

短報

pH標準液の安定性の検討

外館史祥, 甲斐茂美, 岩橋孝祐,
羽田千香子, 熊坂謙一

Stability of pH standard solutions under various storage conditions

Fumiaki SOTODATE, Shigemi KAI,
Takayuki IWASHI, Chikako HADA,
Kenichi KUMASAKA,

緒言

医薬品検査を始め理化学的な試験検査の品質保証において、試薬・試液及び標準品等の品質は、重要な管理事項の一つである。その中でもpH標準液はガラス電極計を用いたpH計の校正に必要不可欠なものであり、試料の測定のみならず、緩衝液や移動相のpH調整にも必要となる。

pH標準液は、JIS Z8802「pH測定方法」¹⁾及び日本薬局方一般試験法pH測定法²⁾に内容は一部異なるものの、それぞれ6種類の液性とその調製方法について規定されているが、pH標準液の使用期限については明確な規定がないため、各試験機関の使用実態に基づいて設定する必要がある。

我々は既報³⁾にて、開封後のpH標準液のうち、フタル酸塩pH標準液、中性りん酸塩pH標準液及びほう酸塩pH標準液のpH安定性について、使用状況を反映したモデルケースを設定して検討し、開封後16週目まで安定であることを報告した。pH標準液が安定性の許容範囲内であった理由として、防腐剤が添加されていたこと、冷蔵保存であったこと及び採取回数が週1回であったこと等考えられたが、その要因については明らかではない。そこで本研究では、より詳細な要因を検討するため、各試験機関の様々な使用実態を想定し、防腐剤の有無、保存温度及び使用回数について検討を行った。さらに、pH標準液用粉末試薬を用いたpH標準液の安定性についても検討した。

方法

1. 試薬及び装置

pH標準液は富士フィルム和光純薬工業株式会社及び関東化学株式会社製のフタル酸塩pH標準液(pH4.01)、中性りん酸塩pH標準液(pH6.86)及びほう酸塩pH標準液(pH9.18)(いずれもJCSS第2種、500mL、pHは25°Cの値)を用いた。ほう酸塩pH標準液用粉末試薬は東亜ディーケー株式会社製を用い、製品に記載されている注意事項に従い粉末を、煮沸して冷却した超純水500mLに溶解し、ほう酸塩pH標準液(pH9.18)を調製した。なお調製後の保存容器は高密度ポリエチレン製を用いた。

pHメーターは株式会社堀場製作所製LAQUA F-74SP、pH電極には同社製の複合電極9615-10Dを使用した。なお、pHメーターは、事前に日本薬局方一般試験法pH測定法の規定に準じて、中性りん酸塩pH標準液を用いた5回繰り返し測定による繰り返し性、温度指示値の精度及びpH標準液の規定値と実測値の誤差について適合することを確認した。また、恒温水槽はタイテック株式会社製Personal-10/SX-10Rを使用した。

2. pH測定温度

pH測定時は、冷蔵保存中の各pH標準液の温度変化を抑えるため、50mLプラスチック製チューブに速やかに一定量を採取し、恒温水槽にて25.0±0.1°Cの温度範囲で保温後、測定した。

3. 試験方法

既報³⁾では、フタル酸塩pH標準液、中性りん酸塩pH標準液及びほう酸塩pH標準液について、2~5°Cで冷蔵保存している各同一容器より週1回使用することを想定し、1週間毎に25mLずつ16週間繰り返して採取するモデルケースを設定した。また、採取したpH標準液は元の容器に戻さず廃棄した。本報では、このモデルケースを基本条件とし、下記の測定条件1~4により、pH標準液の安定性を検討した。また、その概要について表1に示した。

測定条件1として、防腐剤不含のフタル酸塩pH標準液及び中性りん酸塩pH標準液を用い、基本条件と同様の方法で測定した。

測定条件2として、pH標準液用粉末試薬より調製したほう酸塩pH標準液について基本条件と同様の方法で測定した。

測定条件3として、ほう酸塩pH標準液について、冷蔵ではなく実験室内(室温)保存とした。その他は、基本条件と同様の方法で測定した。

測定条件4として、フタル酸塩pH標準液、中性りん酸塩pH標準液及びほう酸塩pH標準液について、同一容

表1 本試験の概要

測定条件	測定pH標準液	防腐剤※有無	製品形態	保存温度	採取(回/週)	採取量(mL)
基本	pH4,7,9	あり	液体	冷所	1	
1	pH4,7	なし	液体	冷所	1	25
2	pH9	なし	粉末	冷所	1	
3	pH9	なし	液体	室温	1	
4	pH4,7,9	あり	液体	冷所	2	12.5

※pH9標準液に防腐剤は不含である。また窒素置換は実施していない。

基本の測定条件と異なる箇所を灰色で示した。

フタル酸塩:pH4, 中性りん酸塩:pH7, ほう酸塩:pH9

器より週2回12.5 mLずつ、16週間繰り返して採取した。その他は、基本条件と同様の方法で測定した。なお、測定条件1～4において、既報³⁾の検討結果を踏まえ保存容器内空気の窒素置換は不要と判断し、実施していない。

検討中のpH標準液のpHは、開封時（0週目）、4週目、8週目、12週目及び16週目に測定し、開封時（0週目）と比較した各測定時点におけるpHの変動値を求めた。なお、各測定時点におけるpHメーターの校正には、富士フィルム和光純薬株式会社製の3種類のpH標準液（フタル酸塩、中性りん酸塩及びほう酸塩）を上記検討用のpH標準液とは別に開封し、0週目に新たに開封・使用したものは続けて4週目のpH校正に使用し、また、8週目に新たに開封・使用したものは続けて12週目及び16週目のpH校正に使用した。

本検討における測定数は、いずれもn=1とし、安定性の許容範囲は初回測定時のpH値に対してJCSS第2種の精度である±0.015とした。

結果及び考察

1. 防腐剤不含のpH標準液の安定性

現在、試薬メーカーなどから多種多様なpH、形態及び品質規格のpH標準液が市販されているが、同種のpH標準液であっても、その含有成分はメーカーによって細部で異なる場合がある。例えば、ある試薬メーカーのフタル酸塩pH標準液には0.04%のチモールが、中性りん酸塩pH標準液には0.1%のアジ化ナトリウムが防腐剤として添加されているのに対し、別の試薬メーカーの同種製品には含まれていない。そこでpH安定性に対する防腐剤の影響について確認するため、市販の防腐剤不含であるフタル酸塩pH標準液及び中性りん酸塩pH標準液の安定性について測定条件1に基づき検討した。なお、ほう酸塩pH標準液については、市販の防腐剤含有製品を確認できなかったことから、本検討の対象外とした。

図1-1に防腐剤不含の各pH標準液における開封後

のpHの変動を示した。その最大変動値について、フタル酸塩pH標準液では、既報³⁾にて報告した防腐剤含有製品と比較し同程度であったが（既報-0.014に対し本検討-0.013）、中性りん酸塩pH標準液では防腐剤含有製品と比較し、より大きく変動していた（既報：-0.006に対し本検討：-0.012）。なお、これらpH標準液の最大変動値は、いずれも16週目まで安定性の許容範囲内であった。

本検討において、防腐剤不含であっても16週間安定性の許容範囲内であった要因の一つとして、冷蔵保存の可能性が考えられる。低温菌は27～28℃の室温で最も旺盛に増殖する⁴⁾ため、25℃付近の保存ではこれらの細菌が増殖することによりpHの安定性に影響する懸念が考えられるが、防腐剤不含であっても冷蔵保存下では微生物の増殖を抑制した可能性が考えられた。

2. pH標準液用粉末試薬を用いたpH標準液による安定性

試験検査に使用するpH標準液は、JCSS認定事業者などからトレーサビリティのとれた値付け製品を購入し使用するのが一般的と考えられる。一方、保証期限が液体製品より長く設定されているpH標準液用粉末試薬を用いてpH標準液を調製している試験機関もある。ほう酸塩pH標準液用粉末試薬では、純水は、電気導電率が 2×10^{-4} S/m (25℃) 以下で二酸化炭素を含まない蒸留水またはイオン交換水を用いることや、袋の中に試薬が残らないように袋内を純水で洗うこと等の注意事項が記載されていることから、そのpH標準液の調製次第でpHの安定性に影響を与えると考えられた。そこで、市販のpH標準液用粉末試薬を用いて調製したほう酸塩pH標準液の安定性について測定条件2に基づき検討した。その結果、図1-2に示す通り、ほう酸塩pH標準液のpHは経時に徐々に低下したが、その最大変動値は-0.013であり、16週目まで安定性の許容範囲内であった。また、調製時（0週目）におけるpHの実測値は9.179であり、本製品で規定しているpHの9.18と一致した。よって、製品の注意事項の記載通りに調製することで、そのpH値は正確であり、また、保存容器に高密度ポリエチレン製を用い、冷蔵保存する等適切な保存条件下ではpHは安定であると考えられた。

3. 保存温度の違いによる安定性

試薬は、保存が必要な場合、試料及び化学種の性状に応じて光、酸素、水分（湿度）及び温度などの影響に注意する必要がある。また、pH標準液については、製品に添付されている証明書に保存条件として25℃以下と記載されている。よって保存温度がpH標準液の安定性に影響を及ぼす要因の一つと考えられる。四角目らの報

告⁶⁾から、保存温度の影響が大きいほう酸塩pH標準液の室温保存時のpH安定性について測定条件3に基づき検討した。

その結果、図1-3に示した通り、16週目までの最大変動値は、既報³⁾の冷蔵保存したほう酸塩pH標準液と同様に安定性の許容範囲内であった（既報-0.008に対し本検討-0.004）。

一般的に二酸化炭素の水に対する溶解度は圧力が一定であるならば温度が高いほど低いため、冷蔵保存と比較し室温保存の方が二酸化炭素は溶けにくい。よって、冷蔵保存と比較し室温保存の方がより二酸化炭素がpH標準液に溶け込みにくくなるためpHが安定すると考えられる。本検討では、試験期間中の最高室温は30°Cを超えている時もあり、メーカーの保存条件である25°C以下から逸脱しており、pHの安定性にも影響を及ぼすことが想定されたが、検討の結果は安定性の許容範囲内であった。しかし、試験室等に放置した場合、季節によっては室内温度の変動が大きく、一定の温度管理幅で保管

することが困難であることから、そのpHの安定性を通常で担保するのが難しいと考えられる。そのため、保存時の温度条件については製品の規定の温度条件に従うとともに、四角目らの報告⁶⁾にある至適条件に十分に配慮し、低温かつ一定の温度変動幅で保存することが望ましいと考えられた。

4. 採取回数の違いによる安定性

一般にpH標準液を繰り返し使用する場合は、容器から一定量取り出して使用するため、容器内の空気は徐々に増大し、その空気も入れ替わる。そのため、使用頻度が増加すれば空気とpH標準液との接触もより多くなり、特にほう酸塩pH標準液の安定性に影響を及ぼすものと予想される。そこで、本検討では毎週2回ずつ採取した時の各pH標準液の安定性について測定条件4に基づき検討した。

その結果、図1-4に示した通り、各pH標準液の最大変動値は、既報³⁾で示した週1回使用時と同様に16週目まで安定性の許容範囲内であった（フタル酸塩pH標

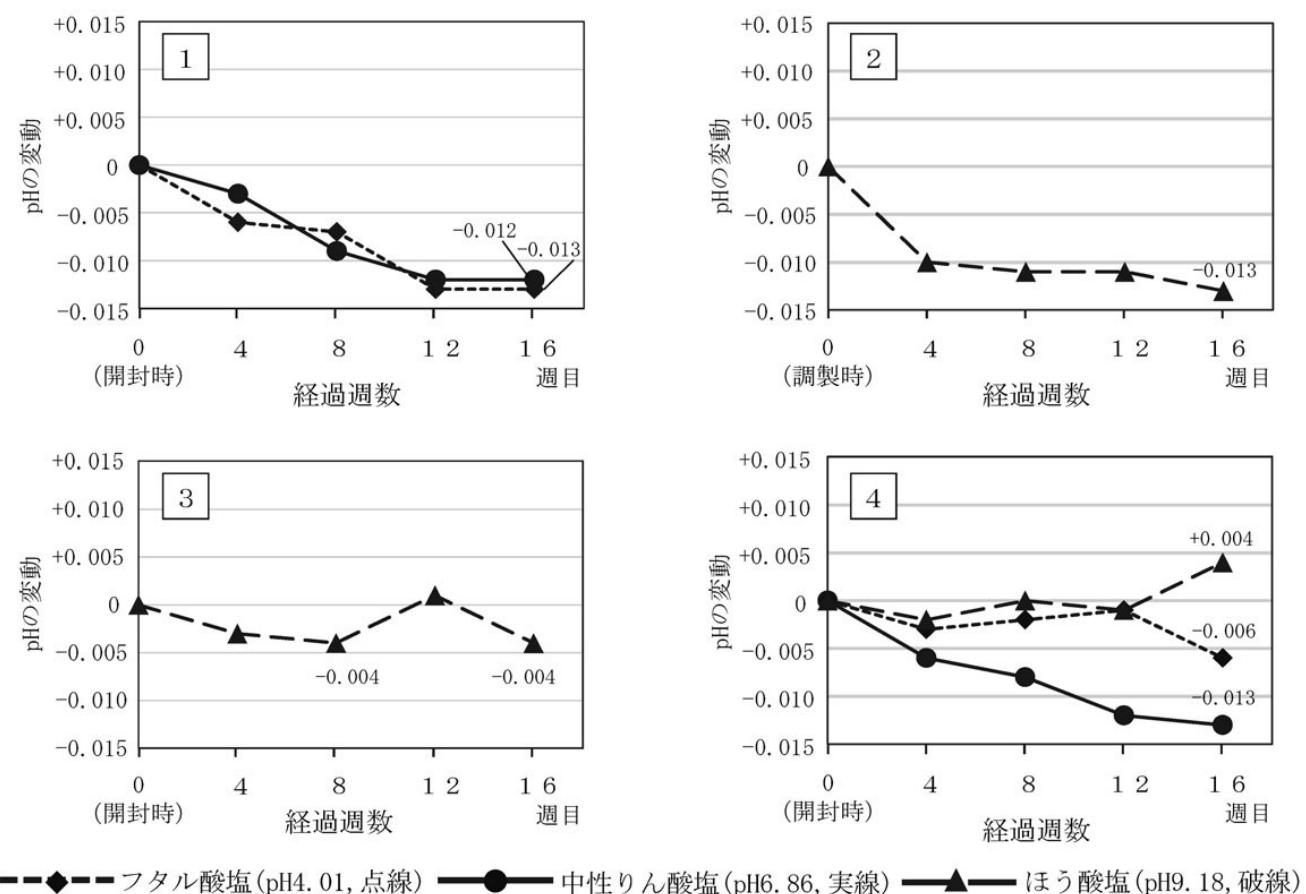


図1 各種条件下におけるpH標準液のpH値の変動

1は防腐剤不含のpH標準液、2はpH標準液用粉末試薬を用いたpH標準液、3は室温保存におけるpH標準液、4は週2回採取におけるpH標準液のpH値の変動について、開封時（0週目）のpHに対する各測定回の変動を示した。図内、折れ線に付してある数値は最大変動値を示す。

準液：既報-0.014に対し本検討-0.006，中性りん酸塩pH

標準液：既報-0.006に対し本検討-0.013，ほう酸塩pH標

準液：既報-0.008に対し本検討+0.004).

本検討では週2回使用と既報³⁾よりも使用頻度を増加させたが，pHの変動を引き起こすほどの影響は無いと考えられた。

まとめ

本検討では，防腐剤の有無，保存温度及び使用回数についてpH標準液の安定性の要因を検討したところ，対象としたpH標準液は，16週間安定性の許容範囲内であった。また，pH標準液用粉末試薬を用いたpH標準液の安定性についても検討したところ，16週間安定性の許容範囲内であった。

本検討では，メーカー3社の製品のpH標準液の安定性について検討したが，この他にもpH標準液製品には防腐剤の有無だけでなく，小分け製品など多種多様な形態があること，さらにJCSSには第2種の他により精度の良い第1種もあることから，それぞれ使用する製品・

規格に応じ，各試験機関の使用状況ごと，適切に検討する必要がある。

参考文献

- 1) 一般財団法人日本規格協会：JIS Z8802: pH測定方法，pp.1-8，一般財団法人日本規格協会(2011)
- 2) 厚生労働省告示第64号：第十七改正日本薬局方（平成28年3月7日），一般試験法2.54 pH測定法
- 3) 外館史祥，熊坂謙一，羽田千香子，甲斐茂美：冷蔵保存における開封後のpH標準液の安定性，神奈川県衛生研究所研究報告，47,29-31(2017)
- 4) 獣医公衆衛生学，第3版，高島郁夫，熊谷進編，p p.267-268，文永堂出版(2004)
- 5) 一般財団法人日本規格協会：JIS K8001:試薬試験法通則，pp1-142，一般財団法人日本規格協会(2017)
- 6) 四角目和広，栗原力，中村進，久保田正明：pH標準液の保存条件の検討，分析化学，37，17 - 21(1988)