純度試験

① エリスロシン　本品約1.0ｇを0.01ｇの桁まで量り、その数値を記録し、メタノールを加えて溶かし、10mLの全量フラスコに入れ、更にメタノールを標線まで加えて10mLとし、試料溶液とする。この溶液につき、メタノールを対照として波長530nmにおける吸光度A_1を測定する。別に、メタノール10mLについて、試料溶液と同様に操作し、吸光度A_0を測定する。次式によりイオン化したエリスロシンの含量を求めるとき、その量は、５μｇ／ｇ以下でなければならない。

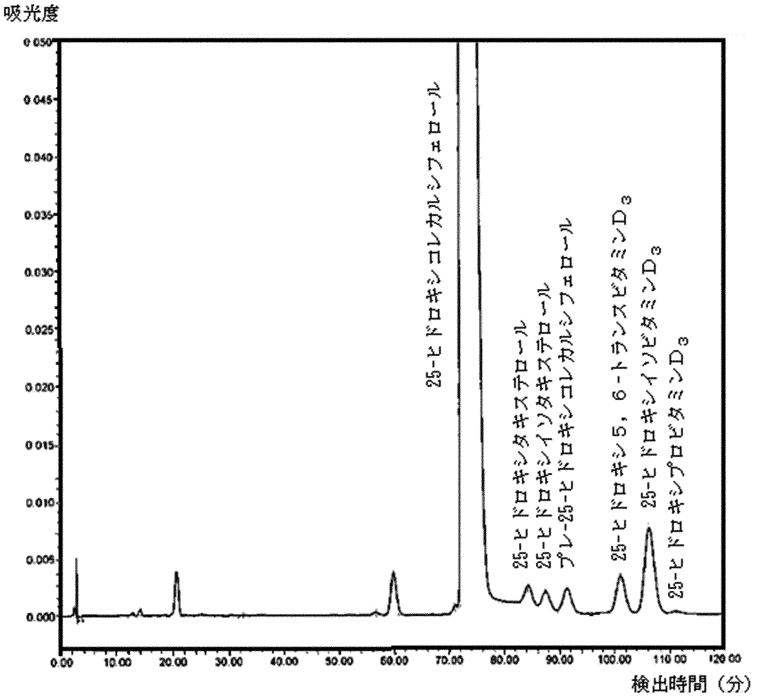
$$\text{エリスロシンの含量（μg／g）} = \frac{(A_1 - A_0) / \varepsilon \times 833.9 \times 10^6}{W_T}$$

W_T：本品の採取量（ｇ）

ε：エリスロシンの530nmにおけるモル吸光係数110,000（Ｌ／mol・cm）

② 類縁物質　定量法により調製した標準原液５mLを全量ピペットを用いて量り、100mLの全量フラスコに入れ、メタノールを標線まで加えて100mLとし、純度試験用標準原液とする。純度試験用標準原液をメンブランフィルター（0.45μm）でろ過し、純度試験用標準液とする。定量法により調製した試料原液及び純度試験用標準液20μLにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。得られたクロマトグラムから、試料原液のクロマトグラムに現れる各ステロールのピークを本品の参照クロマトグラムにより同定し、そのピーク面積A_Tを求める。この値と純度試験用標準液のクロマトグラムから求めた25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積A_Sから、試料中の25-ヒドロキシコレカルシフェロールの類縁物質（25-ヒドロキシコレカルシフェロールの製造に由来する25-ヒドロキシコレカルシフェロール以外の各ステロールをいう。以下②において同じ。）の含量を、次式により計算するとき、それぞれ１％以下でなければならない。

本品の参照クロマトグラム



個々の類縁物質の含量（％）$= p \times \frac{W_S}{W_T} \times \frac{A_T}{A_S} \times F \times 2$

p　：25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の純度

W_T：本品の採取量（mg）

W_S：25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の採取量（mg）

A_T：試料溶液の各ステロールのピーク面積

A_S：標準液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

F　：次表に規定する類縁物質ごとの吸光係数

表

類　縁　物　質　名	吸光係数
25-ヒドロキシイソタキステロール	0.8300
25-ヒドロキシイソビタミンD_3	0.8300
25-ヒドロキシコレカルシフェロール	1.0000
25-ヒドロキシタキステロール	0.9109
25-ヒドロキシ５，６-トランスビタミンD_3	0.8986
25-ヒドロキシプロビタミンD_3	1.7677
プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロール	2.3863
25-ヒドロキシコレカルシフェロールと同様の吸収スペクトルを示す未知のステロール	1.000

操作条件

検出器：フォトダイオードアレイ検出器（測定波長：230～330nm（定量は、波長270nmで測定））

カラム：内径4.6mm、長さ250mmのステンレス管に粒径５μm以下の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充塡する。

カラム温度：28℃付近の一定温度

移動相：メタノール・アセトニトリル・水混液（55：22：23）

流量：毎分約1.0mL

測定時間：120分

カラムの選定：純度試験用標準原液10mLを50～55℃で２時間加温し、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールを生成させ、メンブランフィルター（0.45μm）でろ過する。このろ液20μLにつき、上記の条件で操作するとき、25-ヒドロキシコレカルシフェロール、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールの順に溶出し、その分離度が4.0以上のものを用いる。

③ 鉛　本品0.5ｇ（0.45～0.54ｇ）を量り、鉛試験法（原子吸光光度法第１法）により鉛の試験を行うとき、その量は、20μg／ｇ以下でなければならない。