

測定試料に光を照射し通過した光を検出する透過法は、試料形状によって適した手法(付属品)が異なります。そのうち、KBr錠剤法は主に固体や粉体試料を測定するための手法です。KBr錠剤法は日本薬局方(JP)のほか、米国薬局方(USP)、アメリカ材料試験協会(ASTM)など標準化された手順として必要不可欠です。

KBr錠剤法において良好なスペクトルを得るためには、粉末の粒度をそろえる、錠剤成形時の圧力を一定にするなど様々な留意点を必要とします。特に水分の影響には留意しなければなりません。ここでは、KBr錠剤法により、吸湿しやすいアミノ酸の分析を行いました。失敗例も交えてご紹介します。

S. Iwasaki

■錠剤成形用小型油圧プレスPixie

錠剤成形には、2.5トン小型油圧プレス Pixieを使用しました。図1にPixieの外観を示します。Pixieは、幅12.7 cm×奥行き19.2 cmと設置面積が小さく、スペースの限られた環境やグローブボックス内での使用も可能です。加圧は、上部青色のノブを締めて錠剤成形枠が動かないように固定した後、手前の油圧プレスノブを回して行います。圧力ゲージを確認しながら加圧の微調整が可能です。詳細についてはApplication News No. A576¹⁾をご参照ください。



図1 2.5トン小型油圧プレス Pixie

■L-フェニルアラニンの分析

フェニルアラニンは、牛乳、卵、肉などの食品中のタンパク質に多く含まれている必須アミノ酸の一つです²⁾。第十七改正日本薬局方³⁾の医薬品各条には確認試験として、「本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により試験を行い、本品のスペクトルと本品の参照スペクトルを比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める」と記載があります。

L-フェニルアラニンのKBr錠剤法による透過スペクトルとATRスペクトルを取得しました。表1に測定条件を示します。ATR測定には、1回反射ATR付属品QATR™ 10を使用しました。KBr錠剤法によるバックグラウンド測定には、KBrのみの錠剤を使用しました。赤外線の散乱損失やKBrの付着水を補償することができます。

図2に測定結果を示します。ATRスペクトルは透過スペクトルと比べて、相対的なピーク強度が異なり、ピーク位置が低波数側へシフトしました。しかし、ATRスペクトルのアドバンストATR補正処理により、図3に示す通り、透過スペクトルと類似したスペクトルを得ることができました。

表1 測定条件

装置	: IRTracer™-100、 Pixie、QATR 10 (ダイヤモンドプリズム)
分解	: 2 cm ⁻¹
積算回数	: 45
アボダイズ関数	: Sqr-Triangle
検出器	: DLATGS

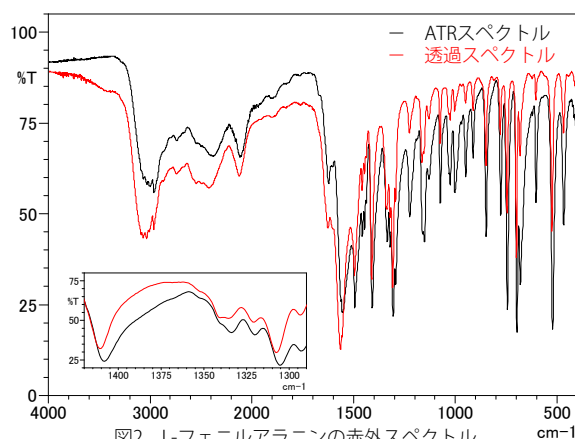


図2 L-フェニルアラニンの赤外スペクトル (ATRスペクトルと透過スペクトルの重ね描き)

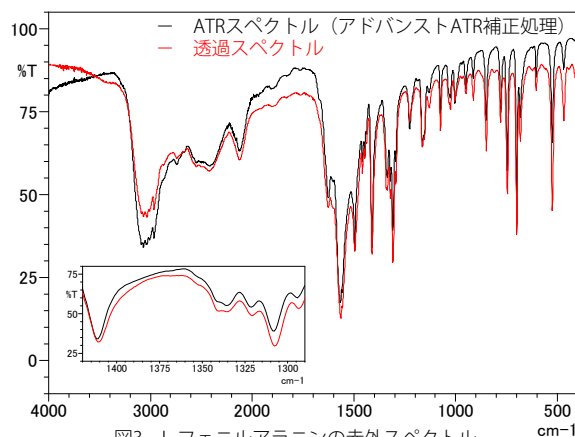


図3 L-フェニルアラニンの赤外スペクトル (アドバンストATR補正処理後のATRスペクトルと透過スペクトルの重ね描き)

■L-プロリンの分析

プロリンは、皮膚などの組織を構成するコラーゲンの原料となるアミノ酸の一つです²⁾。第十七改正日本薬局方の医薬品各条には確認試験として、前述のL-フェニルアラニンと同等の記載がありますが、さらに、「本品は潮解性である」と記載があるほど吸湿しやすい物質です。

L-プロリンのKBr錠剤法による透過スペクトルとATRスペクトルを取得しました。図4に測定結果を示します。前述のL-フェニルアラニンと同等の湿度管理を行い錠剤を成形しましたが、透過スペクトルでは、 $3,420\text{ cm}^{-1}$ (①)のピークが大きく出ています。また、本来 $1,622\text{ cm}^{-1}$ (②)と $1,563\text{ cm}^{-1}$ (③)に出現する2本のピークが1本しか得られていません。さらに、ベースラインが低下しており、錠剤が不透明であったことが推測できます。これらはいずれも水分の影響によるものです。手早く分析しましたが、良好な赤外スペクトルが得られませんでした。

そこで、Application News No. A376⁴⁾を参考に、ドライヤーを用いて錠剤を乾燥させました。乾燥後の透過スペクトルを図5に示します。水分の影響がほとんどなくなり、図4のアドバンストATR補正処理後のATRスペクトルと類似していることがわかります。

このように、吸湿性の非常に高い試料の場合には、細心の注意を払っても良好なスペクトルを得ることが難しく、乾燥空気などで置換したドライボックスなどの中で錠剤成形を行うことも検討されています⁵⁾。

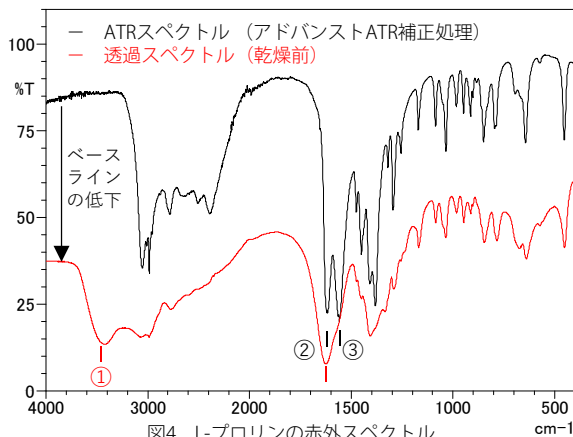


図4 L-プロリンの赤外スペクトル (アドバンストATR補正処理後のATRスペクトルと乾燥前の透過スペクトルの重ね描き)

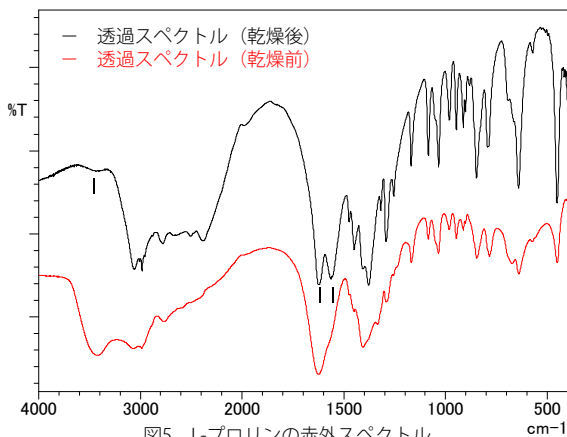


図5 L-プロリンの赤外スペクトル (乾燥前後の透過スペクトルの重ね描き)

■吸湿性のある試料の分析のコツ

KBr錠剤法による測定において、水分に関わる分析の注意点をまとめます。

- ① 試料とKBr結晶（または粉末）は、シリカゲルなど乾燥剤の入った容器やデシケータに保管します。
 - ② 錠剤成形器やメノウ乳鉢・乳棒、スパチュラをよく乾燥させます。
 - ③ 短時間で粉碎、成形します。
- 吸湿した場合の対処法や予防法は以下の通りです。
- ① ドライヤーや乾燥機を用いて錠剤を乾燥させます。ただし、加熱により性質が変わる可能性があるため、試料が安定な場合に限りです。
 - ② 時間はかかりますが、乾燥剤の入った容器やデシケータに錠剤をしばらく放置します。
 - ③ 乾燥空気などで置換したドライボックスなどの中で錠剤成形を行います。

■まとめ

KBr錠剤法によるアミノ酸の分析をご紹介しました。近年ATR測定の実用化が進み、より手軽に固体試料を分析できるようになりましたが、KBr錠剤法はこれまでと変わらず欠かすことのできない手法です。吸湿性のある試料であっても、分析のコツを押さえるとスムーズに測定できます。より詳しい測定方法や原理については、FTIR TALK LETTER vol.14「測定法のイロハ-KBr錠剤法」⁶⁾もご参照ください。

参考文献：

- 1) Application News No. A576 「錠剤成形用ミニ油圧プレスPixieを用いたKBr錠剤成形とコンパクトFTIRによる測定」
- 2) アミノ酸大百科 味の素株式会社 <https://www.ajinomoto.co.jp/amino/>
- 3) 厚生労働省「第十七改正日本薬局方」
- 4) Application News No. A376 「KBr錠剤法の注意点 その2 -KBr錠剤法で注意を必要とする試料（アミノ酸）-」
- 5) 赤外分光測定法 基礎と最新手法 田隅三生編著
- 6) FTIR TALK LETTER vol.14 「測定法のイロハ-KBr錠剤法」

IRTracerおよびQATRは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。