合液は透明であり, 10% PVP 溶液の代りに 5% PVP 溶液を用いて, PVP に対する無機塩の混合比を倍増しても同結果を得た。

本法では, 白濁化操作を施す前に PVP の濃度を測定可能範囲に調製するため, 5% PVP の場合でも約 220 倍の希釈を行なうことになり, その場合炭酸ソーダによるコロイド状は解消され透明となる。他の無機塩との混合液についても, 希釈による外観の変化はみられない。Table III の結果から, これらの無機塩の存在は本法に

よる PVP 定量を阻害しないことがわかる。

沈殿剤の選択

生体液状試料または生体試料からの PVP 抽出液に蛋白が溶存すると, たとえ無色透明であっても過塩素酸により蛋白粒子が形成され, PVP の濁度に影響を及ぼす。本実験では, 各種の除蛋白法を試みた結果, Somogyi 法⁽⁹⁾によって澄明な上澄液が得られ, そこに PVP がほぼ完全に移行することがわかった。ただし本法においては, 白濁促進のため HClO_4 液に加えてある塩化バリウムが, 硫酸イオンと反応して白色粒子を形成することがないように, Somogyi 試薬の使用に際し $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 液と ZnSO_4 液の容積比を 1.1:1 にして, 除蛋白後の溶液中における硫酸イオンの残留をおさえている。

著者らが行った次に述べる生体試料では, 除蛋白操作を施した白濁化前の PVP 含有希釈溶液は, すべて無色透明であった。しかし, なお混濁または着色が残る場合は, あらかじめ消去せねばならない。この場合活性炭, 酸性白土は PVP をも吸着するので使用できない。適当な脱色方法が見つからないときは, 着色液の吸光度を盲験値として差引計算による方法が考えられ, Shiraeff⁽⁸⁾はこの方式によりビール中の PVP K-90 の定量を行なっている。しかし, その報告は濁り測定における諸条件についての具体的記述に乏しい。

薬剤中の PVP 回収実験

PVP は, Table IV に示す数種の薬剤と複合体を作り, 薬作用の持続化をもたらすとされている⁽¹⁰⁾。このような状態の PVP の定量に本法を応用して回収成績を求めた結果が, Table IV に示されている。すなわち, PVP と各薬剤を 1:20 の重量比で溶かした水溶液を 36°C の恒温器内に 8 時間静置した後, 取り出して定量分析を行なった。フェノバルビトールとサルファチアゾールは水に対する溶解度が低いため, 水溶液中の濃度を他の薬剤と同一にすることができなかった。また薬剤の量を PVP の 20 倍量としたのは, Müller⁽¹¹⁾が錠剤成分中の PVP

定量実験に用いている例にならった。

薬剤中の PVP 定量に, 本法が適用できることがわかる。

生体試料中の PVP 回収実験

生体試料として, 市販豚用飼料給与により飼育した成豚の糞と尿, および屠殺時に採取した血液を用いた。

乾燥糞 0.5g, 尿 1ml およびクエン

Table III. Effect of Inorganic Salts on Absorbance

Inorganic salt	Salt added %*	Recovery %**	
		10% PVP	5% PVP
Sodium carbonate	185	101.1 $\pm$ 0.49	103.6 $\pm$ 0.98
Sodium phosphate, dibasic	370	100.4 $\pm$ 2.19	102.1 $\pm$ 0.64
Sodium phosphate, tribasic	128	100.2 $\pm$ 0.86	102.4 $\pm$ 1.31
Sodium metasilicate	300	98.2 $\pm$ 0.57	104.3 $\pm$ 1.02

* Per cent by volume of 10% salt solution added to 10% and 5% PVP solution respectively, ** 4 analyses : mean $\pm$ S.D.

Table IV. Recovery of PVP in Presence of Pharmaceuticals (%)

Pharmaceuticals	Pharmaceuticals in aqueous solution %			
	0.5 (40)*	0.25 (20)	0.1 (24)	0.05 (12)
Benzoic acid	99.0 ± 0.67**	101.9 ± 1.29		
Mandelic acid	97.2 ± 0.60	100.0 ± 0.42		
Para-aminobenzoic acid	98.7 ± 0.59	103.3 ± 1.75		
Salicylic acid	98.9 ± 2.17	102.8 ± 1.05		
Sodium para-aminosalicylate	99.5 ± 1.02	100.8 ± 0.76		
Phenobarbitol			102.9 ± 0.64	95.1 ± 0.45
Sulfathiazole			102.7 ± 1.00	94.3 ± 0.55

* μg PVP per ml of final test solution, ** 4 analyses : mean $\pm$ S. D.

Table V. Recovery of PVP in Biological Materials

	PVP added %	Recovery %*
Air dry feces	4	101.0 $\pm$ 0.81
Urine	2	101.0 $\pm$ 0.80
Blood plasma	2	98.3 $\pm$ 1.22

* 4 analyses : mean $\pm$ S. D.

酸ソーダを加えた血液を遠心分離して得られた血漿 1ml に, それぞれ 0.1% PVP 液 20ml を混和して, 室温下で 1 昼夜放置した後, 所定の操作にしたがい PVP を定量した結果, Table V に示すとおり, 良好な回収率が得られた.

- (1) General Aniline & Film Corp., New York : "PVP, An Annotated Bibliography" (日本語訳), 1951, p. 17.

- (2) H. Mehnert, H. Förster, B. Mehnert, B. V. Kutzschenbach, I. Thöring und K. Arbogast : *Klin. Woch.*, **41**, 540 (1963).
 (3) D. A. Shiraeff : *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, **47**, 724 (1964).
 (4) H. Fikenscher : *Cellulosechemie*, **13**, 58 (1932).
 (5) 山本孫兵衛, 溝尻顕爾, 井口定男 : 薬剤学, **27**, 115 (1967).
 (6) G. B. Levy, I. Caldas, Jr. and D. Fergus : *Anal. Chem.*, **24**, 1799 (1952).
 (7) 東大農芸化学教室編 : 実験農芸化学上巻, 1969, p. 125.
 (8) S. Hydén : *Kungl. LantbrHögsk. Ann.*, **22**, 139 (1956).
 (9) M. Somogyi : *J. Biol. Chem.*, **160**, 69 (1945).
 (10) General Aniline & Film Corp., New York : "PVP, An Annotated Bibliography" (日本語訳), 1951, p. 23.
 (11) K. Müller : *Pharma. Acta Helv.*, **43**, 107 (1968).