

目次

附录 I	制剂通则	附录 5
I A	丸剂	附录 5
I B	散剂	附录 6
I C	颗粒剂	附录 6
I D	片剂	附录 7
I E	锭剂	附录 7
I F	煎膏剂(膏滋)	附录 8
I G	胶剂	附录 8
I H	糖浆剂	附录 8
I I	贴膏剂	附录 8
I J	合剂	附录 9
I K	滴丸剂	附录 9
I L	胶囊剂	附录 10
I M	酒剂	附录 10
I N	酊剂	附录 11
I O	流浸膏剂与浸膏剂	附录 11
I P	膏药	附录 11
I Q	凝胶剂	附录 12
I R	软膏剂	附录 12
I S	露剂	附录 12
I T	茶剂	附录 13
I U	注射剂	附录 13
I V	搽剂 洗剂 涂膜剂	附录 15
I W	栓剂	附录 15
I X	鼻用制剂	附录 15
I Y	眼用制剂	附录 16
I Z	气雾剂 喷雾剂	附录 16
附录 II		附录 17
II A	药材和饮片取样法	附录 17
II B	药材和饮片检定通则	附录 18
II C	显微鉴别法	附录 18
II D	炮制通则	附录 20
附录 III	成方制剂中本版药典未收载的	
	药材和饮片	附录 21
附录 IV	一般鉴别试验	附录 27
附录 V	分光光度法	附录 30
V A	紫外-可见分光光度法	附录 30
V C	红外分光光度法	附录 31
V D	原子吸收分光光度法	附录 32
附录 VI	色谱法	附录 33
VI A	纸色谱法	附录 33

VI B	薄层色谱法	附录 34
VI C	柱色谱法	附录 35
VI D	高效液相色谱法	附录 36
VI E	气相色谱法	附录 38
VI F	毛细管电泳法	附录 39
VI G	离子色谱法	附录 40
附录 VII		附录 41
VII A	相对密度测定法	附录 41
VII B	馏程测定法	附录 42
VII C	熔点测定法	附录 43
VII D	凝点测定法	附录 43
VII E	旋光度测定法	附录 44
VII F	折光率测定法	附录 44
VII G	pH 值测定法	附录 45
附录 VIII		附录 46
VIII A	电位滴定法与永停滴定法	附录 46
VIII B	非水溶液滴定法	附录 47
附录 IX		附录 47
IX A	杂质检查法	附录 47
IX B	铅、镉、砷、汞、铜测定法	附录 48
IX C	氯化物检查法	附录 49
IX D	铁盐检查法	附录 50
IX E	重金属检查法	附录 50
IX F	砷盐检查法	附录 50
IX G	干燥失重测定法	附录 51
IX H	水分测定法	附录 52
IX J	炽灼残渣检查法	附录 53
IX K	灰分测定法	附录 53
IX L	氮测定法	附录 53
IX M	乙醇量测定法	附录 54
IX N	脂肪与脂肪油测定法	附录 55
IX O	膨胀度测定法	附录 56
IX P	酸败度测定法	附录 56
IX Q	农药残留量测定法	附录 57
IX R	不溶性微粒检查法	附录 58
IX S	注射剂有关物质检查法	附录 60
IX T	甲醇量检查法	附录 60
IX U	二氧化硫残留量测定法	附录 61
IX V	黄曲霉毒素测定法	附录 61
附录 X		附录 62
X A	浸出物测定法	附录 62

X B 鞣质含量测定法	附录 62
X C 桉油精含量测定法	附录 62
X D 挥发油测定法	附录 63
附录 XI	附录 63
XI A 溶液颜色检查法	附录 65
XI B 粒度测定法	附录 66
XI C 可见异物检查法	附录 67
XI D 电感耦合等离子体质谱法	附录 69
XI E 电感耦合等离子体原子发射光谱法	附录 70
XI F 渗透压摩尔浓度测定法	附录 71
附录 XII	附录 71
XII A 崩解时限检查法	附录 72
XII B 融变时限检查法	附录 73
XII C 最低装量检查法	附录 73
XII D 膏药软化点测定法	附录 74
XII E 贴膏剂黏附力测定法	附录 75
附录 XIII	附录 75
XIII A 热原检查法	附录 76
XIII B 无菌检查法	附录 79
XIII C 微生物限度检查法	附录 88
XIII D 细菌内毒素检查法	附录 91
XIII E 异常毒性检查法	附录 92
XIII F 降压物质检查法	附录 92
XIII G 过敏反应检查法	附录 92
XIII H 溶血与凝聚检查法	附录 92

附录 XIV 制药用水	附录 93
附录 XV	附录 93
XV A 试药	附录 93
XV B 试液	附录 93
XV C 试纸	附录 93
XV D 缓冲液	附录 93
XV E 指示剂与指示液	附录 93
XV F 滴定液	附录 93
XV G 对照品 对照药材 对照提取物	附录 93
附录 XVI 灭菌法	附录 93
附录 XVII 原子量表	附录 93
附录 XVIII	附录 93
XVIII A 中药质量标准分析方法验证指导原则	附录 93
XVIII B 中药注射剂安全性检查法应用指导原则	附录 93
XVIII C 中药生物活性测定指导原则	附录 93
XVIII D 抑菌剂效力检查法指导原则	附录 93
XVIII E 药品微生物检验替代方法验证指导原则	附录 93
XVIII F 微生物限度检查法应用指导原则	附录 93
XVIII G 药品微生物实验室规范指导原则	附录 93

附录 I 制剂通则

附录 I A 丸剂

丸剂系指饮片细粉或提取物加适宜的黏合剂或其他辅料制成的球形或类球形制剂,分为蜜丸、水蜜丸、水丸、糊丸、蜡丸和浓缩丸等类型。

蜜丸 系指饮片细粉以蜂蜜为黏合剂制成的丸剂。其中每丸重量在 0.5g(含 0.5g)以上的称大蜜丸,每丸重量在 0.5g 以下的称小蜜丸。

水蜜丸 系指饮片细粉以蜂蜜和水为黏合剂制成的丸剂。

水丸 系指饮片细粉以水(或根据制法用黄酒、醋、稀药汁、糖液等)为黏合剂制成的丸剂。

糊丸 系指饮片细粉以米粉、米糊或面糊等为黏合剂制成的丸剂。

蜡丸 系指饮片细粉以蜂蜡为黏合剂制成的丸剂。

浓缩丸 系指饮片或部分饮片提取浓缩后,与适宜的辅料或其余饮片细粉,以水、蜂蜜或蜂蜜和水为黏合剂制成的丸剂。根据所用黏合剂的不同,分为浓缩水丸、浓缩蜜丸和浓缩水蜜丸。

丸剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外,供制丸剂用的药粉应为细粉或最细粉。

二、蜜丸所用蜂蜜须经炼制后使用。按炼蜜程度分为嫩蜜、中蜜和老蜜,制备蜜丸时可根据品种、气候等具体情况选用。除另有规定外,用塑制法制备蜜丸时,炼蜜应趁热加入药粉中,混合均匀;处方中有树脂类、胶类及含挥发性成分的药味时,炼蜜应在 60℃ 左右加入;用泛制法制备水蜜丸时,炼蜜应用沸水稀释后使用。

三、浓缩丸所用提取物应按制法规定,采用一定的方法提取浓缩制成。

四、除另有规定外,水蜜丸、水丸、浓缩水蜜丸和浓缩水丸均应在 80℃ 以下干燥;含挥发性成分或淀粉较多的丸剂(包括糊丸)应在 60℃ 以下干燥;不宜加热干燥的应采用其他适宜的方法干燥。

五、制备蜡丸所用的蜂蜡应符合本版药典该饮片项下的规定。制备时,将蜂蜡加热熔化,待冷却至 60℃ 左右按比例加入药粉,混合均匀,趁热按塑制法制丸,并注意保温。

六、凡需包衣和打光的丸剂,应使用各品种制法项下规定的包衣材料进行包衣和打光。

七、丸剂外观应圆整均匀、色泽一致。蜜丸应细腻滋润,软硬适中。蜡丸表面应光滑无裂纹,丸内不得有蜡点和颗粒。

八、除另有规定外,丸剂应密封贮存。蜡丸应密封并置阴凉干燥处贮存。

除另有规定外,丸剂应进行以下相应检查。

【水分】 照水分测定法(附录 IX H)测定。除另有规定外,蜜丸和浓缩蜜丸中所含水分不得过 15.0%;水蜜丸和浓缩水蜜丸不得过 12.0%;水丸、糊丸和浓缩水丸不得过 9.0%。

蜡丸不检查水分。

【重量差异】 除另有规定外,丸剂照下述方法检查,应符合规定。

检查法 以 10 丸为 1 份(丸重 1.5g 及 1.5g 以上的以 1 丸为 1 份),取供试品 10 份,分别称定重量,再与每份标示重量(每丸标示量×称取丸数)相比较(无标示重量的丸剂,与平均重量比较),按表 1 的规定,超出重量差异限度的不得多于 2 份,并不得有 1 份超出限度 1 倍。

表 1

标示重量(或平均重量)	重量差异限度
0.05g 及 0.05g 以下	±12%
0.05g 以上至 0.1g	±11%
0.1g 以上至 0.3g	±10%
0.3g 以上至 1.5g	±9%
1.5g 以上至 3g	±8%
3g 以上至 6g	±7%
6g 以上至 9g	±6%
9g 以上	±5%

包糖衣丸剂应检查丸芯的重量差异并符合规定,包糖衣后不再检查重量差异,其他包衣丸剂应在包衣后检查重量差异并符合规定;凡进行装量差异检查的单剂量包装丸剂,不再进行重量差异检查。

【装量差异】 单剂量包装的丸剂,照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 10 袋(瓶),分别称定每袋(瓶)内容物的重量,每袋(瓶)装量与标示装量相比较,按表 2 的规定,超出装量差异限度的不得多于 2 袋(瓶),并不得有 1 袋(瓶)超出限度 1 倍。

表 2

标示装量	装量差异限度
0.5g 及 0.5g 以下	±12%
0.5g 以上至 1g	±11%
1g 以上至 2g	±10%
2g 以上至 3g	±8%
3g 以上至 6g	±6%
6g 以上至 9g	±5%
9g 以上	±4%

【装量】 装量以重量标示的多剂量包装丸剂，照最低装量检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

以丸数标示的多剂量包装丸剂，不检查装量。

【溶散时限】 除另有规定外，取供试品 6 丸，选择适当孔径筛网的吊篮(丸剂直径在 2.5mm 以下的用孔径约 0.42mm 的筛网；在 2.5~3.5mm 之间的用孔径约 1.0mm 的筛网；在 3.5mm 以上的用孔径约 2.0mm 的筛网)，照崩解时限检查法(附录Ⅺ A)片剂项下的方法加挡板进行检查。除另有规定外，小蜜丸、水蜜丸和水丸应在 1 小时内全部溶散；浓缩丸和糊丸应在 2 小时内全部溶散。操作过程中如供试品黏附挡板妨碍检查时，应另取供试品 6 丸，以不加挡板进行检查。

上述检查，应在规定时间内全部通过筛网。如有细小颗粒状物未通过筛网，但已软化且无硬芯者可按符合规定论。

蜡丸照崩解时限检查法(附录Ⅺ A)片剂项下的肠溶衣片检查法检查，应符合规定。

除另有规定外，大蜜丸及研碎、嚼碎等或用开水、黄酒等分散后服用的丸剂不检查溶散时限。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

附录 I B 散剂

散剂系指饮片或提取物经粉碎、均匀混合制成的粉末状制剂，分为内服散剂和外用散剂。

散剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、供制散剂的饮片、提取物均应粉碎。除另有规定外，内服散剂应为细粉；儿科用及外用散剂应为最细粉。

二、散剂应干燥、疏松、混合均匀、色泽一致。制备含有毒性药、贵重药或药物剂量小的散剂时，应采用配研法混匀并过筛。

三、多剂量包装的散剂应附分剂量的用具；含有毒性药的内服散剂应单剂量包装。

四、除另有规定外，散剂应密闭贮存，含挥发性药物或易吸潮药物的散剂应密封贮存。

除另有规定外，散剂应进行以下相应检查。

【粒度】 用于烧伤或严重创伤的外用散剂，照下述方法检查，应符合规定。

检查法 照粒度测定法(附录Ⅺ B 第二法，单筛分法)测定，除另有规定外，通过六号筛的粉末重量，不得少于 95%。

【外观均匀度】 取供试品适量，置光滑纸上，平铺约 5cm²，将其表面压平，在明亮处观察，应色泽均匀，无花纹与色斑。

【水分】 照水分测定法(附录Ⅸ H)测定，除另有规定外，不得过 9.0%。

【装量差异】 单剂量包装的散剂，照下述方法检查，应符合规定。

检查法 取供试品 10 袋(瓶)，分别称定每袋(瓶)内容物的重量，每袋(瓶)装量与标示装量相比较，按表中的规定，超出装量差异限度的不得多于 2 袋(瓶)，并不得有 1 袋(瓶)超出

附录 6

标示装量	装量差异限度
0.1g 及 0.1g 以下	±15%
0.1g 以上至 0.5g	±10%
0.5g 以上至 1.5g	±8%
1.5g 以上至 6g	±7%
6g 以上	±5%

【装量】 多剂量包装的散剂，照最低装量检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

【无菌】 用于烧伤或严重创伤的外用散剂，照无菌检查法(附录Ⅺ B)检查，应符合规定。

【微生物限度】 除另有规定外，照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

附录 I C 颗粒剂

颗粒剂系指提取物与适宜的辅料或饮片细粉制成具有一定粒度的颗粒状制剂，分为可溶颗粒、混悬颗粒和泡腾颗粒。

颗粒剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外，饮片应按各品种项下规定的方法进行提取、纯化、浓缩成规定相对密度的清膏，采用适宜的方法干燥，并制成细粉，加适量辅料或饮片细粉，混匀并制成颗粒；也可将清膏加适量辅料或饮片细粉，混匀并制成颗粒。应控制辅料用量，一般前者不超过干膏量的 2 倍，后者不超过清膏量的 5 倍。

二、除另有规定外，挥发油应均匀喷入干燥颗粒中，密闭至规定时间或用倍他环糊精包合后加入。

三、制备颗粒剂时可加入矫味剂和芳香剂；为防潮、掩盖药物的不良气味也可包薄膜衣。必要时，包衣颗粒剂应检查残留溶剂。

四、颗粒剂应干燥，颗粒均匀，色泽一致，无吸潮、结块、潮解等现象。

五、除另有规定外，颗粒剂应密封，在干燥处贮存，防止受潮。

除另有规定外，颗粒剂应进行以下相应检查。

【粒度】 除另有规定外，照粒度测定法(附录Ⅺ B 第二法，双筛分法)测定，不能通过一号筛与能通过五号筛的总和，不得过 15%。

【水分】 照水分测定法(附录Ⅸ H)测定，除另有规定外，不得过 6.0%。

【溶化性】 取供试品 1 袋(多剂量包装取 10g)，加热水 200ml，搅拌 5 分钟，立即观察，应全部溶化或呈混悬状。可溶颗粒应全部溶化，允许有轻微浑浊；混悬颗粒应能混悬均匀。

泡腾颗粒检查法 取供试品 3 袋，分别置盛有 200ml 水的烧杯中，水温为 15~25℃，应迅速产生气体而呈泡腾状，5 分钟内颗粒均应完全分散或溶解在水中。

颗粒剂按上述方法检查,均不得有焦屑等。

【装量差异】 单剂量包装的颗粒剂,照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 10 袋,分别称定每袋内容物的重量,每袋装量与标示装量相比较,按表中的规定,超出装量差异限度的不得多于 2 袋,并不得有 1 袋超出限度 1 倍。

标示装量	装量差异限度
1g 及 1g 以下	±10%
1g 以上至 1.5g	±8%
1.5g 以上至 6g	±7%
6g 以上	±5%

【装量】 多剂量包装的颗粒剂,照最低装量检查法(附录Ⅲ C)检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅲ C)检查,应符合规定。

附录 I D 片剂

片剂系指提取物、提取物加饮片细粉或饮片细粉与适宜辅料混匀压制或用其他适宜方法制成的圆片状或异形片状的制剂,有浸膏片、半浸膏片和全粉片等。

片剂以口服普通片为主,另有含片、咀嚼片、泡腾片、阴道片、阴道泡腾片和肠溶片等。

含片 系指含于口腔中缓慢溶化产生局部或全身作用的片剂。

咀嚼片 系指于口腔中咀嚼后吞服的片剂。

泡腾片 系指含有碳酸氢钠和有机酸,遇水可产生气体而呈泡腾状的片剂。

阴道片与阴道泡腾片 系指置于阴道内使用的片剂。

肠溶片 系指用肠溶性包衣材料进行包衣的片剂。

片剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、用于制片的药粉(膏)与辅料应混合均匀。含药量小的或含有毒性药的片剂,应根据药物的性质用适宜的方法使药物分散均匀。

二、凡属挥发性或遇热不稳定的药物,在制片过程中应避免受热损失。

三、压片前的颗粒应控制水分,以适应制片工艺的需要,并防止成品在贮存期间发霉、变质。

四、片剂根据需要,可加入矫味剂、芳香剂和着色剂等附加剂。

五、为增加稳定性、掩盖药物不良臭味或改善片剂外观等,可对制成的药片包糖衣或薄膜衣。对一些遇胃液易破坏、刺激胃黏膜或需要在肠道内释放的口服药片,可包肠溶衣。必要时,薄膜包衣片剂应检查残留溶剂。

六、片剂外观应完整光洁、色泽均匀,有适宜的硬度,以免在包装、贮运过程中发生磨损或破碎。

七、除另有规定外,片剂应密封贮存。

除另有规定外,片剂应进行以下相应检查。

【重量差异】 片剂照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 20 片,精密称定总重量,求得平均片重后,再分别精密称定每片的重量,每片重量与标示片重相比较(无标示片重的片剂,与平均片重比较),按表中的规定,超出重量差异限度的不得多于 2 片,并不得有 1 片超出限度 1 倍。

标示片重或平均片重	重量差异限度
0.3g 以下	±7.5%
0.3g 及 0.3g 以上	±5%

糖衣片的片芯应检查重量差异并符合规定,包糖衣后不再检查重量差异。除另有规定外,其他包衣片应在包衣后检查重量差异并符合规定。

【崩解时限】 除另有规定外,照崩解时限检查法(附录Ⅲ A)检查,应符合规定。

阴道片照融变时限检查法(附录Ⅲ B)检查,应符合规定。

含片、咀嚼片不检查崩解时限。

【发泡量】 阴道泡腾片照下述方法检查,应符合规定。

检查法 除另有规定外,取 25ml 具塞刻度试管(内径 1.5cm)10 支,各精密加水 2ml,置 37℃±1℃ 水浴中 5 分钟后,各管中分别投入供试品 1 片,密塞,20 分钟内观察最大发泡量的体积,平均发泡体积应不少于 6ml,且少于 4ml 的不得超过 2 片。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅲ C)检查,应符合规定。

附录 I E 锭剂

锭剂系指饮片细粉与适宜黏合剂(或利用药材本身的黏性)制成不同形状的固体制剂。

锭剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、作为锭剂黏合剂使用的蜂蜜、糯米粉等应按规定方法进行处理。

二、制备时,应用各品种制法项下规定的黏合剂或利用药材本身的黏性合坨,以模制法或捏搓法成型,整修,阴干。也可用泛制法制备锭剂。

三、需包衣或打光的锭剂,应用各品种制法项下规定的包衣材料进行包衣或打光。

四、锭剂应平整光滑、色泽一致,无皱缩、飞边、裂隙、变形及空心。

五、除另有规定外,锭剂应密封,置阴凉干燥处贮存。

除另有规定外,锭剂应进行以下相应检查。

【重量差异】 除另有规定外,照丸剂重量差异项下方法检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅲ C)检查,应符合规定。

附录 I F 煎膏剂(膏滋)

煎膏剂系指饮片用水煎煮,取煎煮液浓缩,加炼蜜或糖(或转化糖)制成的半流体制剂。

煎膏剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片按各品种项下规定的方法煎煮,滤过,滤液浓缩至规定的相对密度,即得清膏。

二、如需加入药粉,除另有规定外,一般应加入细粉。

三、清膏按规定量加入炼蜜或糖(或转化糖)收膏;若需加饮片细粉,待冷却后加入,搅拌均匀。除另有规定外,加炼蜜或糖(或转化糖)的量,一般不超过清膏量的3倍。

四、煎膏剂应无焦臭、异味,无糖的结晶析出。

五、除另有规定外,煎膏剂应密封,置阴凉处贮存。

除另有规定外,煎膏剂应进行以下相应检查。

【相对密度】除另有规定外,取供试品适量,精密称定,加水约2倍,精密称定,混匀,作为供试品溶液。照相对密度测定法(附录Ⅶ A)测定,按下式计算,应符合各品种项下的有关规定。

$$\text{供试品相对密度} = \frac{W_1 - W_1 \times f}{W_2 - W_1 \times f}$$

式中 W_1 为比重瓶内供试品溶液的重量, g;

W_2 为比重瓶内水的重量, g;

$$f = \frac{\text{加入供试品中的水重量}}{\text{供试品重量} + \text{加入供试品中的水重量}}$$

凡加饮片细粉的煎膏剂,不检查相对密度。

【不溶物】取供试品5g,加热水200ml,搅拌使溶化,放置3分钟后观察,不得有焦屑等异物。

加饮片细粉的煎膏剂,应在未加入药粉前检查,符合规定后方可加入药粉。加入药粉后不再检查不溶物。

【装量】照最低装量检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I G 胶剂

胶剂系指动物皮、骨、甲或角用水煎取胶质,浓缩成稠胶状,经干燥后制成的固体块状内服制剂。

胶剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、胶剂所用原料应用水漂洗或浸漂,除去非药用部分,切成小块或锯成小段,再漂净。

二、加水煎煮数次至煎煮液清淡为度,合并煎煮液,静置,滤过,浓缩。浓缩后的胶液在常温下应能凝固。

三、胶凝前,可按各品种制法项下规定加入适量辅料(如黄酒、冰糖、食用植物油等)。

四、胶凝后,按规定重量切成块状,阴干。

五、胶剂应为色泽均匀、无异常臭味的半透明固体。

附录8

六、一般应检查总灰分、重金属、砷盐等。

七、胶剂应密封贮存,防止受潮。

除另有规定外,胶剂应进行以下相应检查。

【水分】取供试品1g,置扁形称量瓶中,精密称定,加水2ml,置水浴上加热使溶解后再干燥,使厚度不超过2mm,照水分测定法(附录Ⅸ H 第一法)测定,不得过15.0%。

【微生物限度】照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I H 糖浆剂

糖浆剂系指含有提取物的浓蔗糖水溶液。

糖浆剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、含蔗糖量应不低于45%(g/ml)。

二、饮片应按各品种项下规定的方法提取、纯化、浓缩至一定体积,或将药物用新煮沸过的水溶解,加入单糖浆;如直接加入蔗糖配制,则需煮沸,必要时滤过,并自滤器上添加适量新煮沸过的水至处方规定量。

三、根据需要可加入适宜的附加剂。如需加入防腐剂,山梨酸和苯甲酸的用量不得超过0.3%(其钾盐、钠盐的用量分别按酸计),羟苯酯类的用量不得超过0.05%,如需加入其他附加剂,其品种与用量应符合国家标准的有关规定,不影响成品的稳定性,并应避免对检验产生干扰。必要时可加入适量的乙醇、甘油或其他多元醇。

四、除另有规定外,糖浆剂应澄清。在贮存期间不得有发霉、酸败、产生气体或其他变质现象,允许有少量摇之易散的沉淀。

五、一般应检查相对密度、pH值等。

六、除另有规定外,糖浆剂应密封,置阴凉处贮存。

除另有规定外,糖浆剂应进行以下相应检查。

【装量】单剂量灌装的糖浆剂,照下述方法检查应符合规定。

检查法 取供试品5支,将内容物分别倒入经标化的量入式量筒内,尽量倾净。在室温下检视,每支装量与标示装量相比较,少于标示装量的不得多于1支,并不得少于标示装量的95%。

多剂量灌装的糖浆剂,照最低装量检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I I 贴膏剂

贴膏剂系指提取物、饮片或和化学药物与适宜的基质和基材制成的供皮肤贴敷,可产生局部或全身性作用的一类片状外用制剂。包括橡胶膏剂、凝胶膏剂(原巴布膏剂)和贴剂等。

橡胶膏剂 系指提取物或和化学药物与橡胶等基质混匀

后,涂布于背衬材料上制成的贴膏剂。橡胶膏剂的制备方法常用的有溶剂法和热压法。常用溶剂为汽油、正己烷,常用基质有橡胶、热可塑性橡胶、松香、松香衍生物、凡士林、羊毛脂和氧化锌等。也可用其他适宜溶剂和基质。

凝胶膏剂 系指提取物、饮片或和化学药物与适宜的亲水性基质混匀后,涂布于背衬材料上制成的贴膏剂。常用基质有聚丙烯酸钠、羧甲基纤维素钠、明胶、甘油和微粉硅胶等。

贴剂 系指提取物或和化学药物与适宜的高分子材料制成的一种薄片状贴膏剂。主要由背衬层、药物贮库层、粘胶层以及防粘层组成。常用基质有乙烯-醋酸乙烯共聚物、硅橡胶和聚乙二醇等。

贴膏剂常用的背衬材料有棉布、无纺布、纸等;常用的盖衬材料有防粘纸、塑料薄膜、铝箔-聚乙烯复合膜、硬质纱布等。

贴膏剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、提取物应按各品种项下规定的方法进行提取。除另有规定外,固体药物应预先粉碎成细粉或溶于适宜的溶剂中。

二、贴膏剂必要时可加入透皮促进剂、表面活性剂、保湿剂、防腐剂或抗氧化剂等。

三、贴膏剂的膏料应涂布均匀,膏面应光洁,色泽一致,无脱膏、失黏现象;背衬面应平整、洁净、无漏膏现象。涂布中若使用有机溶剂的,必要时应检查残留溶剂。

四、贴膏剂每片的长度和宽度,按中线部位测量,均不得小于标示尺寸。

五、除另有规定外,贴膏剂应密封贮存。

除另有规定外,贴膏剂应进行以下相应检查。

【含膏量】 橡胶膏剂照第一法检查,凝胶膏剂照第二法检查。

第一法 取供试品2片(每片面积大于 35cm^2 的应切取 35cm^2),除去盖衬,精密称定,置于有盖玻璃容器中,加适量有机溶剂(如三氯甲烷、乙醚等)浸渍,并时时振摇,待背衬与膏料分离后,将背衬取出,用上述溶剂洗涤至背衬无残附膏料,挥去溶剂,在 105°C 干燥30分钟,移置干燥器中,冷却30分钟,精密称定,减失重量即为膏重,按标示面积换算成 100cm^2 的含膏量,应符合各品种项下的有关规定。

第二法 取供试品1片,除去盖衬,精密称定,置烧杯中,加适量水,加热煮沸至背衬与膏体分离后,将背衬取出,用水洗涤至背衬无残留膏体,晾干,在 105°C 干燥30分钟,移置干燥器中,冷却30分钟,精密称定,减失重量即为膏重,按标示面积换算成 100cm^2 的含膏量,应符合各品种项下的有关规定。

【耐热性】 橡胶膏剂照下述方法试验,应符合规定。

试验方法 除另有规定外,取供试品2片,除去盖衬,在 60°C 加热2小时,放冷后,膏背面应无渗油现象;膏面应有光泽,用手指触试应仍有黏性。

【赋形性】 凝胶膏剂照下述方法试验,应符合规定。

试验方法 取供试品1片,置 37°C 、相对湿度64%的恒温恒湿箱中30分钟,取出,用夹子将供试品固定在一平整钢板上,钢板与水平面的倾斜角为 60° ,放置24小时,膏面应无

流淌现象。

【黏附性】 除另有规定外,凝胶膏剂照贴膏剂黏附力测定法(附录Ⅺ E 第一法)、橡胶膏剂照贴膏剂黏附力测定法(附录Ⅺ E 第二法)、贴剂照贴膏剂黏附力测定法(附录Ⅺ E 第二、三法)测定,均应符合各品种项下的有关规定。

【重量差异】 贴剂照下述方法检查,应符合规定。

检查法 除另有规定外,取供试品20片,精密称定总重量,求出平均重量,再分别称定每片的重量,每片重量与平均重量相比较,重量差异限度应在平均重量的 $\pm 5\%$ 以内,超出重量差异限度的不得多于2片,并不得有1片超出限度1倍。

【微生物限度】 除另有规定外,照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查,凝胶膏剂和贴剂应符合规定,橡胶膏剂每 10cm^2 不得检出金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌。

附录 I J 合剂

合剂系指饮片用水或其他溶剂,采用适宜方法提取制成的口服液体制剂(单剂量灌装者也可称“口服液”)。

合剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法提取、纯化、浓缩至一定体积。除另有规定外,含有挥发性成分的饮片宜先提取挥发性成分,再与余药共同煎煮。

二、根据需要可加入适宜的附加剂。如加入防腐剂,山梨酸和苯甲酸的用量不得超过0.3%(其钾盐、钠盐的用量分别按酸计),羟苯酯类的用量不得超过0.05%,如加入其他附加剂,其品种与用量应符合国家标准的有关规定,不影响成品的稳定性,并应避免对检验产生干扰。必要时可加入适量的乙醇。

三、合剂若加蔗糖,除另有规定外,含蔗糖量应不高于20%(g/ml)。

四、除另有规定外,合剂应澄清。在贮存期间不得有发霉、酸败、异物、变色、产生气体或其他变质现象,允许有少量摇之易散的沉淀。

五、一般应检查相对密度、pH值等。

六、除另有规定外,合剂应密封,置阴凉处贮存。

除另有规定外,合剂应进行以下相应检查。

【装量】 单剂量灌装的合剂,照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品5支,将内容物分别倒入经标化的量入式量筒内,在室温下检视,每支装量与标示装量相比较,少于标示装量的不得多于1支,并不得少于标示装量的95%。

多剂量灌装的合剂,照最低装量检查法(附录Ⅺ C)检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查,应符合规定。

附录 I K 滴丸剂

滴丸剂系指饮片经适宜的方法提取、纯化后与适宜的基

附录 I L 胶囊剂

质加热熔融混匀,滴入不相混溶的冷凝介质中制成的球形或类球形制剂。

滴丸剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、根据不同品种可选用水溶性基质或非水溶性基质。常用基质有聚乙二醇类、泊洛沙姆、硬脂酸聚氧(40)酯、明胶、硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、氢化植物油等。

二、冷凝介质必须安全无害,且与药物不发生作用。常用冷凝介质有液状石蜡、植物油、甲基硅油和水等。

三、滴丸应圆整均匀,色泽一致,无粘连现象,表面无冷凝介质黏附。

四、根据药物的性质与使用、贮藏的要求,在滴制成丸后可包衣。必要时,薄膜包衣丸应检查残留溶剂。

五、除另有规定外,滴丸剂应密封贮存。

除另有规定外,滴丸剂应进行以下相应检查。

【重量差异】 除另有规定外,滴丸剂照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 20 丸,精密称定总重量,求得平均丸重后,再分别精密称定每丸的重量。每丸重量与平均丸重相比较,按表 1 中的规定,超出重量差异限度的不得多于 2 丸,并不得有 1 丸超出限度 1 倍。

表 1

平均丸重	重量差异限度
0.03g 及 0.03g 以下	±15%
0.03g 以上至 0.1g	±12%
0.1g 以上至 0.3g	±10%
0.3g 以上	±7.5%

包糖衣滴丸应检查丸芯的重量差异并符合规定,包糖衣后不再检查重量差异。包薄膜衣滴丸应在包衣后检查重量差异并符合规定;凡进行装量差异检查的单剂量包装滴丸剂,不再检查重量差异。

【装量差异】 单剂量包装的滴丸剂,照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 10 袋(瓶),分别称定每袋(瓶)内容物的重量,每袋(瓶)装量与标示装量相比较,按表 2 的规定,超出装量差异限度的不得多于 2 袋(瓶),并不得有 1 袋(瓶)超出限度 1 倍。

表 2

标示装量	装量差异限度
0.5g 及 0.5g 以下	±12%
0.5g 以上至 1g	±11%
1g 以上至 2g	±10%
2g 以上至 3g	±8%
3g 以上	±6%

【溶散时限】 照崩解时限检查法(附录Ⅺ A)检查,除另

附录 10

有规定外,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I L 胶囊剂

胶囊剂系指将饮片用适宜方法加工后,加入适宜辅料填充于空心胶囊或密封于软质囊材中的制剂,可分为硬胶囊、软胶囊(胶丸)和肠溶胶囊等,主要供口服用。

硬胶囊 系指将提取物、提取物加饮片细粉或饮片细粉或与适宜辅料制成的均匀粉末、细小颗粒、小丸、半固体或固体等,填充于空心胶囊中的胶囊剂。

软胶囊 系指将提取物、液体药物或与适宜辅料混匀后用滴制法或压制法密封于软质囊材中的胶囊剂。

肠溶胶囊 系指不溶于胃液,但能在肠液中崩解或释放的胶囊剂。

胶囊剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法制成填充物料,其不得引起囊壳变质。

二、小剂量药物应用适宜的稀释剂稀释,并混合均匀。

三、胶囊剂应整洁,不得有粘结、变形、渗漏或囊壳破裂现象,并应无异臭。

四、除另有规定外,胶囊剂应密封贮存。

除另有规定外,胶囊剂应进行以下相应检查。

【水分】 硬胶囊应做水分检查。

取供试品内容物,照水分测定法(附录Ⅸ H)测定,除另有规定外,不得过 9.0%。

硬胶囊内容物为液体或半固体者不检查水分。

【装量差异】 除另有规定外,取供试品 10 粒,分别精密称定重量,倾出内容物(不得损失囊壳),硬胶囊囊壳用小刷或其他适宜的用具拭净;软胶囊或内容物为半固体或液体的硬胶囊囊壳用乙醚等易挥发性溶剂洗净,置通风处使溶剂挥尽,再分别精密称定囊壳重量,求出每粒内容物的装量。每粒装量与标示装量相比较(无标示装量的胶囊剂,与平均装量比较),装量差异限度应在标示装量(或平均装量)的±10%以内,超出装量差异限度的不得多于 2 粒,并不得有 1 粒超出限度 1 倍。

【崩解时限】 除另有规定外,照崩解时限检查法(附录Ⅺ A)检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I M 酒剂

酒剂系指饮片用蒸馏酒提取制成的澄清液体制剂。

酒剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、生产酒剂所用的饮片,一般应适当粉碎。

二、生产内服酒剂应以谷类酒为原料。

三、可用浸渍法、渗漉法或其他适宜方法制备。蒸馏酒的浓度及用量、浸渍温度和时间、渗漉速度，均应符合各品种项下的要求。

四、可加入适量的糖或蜂蜜调味。

五、配制后的酒剂须静置澄清，滤过后分装于洁净的容器中。在贮存期间允许有少量摇之易散的沉淀。

六、酒剂应检查乙醇量。

七、除另有规定外，酒剂应密封，置阴凉处贮存。

除另有规定外，酒剂应进行以下相应检查。

【总固体】含糖、蜂蜜的酒剂照第一法检查，不含糖、蜂蜜的酒剂照第二法检查，应符合规定。

第一法 精密量取供试品上清液 50ml，置蒸发皿中，水浴上蒸至稠膏状，除另有规定外，加无水乙醇搅拌提取 4 次，每次 10ml，滤过，合并滤液，置已干燥至恒重的蒸发皿中，蒸至近干，精密加入硅藻土 1g（经 105℃ 干燥 3 小时，移置干燥器中冷却 30 分钟），搅匀，在 105℃ 干燥 3 小时，移置干燥器中，冷却 30 分钟，迅速精密称定重量，扣除加入的硅藻土量，遗留残渣应符合各品种项下的有关规定。

第二法 精密量取供试品上清液 50ml，置已干燥至恒重的蒸发皿中，水浴上蒸干，在 105℃ 干燥 3 小时，移置干燥器中，冷却 30 分钟，迅速精密称定重量，遗留残渣应符合各品种项下的有关规定。

【甲醇量】照甲醇量检查法（附录 IX T）检查，应符合规定。

【装量】照最低装量检查法（附录 XII C）检查，应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法（附录 XII C）检查，除细菌数每 1ml 不得过 500cfu，霉菌和酵母菌数每 1ml 不得过 100cfu 外，其他应符合规定。

附录 I N 酊剂

酊剂系指饮片用规定浓度的乙醇提取或溶解而制成的澄清液体剂，也可用流浸膏稀释制成。供口服或外用。

酊剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外，含有毒性药的酊剂，每 100ml 应相当于原饮片 10g；其有效成分明确者，应根据其半成品的含量加以调整，使符合各酊剂项下的规定。其他酊剂，每 100ml 相当于原饮片 20g。

二、酊剂可用溶解法、稀释法、浸渍法或渗漉法制备。

（1）溶解法或稀释法 取药物粉末或流浸膏，加规定浓度的乙醇适量，溶解或稀释，静置，必要时滤过，即得。

（2）浸渍法 取适当粉碎的饮片，置有盖容器中，加入溶剂适量，密盖，搅拌或振摇，浸渍 3~5 日或规定的时间，倾取上清液，再加入溶剂适量，依法浸渍至有效成分充分浸出，合并浸出液，加溶剂至规定量后，静置 24 小时，滤过，即得。

（3）渗漉法 照流浸膏剂项下的方法（附录 I O），用适量溶剂渗漉，至漉液达到规定量后，静置，滤过，即得。

三、酊剂应检查乙醇量。

四、酊剂久置产生沉淀时，在乙醇量和有效成分含量符合各品种项下规定的情况下，可滤过除去沉淀。

五、除另有规定外，酊剂应置遮光容器内密封，置阴凉处贮存。

除另有规定外，酊剂应进行以下相应检查。

【甲醇量】口服酊剂照甲醇量检查法（附录 IX T）检查，应符合规定。

【装量】照最低装量检查法（附录 XII C）检查，应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法（附录 XII C）检查，应符合规定。

附录 I O 流浸膏剂与浸膏剂

流浸膏剂、浸膏剂系指饮片用适宜的溶剂提取，蒸去部分或全部溶剂，调整至规定浓度而成的制剂。

流浸膏剂、浸膏剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外，流浸膏剂每 1ml 相当于原饮片 1g；浸膏剂每 1g 相当于原饮片 2~5g。

二、除另有规定外，流浸膏剂用渗漉法制备，也可用浸膏剂稀释制成；浸膏剂用煎煮法或渗漉法制备，全部煎煮液或漉液应低温浓缩至稠膏状，加稀释剂或继续浓缩至规定的量。

渗漉法的要点如下：

（1）根据饮片的性质可选用圆柱形或圆锥形的渗漉器；

（2）饮片须适当粉碎后，加规定的溶剂均匀湿润，密闭放置一定时间，再装入渗漉器内；

（3）饮片装入渗漉器时应均匀，松紧一致，加入溶剂时应尽量排除药材间隙中的空气，溶剂应高出药面，浸渍适当时间后进行渗漉；

（4）渗漉速度应符合各品种项下的规定；

（5）收集 85% 饮片量的初漉液另器保存，续漉液经低温浓缩后与初漉液合并，调整至规定量，静置，取上清液分装。

三、流浸膏剂一般应检查乙醇量。久置若产生沉淀时，在乙醇和有效成分含量符合各品种项下规定的情况下，可滤过除去沉淀。

四、除另有规定外，应置遮光容器内密封，流浸膏剂应置阴凉处贮存。

除另有规定外，流浸膏剂、浸膏剂应进行以下相应检查。

【装量】照最低装量检查法（附录 XII C）检查，应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法（附录 XII C）检查，应符合规定。

附录 I P 膏药

膏药系指饮片、食用植物油与红丹（铅丹）或官粉（铅粉）炼制成膏料，摊涂于裱背材料上制成的供皮肤贴敷的外用制剂。前者称为黑膏药，后者称为白膏药。

附录 I Q 凝胶剂

膏药在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应适当碎断,按各品种项下规定的方法加食用植物油油炸枯,质地轻泡不耐油炸的饮片,宜待其他饮片炸至枯黄后再加入。含挥发性成分的饮片、矿物药以及贵重药应研成细粉,于摊涂前加入,温度应不超过 70℃。

二、制备用红丹、官粉均应干燥、无吸潮结块。

三、炸过药的油炼至“滴水成珠”,加入红丹或官粉,搅拌使充分混合,喷淋清水,膏药成坨,置清水中浸渍。

四、膏药的膏体应油润细腻、光亮、老嫩适度、摊涂均匀,无飞边缺口,加温后能粘贴于皮肤上且不移动。黑膏药应乌黑、无红斑;白膏药应无白点。

五、除另有规定外,膏药应密闭,置阴凉处贮存。

除另有规定外,膏药应进行以下相应检查。

【软化点】照膏药软化点测定法(附录Ⅻ D)测定,应符合各品种项下的有关规定。

【重量差异】取供试品 5 张,分别称定每张总重量,剪取单位面积(cm^2)的裱背,称定重量,换算出裱背重量,总重量减去裱背重量,即为膏药重量,与标示重量相比较,应符合表中的规定。

标示重量	重量差异限度
3g 及 3g 以下	±10%
3g 以上至 12g	±7%
12g 以上至 30g	±6%
30g 以上	±5%

附录 I Q 凝胶剂

凝胶剂系指提取物与适宜基质制成具凝胶特性的半固体或稠厚液体制剂。按基质不同,凝胶剂可分为水性凝胶与油性凝胶。

凝胶剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法进行提取、纯化,以半成品投料制备成品。

二、可根据主药的性质选用适宜的基质。水性凝胶基质一般由水、甘油或丙二醇与纤维素衍生物、卡波姆和海藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、淀粉等构成;油性凝胶基质由液状石蜡与聚氧乙烯或脂肪油与胶体硅或铝皂、锌皂构成。必要时可加入保湿剂、防腐剂、抗氧化剂、透皮促进剂等附加剂。

三、凝胶剂应均匀、细腻,在常温时保持凝胶状,不干涸或液化。

四、凝胶剂一般应检查 pH 值。

五、凝胶剂基质不应与药物发生理化反应。

六、除另有规定外,凝胶剂应避免光,密闭贮存,并应防冻。除另有规定外,凝胶剂应进行以下相应检查。

【装量】照最低装量检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

【无菌】用于烧伤或严重创伤的凝胶剂,照无菌检查法

附录 12

(附录Ⅻ B)检查,应符合规定。

【微生物限度】照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I R 软膏剂

软膏剂系指提取物、饮片细粉与适宜基质均匀混合制成的半固体外用制剂。常用基质分为油脂性、水溶性和乳剂型基质,其中用乳剂型基质制成的软膏又称为乳膏剂,按基质的不同,可分为水包油型乳膏剂与油包水型乳膏剂。

软膏剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、供制备软膏剂用的固体药物,除能溶解或相互共熔于某一组分者外,应预先用适宜的方法制成细粉。

二、软膏剂应均匀、细腻,具有适当的黏稠性,易涂布于皮肤或黏膜上并无刺激性。

三、油脂性基质常用的有凡士林、石蜡、液状石蜡、硅油、蜂蜡、硬脂酸等;水溶性基质主要有聚乙二醇;乳剂型基质常用的有钠皂、三乙醇胺皂类、脂肪醇硫酸(酯)钠类(十二烷基硫酸钠)、聚山梨酯、羊毛脂、单甘油酯、脂肪醇等。必要时可加入保湿剂、防腐剂、抗氧化剂或透皮促进剂。

四、软膏剂应无酸败、变色、变硬、融化、油水分离等变质现象。

五、除另有规定外,软膏剂应遮光,密闭贮存。

除另有规定外,软膏剂应进行以下相应检查。

【粒度】除另有规定外,含细粉的软膏剂照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品适量,置于载玻片上,涂成薄层,覆以盖玻片,共涂 3 片,照粒度测定法(附录Ⅻ B 第一法)测定,均不得检出大于 $180\mu\text{m}$ 的粒子。

【装量】照最低装量检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

【无菌】用于烧伤或严重创伤的软膏剂,照无菌检查法(附录Ⅻ B)检查,应符合规定。

【微生物限度】除另有规定外,照微生物限度检查法(附录Ⅻ C)检查,应符合规定。

附录 I S 露剂

露剂系指含挥发性成分的饮片用水蒸气蒸馏法制成的芳香剂。

露剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片加水浸泡一定时间后,用水蒸气蒸馏,收集的蒸馏液应及时盛装在灭菌的洁净干燥容器中。

二、收集蒸馏液、灌装均应在要求的洁净度环境中进行。

三、根据需要可加入适宜的防腐剂和矫味剂,其品种与用量应符合国家标准的有关规定。

四、露剂应澄清,不得有异物、酸败等变质现象。

五、一般应检查 pH 值。

六、除另有规定外，露剂应密封，置阴凉处贮存。

除另有规定外，露剂应进行以下相应检查。

【装量】 照最低装量检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

附录 I T 茶剂

茶剂系指饮片或提取物(液)与茶叶或其他辅料混合制成的内服制剂，可分为块状茶剂、袋装茶剂和煎煮茶剂。

块状茶剂 可分不含糖块状茶剂和含糖块状茶剂。不含糖块状茶剂系指饮片粗粉、碎片与茶叶或适宜的黏合剂压制成块状的茶剂；含糖块状茶剂系指提取物、饮片细粉与蔗糖等辅料压制成块状的茶剂。

袋装茶剂 系指茶叶、饮片粗粉或部分饮片粗粉吸收提取液经干燥后，装入袋的茶剂，其中装入饮用茶袋的又称袋泡茶剂。

煎煮茶剂 系指将饮片适当碎断后，装入袋中，供煎服的茶剂。

茶剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按规定适当粉碎，并混合均匀。凡喷洒提取液的，应喷洒均匀。饮片及提取物在加入黏合剂或蔗糖等辅料时，应混合均匀。

二、一般应在 80℃ 以下干燥；含挥发性成分较多的应在 60℃ 以下干燥；不宜加热干燥的应选用适宜的方法进行干燥。

三、茶叶和饮用茶袋均应符合饮用茶标准的有关要求。

四、茶剂应密闭贮存；含挥发性及易吸潮药物的茶剂应密封贮存。

除另有规定外，茶剂应进行以下相应检查。

【水分】 不含糖块状茶剂 取供试品，研碎，照水分测定法(附录Ⅸ H)测定，除另有规定外，不得过 12.0%。

含糖块状茶剂 取供试品，破碎成直径约 3mm 的颗粒，照水分测定法(附录Ⅸ H)测定，除另有规定外，不得过 3.0%。

袋装茶剂与煎煮茶剂 照水分测定法(附录Ⅸ H)测定，除另有规定外，不得过 12.0%。

【溶化性】 含糖块状茶剂照下述方法检查，应符合规定。

检查法 取供试品 1 块，加 20 倍量的热水，搅拌 5 分钟，应全部溶化，可有轻微浑浊，不得有焦屑等。

【重量差异】 块状茶剂照下述方法检查，应符合规定。

检查法 取供试品 10 块，分别称定重量，每块的重量与标示重量相比较，不含糖块状茶剂按表 1、含糖块状茶剂按表 2 的规定，超出重量差异限度的不得多于 2 块，并不得有 1 块超出限度 1 倍。

【装量差异】 除另有规定外，袋装茶剂与煎煮茶剂照下述方法检查，应符合规定。

检查法 取供试品 10 袋(盒)，分别称定每袋(盒)内容物

的重量，每袋(盒)装量与标示装量相比较，按表 1 的规定，超出装量差异限度的不得多于 2 袋(盒)，并不得有 1 袋(盒)超出限度 1 倍。

表 1

标示重量或标示装量	重量或装量差异限度
2g 及 2g 以下	±15%
2g 以上至 5g	±12%
5g 以上至 10g	±10%
10g 以上至 20g	±8%
20g 以上至 40g	±5%
40g 以上	±4%

表 2

标示重量	重量差异限度
6g 及 6g 以下	±7%
6g 以上	±5%

【微生物限度】 除煎煮茶剂外，照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查，应符合规定。

附录 I U 注射剂

注射剂系指饮片经提取、纯化后制成的供注入体内的溶液、乳状液及供临用前配制成溶液的粉末或浓溶液的无菌制剂。

注射剂可分为注射液、注射用无菌粉末和注射用浓溶液。

注射液 包括溶液型或乳状液型注射液。可用于肌肉注射、静脉注射或静脉滴注等。其中，供静脉滴注用的大体积(除另有规定外，一般不小于 100ml)注射液也称静脉输液。

注射用无菌粉末 系指供临用前用适宜的无菌溶液配制成溶液的无菌粉末或无菌块状物。可用适宜的注射用溶剂配制后注射，也可用静脉输液配制后静脉滴注。无菌粉末用冷冻干燥法或喷雾干燥法制得；无菌块状物用冷冻干燥法制得。

注射用浓溶液 系指临用前稀释供静脉滴注用的无菌浓溶液。

注射剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外，饮片应按各品种项下规定的方法提取、纯化、制成半成品，以半成品投料配制成成品。

二、溶液型注射剂应澄明。乳状液型注射剂应稳定，不得有相分离现象，不得用于椎管注射；静脉用乳状液型注射液中乳滴的粒度 90% 应在 1μm 以下，不得有大于 5μm 的乳滴。除另有规定外，静脉输液应尽可能与血液等渗。

三、注射剂所用的原辅料应来源于及工艺等生产环节进行严格控制并应符合注射用的质量要求。注射剂所用溶剂必须安全无害，并不得影响疗效和药品质量，一般分为水性溶剂和非水性溶剂。水性溶剂最常用的为注射用水，也可用 0.9% 氯化钠溶液或其他适宜的水溶液。非水性溶剂常用的

附录 I U 注射剂

为植物油,主要为供注射用的大豆油,其他还有乙醇、丙二醇、聚乙二醇等溶剂。供注射用的非水性溶剂,应严格限制其用量,并应在品种项下进行相应的检查。

四、配制注射剂时,可根据药物的性质加入适宜的附加剂。如渗透压调节剂、pH 值调节剂、增溶剂、抗氧剂、抑菌剂、乳化剂等。所用附加剂应不影响药物疗效,避免对检验产生干扰,使用浓度不得引起毒性或明显的刺激。常用的抗氧剂有亚硫酸钠、亚硫酸氢钠和焦亚硫酸钠,一般浓度为 0.1%~0.2%;常用抑菌剂为 0.5% 苯酚、0.3% 甲酚、0.5% 三氯叔丁醇等。多剂量包装的注射液可加适宜的抑菌剂,抑菌剂的用量应能抑制注射液中微生物的生长,加有抑菌剂的注射液,仍应采用适宜的方法灭菌,静脉输液与脑池内、硬膜外、椎管内用的注射液均不得加抑菌剂。除另有规定外,一次注射量超过 15ml 的注射液,不得加抑菌剂。

五、注射剂常用容器有玻璃安瓿、玻璃瓶、塑料安瓿、塑料瓶(袋)等。容器的密封性,须用适宜的方法确证。除另有规定外,容器应符合有关注射用玻璃容器和塑料容器的国家标准规定。容器用胶塞特别是多剂量包装注射剂用的胶塞应有足够的弹性和稳定性,其质量应符合有关国家标准规定。除另有规定外,容器应足够透明,以便内容物的检视。

六、生产过程中应尽可能缩短注射剂的配制时间,防止微生物与热原的污染及药物变质。静脉输液的配制过程更应严格控制。制备乳状液型注射液过程中,应采取必要的措施,保证粒子大小符合质量标准的要求。注射用无菌粉末应按无菌操作制备。注射剂必要时应进行相应的安全性检查,如异常毒性、过敏反应、溶血与凝聚、降压物质、热原或细菌内毒素等,均应符合要求。

七、灌装标示装量不大于 50ml 的注射剂时,应按下表适当增加装量。除另有规定外,多剂量包装的注射剂,每一容器的装量不得超过 10 次注射量,增加装量应能保证每次注射用量。

标示装量/ml	增加量/ml	
	易流动液	黏稠液
0.5	0.10	0.12
1	0.10	0.15
2	0.15	0.25
5	0.30	0.50
10	0.50	0.70
20	0.60	0.90
50	1.0	1.5

接触空气易变质的药物,在灌装过程中,应排除容器内空气,可填充二氧化碳或氮等气体,立即熔封或严封。

八、熔封或严封后,一般应根据药物性质选用适宜的方法和条件及时灭菌,以保证制成品无菌。注射剂在灭菌时或灭菌后,应采用减压法或其他适宜的方法进行容器检漏。

九、除另有规定外,注射剂应遮光贮存。

附录 14

十、注射剂所用辅料,在标签或说明书中应标明其名称,抑菌剂还应标明浓度;注射用无菌粉末应标明注射用溶剂。

十一、用于配制注射剂前的半成品,应检查重金属、砷盐。除另有规定外,含重金属不得过百万分之十(附录 IX C 第二法),含砷盐不得过百万分之二(附录 IX F 第一法)。本检查需进行有机破坏。

除另有规定外,注射剂应进行以下相应检查。

【装量】注射液和注射用浓溶液照下述方法检查,应符合规定。

检查法 标示装量不大于 2ml 者取供试品 5 支,2ml 以上至 50ml 者取供试品 3 支,开启时注意避免损失,将内容物分别用相应体积的干燥注射器及注射针头抽尽,然后注入经标化的量入式量筒内(量筒的大小应使待测体积至少占其额定体积的 40%),在室温下检视。测定油溶液的装量时,应先加温摇匀,再用干燥注射器及注射针头抽尽后,同前法操作。放冷,检视。每支的装量均不得少于其标示量。

标示装量为 50ml 以上的注射液及注射用浓溶液照最低装量检查法(附录 XII C)检查,应符合规定。

【装量差异】除另有规定外,注射用无菌粉末照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品 5 瓶(支),除去标签、铝盖,容器外壁用乙醇擦净,干燥,开启时注意避免玻璃屑等异物落入容器中,分别迅速精密称定,倾出内容物,容器用水或乙醇洗净,在适宜条件下干燥后,再分别精密称定每一容器的重量,求出每瓶(支)的装量与平均装量。每瓶(支)装量与平均装量相比较,应符合表中规定。如有 1 瓶(支)不符合规定,应另取 10 瓶(支)复试,均应符合规定。

平均装量	装量差异限度
0.05g 及 0.05g 以下	±15%
0.05g 以上至 0.15g	±10%
0.15g 以上至 0.50g	±7%
0.50g 以上	±5%

凡规定检查含量均匀度的注射用无菌粉末,一般不再进行装量差异检查。

【渗透压摩尔浓度】除另有规定外,静脉输液及椎管注射用注射液按各品种项下的规定,照渗透压摩尔浓度测定法(附录 XI F)检查,应符合规定。

【可见异物】除另有规定外,照可见异物检查法(附录 XII C)检查,应符合规定。

【不溶性微粒】除另有规定外,溶液型静脉用注射液、溶液型静脉用注射用无菌粉末及注射用浓溶液照不溶性微粒检查法(附录 IX R)检查,应符合规定。

【有关物质】按各品种项下规定,照注射剂有关物质检查法(附录 IX S)检查,应符合有关规定。

【无菌】照无菌检查法(附录 XII B)检查,应符合规定。

【热原】或【细菌内毒素】除另有规定外,静脉用注射剂

按各品种项下的规定,照热原检查法(附录Ⅺ A)或细菌内毒素检查法(附录Ⅺ D)检查,应符合规定。

附录 I V 搽剂 洗剂 涂膜剂

搽剂、洗剂和涂膜剂为外用液体制剂。

搽剂 系指饮片用乙醇、油或其他适宜溶剂制成的供无破损处揉擦用的液体制剂。其中以油为溶剂的又称油剂。

洗剂 系指饮片经适宜的方法提取制成的供皮肤或腔道涂抹或清洗用的液体制剂。

涂膜剂 系指饮片经适宜溶剂和方法提取或溶解,与成膜材料制成的供外用涂抹,能形成薄膜的液体制剂。

搽剂、洗剂、涂膜剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、除另有规定外,饮片应按各品种项下规定的方法提取或用适宜的方法粉碎成细粉。

二、搽剂常用的溶剂有水、乙醇、甘油、植物油、液状石蜡等;洗剂多为水溶液;涂膜剂常以乙醇为溶剂,常用的成膜材料有聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、丙烯酸树脂类等,增塑剂有甘油、丙二醇、邻苯二甲酸二丁酯等。必要时均可加适宜的附加剂,所加附加剂对皮肤或黏膜应无刺激性。

三、除另有规定外,以水或稀乙醇为溶剂的一般应检查相对密度、pH值;以乙醇为溶剂的应检查乙醇量;以油为溶剂的应无酸败等变质现象,并应检查折光率。

四、除另有规定外,应密封贮存。

除另有规定外,搽剂、洗剂、涂膜剂应进行以下相应检查。

【装量】 照最低装量检查法(附录Ⅺ C)检查,应符合规定。

【无菌】 用于烧伤或严重创伤的洗剂、涂膜剂,照无菌检查法(附录Ⅺ B)检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查,应符合规定。

附录 I W 栓剂

栓剂系指提取物或饮片细粉与适宜基质制成供腔道给药的固体制剂。

栓剂因施用腔道的不同,分为直肠栓、阴道栓和尿道栓。直肠栓为鱼雷形、圆锥形或圆柱形等;阴道栓为鸭嘴形、球形或卵形等;尿道栓一般为棒状。

栓剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、栓剂常用基质为半合成脂肪酸甘油酯、可可豆脂、聚氧乙烯硬脂酸酯、氢化植物油、甘油明胶、聚乙二醇类或其他适宜基质。必要时,可加入表面活性剂使药物易于释放和被机体吸收。

二、供制栓剂用的固体药物,除另有规定外,应预先用适宜方法制成细粉或最细粉。可根据腔道和使用需要,制成适宜的形状。

三、栓剂中的药物与基质应混合均匀,其外形应完整光滑,塞入腔道后应无刺激性,应能融化、软化或溶化,并与分泌液混合,逐渐释放出药物,产生局部或全身作用,并应有适宜的硬度,以免在包装或贮存时变形。

四、除另有规定外,应在30℃以下密闭贮存,防止因受热、受潮而变形、发霉、变质。

除另有规定外,栓剂应进行以下相应检查。

【重量差异】 照下述方法检查,应符合规定。

检查法 取供试品10粒,精密称定总重量,求得平均粒重后,再分别精密称定各粒的重量,每粒重量与标示粒重相比较(无标示粒重的栓剂,与平均粒重比较),按表中的规定,超出重量差异限度的不得多于1粒,并不得超出限度1倍。

标示粒重或平均粒重	重量差异限度
1g及1g以下	±10%
1g以上至3g	±7.5%
3g以上	±5%

【融变时限】 除另有规定外,照融变时限检查法(附录Ⅺ B)检查,应符合规定。

【微生物限度】 照微生物限度检查法(附录Ⅺ C)检查,应符合规定。

附录 I X 鼻用制剂

鼻用制剂系指提取物、饮片或与化学药物制成的直接用于鼻腔发挥局部或全身治疗作用的制剂。鼻用制剂可分为鼻用液体制剂(滴鼻剂、洗鼻剂、鼻用喷雾剂)、鼻用半固体制剂(鼻用软膏剂、鼻用乳膏剂)和鼻用固体制剂(鼻用散剂)。

鼻用制剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法进行提取、纯化或用适宜的方法粉碎成规定粒度的粉末。

二、鼻用制剂可根据主药的性质和剂型要求选用适宜的辅料。鼻用液体制剂常用溶剂有水、甘油、液状石蜡、植物油等。鼻用半固体制剂常用基质有凡士林、羊毛脂等油脂性基质;肥皂、聚山梨酯等乳剂型基质;聚乙二醇、泊洛沙姆等水溶性基质。必要时可加入增溶剂、助悬剂、乳化剂、防腐剂等。

三、鼻用制剂应无刺激性,对鼻黏膜及其纤毛不应产生副作用。如为水性溶液应调节pH值与渗透压,渗透压应与鼻腔黏液等渗。

四、溶液型鼻用液体制剂应澄清,不得有沉淀和异物;混悬型鼻用液体制剂中的颗粒应均匀分散,若出现沉淀物经振摇易分散。乳状液型鼻用液体制剂应分布均匀,若出现分层,振摇后应易恢复成乳状液;鼻用半固体制剂应柔软细腻,易涂布。

五、鼻用制剂还应符合各相应剂型通则项下的有关规定。

六、除另有规定外,每一容器的装量应不超过10ml或5g。

七、除另有规定外,鼻用制剂应密闭贮存。

除另有规定外,鼻用制剂应进行以下相应检查。

附录 I Y 眼用制剂

【装量】除另有规定外，照最低装量检查法(附录Ⅹ C)检查，应符合规定。

【无菌】用于严重创伤的眼用制剂，照无菌检查法(附录Ⅹ B)检查，应符合规定。

【微生物限度】除另有规定外，照微生物限度检查法(附录Ⅹ C)检查，应符合规定。

附录 I Y 眼用制剂

眼用制剂系指由提取物、饮片制成的直接用于眼部发挥治疗作用的无菌制剂。眼用制剂可分为眼用液体制剂(滴眼剂)、眼用半固体制剂(眼膏剂)等。眼用液体制剂也有以固态药物形式包装，另备溶剂，临用前配成溶液或混悬液的制剂。

眼用制剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法提取、纯化或用适宜的方法粉碎成规定粒度的粉末。

二、滴眼剂中可加入调节渗透压、pH 值、黏度以及增加药物溶解度和制剂稳定性的辅料，并可加适宜浓度的抑菌剂和抗氧剂。所用辅料不应降低药效或产生局部刺激。滴眼剂应与泪液等渗，应检查 pH 值，除另有规定外，每个容器的装量应不超过 10ml。包装容器的透明度应不影响可见异物检查。

三、眼膏剂的基质应均匀、细腻、无刺激性，并易涂布于眼部，便于药物分散和吸收。基质在配制前应滤过并灭菌。除另有规定外，每个容器的装量应不超过 5g。

四、眼用制剂还应符合相应剂型通则项下的有关规定。

五、除另有规定外，眼用制剂应遮光密封，置阴凉处贮存。

除另有规定外，眼用制剂应进行以下相应检查。

【可见异物】除另有规定外，滴眼剂照可见异物检查法(附录Ⅹ C)检查，应符合规定。

【粒度】除另有规定外，含原粉的眼用制剂照下述方法检查，应符合规定。

混悬型滴眼剂检查法 取供试品强烈振摇，立即量取适量，置于载玻片上，照粒度测定法(附录Ⅹ B 第一法)检查，不得检出大于 $90\mu\text{m}$ 的粒子。

混悬型眼用半固体制剂检查法 取供试品 10 支，将内容物全部挤于合适的容器中，搅拌均匀，取适量，置于载玻片上，涂成薄层，覆以盖玻片，共涂 3 片，照粒度测定法(附录Ⅹ B 第一法)检查，不得检出大于 $90\mu\text{m}$ 的粒子。

【金属性异物】除另有规定外，眼用半固体制剂照下述方法检查，应符合规定。

取供试品 10 支，分别将全部内容物置于底部平整光滑、无可见异物和气泡、直径为 6cm 的培养皿中，加盖。除另有规定外，在 85°C 保温 2 小时，使供试品融化，摊布均匀，室温放至凝固后，倒置于适宜的显微镜台上，用聚光灯以 45° 角的入射光从上方照向皿底照明，放大 30 倍，检视供试品不小于 $50\mu\text{m}$ 具有光泽的金属性异物数。10 支中每支内含金属性异物超过 8 粒者不得过 1 支，且其总数不得过 50 粒；如有超

附录 16

过，应复试 20 支；初试、复试结果合并计算，30 支中每支内含金属性异物超过 8 粒者不得过 3 支，且其总数不得过 150 粒。

【装量】除另有规定外，照最低装量检查法(附录Ⅹ C)检查，应符合规定。

【渗透压摩尔浓度】除另有规定外，水溶液型滴眼剂按各品种项下的规定，照渗透压摩尔浓度测定法(附录Ⅹ F)检查，应符合规定。

【无菌】照无菌检查法(附录Ⅹ B)检查，应符合规定。

附录 I Z 气雾剂 喷雾剂

气雾剂系指提取物、饮片细粉与适宜的抛射剂共同封装在具有特制阀门装置的耐压容器中，使用时借助抛射剂的压力将内容物喷出呈雾状、泡沫状或其他形态的制剂。其中以泡沫形态喷出的可称泡沫剂。不含抛射剂，借助手动泵的压力或其他方法将内容物以雾状等形态喷出的制剂称为喷雾剂。气雾剂和喷雾剂按内容物组成为溶液型、乳状液型或混悬型。可用于呼吸道吸入、皮肤、黏膜或腔道给药等。

气雾剂、喷雾剂在生产与贮藏期间应符合下列有关规定。

一、饮片应按各品种项下规定的方法进行提取、纯化、浓缩，制成药液。

二、气雾剂、喷雾剂应在要求的洁净度环境配制，及时密封于灭菌的洁净干燥容器中。

三、可按药物的性质添加适宜的溶剂、增溶剂、抗氧剂、表面活性剂、防腐剂等附加剂，所加附加剂对呼吸道、皮肤或黏膜应无刺激性。

四、气雾剂常用的抛射剂为适宜的低沸点液态气体。根据气雾剂所需压力，可将两种或几种抛射剂以适宜比例混合使用。

五、溶液型气雾剂和喷雾剂的药液应澄清；乳状液型气雾剂和喷雾剂的液滴在液体介质中应分散均匀；混悬型气雾剂和喷雾剂应将药物细粉和附加剂充分混匀、研细，制成稳定的混悬液。在制备过程中，必要时应严格控制水分，防止水分混入，以免影响成品的稳定性。吸入用气雾剂和喷雾剂的药粉粒径应控制在 $10\mu\text{m}$ 以下，其中大多数应为 $5\mu\text{m}$ 以下，一般不使用饮片细粉。

六、气雾剂的容器应能耐受气雾剂所需的压力，阀门各部件的尺寸精度和溶胀性必须符合要求，并不得与药物或附加剂发生理化反应。

七、除另有规定外，气雾剂和喷雾剂应能喷出均匀的雾滴(粒)。定量阀门气雾剂每揿压一次应喷出准确的剂量。非定量阀门气雾剂喷射时应能持续喷出均匀的剂量。喷雾剂每次揿压时应能均匀地喷出一定的剂量。

八、气雾剂和喷雾剂应标明每瓶的装量和主药含量或药液、提取物的重量，具定量阀门的气雾剂还应标明每瓶的总揿次和每揿喷量或主药含量。

九、气雾剂须用适宜方法进行泄漏和压力检查,以确保使用安全。

十、除另有规定外,气雾剂和喷雾剂应置凉暗处贮存,并避免曝晒、受热、撞击。

除另有规定外,非定量阀门气雾剂应作喷射速率和喷出总量检查。

【喷射速率】取供试品4瓶,除去帽盖,分别揿压阀门喷射数秒钟后,擦净,精密称定,将其浸入恒温水浴($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)中30分钟,取出,擦干。除另有规定外,揿压阀门持续准确喷射5秒钟,擦净,分别精密称定,然后再放入恒温水浴($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)中,按上法重复操作3次,计算每瓶的平均喷射速率(g/s),均应符合各品种项下的规定。

【喷出总量】取供试品4瓶,除去帽盖,精密称定,在通风橱内,分别揿压阀门连续喷射于已加入适量吸收液的容器中,直至喷尽为止,擦净,分别精密称定。每瓶喷出量均不得少于标示装量的85%。

除另有规定外,定量阀门气雾剂应作每瓶总揿次、每揿量或每揿主药含量检查。

【每瓶总揿次】取供试品4瓶,除去帽盖,充分振摇,在通风橱内,分别揿压阀门连续喷射于已加入适量吸收液的容器内(注意每次喷射间隔5秒并缓缓振摇),直至喷尽为止,分别计算喷射次数,每瓶总揿次均不得少于其标示总揿次。

【每揿量】取供试品4瓶,除去帽盖,分别揿压阀门试喷数次后,擦净,精密称定,揿压阀门喷射1次,擦净,再精密称定。前后两次重量之差为1个揿量。按上法连续测出3个揿量;不计重量揿压阀门连续喷射10次;再按上法连续测出3个揿量;再不计重量揿压阀门连续喷射10次;最后再按上法测出4个揿量。计算每瓶10个揿量的平均值。除另有规定外,应为标示揿量的80%~120%。

凡进行每揿主药含量检查的气雾剂,不再进行每瓶总揿量检查。

【每揿主药含量】取供试品1瓶,充分振摇,除去帽盖,试喷5次,用溶剂洗净套口,充分干燥后,倒置药瓶于加入一定量吸收液的适宜烧杯中,将套口浸入吸收液面下(至少2.5cm),除另有规定外,喷射10次或20次(注意每次喷射间隔5秒并缓缓振摇),取出药瓶,用吸收液洗净套口内外,合并吸收液,按各品种含量测定项下的方法测定,所得结果除以取样喷射次数,即为平均每揿主药含量,应符合各品种项下的有关规定。

除另有规定外,吸入用混悬型气雾剂和喷雾剂应作粒度检查。

【粒度】取供试品1瓶,充分振摇,除去帽盖,试喷数次,擦干,取清洁干燥的载玻片一块,置距喷嘴垂直方向5cm处喷射一次,用约2ml四氯化碳小心冲洗载玻片上的喷射物,吸干多余的四氯化碳,待干燥,盖上盖玻片,移置具有测微尺的400倍显微镜下检视,上下左右移动,检查25个视野,计数,药物粒径应在 $5\mu\text{m}$ 以下,粒径大于 $10\mu\text{m}$ 的粒子不得超过10粒。

除另有规定外,喷雾剂应作喷射试验和装量检查。

【喷射试验】取供试品4瓶,除去帽盖,分别揿压试喷数次后,擦净,精密称定,除另有规定外,揿压喷射5次,擦净,分别精密称定,按上法重复操作3次,计算每瓶每揿平均喷射量,均应符合各品种项下的规定。

【装量】照最低装量检查法(附录ⅢC)检查,应符合规定。

【无菌】用于烧伤或严重创伤的气雾剂、喷雾剂照无菌检查法(附录ⅢB)检查,应符合规定。

【微生物限度】除另有规定外,照微生物限度检查法(附录ⅢC)检查,应符合规定。

附录 II

附录 II A 药材和饮片取样法

药材和饮片取样法系指供检验用药材或饮片样品的取样方法。

取样时均应符合下列有关规定。

一、抽取样品前,应核对品名、产地、规格等级及包件式样,检查包装的完整性、清洁程度以及有无水迹、霉变或其他物质污染等情况,详细记录。凡有异常情况的包件,应单独检验并拍照。

二、从同批药材和饮片包件中抽取供检验用样品的原则:

总包件数不足5件的,逐件取样;

5~99件,随机抽5件取样;

100~1000件,按5%比例取样;

超过1000件的,超过部分按1%比例取样;

贵重药材和饮片,不论包件多少均逐件取样。

三、每一包件至少在2~3个不同部位各取样品1份;包件大的应从10cm以下的深处在不同部位分别抽取;对破碎的、粉末状的或大小在1cm以下的药材和饮片,可用采样器(探子)抽取样品;对包件较大或个体较大的药材,可根据实际情况抽取有代表性的样品。

每一包件的取样量:

一般药材和饮片抽取100~500g;

粉末状药材和饮片抽取25~50g;

贵重药材和饮片抽取5~10g。

四、将抽取的样品混匀,即为抽取样品总量。若抽取样品

附录 II B 药材和饮片检定通则

总量超过检验用量数倍时,可按四分法再取样,即将所有样品摊成正方形,依对角线划“×”,便分为四等份,取用对角两份;再如上操作,反复数次,直至最后剩余量能满足供检验用样品量。

五、最终抽取的供检验用样品量,一般不得少于检验所需用量的3倍,即1/3供实验室分析用,另1/3供复核用,其余1/3留样保存。

附录 II B 药材和饮片检定通则

药材和饮片的检定包括“性状”、“鉴别”、“检查”、“浸出物测定”、“含量测定”等项目。检定时应注意下列有关各项规定。

一、取样应按药材和饮片取样法(附录 II A)的规定进行。

二、为了正确检验,必要时可用符合本版药典规定的相应标准作对照。

三、供试品如已破碎或粉碎,除“性状”、“显微鉴别”项可不完全相同外,其他各项应符合规定。

四、“性状”系指药材和饮片的形状、大小、色泽、表面、质地、断面(包括折断面或切断面)及气味等特征。

1. 形状是指药材和饮片的外形。观察时一般不需预处理,如观察很皱缩的全草、叶或花类时,可先浸湿使软化后,展平,观察。观察某些果实、种子类时,如有必要可浸软后,取下果皮或种皮,以观察内部特征。

2. 大小是指药材和饮片的长短、粗细(直径)和厚薄。一般应测量较多的供试品,可允许有少量高于或低于规定的数值。测量时应用毫米刻度尺。对细小的种子或果实类,可将每10粒种子紧密排成一行,以毫米刻度尺测量后求其平均值。

3. 色泽是指在日光下观察的药材和饮片颜色及光泽度。如用两种色调复合描述颜色时,以后一种色调为主。例如黄棕色,即以棕色为主。

4. 观察药材或饮片表面特征、质地和断面特征时,供试品一般不作预处理。如折断面不易观察到纹理,可削平后进行观察。

5. 检查药材或饮片气味时,可直接嗅闻,或在折断、破碎或搓揉时进行。必要时可用热水湿润后检查。

6. 检查药材或饮片味感时,可取少量直接口尝,或加热水浸泡后尝浸出液。有毒药材和饮片如需尝味时,应注意防止中毒。

7. 药材和饮片外观不得有虫蛀、发霉、其他物质污染等异常现象。

五、“鉴别”系指检验药材和饮片真实性的方法,包括经验鉴别、显微鉴别及理化鉴别。

1. 经验鉴别系指用简便易行的传统方法观察供试品的颜色变化、浮沉情况以及爆鸣、色焰等特征。

2. 显微鉴别系指用显微镜观察供试品切片、粉末或表面等的组织、细胞或内含物等特征。照显微鉴别法(附录 II C)项下的方法制片观察。

3. 理化鉴别系指用化学或物理的方法,对供试品中所含

某些化学成分进行的鉴别试验。

(1)如用荧光法鉴别,将供试品(包括断面、浸出物等)经酸、碱处理后,置紫外光灯下约10cm处观察所产生的荧光。除另有规定外,紫外光灯的波长为365nm。

(2)如用微量升华法鉴别,取金属片或载玻片,置石棉网上,金属片或载玻片上放一高约8mm的金属圈,圈内放置适量供试品粉末,圈上覆盖载玻片,在石棉网下用酒精灯缓缓加热,至粉末开始变焦,去火待冷,载玻片上有升华物凝集。将载玻片反转后,置显微镜下观察结晶形状、色泽,或取升华物加试液观察反应。

(3)如用光谱和色谱鉴别,常用的有紫外-可见分光光度法、红外分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法等。

六、“检查”系指对药材和饮片的纯净程度、可溶性物质、有害或有毒物质进行的限量检查,包括水分、灰分、杂质、毒性成分、重金属及有害元素、农药残留、黄曲霉毒素等。

除另有规定外,饮片水分通常不得过13%,药屑杂质通常不得过3%。

七、“浸出物测定”系指用水或其他适宜的溶剂对药材和饮片中可溶性物质进行的测定。

八、“含量测定”系指用化学、物理或生物的方法,对供试品含有的有关成分进行检测。

【注意】(1)进行测定时,需粉碎的药材和饮片,应按正文标准项下规定的要求粉碎过筛,并注意混匀。

(2)检查和测定的方法按正文标准项下规定的方法或指定的有关附录方法进行。

(3)药材炮制项下仅规定除去杂质的炮制品,除另有规定外,应按药材标准检验。

附录 II C 显微鉴别法

显微鉴别法系指用显微镜对药材(饮片)切片、粉末、分离组织或表面制片及含饮片粉末的制剂中饮片的组织、细胞或内含物等特征进行鉴别的一种方法。鉴别时选择具有代表性的供试品,根据各品种鉴别项的规定制片。制剂根据不同剂型适当处理后制片。

一、药材(饮片)显微制片

1. 横切片或纵切片制片 取供试品欲观察部位,经软化处理后,用徒手或滑走切片法,切成10~20μm的薄片,必要时可包埋后切片。选取平整的薄片置载玻片上,根据观察对象不同,滴加甘油醋酸试液、水合氯醛试液或其他试液1~2滴,盖上盖玻片。必要时滴加水合氯醛试液后,在酒精灯上加热透化,并滴加甘油乙醇试液或稀甘油,盖上盖玻片。

2. 粉末制片 供试品粉末过四号筛,挑取少许置载玻片上,滴加甘油醋酸试液、水合氯醛试液或其他适宜的试液,盖上盖玻片。必要时,按上法加热透化。

3. 表面制片 将供试品湿润软化后,剪取欲观察部位

1mm²，正一反置载玻片上，或撕取表皮，加适宜的试液或加热融化后，盖上盖玻片。

4. 解离组织制片 将供试品切成长约 5mm、直径约 2mm 的段或厚约 1mm 的片，如供试品中薄壁组织占大部分，木化组织少或分散存在，采用氢氧化钾法；若供试品质地坚硬，木化组织较多或集成较大群束，采用硝酸铬法或氯酸钾法。

(1) 氢氧化钾法 将供试品置试管中，加 5% 氢氧化钾溶液适量，加热至用玻璃棒挤压能离散为止，倾去碱液，加水洗涤后，取少量置载玻片上，用解剖针撕开，滴加稀甘油，盖上盖玻片。

(2) 硝酸铬法 将供试品置试管中，加硝酸铬试液适量，放置至用玻璃棒挤压能离散为止，倾去酸液，加水洗涤后，照上法装片。

(3) 氯酸钾法 将供试品置试管中，加硝酸溶液 (1→2) 及氯酸钾少量，缓缓加热，待产生的气泡渐少时，再及时加入氯酸钾少量，以维持气泡稳定地发生，至用玻璃棒挤压能离散为止，倾去酸液，加水洗涤后，照上法装片。

5. 花粉粒与孢子制片 取花粉、花药 (或小的花)、孢子或孢子囊群 (干燥的供试品浸于冰醋酸中软化)，用玻璃棒研碎，经纱布过滤至离心管中，离心，取沉淀加新配制的醋酐与硫酸 (9:1) 的混合液 1~3ml，置水浴上加热 2~3 分钟，离心，取沉淀，用水洗涤 2 次，取沉淀少量置载玻片上，滴加水合氯醛试液，盖上盖玻片，或加 50% 甘油与 1% 苯酚各 1~2 滴，用品红甘油胶 [取明胶 1g，加水 6ml，浸泡至溶化，再加甘油 7ml，加热并轻轻搅拌至完全混匀，用纱布过滤至培养皿中，加碱性品红溶液 (碱性品红 0.1g，加无水乙醇 600ml 及樟油 80ml，溶解) 适量，混匀，凝固后即得] 封藏。

6. 磨片制片 坚硬的动物、矿物类药，可采用磨片法制片。选取厚度约 1~2mm 的供试材料，置粗磨石 (或磨砂玻璃板) 上，加适量水，用食指、中指夹住或压住材料，在磨石上往返磨，待两面磨平，且厚度约数百微米时，将材料移置细磨石上，加水，用软木塞压在材料上，往返磨砺至透明，用水冲洗，再用乙醇处理和甘油乙醇试液装片。

二、含饮片粉末的制剂显微制片

按供试品不同剂型，散剂、胶囊剂 (内容物为颗粒状，应研细)，可直接取适量粉末；片剂取 2~3 片，水丸、糊丸、水蜜丸、锭剂等 (包衣者除去包衣)，取数丸或 1~2 锭，分别置乳钵中研成粉末，取适量粉末；蜜丸应将药丸切开，从切面由外至中央挑取适量样品或用水脱蜜后，吸取沉淀物少量。根据观察对象不同，分别按粉末制片法制片 (1~5 片)。

三、细胞壁性质的鉴别

1. 木质化细胞壁 加间苯三酚试液 1~2 滴，稍放置，加盐酸 1 滴，因木质化程度不同，显红色或紫红色。

2. 木栓化或角质化细胞壁 加苏丹 III 试液，稍放置或加热，显橘红色至红色。

3. 纤维素细胞壁 加氯化锌碘试液，或先加碘试液湿润后，稍放置，再加硫酸溶液 (33→50)，显蓝色或紫色。

4. 硅质化细胞壁 加硫酸无变化。

四、细胞内含物性质的鉴别

1. 淀粉粒

(1) 加碘试液，显蓝色或紫色。

(2) 用甘油醋酸试液装片，置偏光显微镜下观察，未糊化的淀粉粒显偏光现象；已糊化的无偏光现象。

2. 糊粉粒

(1) 加碘试液，显棕色或黄棕色。

(2) 加硝酸汞试液，显砖红色。材料中如含有多量脂肪油，应先用乙醚或石油醚脱脂后进行试验。

3. 脂肪油、挥发油、树脂

(1) 加苏丹 III 试液，显橘红色、红色或紫红色。

(2) 加 90% 乙醇，脂肪油和树脂不溶解 (蓖麻油及巴豆油例外)，挥发油则溶解。

4. 菊糖 加 10% α-萘酚乙醇溶液，再加硫酸，显紫红色并溶解。

5. 黏液 加钨红试液，显红色。

6. 草酸钙结晶

(1) 加稀醋酸不溶解，加稀盐酸溶解而无气泡发生。

(2) 加硫酸溶液 (1→2) 逐渐溶解，片刻后析出针状硫酸钙结晶。

7. 碳酸钙结晶 (钟乳体) 加稀盐酸溶解，同时有气泡发生。

8. 硅质 加硫酸不溶解。

五、显微测量

系指用目镜测微尺，在显微镜下测量细胞及细胞内含物等的大小。

1. 目镜测微尺 放在目镜筒内的一种标尺，为一个直径 18~20mm 的圆形玻璃片，中央刻有精确等距离的平行线刻度，常为 50 格或 100 格 (如图 1)。

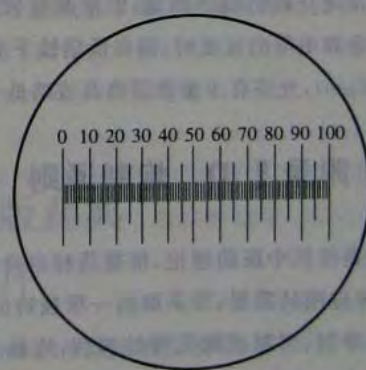


图 1 目镜测微尺

2. 载物台测微尺 在特制的载玻片中央粘贴一刻有精细尺度的圆形玻片。通常将长 1mm (或 2mm) 精确等分成 100 (或 200) 小格，每 1 小格长为 10μm，用以标定目镜测微尺 (如图 2)。

3. 目镜测微尺的标定 用以确定使用同一显微镜及特定倍数的物镜、目镜和镜筒长度时，目镜测微尺上每一格所代表的长度。

取载物台测微尺置显微镜载物台上，在高倍物镜 (或低倍

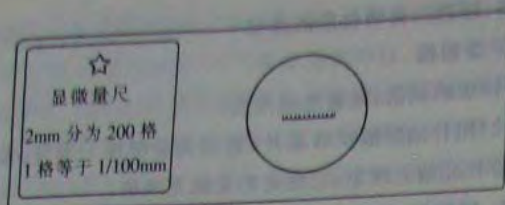


图2 载物台测微尺

物镜)下,将测微尺刻度移至视野中央。将目镜测微尺(正面向上)放入目镜筒内,旋转目镜,并移动载物台测微尺,使目镜测微尺的“0”刻度线与载物台测微尺的某刻度线相重合,然后再找第二条重合刻度线,根据两条重合线间两种测微尺的小格数,计算出目镜测微尺每一小格在该物镜条件下相当的长度(μm),如图3所示,目镜测微尺77个小格(0~77)与载物台测微尺的30个小格(0.7~1.0)相当,已知载物台测微尺每一小格的长度为 $10\mu\text{m}$ 。目镜测微尺每一小格长度为: $10\mu\text{m} \times 30 \div 77 = 3.8\mu\text{m}$ 。

当测定时要用不同的放大倍数时,应分别标定。

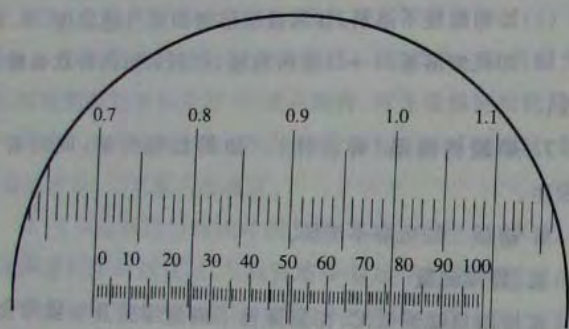


图3 表示视野中目镜测微尺与载物台测微尺的重合线

4. 测量方法 将需测量的目的物显微制片置显微镜载物台上,用目镜测微尺测量目的物的小格数,乘以上述每一小格的微米数。通常是在高倍镜下测量,但欲测量较长的目的物,如纤维、导管、非腺毛等的长度时,需在低倍镜下测量。记录最大值与最小值(μm),允许有少量数值略高或略低于规定。

附录 II D 炮制通则

中药炮制是按照中医药理论,根据药材自身性质,以及调剂、制剂和临床应用的需要,所采取的一项独特的制药技术。

药材凡经净制、切制或炮炙等处理后,均称为“饮片”;药材必须净制后方可进行切制或炮炙等处理。饮片是供中医临床调剂及中成药生产的配方原料。

本版药典规定的各饮片规格,系指临床配方使用的饮片规格。制剂中使用的饮片规格,应符合相应品种实际工艺的要求。

炮制用水,应为饮用水。

除另有规定外,应符合下列有关要求。

一、净制 即净选加工。可根据具体情况,分别使用挑选、筛选、风选、水选、剪、切、刮、削、剔除、酶法、剥离、挤压、焯、刷、擦、火燎、烫、撞、碾串等方法,以达到净度要求。

附录20

二、切制 切制时,除鲜切、干切外,均须进行软化处理,其方法有:喷淋、抢水洗、浸泡、润、漂、蒸、煮等。亦可使用回转式减压浸润罐,气相置换式润药箱等软化设备。软化处理应按药材的大小、粗细、质地等分别处理。分别规定温度、水量、时间等条件,应少泡多润,防止有效成分流失。切后应及时干燥,以保证质量。

切制品有片、段、块、丝等。其规格厚度通常为:

片 极薄片 0.5mm 以下,薄片 $1\sim 2\text{mm}$,厚片 $2\sim 4\text{mm}$;

段 短段 $5\sim 10\text{mm}$,长段 $10\sim 15\text{mm}$;

块 $8\sim 12\text{mm}$ 的方块;

丝 细丝 $2\sim 3\text{mm}$,宽丝 $5\sim 10\text{mm}$ 。

其他不宜切制者,一般应捣碎或碾碎使用。

三、炮炙 除另有规定外,常用的炮炙方法和要求如下:

1. 炒 炒制分单炒(清炒)和加辅料炒。需炒制者应为干燥品,且大小分档;炒时火力应均匀,不断翻动。应掌握加热温度、炒制时间及程度要求。

单炒(清炒) 取待炮炙品,置炒制容器内,用文火加热至规定程度时,取出,放凉。需炒焦者,一般用中火炒至表面焦褐色,断面焦黄色为度,取出,放凉;炒焦时易燃者,可喷淋清水少许,再炒干。

麸炒 先将炒制容器加热,至撒入麸皮即刻烟起,随即投入待炮炙品,迅速翻动,炒至表面呈黄色或深黄色时,取出,筛去麸皮,放凉。

除另有规定外,每 100kg 待炮炙品,用麸皮 $10\sim 15\text{kg}$ 。

砂炒 取洁净河砂置炒制容器内,用武火加热至滑利状态时,投入待炮炙品,不断翻动,炒至表面鼓起、酥脆或至规定的程度时,取出,筛去河砂,放凉。

除另有规定外,河砂以掩埋待炮炙品为度。

如需醋淬时,筛去辅料后,趁热投入醋液中淬酥。

蛤粉炒 取碾细过筛后的净蛤粉,置锅内,用中火加热至翻动较滑利时,投入待炮炙品,翻炒至鼓起或成珠、内部疏松、外表呈黄色时,迅速取出,筛去蛤粉,放凉。

除另有规定外,每 100kg 待炮炙品,用蛤粉 $30\sim 50\text{kg}$ 。

滑石粉炒 取滑石粉置炒制容器内,用中火加热至灵活状态时,投入待炮炙品,翻炒至鼓起、酥脆、表面黄色或至规定程度时,迅速取出,筛去滑石粉,放凉。

除另有规定外,每 100kg 待炮炙品,用滑石粉 $40\sim 50\text{kg}$ 。

2. 炙法 是待炮炙品与液体辅料共同拌润,并炒至一定程度的方法。

酒炙 取待炮炙品,加黄酒拌匀,闷透,置炒制容器内,用文火炒至规定的程度时,取出,放凉。

酒炙时,除另有规定外,一般用黄酒。除另有规定外,每 100kg 待炮炙品用黄酒 $10\sim 20\text{kg}$ 。

醋炙 取待炮炙品,加醋拌匀,闷透,置炒制容器内,炒至规定的程度时,取出,放凉。

醋炙时,用米醋。除另有规定外,每 100kg 待炮炙品,用米醋 20kg 。

盐炙 取待炮炙品，加盐水拌匀，闷透，置炒制容器内，以文火加热，炒至规定的程度时，取出，放凉。

盐炙时，用食盐，应先加适量水溶解后，滤过，备用。除另有规定外，每100kg待炮炙品用食盐2kg。

姜炙 姜炙时，应先将生姜洗净，捣烂，加水适量，压榨取汁，姜渣再加水适量重复压榨一次，合并汁液，即为“姜汁”。姜汁与生姜的比例为1:1。

取待炮炙品，加姜汁拌匀，置锅内，用文火炒至姜汁被吸尽，或至规定的程度时，取出，晾干。

除另有规定外，每100kg待炮炙品用生姜10kg。

蜜炙 蜜炙时，应先将炼蜜加适量沸水稀释后，加入待炮炙品中拌匀，闷透，置炒制容器内，用文火炒至规定程度时，取出，放凉。

蜜炙时，用炼蜜。除另有规定外，每100kg待炮炙品用炼蜜25kg。

油炙 羊脂油炙时，先将羊脂油置锅内加热溶化后去渣，加入待炮炙品拌匀，用文火炒至油被吸尽，表面光亮时，摊开，放凉。

3. 制炭 制炭时应“存性”，并防止灰化，更要避免复燃。

炒炭 取待炮炙品，置热锅内，用武火炒至表面焦黑色、内部焦褐色或至规定程度时，喷淋清水少许，熄灭火星，取出，晾干。

煨炭 取待炮炙品，置煨锅内，密封，加热至所需程度，放凉，取出。

4. 煨 煨制时应注意煨透，使酥脆易碎。

明煨 取待炮炙品，砸成小块，置适宜的容器内，煨至酥脆或红透时，取出，放凉，碾碎。

含有结晶水的盐类药材，不要求煨红，但需使结晶水蒸发至尽，或全部形成蜂窝状的块状固体。

煨淬 将待炮炙品煨至红透时，立即投入规定的液体辅料中，淬酥（若不酥，可反复煨淬至酥），取出，干燥，打碎或研粉。

5. 蒸 取待炮炙品，大小分档，按各品种炮制项下的规定，加清水或液体辅料拌匀、润透，置适宜的蒸制容器内，用蒸

汽加热至规定程度，取出，稍晾，拌回蒸液，再晾至六成干，切片或段，干燥。

6. 煮 取待炮炙品大小分档，按各品种炮制项下的规定，加清水或规定的辅料共煮透，至切开内无白心时，取出，晾至六成干，切片，干燥。

7. 炖 取待炮炙品按各品种炮制项下的规定，加入液体辅料，置适宜的容器内，密闭，隔水或用蒸汽加热炖透，或炖至辅料完全被吸尽时，放凉，取出，晾至六成干，切片，干燥。

蒸、煮、炖时，除另有规定外，一般每100kg待炮炙品，用水或规定的辅料20~30kg。

8. 煨 取待炮炙品用面皮或湿纸包裹，或用吸油纸均匀地隔层分放，进行加热处理；或将其与麸皮同置炒制容器内，用文火炒至规定程度取出，放凉。

除另有规定外，每100kg待炮炙品用麸皮50kg。

四、其他

1. 焯 取待炮制品投入沸水中，翻动片刻，捞出。有的种子类药材，焯至种皮由皱缩至舒展、易搓去时，捞出，放入冷水中，除去种皮，晒干。

2. 制霜（去油成霜） 除另有规定外，取待炮制品碾碎如泥，经微热，压榨除去大部分油脂，含油量符合要求后，取残渣研制成符合规定的松散粉末。

3. 水飞 取待炮制品，置容器内，加适量水共研成糊状，再加水，搅拌，倾出混悬液。残渣再按上法反复操作数次，合并混悬液，静置，分取沉淀，干燥，研散。

4. 发芽 取待炮制品，置容器内，加适量水浸泡后，取出，在适宜的湿度和温度下使其发芽至规定程度，晒干或低温干燥。注意避免带入油腻，以防烂芽。一般芽长不超过1cm。

5. 发酵 取待炮制品加规定的辅料拌匀后，制成一定形状，置适宜的湿度和温度下，使微生物生长至其中酶含量达到规定程度，晒干或低温干燥。注意发酵过程中，发现有黄曲霉菌，应禁用。

附录Ⅲ 成方制剂中本版药典未收载的药材和饮片

一点红 为菊科植物一点红 *Emilia sonchifolia* (L.) DC. 的干燥全草。

丁茄根 为茄科植物刺天茄 *Solanum indicum* L.、牛茄子 *Solanum surattense* Burm. f.、水茄 *Solanum torvum* Swartz. 或黄果茄 *Solanum xanthocarpum* Schrad. et Wendl. 的干燥根及老茎。

丁香叶 为木犀科植物洋丁香 *Syringa vulgaris* L.、朝鲜丁香 *Syringa dilatata* Nakai 或紫丁香 *Syringa oblata* Lindl. 的干燥叶。

八角枫 为八角枫科植物八角枫 *Alangium chinense*

(Lour.) Harms 的干燥细根及须根。

九节菖蒲 为毛茛科植物阿尔泰银莲花 *Anemone altaica* Fisch. ex C. A. Mey. 的干燥根茎。

九龙川 为大戟科植物巴豆 *Croton tiglium* L. 的干燥茎和根。

了哥王 为瑞香科植物了哥王 *Wikstroemia indica* G. A. Mey. 的干燥根或根茎。

三颗针皮 为小檗科植物拟猪刺 *Berberis soulieana* Schneid. 等同属数种植物的干燥根皮。

干蟾 为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans*

槐枝 为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥嫩枝。

硼砂 为天然产硼砂经精制而成的结晶。

碎骨木 为铁青树科植物华南青皮木 *Schoepfia chinensis* Gardn. et Champ. 或青皮木 *Schoepfia jasminodora* Sieb. et Zucc. 的干燥全株。

零陵香 为报春花科植物灵香草 *Lysimachia foenum-graecum* Hance 的干燥全草。

蜚螂 为金龟子科昆虫屎壳螂 *Catharsius molossus* Linnaeus 的干燥全体。

鼠妇虫 为潮虫科动物平甲虫 *Armadillidium vulgare* (Latreille) 的干燥全体。

梗米 为禾本科植物稻 *Oryza sativa* L. 的干燥种子。

煅白石脂 取白石脂细粉，用醋拌匀，搓条，切长段，干燥，照明煅法(附录Ⅱ D)煅至红透。用时捣碎或碾成细粉。

每100kg白石脂，用醋25kg。

榜嘎 为毛茛科植物船形乌头 *Aconitum naviculare* Stapf 或甘青乌头 *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf 的干燥全草。

蔓荆叶 为马鞭草科植物蔓荆 *Vitex trifolia* L. 的干燥叶。

蔓荆子根 为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *Vitex trifolia* L. 的干燥根。

碱花 为咸水湖边一种主含碳酸钠的分枝状结晶。

雌黄 为硫化物类雌黄族矿物雌黄矿石，主要成分是三硫化二砷。

鲜牛蒡草 为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的全草。

鲜凤仙透骨草 为凤仙花科植物凤仙花 *Impatiens balsamina* L. 的茎。

鲜竹沥 为禾本科植物净竹 *Phyllostachys nuda* McClure 及同属数种植物的鲜秆中的液体。

鲜松叶 为松科植物马尾松 *Pinus massoniana* Lamb.

的鲜叶。

熊胆粉 为熊科动物黑熊 *Selenarctos tibetanus* Cuvier 经胆囊手术引流胆汁而得的干燥品。

横经席 为山竹子科植物薄叶胡桐 *Calophyllum membranaceum* Gardn. et Champ. 的干燥全株。

槲叶 为壳斗科植物槲树 *Quercus dentata* Thunb. 的干燥叶。

樟脑 为樟科植物樟 *Cinnamomum camphora* (L.) Presl 的干枝、叶及根部经加工提取制得的结晶。

樟树根 为樟科植物樟 *Cinnamomum camphora* (L.) Presl 的干燥根。

墨旱莲草汁 为菊科植物墨旱莲草的鲜茎加水少许，压榨滤过取汁。

箭根薯 为箭根薯科植物箭根薯 *Tacca esquirolii* (Lévl.) Rehd. 的干燥根茎。

螃蟹甲 为唇形科植物螃蟹甲 *Phlomis younghusbandii* Mukerjee 的干燥块根。

藏木香 为菊科植物总状青木香 *Inula racemosa* Hook. f. 的干燥根。

藤合欢 为卫矛科植物南蛇藤 *Celastrus articulatus* Thunb. 的干燥果实。

藤苦参 为萝藦科植物马莲鞍 *Streptocaulon griffithii* Hook. f. 的干燥根。

鹰不扑 为五加科植物虎刺楸木 *Aralia armata* (Wall.) Seem. 或黄毛楸木 *Aralia decaisneana* Hance 的干燥根。

藿香 为唇形科植物藿香 *Agastache rugosus* (Fisch. et Mey.) O. Ktze. 的干燥地上部分。

蟾皮 为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥皮。

鳖甲胶 为鳖甲经煎煮、浓缩制成的固体胶。

附录IV 一般鉴别试验

水杨酸盐

(1)取供试品的稀溶液，加三氯化铁试液1滴，即显紫色。

(2)取供试品溶液，加稀盐酸，即析出白色水杨酸沉淀；分离，沉淀在醋酸铵试液中溶解。

丙二酰脲类

(1)取供试品约0.1g，加碳酸钠试液1ml与水10ml，振荡2分钟，滤过，滤液中逐滴加入硝酸银试液，即生成白色沉淀，振荡，沉淀即溶解；继续滴加过量的硝酸银试液，沉淀不再溶解。

(2)取供试品约50mg，加吡啶溶液(1→10)5ml，溶解后，

加铜吡啶试液1ml，即显紫色或生成紫色沉淀。

有机氯化物

取供试品约7mg，照氧瓶燃烧法(二部附录Ⅶ C)进行有机破坏，用水20ml与0.01mol/L氢氧化钠溶液6.5ml为吸收液，俟燃烧完毕后，充分振摇；取吸收液2ml，加茜素蓝试液0.5ml，再加12%醋酸钠的稀醋酸溶液0.2ml，用水稀释至4ml，加硝酸亚铋试液0.5ml，即显蓝紫色；同时做空白对照试验。

亚硫酸盐或亚硫酸氢盐

(1)取供试品，加盐酸，即发生二氧化硫的气体，有刺激性特臭，并能使硝酸亚汞试液湿润的滤纸显黑色。

(2) 取供试品溶液, 滴加碘试液, 碘的颜色即消褪。

亚锡盐

取供试品的水溶液 1 滴, 点于磷钼酸铵试纸上, 试纸应显蓝色。

托烷生物碱类

取供试品约 10mg, 加发烟硝酸 5 滴, 置水浴上蒸干, 得黄色的残渣, 放冷, 加乙醇 2~3 滴湿润, 加固体氢氧化钾一小粒, 即显深紫色。

汞盐

亚汞盐 (1) 取供试品, 加氨试液或氢氧化钠试液, 即变黑色。

(2) 取供试品, 加碘化钾试液, 振摇, 即生成黄绿色沉淀, 瞬即变为灰绿色, 并逐渐转变为灰黑色。

汞盐 (1) 取供试品溶液, 加氢氧化钠试液, 即生成黄色沉淀。

(2) 取供试品的中性溶液, 加碘化钾试液, 即生成猩红色沉淀, 能在过量的碘化钾试液中溶解; 再以氢氧化钠试液碱化, 加铵盐即生成红棕色的沉淀。

(3) 取不含过量硝酸的供试品溶液, 涂于光亮的铜箔表面, 擦拭后即生成一层光亮似银的沉积物。

芳香第一胺类

取供试品约 50mg, 加稀盐酸 1ml, 必要时缓缓煮沸使溶解, 放冷, 加 0.1mol/L 亚硝酸钠溶液数滴, 滴加碱性 β-萘酚试液数滴, 视供试品不同, 生成由橙黄到猩红色沉淀。

苯甲酸盐

(1) 取供试品的中性溶液, 滴加三氯化铁试液, 即生成赭色沉淀; 再加稀盐酸, 变为白色沉淀。

(2) 取供试品, 置干燥试管中, 加硫酸后, 加热, 不炭化, 但析出苯甲酸, 并在试管内壁凝结成白色升华物。

乳酸盐

取供试品溶液 5ml (约相当于乳酸 5mg), 置试管中, 加溴试液 1ml 与稀硫酸 0.5ml, 置水浴上加热, 并用玻棒小心搅拌至褪色, 加硫酸铵 4g, 混匀, 沿管壁逐滴加入 10% 亚硝基铁氰化钠的稀硫酸溶液 0.2ml 和浓氨试液 1ml, 使成两液层; 在放置 30 分钟内, 两液层的界面处出现一暗绿色环。

枸橼酸盐

(1) 取供试品溶液 2ml (约相当于枸橼酸 10mg), 加稀硫酸数滴, 加热至沸, 加高锰酸钾试液数滴, 振摇, 紫色即消失; 溶液分成两份, 一份中加硫酸汞试液 1 滴, 另一份中逐滴加入溴试液, 均生成白色沉淀。

(2) 取供试品约 5mg, 加吡啶-醋酐 (3:1) 约 5ml, 振摇, 即生成黄色到红色或紫红色的溶液。

钙盐

(1) 取铂丝, 用盐酸湿润后, 蘸取供试品, 在无色火焰中燃烧, 火焰即显砖红色。

(2) 取供试品溶液 (1→20), 加甲基红指示液 2 滴, 用氨试

液中和, 再滴加盐酸至恰呈酸性, 加草酸铵试液, 即生成白色沉淀, 分离, 沉淀不溶于醋酸, 但可溶于稀盐酸。

钠盐

(1) 取铂丝, 用盐酸湿润后, 蘸取供试品, 在无色火焰中燃烧, 火焰即显鲜黄色。

(2) 取供试品约 100mg, 置 10ml 试管中, 加水 2ml 溶解, 加 15% 碳酸钾溶液 2ml, 加热至沸, 应不得有沉淀生成; 加铈试液 4ml, 加热至沸; 置冰水中冷却, 必要时, 用玻璃棒摩擦试管内壁, 应有致密的沉淀生成。

钡盐

(1) 取铂丝, 用盐酸湿润后, 蘸取供试品, 在无色火焰中燃烧, 火焰即显黄绿色; 通过绿色玻璃透视, 火焰显蓝色。

(2) 取供试品溶液, 滴加稀硫酸, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀在盐酸或硝酸中均不溶解。

酒石酸盐

(1) 取供试品的中性溶液, 置洁净的试管中, 加氨制硝酸银试液数滴, 置水浴中加热, 银即游离并附在试管的内壁成银镜。

(2) 取供试品溶液, 加醋酸成酸性后, 加硫酸亚铁试液 1 滴和过氧化氢试液 1 滴, 俟溶液褪色后, 用氢氧化钠试液碱化, 溶液即显紫色。

铋盐

(1) 取供试品溶液, 滴加碘化钾试液, 即生成红棕色溶液或暗棕色沉淀; 分离, 沉淀能在过量碘化钾试液中溶解成黄棕色的溶液, 再加水稀释, 又生成橙色沉淀。

(2) 取供试品溶液, 用稀硫酸酸化, 加 10% 硫脲溶液, 即显深黄色。

钾盐

(1) 取铂丝, 用盐酸湿润后, 蘸取供试品, 在无色火焰中燃烧, 火焰即显紫色; 但有少量的钠盐混存时, 须隔蓝色玻璃透视, 方能辨认。

(2) 取供试品, 加热炽灼除去可能杂有的铵盐, 放冷后, 加水溶解, 再加 0.1% 四苯硼钠溶液与醋酸, 即生成白色沉淀。

铁盐

亚铁盐 (1) 取供试品溶液, 滴加铁氰化钾试液, 即生成深蓝色沉淀; 分离, 沉淀在稀盐酸中不溶, 但加氢氧化钠试液, 即分解成棕色沉淀。

(2) 取供试品溶液, 加 1% 邻二氮菲的乙醇溶液数滴, 即显深红色。

铁盐 (1) 取供试品溶液, 滴加亚铁氰化钾试液, 即生成深蓝色沉淀; 分离, 沉淀在稀盐酸中不溶, 但加氢氧化钠试液, 即分解成棕色沉淀。

(2) 取供试品溶液, 滴加硫氰酸铵试液, 即显血红色。

铵盐

(1) 取供试品, 加过量的氢氧化钠试液后, 加热, 即分解, 发生氨臭; 遇用水湿润的红色石蕊试纸, 能使之变蓝色, 并能

使硝酸亚汞试液湿润的滤纸显黑色。

(2) 取供试品溶液, 加碱性碘化汞钾试液 1 滴, 即生成红棕色沉淀。

银盐

(1) 取供试品溶液, 加稀盐酸, 即生成白色凝乳状沉淀; 分离, 沉淀能在氨试液中溶解, 加稀硝酸酸化后, 沉淀复生成。

(2) 取供试品溶液, 滴加铬酸钾试液, 即生成砖红色沉淀; 分离, 沉淀能在硝酸中溶解。

铜盐

(1) 取供试品溶液, 滴加氨试液, 即生成淡蓝色沉淀; 再加过量的氨试液, 沉淀即溶解, 生成深蓝色溶液。

(2) 取供试品溶液, 加亚铁氰化钾试液, 即显红棕色或生成红棕色沉淀。

锂盐

(1) 取供试品溶液, 加氢氧化钠试液碱化后, 加入碳酸钠试液, 煮沸, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀能在氯化铵试液中溶解。

(2) 取铂丝, 用盐酸湿润后, 蘸取供试品, 在无色火焰中燃烧, 火焰显胭脂红色。

(3) 取供试品适量, 加入稀硫酸或可溶性硫酸盐溶液, 不生成沉淀(与铯盐区别)。

硫酸盐

(1) 取供试品溶液, 滴加氯化钡试液, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀在盐酸或硝酸中均不溶解。

(2) 取供试品溶液, 滴加醋酸铅试液, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀在醋酸铵试液或氢氧化钠试液中溶解。

(3) 取供试品溶液, 加盐酸, 不生成白色沉淀(与硫代硫酸盐区别)。

硝酸盐

(1) 取供试品溶液, 置试管中, 加等量的硫酸, 小心混合, 冷后, 沿管壁加硫酸亚铁试液, 使成两液层, 接界面显棕色。

(2) 取供试品溶液, 加硫酸与铜丝(或铜屑), 加热, 即发生红棕色的蒸气。

(3) 取供试品溶液, 滴加高锰酸钾试液, 紫色不应褪去(与亚硝酸盐区别)。

锌盐

(1) 取供试品溶液, 加亚铁氰化钾试液, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀在稀盐酸中不溶解。

(2) 取供试品制成中性或碱性溶液, 加硫化钠试液, 即生成白色沉淀。

铋盐

(1) 取供试品溶液, 加醋酸成酸性后, 置水浴上加热, 趁热加硫代硫酸钠试液数滴, 逐渐生成橙红色沉淀。

(2) 取供试品溶液, 加盐酸成酸性后, 通硫化氢, 即生成橙红色沉淀; 分离, 沉淀能在硫化铵试液或硫化钠试液中溶解。

铝盐

(1) 取供试品溶液, 滴加氢氧化钠试液, 即生成白色胶状

沉淀; 分离, 沉淀能在过量的氢氧化钠试液中溶解。

(2) 取供试品溶液, 加氨试液至生成白色胶状沉淀, 滴加茜素磺酸钠指示液数滴, 沉淀即显樱红色。

氧化物

(1) 取供试品溶液, 加稀硝酸使成酸性后, 滴加硝酸银试液, 即生成白色凝乳状沉淀; 分离, 沉淀加氨试液即溶解, 再加稀硝酸酸化后, 沉淀复生成。如供试品为生物碱或其他有机碱的盐酸盐, 须先加氨试液使成碱性, 将析出的沉淀滤过除去, 取滤液进行试验。

(2) 取供试品少量, 置试管中, 加等量的二氧化锰, 混匀, 加硫酸湿润, 缓缓加热, 即发生氯气, 能使用水湿润的碘化钾淀粉试纸显蓝色。

溴化物

(1) 取供试品溶液, 滴加硝酸银试液, 即生成淡黄色凝乳状沉淀; 分离, 沉淀能在氨试液中微溶, 但在硝酸中几乎不溶。

(2) 取供试品溶液, 滴加氯试液, 溴即游离, 加三氯甲烷振摇, 三氯甲烷层显黄色或红棕色。

碘化物

(1) 取供试品溶液, 滴加硝酸银试液, 即生成黄色凝乳状沉淀; 分离, 沉淀在硝酸或氨试液中均不溶解。

(2) 取供试品溶液, 加少量的氯试液, 碘即游离; 如加三氯甲烷振摇, 三氯甲烷层显紫色; 如加淀粉指示液, 溶液显蓝色。

硼酸盐

(1) 取供试品溶液, 加盐酸成酸性后, 能使姜黄试纸变成棕红色; 放置干燥, 颜色即变深, 用氨试液湿润, 即变为绿黑色。

(2) 取供试品, 加硫酸, 混合后, 加甲醇, 点火燃烧, 即发生边缘带绿色的火焰。

碳酸盐与碳酸氢盐

(1) 取供试品溶液, 加稀酸, 即泡沸, 发生二氧化碳气, 导入氢氧化钙试液中, 即生成白色沉淀。

(2) 取供试品溶液, 加硫酸镁试液, 如为碳酸盐溶液, 即生成白色沉淀; 如为碳酸氢盐溶液, 须煮沸, 始生成白色沉淀。

(3) 取供试品溶液, 加酚酞指示液, 如为碳酸盐溶液, 即显深红色; 如为碳酸氢盐溶液, 不变色或仅显微红色。

镁盐

(1) 取供试品溶液, 加氨试液, 即生成白色沉淀; 滴加氯化铵试液, 沉淀溶解; 再加磷酸氢二钠试液 1 滴, 振摇, 即生成白色沉淀; 分离, 沉淀在氨试液中不溶。

(2) 取供试品溶液, 加氢氧化钠试液, 即生成白色沉淀。分离, 沉淀分成两份, 一份中加过量的氢氧化钠试液, 沉淀不溶; 另一份中加碘试液, 沉淀转成红棕色。

醋酸盐

(1) 取供试品, 加硫酸和乙醇后, 加热, 即分解产生乙酸乙酯的香气。

(2) 取供试品溶液, 加三氯化铁试液 1 滴, 溶液呈

深红色,加稀无机酸,红色即褪去。

磷酸盐

(1)取供试品的水性溶液,加硝酸银试液,即生成浅黄色沉淀;分离,沉淀在氨试液或稀硝酸中均易溶解。

(2)取供试品溶液,加氯化铵试液,即生成白色结晶性沉淀。

(3)取供试品溶液,加钼酸铵试液与硝酸后,加热即生成黄色沉淀;分离,沉淀能在氨试液中溶解。

附录V 分光光度法

分光光度法是通过测定被测物质在特定波长处或一定波长范围内的吸光度或发光强度,对该物质进行定性和定量分析的方法。

常用的波长范围为:(1)200~400nm的紫外光区;(2)400~760nm的可见光区;(3)760~2500nm的近红外光区;(4)2.5~25 μ m(按波数为4000~400 cm^{-1})的中红外光区。所用仪器为紫外分光光度计、可见分光光度计(或比色计)、红外分光光度计或原子吸收分光光度计。为保证测量的精密度和准确度,所用仪器应按照国家计量检定规程或本附录规定,定期进行校正检定。

单色光辐射穿过被测物质溶液时,在一定的浓度范围内被该物质吸收的量与该物质的浓度和液层的厚度(光路长度)成正比,其关系如下式:

$$A = \lg \frac{1}{T} = Ecl$$

式中 A 为吸光度;

T 为透光率;

E 为吸收系数,采用的表示方法是 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$,其物理意义为当溶液浓度为 1%(g/ml),液层厚度为 1cm 时的吸光度数值;

c 为 100ml 溶液中所含被测物质的重量(按干燥品或无水物计算),g;

l 为液层厚度,cm。

物质对光的选择性吸收波长,以及相应的吸收系数是该物质的物理常数。当已知某纯物质在一定条件下的吸收系数后,可用同样条件将该供试品配成溶液,测定其吸光度,即可由上式计算出供试品中该物质的含量。在可见光区,除某些物质对光有吸收外,很多物质本身并没有吸收,但可在一定条件下加入显色试剂或经过处理使其显色后再测定,故又称比色分析。

附录V A 紫外-可见分光光度法

仪器的校正和检定

1. 波长 由于环境因素对机械部分的影响,仪器的波长经常会略有变动,因此除应定期对所用的仪器进行全面校正检定外,还应于测定前校正测定波长。常用汞灯中的较强谱线 237.83nm, 253.65nm, 275.28nm, 296.73nm, 313.16nm,

334.15nm, 365.02nm, 404.66nm, 435.83nm, 546.07nm 与 576.96nm;或用仪器中氙灯的 486.02nm 与 656.10nm 谱线进行校正;钠玻璃在波长 279.4nm, 287.5nm, 333.7nm, 360.9nm, 418.5nm, 460.0nm, 484.5nm, 536.2nm 与 637.5nm 处有尖锐吸收峰,也可作波长校正用,但因来源不同或随着时间的推移会有微小的变化,使用时应注意;近年来,常使用高氯酸铊溶液校正双光束仪器,以 10% 高氯酸溶液为溶剂,配制含氧化铊(Ho_2O_3) 4% 的溶液,该溶液的吸收峰波长为 241.13nm, 278.10nm, 287.18nm, 333.44nm, 345.47nm, 361.31nm, 416.28nm, 451.30nm, 485.29nm, 536.64nm 和 640.52nm。

仪器波长的允许误差为:紫外光区 $\pm 1\text{nm}$, 500nm 附近 $\pm 2\text{nm}$ 。

2. 吸光度的准确度 可用重铬酸钾的硫酸溶液检定。取在 120℃ 干燥至恒重的基准重铬酸钾约 60mg,精密称定,用 0.005mol/L 硫酸溶液溶解并稀释至 1000ml,在规定的波长处测定并计算其吸收系数,并与规定的吸收系数比较,应符合表中的规定。

波长/nm	235(最小)	257(最大)	313(最小)	350(最大)
吸收系数($E_{1\%}^{1\text{cm}}$)	124.5	144.0	48.6	106.6
的规定值				
吸收系数($E_{1\%}^{1\text{cm}}$)	123.0~	142.8~	47.0~	105.5~
的许可范围	126.0	146.2	50.3	108.5

3. 杂散光的检查 可按下表所列的试剂和浓度,配制成水溶液,置 1cm 石英吸收池中,在规定的波长处测定透光率,应符合表中的规定。

试剂	浓度/(g/ml)	测定用波长/nm	透光率/%
碘化钠	1.00	220	<0.8
亚硝酸钠	5.00	340	<0.8

对溶剂的要求

含有杂原子的有机溶剂,通常均具有很强的末端吸收,因此,当作溶剂使用时,它们的使用范围均不能小于截止使用波长。例如甲醇、乙醇的截止使用波长为 205nm。另外,当溶剂不纯时,也可能增加干扰吸收。因此,在测定供试品前,应先检查所用的溶剂在供试品所用的波长附近是否符合要求,即将溶剂置 1cm 石英吸收池中,以空气为空白(即空白光路中不置任何物质)测定其吸光度。溶剂和吸收池的吸光度,在

220~240nm 范围内不得超过 0.40, 在 241~250nm 范围内不得超过 0.20, 在 251~300nm 范围内不得超过 0.10, 在 300nm 以上时不得超过 0.05。

测定法

测定时,除另有规定外,应以配制供试品溶液的同批溶剂为空白对照,采用 1cm 的石英吸收池,在规定的吸收峰波长 $\pm 2\text{nm}$ 以内测试几个点的吸光度,或由仪器在规定波长附近自动扫描测定,以核对供试品的吸收峰波长位置是否正确。除另有规定外,吸收峰波长应在该品种项下规定的波长 $\pm 2\text{nm}$ 以内,并以吸光度最大的波长作为测定波长。一般供试品溶液的吸光度读数,以在 0.3~0.7 之间为宜。仪器的狭缝波带宽度宜小于供试品吸收带的半高宽度的十分之一,否则测得的吸光度会偏低;狭缝宽度的选择,应以减小狭缝宽度时供试品的吸光度不再增大为准。由于吸收池和溶剂本身可能有空白吸收,因此测定供试品的吸光度后应减去空白读数,或由仪器自动扣除空白读数后再计算含量。

当溶液的 pH 值对测定结果有影响时,应将供试品溶液的 pH 值和对照品溶液的 pH 值调成一致。

1. 鉴别和检查 分别按各品种项下规定的方法进行。

2. 含量测定 一般有下列几种方法。

(1) 对照品比较法 按各品种项下的方法,分别配制供试品溶液和对照品溶液,对照品溶液中所含被测成分的量应为供试品溶液中被测成分规定量的 $100\% \pm 10\%$,所用溶剂也应完全一致,在规定的波长处测定供试品溶液和对照品溶液的吸光度后,按下式计算供试品中被测溶液的浓度:

$$c_X = (A_X/A_R)c_R$$

式中 c_X 为供试品溶液的浓度;

A_X 为供试品溶液的吸光度;

c_R 为对照品溶液的浓度;

A_R 为对照品溶液的吸光度。

(2) 吸收系数法 按各品种项下的方法配制供试品溶液,在规定的波长处测定其吸光度,再以该品种在规定条件下的吸收系数计算含量。用本法测定时,吸收系数通常应大于 100,并注意仪器的校正和检定。

(3) 计算分光光度法 计算分光光度法有多种,使用时应按各品种项下规定的方法进行。当吸光度处在吸收曲线的陡然上升或下降的部位测定时,波长的微小变化可能对测定结果造成显著影响,故对照品和供试品的测试条件应尽可能一致。计算分光光度法一般不宜用作含量测定。

(4) 比色法 供试品本身在紫外-可见光区没有强吸收,或在紫外光区虽有吸收但为了避免干扰或提高灵敏度,可加入适当的显色剂,使反应产物的最大吸收移至可见光区,这种测定方法称为比色法。

用比色法测定时,由于显色时影响显色深浅的因素较多,应取供试品与对照品或标准品同时操作。除另有规定外,比色法所用的空白系指用同体积的溶剂代替对照品或供试品溶液,然后依次加入等量的相应试剂,并用同样方法处理。在规

定的波长处测定对照品和供试品溶液的吸光度后,按上述(1)法计算供试品浓度。

当吸光度和浓度关系不呈良好线性时,应取数份梯度量的对照品溶液,用溶剂补充至同一体积,显色后测定各份溶液的吸光度,然后以吸光度与相应的浓度绘制标准曲线,再根据供试品的吸光度在标准曲线上查得其相应的浓度,并求出其含量。

附录V C 红外分光光度法

仪器及其校正

可使用傅里叶变换红外光谱仪或色散型红外分光光度计。用聚苯乙烯薄膜(厚度约为 0.04mm)校正仪器,绘制其光谱图,用 3027cm^{-1} , 2851cm^{-1} , 1601cm^{-1} , 1428cm^{-1} , 907cm^{-1} 处的吸收峰对仪器的波数进行校正。傅里叶变换红外光谱仪在 3000cm^{-1} 附近的波数误差应不大于 $\pm 5\text{cm}^{-1}$, 在 1000cm^{-1} 附近的波数误差应不大于 $\pm 1\text{cm}^{-1}$ 。

用聚苯乙烯薄膜校正时,仪器的分辨率要求在 $3110 \sim 2850\text{cm}^{-1}$ 范围内应能清晰地分辨出 7 个峰,峰 2851cm^{-1} 与谷 2870cm^{-1} 之间的分辨深度不小于 18% 透光率,峰 1583cm^{-1} 与谷 1589cm^{-1} 之间的分辨深度不小于 12% 透光率。仪器的标称分辨率,除另有规定外,应不低于 2cm^{-1} 。

供试品的制备及测定

1. 原料药鉴别 除另有规定外,应按照国家药典委员会编订的《药品红外光谱集》各卷收录的各光谱图所规定的方法制备样品。具体操作技术参见《药品红外光谱集》的说明。

采用固体制样技术时,最常碰到的问题是多晶现象,固体样品的晶型不同,其红外光谱往往也会产生差异。当供试品的实测光谱与《药品红外光谱集》所收录的标准光谱不一致时,在排除各种可能影响光谱的外在或人为因素后,应按该药品光谱图中备注的方法或各品种项下规定的方法进行预处理,再绘制光谱,比对。如未规定该品种供药用的晶型或预处理方法,则可使用对照品,并采用适当的溶剂对供试品与对照品在相同的条件下同时进行重结晶,然后依法绘制光谱,比对。如已规定特定的药用晶型,则应采用相应晶型的对照品依法比对。

当采用固体制样技术不能满足鉴别需要时,可改用溶液法绘制光谱后比对。

2. 制剂鉴别 品种鉴别项下应明确规定制剂的前处理方法,通常采用溶剂提取法。提取时应选择适宜的溶剂,以尽可能减少辅料的干扰,并力求避免导致可能的晶型转变。提取的样品再经适当干燥后依法进行红外光谱鉴别。

3. 多组分原料药鉴别 不能采用全光谱比对,可借鉴【注意事项】“2(3)”的方法,选择主要成分的若干个特征谱带,用于组成相对稳定的多组分原料药的鉴别。

4. 晶型、异构体限度检查或含量测定 供试品制备和具体测定方法均按各品种项下有关规定操作。

【注意事项】

1. 各品种项下规定“应与对照的图谱(光谱集××图)一致”,系指《药品红外光谱集》各卷所载的图谱。同一化合物的图谱若在不同卷上均有刊载时,则以后卷所载的图谱为准。

2. 药物制剂经提取处理并依法绘制光谱,比对应注意以下四种情况:

(1)辅料无干扰,待测成分的晶型不变化,此时可直接与原料药的标准光谱进行比对;

(2)辅料无干扰,但待测成分的晶型有变化,此种情况可用对照品经同法处理后的光谱比对;

(3)待测成分的晶型不变化,而辅料存在不同程度的干扰,此时可参照原料药的标准光谱,在指纹区内选择3~5个不受辅料干扰的待测成分的特征谱带作为鉴别的依据。鉴别时,实测谱带的波数误差应小于规定值的0.5%;

(4)待测成分的晶型有变化,辅料也存在干扰,此种情况一般不宜采用红外光谱鉴别。

3. 由于各种型号的仪器性能不同,供试品制备时研磨程度的差异或吸水程度不同等原因,均会影响光谱的形状。因此,进行光谱比对应,应考虑各种因素可能造成的影响。

附录V D 原子吸收分光光度法

原子吸收分光光度法的测量对象是呈原子状态的金属元素和部分非金属元素,系由待测元素灯发出的特征谱线通过供试品经原子化产生的原子蒸气时,被蒸气中待测元素的基态原子所吸收,通过测定辐射光强度减弱的程度,求出供试品中待测元素的含量。原子吸收分光光度法遵循分光光度法的吸收定律,一般通过比较对照品溶液和供试品溶液的吸光度,求得供试品中待测元素的含量。

对仪器的一般要求

所用仪器为原子吸收分光光度计,由光源、原子化器、单色器和检测系统等组成,另有背景校正系统、自动进样系统等。

1. 光源 常用待测元素作为阴极的空心阴极灯。

2. 原子化器 主要有四种类型:火焰原子化器、石墨炉原子化器、氢化物发生原子化器及冷蒸气发生原子化器。

(1)火焰原子化器 由雾化器及燃烧灯头等主要部件组成。其功能是将供试品溶液雾化成气溶胶后,再与燃气混合,进入燃烧灯头产生的火焰中,以干燥、蒸发、离解供试品,使待测元素形成基态原子。燃烧火焰由不同种类的气体混合物产生,常用乙炔-空气火焰。改变燃气和助燃气的种类及比例可以控制火焰的温度,以获得较好的火焰稳定性和测定灵敏度。

(2)石墨炉原子化器 由电热石墨炉及电源等部件组成。其功能是将供试品溶液干燥、灰化,再经高温原子化使待测元素形成基态原子。一般以石墨作为发热体,炉中通入保护气,以防氧化并能输送试样蒸气。

附录32

(3)氢化物发生原子化器 由氢化物发生器和原子吸收池组成,可用于砷、锑、铅、锡、碲、锗、铋等元素的测定。其功能是将待测元素在酸性介质中还原成低沸点、易受热分解的氢化物,再由载气导入由石英管、加热器等组成的原子吸收池,在吸收池中氢化物被加热分解,并形成基态原子。

(4)冷蒸气发生原子化器 由汞蒸气发生器和原子吸收池组成,专门用于汞的测定。其功能是将供试品溶液中的汞离子还原成游离汞,再由载气将汞蒸气导入石英原子吸收池,进行测定。

3. 单色器 其功能是从光源发射的电磁辐射中分离出所需要的电磁辐射,仪器光路应能保证有良好的光谱分辨率和在相当窄的光谱带(0.2nm)下 ze 常 ze 工作的能力,波长范围一般为190.0~900.0nm。

4. 检测系统 由检测器、信号处理器和指示记录器组成,应具有较高的灵敏度和较好的稳定性,并能及时跟踪吸收信号的急速变化。

5. 背景校正系统 背景干扰是原子吸收测定中的常见现象。背景吸收通常来源于样品中的共存组分及其在原子化过程中形成的次生分子或原子的热发射、光吸收和光散射等。这些干扰在仪器设计时应设法予以克服。常用的背景校正法有连续光源(在紫外光区通常用氘灯)、塞曼效应、自吸效应等。

在原子吸收分光光度分析中,必须注意背景以及其他原因引起的对测定的干扰。仪器某些工作条件(如波长、狭缝、原子化条件等)的变化可影响灵敏度、稳定程度和干扰情况。在火焰法原子吸收测定中可采用选择适宜的测定谱线和狭缝、改变火焰温度、加入络合剂或释放剂、采用标准加入法等方法消除干扰;在石墨炉原子吸收测定中可采用选择适宜的背景校正系统,加入适宜的基体改进剂等方法消除干扰。具体方法应按各品种项下的规定选用。

测定法

第一法(标准曲线法) 在仪器推荐的浓度范围内,制备含待测元素的对照品溶液至少3份,浓度依次递增,并分别加入各品种项下制备供试品溶液的相应试剂,同时以相应试剂制备空白对照溶液。将仪器按规定启动后,依次测定空白对照溶液和各浓度对照品溶液的吸光度,记录读数。以每一浓度3次吸光度读数的平均值为纵坐标、相应浓度为横坐标,绘制标准曲线。按各品种项下的规定制备供试品溶液,使待测元素的估计浓度在标准曲线浓度范围内,测定吸光度,取3次读数的平均值,从标准曲线上查得相应的浓度,计算元素的含量。

第二法(标准加入法) 取同体积按各品种项下规定制备的供试品溶液4份,分别置4个同体积的量瓶中,除(1)号量瓶外,其他量瓶分别精密加入不同浓度的待测元素对照品溶液,分别用去离子水稀释至刻度,制成从零开始递增的一系列溶液。按上述标准曲线法自“将仪器按规定启动后”操作,测

定吸光度,记录读数;将吸光度读数与相应的待测元素加入量作图,延长此直线至与含量轴的延长线相交,此交点与原点间的距离即相当于供试品溶液取用量中待测元素的含量(如图)。再以此计算供试品中待测元素的含量。此法仅适用于第一法标准曲线呈线性并通过原点的情况。

当用于杂质限度检查时,取供试品,按各品种项下的规定,制备供试品溶液;另取等量的供试品,加入限度量度的待测元素溶液,制成对照品溶液。照上述标准曲线法操作,设对照品溶液的读数为 a ,供试品溶液的读数为 b , b 值应小于 $(a-b)$ 。

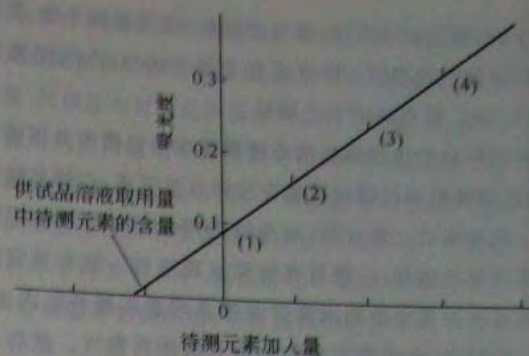


图 标准加入法测定图示

附录 VI 色谱法

色谱法根据其分离原理可分为:吸附色谱法、分配色谱法、离子交换色谱法与排阻色谱法等。吸附色谱法是利用被分离物质在吸附剂上吸附能力的不同,用溶剂或气体洗脱使组分分离;常用的吸附剂有氧化铝、硅胶、聚酰胺等有吸附活性的物质。分配色谱法是利用被分离物质在两相中分配系数的不同使组分分离,其中一相被涂布或键合在固体载体上,称为固定相,另一相为液体或气体,称为流动相;常用的载体有硅胶、硅藻土、硅镁型吸附剂与纤维素粉等。离子交换色谱法是利用被分离物质在离子交换树脂上交换能力的不同使组分分离;常用的树脂有不同强度的阳离子交换树脂、阴离子交换树脂,流动相为水或含有机溶剂的缓冲液。分子排阻色谱法又称凝胶色谱法,是利用被分离物质分子大小的不同导致在填料上渗透程度不同使组分分离;常用的填料有分子筛、葡聚糖凝胶、微孔聚合物、微孔硅胶或玻璃珠等,根据固定相和供试品的性质选用水或有机溶剂作为流动相。

色谱法又可根据分离方法分为:纸色谱法、薄层色谱法、柱色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法等。所用溶剂应与供试品不起化学反应,纯度要求较高。分离时的温度,除气相色谱法或另有规定外,系指在室温操作。分离后各成分的检测,应采用各品种项下所规定的方法。采用纸色谱法、薄层色谱法或柱色谱法分离有色物质时,可根据其色带进行区分;分离无色物质时,可在短波(254nm)或长波(365nm)紫外光灯下检视,其中纸色谱或薄层色谱也可喷以显色剂使之显色,或在薄层色谱中用加有荧光物质的薄层硅胶,采用荧光猝灭法检视。柱色谱法、气相色谱法和高效液相色谱法可用接于色谱柱出口处的各种检测器检测。柱色谱法还可分部收集流出液后用适宜方法测定。

附录 VI A 纸色谱法

纸色谱法系以纸为载体,以纸上所含水分或其他物质为固定相,用展开剂进行展开的分配色谱。供试品经展开后,可

色谱法

用比移值(R_f)表示其各组成成分的位置(比移值=原点中心至斑点中心的距离/原点中心至展开剂前沿的距离)。由于影响比移值的因素较多,因而一般采用在相同实验条件下与对照物质对比以确定其异同。用作药品鉴别时,供试品在色谱图中所显主斑点的位置与颜色(或荧光),应与对照品在色谱图中所显主斑点相同。用作药品纯度检查时,可取一定量的供试品,经展开后,按各品种项下的规定,检视其所显杂质斑点的个数或呈色深度(或荧光强度)。进行药品含量测定时,将色谱主斑点剪下经洗脱后,再用适宜的方法测定。

1. 仪器与材料

(1)展开容器 通常为圆形或长方形玻璃缸,缸上具有磨口玻璃盖,应能密闭。用于下行法时,盖上有孔,可插入分液漏斗,用以加入展开剂。在近顶端有一用支架架起的玻璃槽作为展开剂的容器,槽内有一玻棒,用以压住色谱滤纸;槽的两侧各支一玻棒,用以支持色谱滤纸使其自然下垂。用于上行法时,在盖上的孔中加塞,塞中插入玻璃悬钩,以便将点样后的色谱滤纸挂在钩上;并除去溶剂槽和支架。

(2)点样器 常用具支架的微量注射器或定量毛细管,应能使点样位置正确、集中。

(3)色谱滤纸 应质地均匀平整,具有一定机械强度,不含影响展开效果的杂质;也不应与所用显色剂起作用,以免影响分离和鉴别效果,必要时可进行处理后再用。用于下行法时,取色谱滤纸按纤维长丝方向切成适当大小的纸条,离纸条上端适当的距离(使色谱滤纸上端能足够浸入溶剂槽内的展开剂中,并使点样基线能在溶剂槽侧的玻璃支持棒下数厘米处)用铅笔划一点样基线,必要时,可在色谱滤纸下端切成锯齿形便于展开剂滴下。用于上行法时,色谱滤纸长约 25cm,宽度则按需要而定,必要时可将色谱滤纸卷成筒形;点样基线距底边约 2.5cm。

2. 操作方法

(1)下行法 将供试品溶解于适宜的溶剂中制成一定浓度的溶液。用定量毛细管或微量注射器吸取溶液,点于点样

附录Ⅵ B 薄层色谱法

基线上,溶液宜分次点加,每次点加后,俟其自然干燥、低温烘干或经温热气流吹干,样点直径为2~4mm,点间距离约为1.5~2.0cm,样点通常应为圆形。

将点样后的色谱滤纸的点样端放在溶剂槽内并用玻棒压住,使色谱滤纸通过槽侧玻璃支持棒自然下垂,点样基线在支持棒下数厘米处。展开前,展开缸内用各品种项下规定的溶剂的蒸气使之饱和,一般可在展开缸底部放一装有规定溶剂的平皿或将被规定溶剂润湿的滤纸条附着在展开缸内壁上,放置一定时间,俟溶剂挥发使缸内充满饱和蒸气。然后小心添加展开剂至溶剂槽内,使色谱滤纸的上端浸没在槽内的展开剂中。展开剂即经毛细管作用沿色谱滤纸移动进行展开,展开至规定的距离后,取出色谱滤纸,标明展开剂前沿位置,俟展开剂挥发后按规定方法检测色谱斑点。

(2)上行法 点样方法同下行法。展开缸内加入展开剂适量,放置俟展开剂蒸气饱和后,再下降悬钩,使色谱滤纸浸入展开剂约0.5cm,展开剂即经毛细管作用沿色谱滤纸上升,除另有规定外,一般展开至约15cm后,取出晾干,按规定方法检视。

展开可以单向展开,即向一个方向进行;也可进行双向展开,即先向一个方向展开,取出,俟展开剂完全挥发后,将滤纸转动90°,再用原展开剂或另一种展开剂进行展开;亦可多次展开、连续展开或径向展开等。

附录Ⅵ B 薄层色谱法

薄层色谱法系将供试品溶液点于薄层板上,在展开容器内用展开剂展开,使供试品所含成分分离,所得色谱图与适宜的对照物按同法所得的色谱图对比,并可用薄层扫描仪进行扫描,用于鉴别、检查或含量测定。

1. 仪器与材料

(1)薄层板

市售薄层板 市售薄层板分普通薄层板和高效薄层板,如硅胶薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板、聚酰胺薄膜等。

自制薄层板 在保证色谱质量的前提下,如需对薄层板进行特别处理和化学改性,以适应供试品分离的要求时,也可用实验室自制的薄层板。最常用的固定相有硅胶G、硅胶GF₂₅₄、硅胶H、硅胶HF₂₅₄、微晶纤维素等,其颗粒大小,一般要求粒径为10~40μm,加水或用羧甲基纤维素钠水溶液(0.2%~0.5%)适量调成糊状,均匀涂布于玻板上。使用涂布器涂布应能使固定相在玻板上涂成一层符合厚度要求的均匀薄层。玻板应光滑、平整,洗净后不附水珠。

(2)点样器 一般采用微升毛细管或手动、半自动、全自动点样器材。

(3)展开容器 上行展开一般可用适合薄层板大小的专用平底或双槽展开缸,展开时须能密闭。水平展开用专用的水平展开缸。

(4)显色装置 喷雾显色应使用玻璃喷雾瓶或专用喷雾

器,要求用压缩气体使显色剂呈均匀细雾状喷出;浸渍显色可用专用玻璃器械或用适宜的展开缸代用;蒸气熏蒸显色可用双槽展开缸或适宜大小的干燥器代替。

(5)检视装置 为装有可见光、254nm及365nm紫外光源及相应的滤光片的暗箱,可附加摄像设备供拍摄图像用,暗箱内光源应有足够的光照度。

(6)薄层色谱扫描仪 系指用一定波长的光对薄层板上有吸收的斑点,或经激发后能发射出荧光的斑点,进行扫描,将扫描得到的谱图和积分数据用于物质定性或定量的分析仪器。

2. 操作方法

(1)薄层板制备

市售薄层板 临用前一般应在110℃活化30分钟。聚酰胺薄膜不需活化。铝基片薄层板可根据需要剪裁,但须注意剪裁后的薄层板底边的硅胶层不得有破损。如在存放期间被空气中杂质污染,使用前可用三氯甲烷、甲醇或二者的混合溶剂在展开缸中上行展开预洗,110℃活化,置于干燥器中备用。

自制薄层板 除另有规定外,将1份固定相和3份水(或加有黏合剂的水溶液)在研钵中按同一方向研磨混合,去除表面的气泡后,倒入涂布器中,在玻板上平稳地移动涂布器进行涂布(厚度为0.2~0.3mm),取下涂好薄层的玻板,置水平台上于室温下晾干后,在110℃烘30分钟,即置于干燥剂的干燥箱中备用。使用前检查其均匀度,在反射光及透射光下检视,表面应均匀、平整、光滑,无麻点、无气泡、无破损及污染。

(2)点样 除另有规定外,在洁净干燥的环境,用专用毛细管或配合相应的半自动、自动点样器械点样于薄层板上,一般为圆点状或窄细的条带状,点样基线距底边10~15mm,高效板一般基线离底边8~10mm。圆点状直径一般不大于3mm,高效板一般不大于2mm;接触点样时注意勿损伤薄层表面。条带状宽度一般为5~10mm。高效板条带宽度一般为4~8mm,可用专用半自动或自动点样器械喷雾法点样。点间距离可视斑点扩散情况以相邻斑点互不干扰为宜,一般不少于8mm,高效板供试品间隔不少于5mm。

(3)展开 将点好供试品的薄层板放入展开缸中,浸入展开剂的深度为距原点5mm为宜,密闭。除另有规定外,一般上行展开8~15cm,高效薄层板上行展开5~8cm。溶剂前沿达到规定的展距,取出薄层板,晾干,待检测。

展开前如需要溶剂蒸气预平衡,可在展开缸中加入适量的展开剂,密闭,一般保持15~30分钟。溶剂蒸气预平衡后,应迅速放入载有供试品的薄层板,立即密闭,展开。如需使展开缸达到溶剂蒸气饱和的状态,则须在展开缸的内侧放置与展开缸内径同样大小的滤纸,密闭一定时间,使达到饱和再如法展开。必要时,可进行二次展开或双向展开。

(4)显色与检视 供试品含有可见光下有颜色的成分可直接在日光下检视,也可用喷雾法或浸渍法以适宜的显色剂显色,或加热显色,在日光下检视。有荧光的物质或遇某些试剂可激发荧光的物质可在365nm紫外光灯下观察荧光色谱。

对于可见光下无色,但在紫外光下有吸收的成分可用带有荧光剂的硅胶板(如硅胶 GF₂₅₄板),在 254nm 紫外光灯下观察荧光板面上的荧光猝灭物质形成的色谱。

(5)记录 薄层色谱图像一般可采用摄像设备拍摄,以光学照片或电子图像的形式保存。也可用薄层扫描仪扫描记录相应的色谱图。

3. 系统适用性试验

按各品种项下要求对实验条件进行系统适用性试验,即用供试品和对照品对实验条件进行试验和调整,应达到规定的检测灵敏度、分离度和重复性要求。

(1)检测灵敏度 用于限量检查时,采用供试品溶液和对照品溶液与稀释若干倍的对照品溶液在规定的色谱条件下,于同一薄层板上点样、展开、检视,后者应显清晰的斑点。

(2)分离度 用于鉴别时,对照品溶液与供试品溶液中相应的主斑点,应显示两个清晰分离的斑点。用于限量检查和含量测定时,要求定量峰与相邻峰之间有较好的分离度,分离度(R)的计算公式为:

$$R = 2(d_2 - d_1) / (W_1 + W_2)$$

式中 d_2 为相邻两峰中后一峰与原点的距离;

d_1 为相邻两峰中前一峰与原点的距离;

W_1 及 W_2 为相邻两峰各自的峰宽。

除另有规定外,分离度应大于 1.0。

(3)重复性 同一供试品溶液在同一薄层板上平行点样的待测成分的峰面积测量值的相对标准偏差应不大于 3.0%;需显色后测定的相对标准偏差应不大于 5.0%。

4. 测定法

(1)鉴别 取适宜浓度的对照溶液与供试品溶液,在同一薄层板上点样、展开与检视,供试品溶液所显主斑点的颜色(或荧光)和位置应与对照溶液的斑点一致。

(2)限度检查 采用定量配制的对照品对照或对照品稀释对照。供试品溶液色谱中待检查的斑点应与相应的对照品溶液或系列对照品溶液的相应斑点比较,颜色(或荧光)不得更深;或照薄层色谱扫描法操作,峰面积值不得大于对照品的峰面积值。必要时应规定检查的斑点数和限量值。

(3)含量测定 照薄层色谱扫描法,测定供试品中相应成分的含量。

5. 薄层色谱扫描法

系指用一定波长的光照射在薄层板上,对薄层色谱中可吸收紫外光或可见光的斑点,或经激发后能发射出荧光的斑点进行扫描,将扫描得到的图谱及积分数据用于鉴别、检查或含量测定。测定时可根据不同薄层扫描仪的结构特点,按照规定方式扫描测定,一般选择反射方式,采用吸收法或荧光法。除另有规定外,含量测定应使用市售薄层板。

扫描方法可采用单波长扫描或双波长扫描。如采用双波长扫描,应选用待测斑点无吸收或最小吸收的波长为参比波长,供试品色谱中待测斑点的比移值(R_f 值)和光谱扫描得到的吸收光谱图或测得的光谱最大吸收与最小吸收应与对照品

相符,以保证测定结果的准确性。薄层扫描定量测定应保证供试品斑点的量在线性范围内,必要时可适当调整供试品溶液的点样量,供试品与对照品同板点样、展开、扫描、测定和计算。

薄层色谱扫描用于含量测定时,通常采用线性回归二点法计算,如线性范围很窄时,可用多点法校正多项式回归计算。供试品溶液和对照品溶液应交叉点于同一薄层板上,供试品点样不得少于 2 个,对照品每一浓度不得少于 2 个。扫描时,应沿展开方向扫描,不可横向扫描。

附录 VI C 柱色谱法

1. 吸附柱色谱

色谱柱为内径均匀、下端(带或不带活塞)缩口的硬质玻璃管,端口或活塞上部铺垫适量棉花或玻璃纤维,管内装入吸附剂。吸附剂的颗粒应尽可能大小均匀,以保证良好的分离效果。除另有规定外,通常采用直径为 0.07~0.15mm 的颗粒。色谱柱的大小,吸附剂的品种和用量,以及洗脱时的流速,均按各品种项下的规定。

(1)吸附剂的填充 ①干法 将吸附剂一次加入色谱柱,振动管壁使其均匀下沉,然后沿管壁缓缓加入洗脱剂;若色谱柱本身不带活塞,可在色谱柱下端出口处连接活塞,加入适量的洗脱剂,旋开活塞使洗脱剂缓缓滴出,然后自管顶缓缓加入吸附剂,使其均匀地润湿下沉,在管内形成松紧适度的吸附层。操作过程中应保持有充分的洗脱剂留在吸附层的上面。

②湿法 将吸附剂与洗脱剂混合,搅拌除去空气泡,徐徐倾入色谱柱中,然后加入洗脱剂将附着在管壁的吸附剂洗下,使色谱柱面平整。

俟填充吸附剂所用洗脱剂从色谱柱自然流下,至液面和柱表面相平时,即加供试品溶液。

(2)供试品的加入 除另有规定外,将供试品溶于开始洗脱时使用的洗脱剂中,再沿管壁缓缓加入,注意勿使吸附剂翻起。或将供试品溶于适当的溶剂中,与少量吸附剂混匀,再使溶剂挥发去尽使呈松散状,加在已制备好的色谱柱上面。如供试品在常用溶剂中不溶,可将供试品与适量的吸附剂在乳钵中研磨混匀后加入。

(3)洗脱 除另有规定外,通常按洗脱剂洗脱能力大小递增变换洗脱剂的品种和比例,分部收集流出液,至流出液中所含成分显著减少或不再含有时,再改变洗脱剂的品种和比例。操作过程中应保持有充分的洗脱剂留在吸附层的上面。

2. 分配柱色谱

方法和吸附柱色谱基本一致。装柱前,先将固定液溶于适当溶剂中,加入适宜载体,混合均匀,待溶剂完全挥干后分次移入色谱柱中并用带有平面的玻棒压紧;供试品可溶于固定液,混以少量载体,加在预制好的色谱柱上端。

洗脱剂需先加固定液混合使之饱和,以避免洗脱过程中固定液的流失。

附录 VI D 高效液相色谱法

高效液相色谱法系采用高压输液泵将规定的流动相泵入装有填充剂的色谱柱,对供试品进行分离测定的色谱方法。注入的供试品,由流动相带入柱内,各组分在柱内被分离,并依次进入检测器,由积分仪或数据处理系统记录和处理色谱信号。

1. 对仪器的一般要求和色谱条件

所用的仪器为高效液相色谱仪。仪器应定期检定并符合有关规定。

(1) 色谱柱 反相色谱系统使用非极性填充剂,常用的色谱柱填充剂为化学键合硅胶,以十八烷基硅烷键合硅胶最为常用,辛基硅烷键合硅胶和其他类型的硅烷键合硅胶(如氨基键合硅胶和氨基键合硅胶等)也有使用。正相色谱系统使用极性填充剂,常用的填充剂有硅胶等。离子交换色谱系统使用离子交换填充剂;分子排阻色谱系统使用凝胶或高分子多孔微球等填充剂;对映异构体的分离通常使用手性填充剂。

填充剂的性能(如载体的形状、粒径、孔径、表面积、键合基团的表面覆盖度、含碳量和键合类型等)以及色谱柱的填充,直接影响供试品的保留行为和分离效果。分析分子量小于 2000 的化合物应选择孔径在 15nm(1nm=10Å)以下的填料,分析分子量大于 2000 的化合物则应选择孔径在 30nm 以上的填料。

除另有规定外,普通分析柱的填充剂粒径一般在 3~10μm 之间,粒径更小(约 2μm)的填充剂常用于填充微径柱(内径约 2mm)。

使用微径柱时,输液泵的性能、进样体积、检测池体积和系统的死体积等必须与之匹配;如有必要,色谱条件也需作适当的调整。当对其测定结果产生争议时,应以品种项下规定的色谱条件的测定结果为准。

以硅胶为载体的键合固定相的使用温度通常不超过 40℃,为改善分离效果可适当提高色谱柱的使用温度,但不宜超过 60℃。

流动相的 pH 值应控制在 2~8 之间。当 pH 值大于 8 时,可使载体硅胶溶解;当 pH 值小于 2 时,与硅胶相连的化学键合基团易水解脱落。当色谱系统中需使用 pH 值大于 8 的流动相时,应选用耐碱的填充剂,如采用高纯硅胶为载体并具有高表面覆盖度的键合硅胶填充剂、包覆聚合物填充剂、有机-无机杂化填充剂或非硅胶基键合填充剂等;当需使用 pH 值小于 2 的流动相时,应选用耐酸的填充剂,如具有大体积侧链能产生空间位阻保护作用的二异丙基或二异丁基取代十八烷基硅烷键合硅胶填充剂、有机-无机杂化填充剂等。

(2) 检测器 最常用的检测器为紫外检测器,包括二极管阵列检测器,其他常见的检测器有荧光检测器、蒸发光散射检测器、示差折光检测器、电化学检测器和质谱检测器等。

紫外、荧光、电化学检测器为选择性检测器,其响应值不仅与供试品溶液的浓度有关,还与化合物的结构有关;蒸发光

散射检测器和示差折光检测器为通用型检测器,对所有的化合物均有响应;蒸发光散射检测器对结构类似的化合物,其响应值几乎仅与供试品的质量有关;二极管阵列检测器可以同时记录供试品的吸收光谱,故可用于供试品的光谱鉴定和色谱峰的纯度检查。

紫外、荧光、电化学和示差折光检测器的响应值与供试品溶液的浓度在一定范围内呈线性关系,但蒸发光散射检测器的响应值与供试品溶液的浓度通常呈指数关系,故进行计算时,一般需经对数转换。

不同的检测器,对流动相的要求不同。如采用紫外检测器,所用流动相应符合紫外-可见分光光度法(附录 V A)项下对溶剂的要求;采用低波长检测时,还应考虑有机相中有有机溶剂的截止使用波长,并选用色谱级有机溶剂。蒸发光散射检测器和质谱检测器通常不允许使用含不挥发性盐组分的流动相。

(3) 流动相 反相色谱系统的流动相首选甲醇-水系统(采用紫外末端波长检测时,首选乙腈-水系统),如经试用于不适合时,再选用其他溶剂系统。应尽可能少用含有缓冲液的流动相,必须使用时,应尽可能选用含较低浓度缓冲液的流动相。由于 C₁₈ 链在水相环境中不易保持伸展状态,故对于十八烷基硅烷键合硅胶为固定相的反相色谱系统,流动相中有有机溶剂的比例通常应不低于 5%,否则 C₁₈ 链的随机卷曲将导致组分保留值变化,造成色谱系统不稳定。

各品种项下规定的条件除固定相种类、流动相组分、检测器类型不得改变外,其余如色谱柱内径、长度、载体粒度、流动相流速、混合流动相各组分的比例、柱温、进样量、检测器的灵敏度等,均可适当改变,以适应供试品并达到系统适用性试验的要求。其中,调整流动相组分比例时,以组分比例较低者(小于或等于 50%)相对于自身的改变量不超过±30%且相对于总量的改变量不超过±10%为限,如 30% 相对改变量的数值超过总量的 10% 时,则改变量以总量的±10% 为限。

对于必须使用特定牌号的填充剂方能满足分离要求的品种,可在该品种项下注明。

2. 系统适用性试验

色谱系统的适用性试验通常包括理论板数、分离度、重复性和拖尾因子等四个参数。其中,分离度和重复性尤为重要。

按各品种项下要求对色谱系统进行适用性试验,即用规定的对照品溶液或系统适用性试验溶液在规定的色谱系统进行试验,必要时,可对色谱系统进行适当调整,以符合要求。

(1) 色谱柱的理论板数(*n*) 用于评价色谱柱的分离效能。由于不同物质在同一色谱柱上的色谱行为不同,采用理论板数作为衡量柱效能的指标时,应指明测定物质,一般为待测组分或内标物质的理论板数。

在规定的色谱条件下,注入供试品溶液或各品种项下规定的内标物质溶液,记录色谱图,量出供试品主成分峰或内标物质峰的保留时间 *t_R* (以分钟或长度计,下同,但应取相同单

和峰宽(W)或半高峰宽($W_{0.5}$),按 $n=16(t_R/W)^2$ 或 $n=5.54(t_R/W_{0.5})^2$ 计算色谱柱的理论板数。

(2)分离度(R) 用于评价待测组分与相邻共存物或难分离物质之间的分离程度,是衡量色谱系统效能的关键指标。可以通过测定待测物质与已知杂质的分离度,也可以通过测定待测组分与某一添加的指标性成分(内标物质或其他难分离物质)的分离度,或将供试品或对照品用适当的方法降解,通过测定待测组分与某一降解产物的分离度,对色谱系统进行评价与控制。

无论是定性鉴别还是定量分析,均要求待测峰与其他峰、内标峰或特定的杂质对照峰之间有较好的分离度。除另有规定外,待测组分与相邻共存物之间的分离度应大于 1.5。分离度的计算公式为:

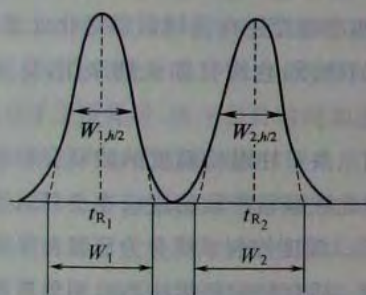
$$R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2}$$

$$\text{或} \quad R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{1.70(W_{1,h/2} + W_{2,h/2})}$$

式中 t_{R_2} 为相邻两峰中后一峰的保留时间;

t_{R_1} 为相邻两峰中前一峰的保留时间;

W_1 、 W_2 及 $W_{1,h/2}$ 、 $W_{2,h/2}$ 分别为此相邻两峰的峰宽及半高峰宽(如图)。



当对测定结果有异议时,色谱柱的理论板数(n)和分离度(R)均以峰宽(W)的计算结果为准。

(3)重复性 用于评价连续进样中,色谱系统响应值的重复性能。采用外标法时,通常取各品种项下的对照品溶液,连续进样 5 次,除另有规定外,其峰面积测量值的相对标准偏差应不大于 2.0%;采用内标法时,通常配制相当于 80%、100% 和 120% 的对照品溶液,加入规定量的内标溶液,配成 3 种不同浓度的溶液,分别至少进样 2 次,计算平均校正因子。其相对标准偏差应不大于 2.0%。

(4)拖尾因子(T) 用于评价色谱峰的对称性。为保证分离效果和测量精度,应检查待测峰的拖尾因子是否符合各品种项下的规定。拖尾因子计算公式为:

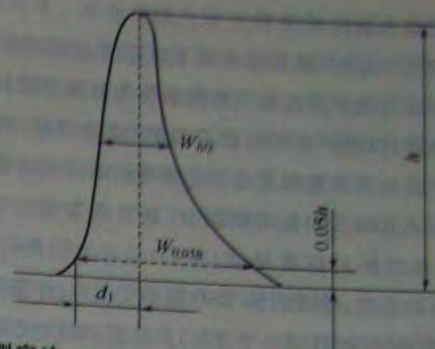
$$T = \frac{W_{0.05A}}{2d_1}$$

式中 $W_{0.05A}$ 为 5% 峰高处的峰宽;

d_1 为峰顶点至峰前沿之间的距离(如图)。

除另有规定外,峰高法定量时 T 应在 0.95~1.05 之间。

峰面积法测定时,若拖尾严重,将影响峰面积的准确测量。必要时,应在各品种项下对拖尾因子作出规定。



3. 测定法

(1)内标法 按各品种项下的规定,精密称(量)取对照品和内标物质,分别配成溶液,精密量取各适量,混合配成校正因子测定用的对照溶液。取一定量注入仪器,记录色谱图。测量对照品和内标物质的峰面积或峰高,按下式计算校正因子:

$$\text{校正因子}(f) = \frac{A_S/c_S}{A_R/c_R}$$

式中 A_S 为内标物质的峰面积或峰高;

A_R 为对照品的峰面积或峰高;

c_S 为内标物质的浓度;

c_R 为对照品的浓度。

再取各品种项下含有内标物质的供试品溶液,注入仪器,记录色谱图,测量供试品中待测成分和内标物质的峰面积或峰高,按下式计算含量:

$$\text{含量}(c_X) = f \cdot \frac{A_X}{A_S/c_S}$$

式中 A_X 为供试品的峰面积或峰高;

c_X 为供试品的浓度;

A'_S 为内标物质的峰面积或峰高;

c'_S 为内标物质的浓度;

f 为校正因子。

采用内标法,可避免因样品前处理及进样体积误差对测定结果的影响。

(2)外标法 按各品种项下的规定,精密称(量)取对照品和供试品,配制成溶液,分别精密取一定量,注入仪器,记录色谱图,测量对照品溶液和供试品溶液中待测成分的峰面积(或峰高),按下式计算含量:

$$\text{含量}(c_X) = c_R \frac{A_X}{A_R}$$

式中各符号意义同上。

由于微量注射器不易精确控制进样量,当采用外标法测定供试品中成分或杂质含量时,以定量环或自动进样器进样为好。

(3)加校正因子的主成分自身对照法 测定杂质含量时,可采用加校正因子的主成分自身对照法。在建立方法时,按各品种项下的规定,精密称(量)取杂质对照品和待测成分对照品各适量,配制测定杂质校正因子的溶液,进样,记录色谱图,按上述(1)法计算杂质的校正因子。此校正因子可直接载入各品种项下,用于校正杂质的实测峰面积。这些需作校正计算的杂质,通常以主成分为参照,采用相对保留时间定位。

其数值一并载入各品种项下。

测定杂质含量时,按各品种项下规定的杂质限度,将供试品溶液稀释成与杂质限度相当的溶液作为对照溶液,进样,调节检测灵敏度(以噪声水平可接受为限)或进样量(以柱子不过载为限),使对照溶液的主成分色谱峰的峰高约达满量程的10%~25%或其峰面积能准确积分(通常含量低于0.5%的杂质,峰面积的相对标准偏差(RSD)应小于10%;含量在0.5%~2%的杂质,峰面积的RSD应小于5%;含量大于2%的杂质,峰面积的RSD应小于2%)。然后,取供试品溶液和对照品溶液适量,分别进样,供试品溶液的记录时间,除另有规定外,应为主成分色谱峰保留时间的2倍,测量供试品溶液色谱图上各杂质的峰面积,分别乘以相应的校正因子后与对照溶液主成分的峰面积比较,依法计算各杂质含量。

(4)不加校正因子的主成分自身对照法 测定杂质含量时,若没有杂质对照品,也可采用不加校正因子的主成分自身对照法。同上述(3)法配制对照溶液并调节检测灵敏度后,取供试品溶液和对照溶液适量,分别进样,前者的记录时间,除另有规定外,应为主成分色谱峰保留时间的2倍,测量供试品溶液色谱图上各杂质的峰面积并与对照溶液主成分的峰面积比较,计算杂质含量。

若供试品所含的部分杂质未与溶剂峰完全分离,则按规定先记录供试品溶液的色谱图I,再记录等体积纯溶剂的色谱图II。色谱图I上杂质峰的总面积(包括溶剂峰),减去色谱图II上的溶剂峰面积,即为总杂质峰的校正面积。然后依法计算。

(5)面积归一化法 按各品种项下的规定,配制供试品溶液,取一定量注入仪器,记录色谱图。测量各峰的面积和色谱图上除溶剂峰以外的总色谱峰面积,计算各峰面积占总峰面积的百分率。

用于杂质检查时,由于峰面积归一化法测定误差大,因此,通常只用于粗略考察供试品中的杂质含量。除另有规定外,一般不宜用于微量杂质的检查。

附录 VI E 气相色谱法

气相色谱法系采用气体为流动相(载气)流经装有填充剂的色谱柱进行分离测定的色谱方法。物质或其衍生物气化后,被载气带入色谱柱进行分离,各组分先后进入检测器,用数据处理系统记录色谱信号。

1. 对仪器的一般要求

所用的仪器为气相色谱仪,由载气源、进样部分、色谱柱、柱温箱、检测器和数据处理系统等组成。进样部分、色谱柱和检测器的温度均应根据分析要求适当设定。

(1)载气源 气相色谱法的流动相为气体,称为载气,氮、氢和氦可用作载气,可由高压钢瓶或高纯度气体发生器提供,经过适当的减压装置,以一定的流速经过进样器和色谱柱;根据供试品的性质和检测器种类选择载气,除另有规定外,常用载气为氮气。

附录38

(2)进样部分 进样方式一般可采用溶液直接进样、自动进样或顶空进样。

溶液直接进样采用微量注射器、微量进样阀或有分流装置的气化室进样;采用溶液直接进样或自动进样时,进样口温度应高于柱温30~50℃;进样量一般不超过数微升;柱径越细,进样量应越少,采用毛细管柱时,一般应分流以免过载。

顶空进样适用于固体和液体供试品中挥发性组分的分离和测定。将固态或液态的供试品制成供试液后,置于密闭小瓶中,在恒温控制的加热室中加热至供试品中挥发性组分在液态和气态达到平衡后,由进样器自动吸取一定体积的顶空气注入色谱柱中。

(3)色谱柱 色谱柱为填充柱或毛细管柱。填充柱的材质为不锈钢或玻璃,内径为2~4mm,柱长为2~4m,内装吸附剂、高分子多孔小球或涂渍固定液的载体,粒径为0.18~0.25mm、0.15~0.18mm或0.125~0.15mm。常用载体为经酸洗并硅烷化处理的硅藻土或高分子多孔小球,常用固定液有甲基聚硅氧烷、聚乙二醇等。毛细管柱的材质为玻璃或石英,内壁或载体经涂渍或交联固定液,内径一般为0.25mm、0.32mm或0.53mm,柱长5~60m,固定液膜厚0.1~5.0μm。常用的固定液有甲基聚硅氧烷、不同比例组成的苯基甲基聚硅氧烷、聚乙二醇等。

新填充柱和毛细管柱在使用前需老化处理,以除去残留溶剂及易流失的物质,色谱柱如长期未用,使用前应老化处理,使基线稳定。

(4)柱温箱 由于柱温箱温度的波动会影响色谱分析结果的重现性,因此柱温箱控温精度应在±1℃,且温度波动小于每小时0.1℃。温度控制系统分为恒温 and 程序升温两种。

(5)检测器 适合气相色谱法的检测器有火焰离子化检测器(FID)、热导检测器(TCD)、氮磷检测器(NPD)、火焰光度检测器(FPD)、电子捕获检测器(ECD)、质谱检测器(MS)等。火焰离子化检测器对碳氢化合物响应良好,适合检测大多数的药物;氮磷检测器对含氮、磷元素的化合物灵敏度高;火焰光度检测器对含磷、硫元素的化合物灵敏度高;电子捕获检测器适于含卤素的化合物;质谱检测器还能给出供试品某个成分相应的结构信息,可用于结构确证。除另有规定外,一般用火焰离子化检测器,用氢气作为燃气,空气作为助燃气。在使用火焰离子化检测器时,检测器温度一般应高于柱温,并不得低于150℃,以免水汽凝结,通常为250~350℃。

(6)数据处理系统 可分为记录仪、积分仪以及计算机工作站等。

各品种项下规定的色谱条件,除检测器种类、固定液品种及特殊指定的色谱柱材料不得改变外,其余如色谱柱内径、长度、载体牌号、粒度、固定液涂布浓度、载气流速、柱温、进样量、检测器的灵敏度等,均可适当改变,以适应具体品种并符合系统适用性试验的要求。一般色谱图约于30分钟内记录完毕。

2. 系统适用性试验

除另有规定外,应照高效液相色谱法(附录VI D)项下的

测定。

3. 测定法

(1) 内标法

(2) 外标法

(3) 面积归一化法

上述(1)~(3)法的具体内容均同高效液相色谱法(附录 VI D)项下相应的规定。

(4) 标准溶液加入法 精密称(量)取某个杂质或待测成分对照品适量,配制成适当浓度的对照品溶液,取一定量,精密加入到供试品溶液中,根据外标法或内标法测定杂质或主成分含量,再扣除加入的对照品溶液含量,即得供试品溶液中某个杂质和主成分含量。

也可按下述公式进行计算,加入对照品溶液前后校正因子应相同,即:

$$\frac{A_{is}}{A_X} = \frac{c_X + \Delta c_X}{c_X}$$

则待测组分的浓度 c_X 可通过如下公式进行计算:

$$c_X = \frac{\Delta c_X}{(A_{is}/A_X) - 1}$$

式中 c_X 为供试品中组分 X 的浓度;

A_X 为供试品中组分 X 的色谱峰面积;

Δc_X 为所加入的已知浓度的待测组分对照品的浓度;

A_{is} 为加入对照品后组分 X 的色谱峰面积。

由于气相色谱法的进样量一般仅数微升,为减小进样误差,尤其当采用手工进样时,由于留针时间和室温等对进样量也有影响,故以采用内标法定量为宜;当采用自动进样器时,由于进样重复性的提高,在保证分析误差的前提下,也可采用外标法定量。当采用顶空进样时,由于供试品和对照品处于不完全相同的基质中,故可采用标准溶液加入法以消除基质效应的影响;当标准溶液加入法与其他定量方法结果不一致时,应以标准加入法结果为准。

附录 VI F 毛细管电泳法

毛细管电泳法是指以弹性石英毛细管为分离通道,以高压直流电场为驱动力,依据供试品中各组分的淌度(单位电场强度下的迁移速度)和(或)分配行为的差异而实现组分分离的一种分析方法。

当熔融石英毛细管内充满操作缓冲液时,管内壁上硅羟基解离释放氢离子至溶液中使管壁带负电荷并与溶液形成双电层(ζ 电位),即使在较低 pH 值的缓冲液中情况也如此。当毛细管两端加上直流电压时将带正电的溶液整体地移向负极端。此种在电场作用下溶液的整体移动称为电渗流(EOF)。内壁硅羟基的解离度与操作缓冲液 pH 值和添加的改性剂有关。降低溶液 pH 值会降低解离度,减小电渗流;增加溶液 pH 值提高解离度,增加电渗流。有机添加剂的加入有时会抑制内壁硅羟基的解离,减小电渗流。在操作缓冲液中带电粒子在电场作用下以不同速度向极性相反的方向移

动,形成电泳。在操作缓冲液中带电粒子运动速度等于其电泳速度和电渗速度的矢量和。电渗速度通常大于电泳速度,因此电泳时各组分即使是阴离子也会从毛细管阳极端流向阴极端。为了减小或消除电渗流,除了降低操作缓冲液 pH 值之外,还可以采用内壁聚合物涂层的毛细管。这种涂层毛细管可减少大分子在管壁上的吸附。

1. 分离模式

毛细管电泳的分离模式有以下几种。

(1) 毛细管区带电泳(CZE) 将待分析溶液引入毛细管进样一端,施加直流电压后,各组分按各自的电泳流和电渗流的矢量和流向毛细管出口端,按阳离子、中性粒子和阴离子及其电荷大小的顺序通过检测器。中性组分彼此不能分离。出峰时间称为迁移时间(t_m),相当于高效液相色谱和气相色谱中的保留时间。

(2) 毛细管凝胶电泳(CGE) 在毛细管中装入单体和引发剂引发聚合反应生成凝胶,这种方法主要用于分析蛋白质、DNA 等生物大分子。另外还可以利用聚合物溶液,如葡聚糖等的筛分作用进行分析,称为毛细管无胶筛分。有时将它们统称为毛细管筛分电泳,下分为凝胶电泳和无胶筛分两类。

(3) 毛细管等速电泳(CITP) 采用前导电解质和尾随电解质,在毛细管中充入前导电解质后,进样,电极槽中换用尾随电解质进行电泳分析,带不同电荷的组分迁移至各个狭窄的区带,然后依次通过检测器。

(4) 毛细管等电聚焦电泳(CIEF) 将毛细管内壁涂覆聚合物减小电渗流,再将供试品和两性电解质混合进样,两个电极槽中分别加入酸液和碱液,施加电压后毛细管中的操作电解质溶液逐渐形成 pH 梯度,各溶质在毛细管中迁移至各自的等电点(pI)时变为中性形成聚焦的区带,而后用压力或改变检测器末端电极槽储液的 pH 值的方法使溶质通过检测器。

(5) 胶束电动毛细管色谱(MEKC 或 MECC) 当操作缓冲液中加入大于其临界胶束浓度的离子型表面活性剂时,表面活性剂就聚集形成胶束,其亲水端朝外、疏水非极性核朝内,溶质则在水和胶束两相间分配,各溶质因分配系数存在差别而被分离。对于常用的阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠,进样后极强亲水性组分不能进入胶束,随操作缓冲液流过检测器(容量因子 $k' = 0$);极强疏水性组分则进入胶束的核中不再回到水相,最后到达检测器($k' = \infty$)。常用的其他胶束试剂还有阳离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵、胆酸等。

(6) 毛细管电色谱(CEC) 将细粒径固定相填充到毛细管中或在毛细管内壁涂覆固定相以电渗流驱动操作缓冲液(有时再加辅助压力)进行分离。

以上分离模式(1)和(5)使用较多。(5)和(6)两种模式的分离机理以色谱为主,但对荷电溶质则兼有电泳作用。

操作缓冲液中加入各种添加剂可获得多种分离效果。如加入环糊精、衍生化环糊精、冠醚、血清蛋白、多糖、胆酸盐或某些抗生素等,可拆分手性化合物;加入有机溶剂可改善某些组分的分离效果,以至可在非水溶液中进行分析。

2. 对仪器的一般要求

毛细管电泳仪的主要部件及其性能要求如下。

(1) 毛细管 用弹性石英毛细管, 内径 $50\mu\text{m}$ 和 $75\mu\text{m}$ 两种使用较多(毛细管电色谱有时用内径更大些的毛细管)。细管内径分离效果好, 且焦耳热小, 允许施加较高电压; 但若采用柱上检测, 则因光程较短, 其检测限比较粗内径管要差。毛细管长度称为总长度, 根据分离度的要求, 可选用 $20\sim 100\text{cm}$ 长度; 进样端至检测器间的长度称为有效长度。毛细管常盘放在管架上控制在一定温度下操作, 以控制焦耳热, 操作缓冲液的黏度和电导率, 对测定的重复性很重要。

(2) 直流高压电源 采用 $0\sim 30\text{kV}$ (或相近) 可调节直流电源, 可供应约 $300\mu\text{A}$ 电流, 具有稳压和稳流两种方式可供选择。

(3) 电极和电极槽 两个电极槽里放入操作缓冲液, 分别插入毛细管的进口端与出口端以及铂电极; 铂电极连接至直流高压电源, 正负极可切换。多种型号的仪器将试样瓶同时用作电极槽。

(4) 冲洗进样系统 每次进样之前毛细管要用不同溶液冲洗, 选用自动冲洗进样仪器较为方便。进样方法有压力(加压)进样、负压(减压)进样、虹吸进样和电动(电迁移)进样等。进样时通过控制压力或电压及时间来控制进样量。

(5) 检测系统 紫外-可见分光检测器、激光诱导荧光检测器、电化学检测器和质谱检测器均可用作毛细管电泳的检测器。其中以紫外-可见分光光度检测器应用最广, 包括单波长、程序波长和二极阵列检测器。将毛细管接近出口端的外层聚合物剥去约 2mm 一段, 使石英管壁裸露, 毛细管两侧各放置一个石英聚光球, 使光源聚焦在毛细管上, 透过毛细管到达光电池。对无光吸收(或荧光)的溶质的检测, 还可采用间接测定法, 即在操作缓冲液中加入对光有吸收(或荧光)的添加剂, 在溶质到达检测窗口时出现反方向的峰。

(6) 数据处理系统 与一般色谱数据处理系统基本相同。

3. 系统适用性试验

为考察所配置的毛细管分析系统和设定的参数是否适用, 系统适用性的测试项目和方法与高效液相色谱法或气相色谱法相同, 相关的计算式和要求也相同; 如重复性(相对标准偏差, RSD)、容量因子(k')、毛细管理论板数(n)、分离度(R)、拖尾因子(T)、线性范围、最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ)等, 可参照测定。具体指标应符合各品种项下的规定, 特别是进样精度和不同荷电溶质迁移速度的差异对分析精密度的影响。

4. 基本操作

(1) 按照仪器操作手册开机, 预热, 输入各项参数, 如毛细管温度、操作电压、检测波长和冲洗程序等。操作缓冲液需过滤和脱气。冲洗液、缓冲液等放置于样品瓶中, 依次放入进样器。

(2) 毛细管处理的好坏, 对测定结果影响很大。未涂层新毛细管要用较浓碱液在较高温度(例如用 1mol/L 氢氧化钠溶液在 60°C) 冲洗, 使毛细管内壁生成硅羟基, 再依次用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液、水和操作缓冲液各冲洗数分钟。两

次进样中间可仅用缓冲液冲洗, 但若发现分离性能改变, 则开始须用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液冲洗, 甚至要用浓氢氧化钠溶液升温冲洗。凝胶毛细管、涂层毛细管、填充毛细管的冲洗则应按照所附说明书操作。冲洗时将盛溶液的试样瓶依次置于进样器, 设定顺序和时间进行。

(3) 操作缓冲液的种类、 pH 值和浓度, 以及添加剂[用以增加溶质的溶解度和(或)控制溶质的解离度、手性拆分等]的选定对测定结果的影响也很大, 应照各品种项下的规定配制, 根据初试的结果调整、优化。

(4) 将供试品溶液瓶置于进样器中, 设定操作参数, 如进样压力(电动进样电压)、进样时间、正极端或负极端进样、操作电压或电流、检测器参数等, 开始测试。根据初试的电泳谱图调整仪器参数和操作缓冲液以获得优化结果。而后用优化条件正式测试。

(5) 测试完毕后用水冲洗毛细管, 注意将毛细管两端浸入水中保存, 如果长久不用应将毛细管用氮吹干, 最后关机。

(6) 由于进样方法的限制, 目前毛细管电泳的精密度比用定量阀进样的高效液相色谱法要差, 故定量测定以采用内标法为宜。用加压或减压法进样时, 供试品溶液黏度会影响进样体积, 应注意保持试样溶液和对照品溶液黏度一致; 用电动法进样时, 被测组分因电歧视现象和溶液离子强度会影响待测组分的迁移量, 也要注意其影响。

附录 VI G 离子色谱法

离子色谱法系采用高压输液泵系统将规定的洗脱液泵入装有填充剂的色谱柱进行分离测定的色谱分析方法。注入的供试品由洗脱液带入色谱柱内进行分离后, 经过抑制器或衍生系统进入检测器, 由积分仪或数据处理系统记录色谱信号。离子色谱法常用于无机阴离子、无机阳离子、有机酸、糖醇类、氨基糖类、氨基酸、蛋白质、糖蛋白等物质的定性和定量分析。它的分离机理主要为离子交换, 即基于离子交换树脂上可解离的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子之间进行的可逆交换; 离子色谱法的其他分离机理还有形成离子对、离子排阻等。

1. 对仪器的一般要求

离子色谱仪器中所有与洗脱液或供试品接触的管道、器件均应使用惰性材料, 如聚醚醚酮(PEEK)等。仪器应定期检定并符合有关规定。

(1) 色谱柱 离子交换色谱的色谱柱填充剂有两种, 分别是有机聚合物载体填充剂和无机载体填充剂。

有机聚合物载体填充剂最为常用, 填充剂的载体一般为苯乙烯-二乙烯基苯共聚物、乙基乙烯基苯-二乙烯基苯共聚物、聚甲基丙烯酸酯或聚乙烯聚合物等有机聚合物。这类载体的表面通过离子键附聚了大量具有阴离子交换功能基(如烷基季铵基、烷醇季铵基等)或阳离子交换功能基(如磺酸、羧酸、膦酸和羧酸-膦酸冠醚等)的乳胶微粒, 可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。有机聚合物载体填充剂在较宽

耐酸碱范围(pH0~14)内具有较高的稳定性,且有一定的耐有机溶剂腐蚀性。

无机载体填充剂一般以硅胶为载体。在硅胶表面的硅醇基通过化学键合季铵基等阴离子交换功能基或磺酸基、羧酸基等阳离子交换功能基,可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。硅胶载体填充剂机械稳定性好,在有机溶剂中不会溶解或收缩。硅胶载体填充剂在 pH2~8 的洗脱液中稳定,一般适用于阳离子样品的分离。

(2)洗脱液 离子色谱对复杂样品的分离主要依赖于色谱柱的填充剂,而洗脱液相对较为简单。分离阴离子常采用稀碱液、碳酸盐缓冲液等作为洗脱液;分离阳离子常采用稀甲酸或磷酸溶液等作为洗脱液。通过增加或减少洗脱液中酸碱溶液的浓度可提高或降低洗脱液的洗脱能力;在洗脱液内加入适当比例的有机改性剂,如甲醇、乙腈等可改善色谱峰峰形。制备洗脱液的去离子水应经过纯化处理,电导率一般小于 $0.056\mu\text{S}/\text{cm}$ 。使用的洗脱液需经脱气处理,常采用氦气在线脱气的方法,也可采用超声、减压过滤或冷冻的方式进行离线脱气。

(3)检测器 电导检测器是离子色谱常用的检测器,其他检测器有紫外检测器、安培检测器、蒸发光散射检测器等。

电导检测器主要用于测定无机阴离子、无机阳离子和部分极性有机物,如羧酸等。离子色谱法中常采用抑制型电导检测器,即使用抑制器将具有较高电导率的洗脱液在进入检测器之前中和成具有极低电导率的水或其他较低电导率的溶液,从而显著提高电导检测的灵敏度。

安培检测器用于分析解离度低,但具有氧化或还原性质的化合物。直流安培检测器可以测定碘离子(I^-)、硫氰酸根离子(SCN^-)和各种酚类化合物等。积分安培检测器和脉冲安培检测器则常用于测定糖类和氨基酸类化合物。

紫外检测器适用于在高浓度氯离子等存在下痕量的溴离子(Br^-)、亚硝酸根离子(NO_2^-)、硝酸根离子(NO_3^-)以及其他具有强紫外吸收成分的测定。柱后衍生-紫外检测法常用于分离分析过渡金属离子和铜系金属等。

蒸发光散射、原子吸收、原子发射光谱、电感耦合等离子体原子发射光谱、质谱(包括电感耦合等离子体质谱)也可作为离子色谱的检测器。离子色谱在与蒸发光散射检测器或(和)质谱检测器等联用时,一般采用带有抑制器的离子色谱

系统。

2. 样品处理

离子色谱法的色谱柱填充剂大多数不兼容有机溶剂,一旦污染后不能用有机溶剂清洗,所以离子色谱法对样品处理的要求较高。对于基质简单的澄清水溶液一般通过稀释和 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤后直接进样分析。对于基质复杂的样品,可通过微波消解、紫外光降解、固相萃取等方法去除干扰物后进样分析。

3. 系统适用性试验

照高效液相色谱法(附录Ⅵ D)项下相应的规定。

4. 测定法

(1)内标法

(2)外标法

(3)面积归一化法

上述(1)~(3)法的具体内容均同高效液相色谱法(附录Ⅵ D)项下相应的规定。

(4)标准曲线法 按各品种项下的规定,精密称(量)取对照品适量配制对照溶液。分别量取对照溶液配制一系列梯度浓度的对照溶液。量取上述梯度浓度的对照品溶液各适量注入仪器,记录色谱图,测量对照品溶液中待测组分的峰面积或峰高。以标准溶液的峰面积或峰高为纵坐标,以标准溶液的浓度为横坐标,回归计算标准曲线,其公式为:

$$A_R = a \cdot c_R + b$$

式中 A_R 为对照溶液的峰面积或峰高;

c_R 为对照溶液的浓度;

a 为标准曲线的斜率;

b 为标准曲线的截距。

再取各品种项下供试品溶液,注入色谱仪,记录色谱图,测量供试品溶液中待测成分(或其杂质)的峰面积或峰高。按下式计算其浓度:

$$c_S = \frac{A_S - b}{a}$$

式中 A_S 为供试品溶液的峰面积或峰高;

c_S 为供试品溶液的浓度;

a, b 符号的意义同上。

上述测定法中,以外标法和标准曲线法最为常用。

附录Ⅷ

附录Ⅷ A 相对密度测定法

相对密度系指在相同的温度、压力条件下,某物质的密度与水的密度之比。除另有规定外,温度为 20°C 。

纯物质的相对密度在特定的条件下为不变的常数。但如

物质的纯度不够,则其相对密度的测定值会随着纯度的变化而改变。因此,测定药品的相对密度,可用以检查药品的纯度程度。

液体药品的相对密度,一般用比重瓶(图1)测定;测定易挥发液体的相对密度,可用韦氏比重秤(图2)。

用比重瓶测定时的环境(指比重瓶和天平的放置环境)温

度应略低于 20℃ 或各品种项下规定的温度。

1. 比重瓶法

(1) 取洁净、干燥并精密称定重量的比重瓶(如图 1a), 装满供试品(温度应低于 20℃ 或各品种项下规定的温度)后, 装上温度计(瓶中应无气泡), 置 20℃ (或各品种项下规定的温度)的水浴中放置若干分钟, 使内容物的温度达到 20℃ (或各品种项下规定的温度), 用滤纸除去溢出侧管的液体, 立即盖上罩。然后将比重瓶自水浴中取出, 再用滤纸将比重瓶的外面擦净, 精密称定, 减去比重瓶的重量, 求得供试品的重量后, 将供试品倾去, 洗净比重瓶, 装满新沸过的冷水, 再照上法测得同一温度时水的重量, 按下式计算, 即得。

$$\text{供试品的相对密度} = \frac{\text{供试品重量}}{\text{水重量}}$$

(2) 取洁净、干燥并精密称定重量的比重瓶(如图 1b), 装满供试品(温度应低于 20℃ 或各品种项下规定的温度)后, 插入中心有毛细孔的瓶塞, 用滤纸将从塞孔溢出的液体擦干, 置 20℃ (或各品种项下规定的温度)恒温水浴中, 放置若干分钟, 随着供试液温度的上升, 过多的液体将不断从塞孔溢出, 随时用滤纸将瓶塞顶端擦干, 待液体不再由塞孔溢出, 迅即将比重瓶自水浴中取出, 照上述(1)法, 自“再用滤纸将比重瓶的外面擦净”起, 依法测定, 即得。

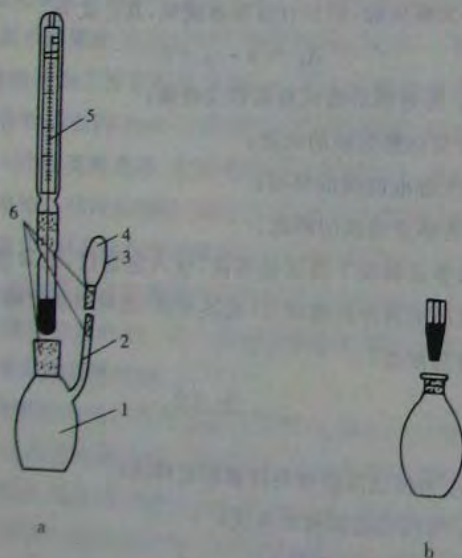


图 1 比重瓶

1. 比重瓶主体; 2. 侧管; 3. 侧孔; 4. 罩;
5. 温度计; 6. 玻璃磨口

2. 韦氏比重秤法

取 20℃ 时相对密度为 1 的韦氏比重秤(图 2), 用新沸过的冷水将所附玻璃圆筒装至八分满, 置 20℃ (或各品种项下规定的温度)的水浴中, 搅动玻璃圆筒内的水, 调节温度至 20℃ (或各品种项下规定的温度), 将悬于秤端的玻璃锤浸入圆筒内的水中, 秤臂右端悬挂游码于 1.0000 处, 调节秤臂左端平衡用的螺旋使平衡, 然后将玻璃圆筒内的水倾去, 拭干, 装入供试液至相同的高度, 并用同法调节温度后, 再把拭干的玻璃锤浸入供试液中, 调节秤臂上游码的数量与位置使平衡。

附录 42

读取数值, 即得供试品的相对密度。

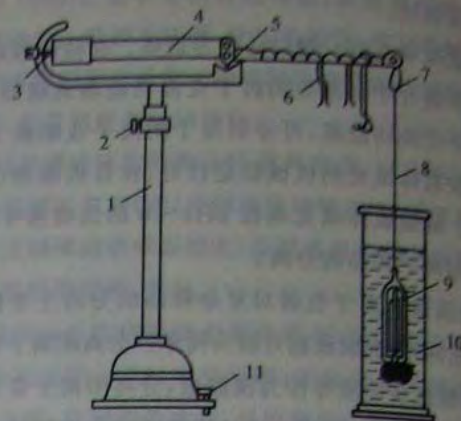


图 2 韦氏比重秤

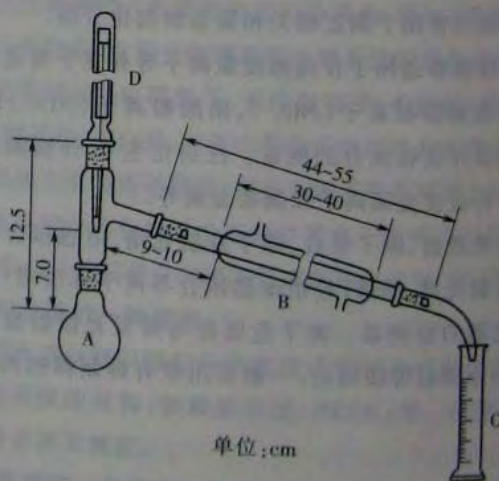
1. 支架; 2. 调节器; 3. 指针; 4. 横梁;
5. 刀口; 6. 游码; 7. 小钩; 8. 细铂丝;
9. 玻璃锤; 10. 玻璃圆筒; 11. 调整螺丝

如该比重秤系在 4℃ 时相对密度为 1, 则用水校准时游码应悬挂于 0.9982 处, 并应将在 20℃ 测得的供试品相对密度除以 0.9982。

附录Ⅶ B 馏程测定法

馏程系指一种液体照下述方法蒸馏, 校正到标准压力 [101.3 kPa (760 mmHg)] 下, 自开始馏出第 5 滴算起, 至供试品仅剩 3~4 ml 或一定比例的容积馏出时的温度范围。

某些液体药品具有一定的馏程, 测定馏程可以区别或检查药品的纯杂程度。



单位: cm

图 蒸馏装置

仪器装置 用国产 19 标准磨口蒸馏装置一套, 如图。A 为蒸馏瓶; B 为冷凝管, 馏程在 130℃ 以下时, 用水冷却, 馏程在 130℃ 以上时, 用空气冷凝管; C 为具有 0.5 ml 刻度的 25 ml 量筒; D 为分浸型具有 0.5℃ 刻度的温度计, 预先经过校正, 温度计汞球的上端与蒸馏瓶出口支管的下壁相齐; 根据供试品馏程的不同, 可选用不同的加热器, 通常馏程在 80℃ 以下时用水浴(其液面始终不得超过供试品液面), 80℃ 以上时用

直接火焰或其他电热器加热。

测定法 取供试品 25ml, 经长颈的干燥小漏斗, 转移至干燥蒸馏瓶中, 加入洁净的无釉小瓷片数片, 插上带有磨口的温度计, 冷凝管的下端通过接流管接以 25ml 量筒为接收器。如用直接火焰加热, 则将蒸馏瓶置石棉板中心的小圆孔上(石棉板宽 12~15cm, 厚 0.3~0.5cm, 孔径 2.5~3.0cm), 并使蒸馏瓶壁与小圆孔边缘紧密贴合, 以免汽化后的蒸气继续受热, 然后用直接火焰加热使供试品受热沸腾, 调节温度, 使每分钟馏出 2~3ml, 注意检读自冷凝管开始馏出第 5 滴时与供试品仅剩 3~4ml 或一定比例的容积馏出时, 温度计上所示的温度范围, 即为供试品的馏程。

测定时, 如要求供试品在馏程范围内馏出不少于 90% 时, 应使用 100ml 蒸馏瓶, 并量取供试品 50ml, 接收器用 50ml 量筒。

测定时, 气压如在 101.3kPa(760mmHg) 以上, 每高 0.36kPa(2.7mmHg), 应将测得的温度减去 0.1℃; 如在 101.3kPa(760mmHg) 以下, 每低 0.36kPa(2.7mmHg), 应增加 0.1℃。

附录Ⅶ C 熔点测定法

依照待测物质的性质不同, 测定法分为下列 3 种。各品种项下未注明时, 均系指第一法。

第一法 测定易粉碎的固体药品。

取供试品适量, 研成细粉, 除另有规定外, 应照各品种项下干燥失重的条件进行干燥。若该品种为不检查干燥失重、熔点范围低限在 135℃ 以上、受热不分解的供试品, 可采用 105℃ 干燥; 熔点在 135℃ 以下或受热分解的供试品, 可在五氧化二磷干燥器中干燥过夜或用其他适宜的干燥方法干燥, 如恒温减压干燥。

分取供试品适量, 置熔点测定用毛细管(简称毛细管, 由中性硬质玻璃管制成, 长 9cm 以上, 内径 0.9~1.1mm, 壁厚 0.10~0.15mm, 一端熔封; 当所用温度计浸入传温液在 6cm 以上时, 管长应适当增加, 使露出液面 3cm 以上)中, 轻击管壁或借助长短适宜的洁净玻璃管, 垂直放在表面皿或其他适宜的硬质物体上, 将毛细管自上口放入使自由落下, 反复数次, 使粉末紧密集结在毛细管的熔封端。装入供试品的高度为 3mm。另将温度计(分浸型, 具有 0.5℃ 刻度, 经熔点测定用对照品校正)放入盛装传温液(熔点在 80℃ 以下者, 用水; 熔点在 80℃ 以上者, 用硅油或液状石蜡)的容器中, 使温度计汞球部的底端与容器的底部距离 2.5cm 以上(用内加热的容器, 温度计汞球与加热器上表面距离 2.5cm 以上); 加入传温液以使传温液受热后的液面适在温度计的分浸线处。将传温液加热, 俟温度上升至较规定的熔点低限约低 10℃ 时, 将装有供试品的毛细管浸入传温液, 贴附在温度计上(可用橡皮圈或毛细管夹固定), 位置须使毛细管的内容物适在温度计汞球中部; 继续加热, 调节升温速率为每分钟上升 1.0~1.5℃, 加热时须不断搅拌使传温液温度保持均匀, 记录供试品在初熔至全熔时的温度, 重复测定 3 次, 取其平均值, 即得。

“初熔”系指供试品在毛细管内开始局部液化出现明显液滴时的温度。

“全熔”系指供试品全部液化时的温度。

测定熔融同时分解的供试品时, 方法如上述, 但调节升温速率使每分钟上升 2.5~3.0℃, 供试品开始局部液化时(或开始产生气泡时)的温度作为初熔温度; 供试品固相消失全部液化时的温度作为全熔温度。遇有固相消失不明显时, 应以供试品分解物开始膨胀上升时的温度作为全熔温度。某些药品无法分辨其初熔、全熔时, 可以其发生突变时的温度作为熔点。

第二法 测定不易粉碎的固体药品(如脂肪、脂肪酸、石蜡、羊毛脂等)。

取供试品, 注意用尽可能低的温度熔融后, 吸入两端开口的毛细管(同第一法, 但管端不熔封)中, 使供试品高约 10mm。在 10℃ 或 10℃ 以下的冷处静置 24 小时, 或置冰上放冷不少于 2 小时, 凝固后用橡皮圈将毛细管紧缚在温度计(同第一法)上, 使毛细管的内容物适在温度计汞球中部。照第一法将毛细管连同温度计浸入传温液中, 供试品的上端应适在传温液液面下约 10mm 处; 小心加热, 俟温度上升至较规定的熔点低限尚低约 5℃ 时, 调节升温速率使每分钟上升不超过 0.5℃, 至供试品在毛细管中开始上升时, 检读温度计上显示的温度, 即得。

第三法 测定凡士林或其他类似物质。

取供试品适量, 缓缓搅拌并加热至温度达 90~92℃ 时, 放入一平底耐热容器中, 使供试品厚度达到 12mm±1mm, 放冷至较规定的熔点上限高 8~10℃; 取刻度为 0.2℃、汞球长 18~28mm、直径 5~6mm 的温度计(其上部预先套上软木塞, 在塞子边缘开一小槽), 使冷至 5℃ 后, 擦干并小心地将温度计汞球部垂直插入上述熔融的供试品中, 直至碰到容器的底部(浸没 12mm), 随即取出, 直立悬置, 俟黏附在温度计汞球部的供试品表面浑浊, 将温度计浸入 16℃ 以下的水中 5 分钟, 取出, 再将温度计插入一外径约 25mm、长 150mm 的试管中, 塞紧, 使温度计悬于其中, 并使温度计汞球部的底端距试管底部约为 15mm; 将试管浸入约 16℃ 的水浴中, 通过软木塞在试管口处调节试管的高度使温度计的分浸线同水面相平; 加热使水浴温度以每分钟 2℃ 的速率升至 38℃, 再以每分钟 1℃ 的速率升温至供试品的第一滴脱离温度计为止; 检读温度计上显示的温度, 即可作为供试品的近似熔点。再取供试品, 照前法反复测定数次; 如前后 3 次测得的熔点相差不超过 1℃, 可取 3 次的平均值作为供试品的熔点; 如 3 次测得的熔点相差超过 1℃ 时, 可再测定 2 次, 并取 5 次的平均值作为供试品的熔点。

附录Ⅶ D 凝点测定法

凝点系指一种物质照下述方法测定, 由液体凝结为固体时, 在短时间内停留不变的最高温度。

某些药品具有一定的凝点, 纯度变更, 凝点亦随之改变。

附录 VII E 旋光度测定法

测定凝点可以区别或检查药品的纯度程度。

仪器装置 如图。内管 A 为内径约 25mm、长约 170mm 的干燥试管，用软木塞固定在内径约 40mm、长约 160mm 的外管 B 中，管底间距约 10mm。内管用一软木塞塞住，通过软木塞插入刻度为 0.1℃ 的温度计 C 与搅拌器 D，温度计汞球末端距内管底约 10mm。搅拌器 D 为玻璃棒，上端略弯，末端的末端距内管底约 10mm。内管连同外管垂直固定于盛有水或其他适宜冷却液的 1000ml 烧杯中，并使冷却液的液面离烧杯口约 20mm。

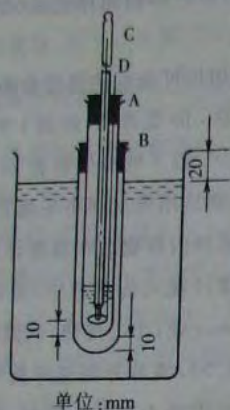


图 凝点测定仪器装置

测定法 取供试品（如为液体，量取 15ml；如为固体，称取 15~20g，加微温使熔融），置内管中，使迅速冷却，并测定供试品的近似凝点。再将内管置较近似凝点约高 5~10℃ 的水浴中，使凝结物仅剩极微量未熔融。将仪器按上述装妥，烧杯中加入较供试品近似凝点约低 5℃ 的水或其他适宜的冷却液。用搅拌器不断搅拌供试品，每隔 30 秒钟观察温度 1 次，至液体开始凝结，停止搅拌并每隔 5~10 秒钟观察温度 1 次，至温度计的汞柱在一点能停留约 1 分钟不变，或微上升至最高温度后停留约 1 分钟不变，即将该温度作为供试品的凝点。

【附注】 如某些药品在一般冷却条件下不易凝固者，需另用少量供试品在较低温度使凝固后，取少量作为母晶加到供试品中，方能测出其凝点。

附录 VII E 旋光度测定法

平面偏振光通过含有某些光学活性化合物的液体或溶液时，能引起旋光现象，使偏振光的平面向左或向右旋转。旋转的度数，称为旋光度。偏振光透过长 1dm 且每 1ml 中含有旋光性物质 1g 的溶液，在一定波长与温度下测得的旋光度称为比旋度。测定比旋度（或旋光度）可以区别或检查某些药品的纯度程度，亦可用以测定含量。

除另有规定外，本法系采用钠光谱的 D 线（589.3nm）测定旋光度，测定管长度为 1dm（如使用其他管长，应进行换算），测定温度为 20℃。用读数至 0.01° 并经过检定的旋光计。

测定旋光度时，将测定管用供试液体或溶液（取固体供试

品，按各品种项下的方法制成）冲洗数次，缓缓注入供试液体或溶液适量（注意勿使发生气泡），置于旋光计内检测读数，得供试液的旋光度。使偏振光向右旋转者（顺时针方向）为右旋，以“+”符号表示；使偏振光向左旋转者（逆时针方向）为左旋，以“-”符号表示。用同法读取旋光度 3 次，取 3 次的平均数，照下列公式计算，即得供试品的比旋度。

$$\text{对液体供试品} \quad [\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{ld}$$

$$\text{对固体供试品} \quad [\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{lc}$$

式中 $[\alpha]$ 为比旋度；

D 为钠光谱的 D 线；

t 为测定时的温度，℃；

l 为测定管长度，dm；

α 为测得的旋光度；

d 为液体的相对密度；

c 为每 100ml 溶液中含有被测物质的重量（按干燥品或无水物计算），g。

旋光计的检定，可用标准石英旋光管进行，读数误差应符合规定。

【注意事项】 （1）每次测定前应以溶剂作空白校正，测定后，再校正 1 次，以确定在测定时零点有无变动；如第 2 次校正时发现零点有变动，则应重新测定旋光度。

（2）配制溶液及测定时，均应调节温度至 $20^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ （或各品种项下规定的温度）。

（3）供试的液体或固体物质的溶液应充分溶解，供试液应澄清。

（4）物质的比旋度与测定光源、测定波长、溶剂、浓度和温度等因素有关。因此，表示物质的比旋度时应注明测定条件。

附录 VII F 折光率测定法

光线自一种透明介质进入另一透明介质时，由于光线在两种介质中的传播速度不同，使光线在两种介质的平滑界面上发生折射。常用的折光率系指光线在空气中进行的速度与在供试品中进行速度的比值。根据折射定律，折光率是光线入射角的正弦与折射角的正弦的比值，即

$$n = \frac{\sin i}{\sin r}$$

式中 n 为折光率；

$\sin i$ 为光线的入射角的正弦；

$\sin r$ 为光线的折射角的正弦。

物质的折光率因温度或入射光波长的不同而改变，透光物质的温度升高，折光率变小；入射光的波长越短，折光率越大。折光率以 n_D^{20} 表示，D 为钠光谱的 D 线，t 为测定时的温度。测定折光率可以区别不同的油类或检查某些药品的纯度程度。

本法系采用钠光谱的 D 线（589.3nm）测定供试品相对于空气的折光率（如用阿培折光计，可用白光光源），除另有规定

供试品温度为 20℃。

测定用的折光计需能读数至 0.0001, 测量范围 1.3~1.7, 如用阿培折光计或与其相当的仪器, 测定时应调节温度至 20℃±0.5℃(或各品种项下规定的温度), 测量后再重复读数 2 次, 3 次读数的平均值即为供试品的折光率。

测定前, 折光计读数应使用校正用棱镜或水进行校正, 水的折光率 20℃时为 1.3330, 25℃时为 1.3325, 40℃时为 1.3305。

附录Ⅶ G pH 值测定法

pH 值是水溶液中氢离子活度的方便表示方法。pH 值定义为水溶液中氢离子活度的负对数, 即 $\text{pH} = -\lg a_{\text{H}^+}$ 。但氢离子活度却难以由实验准确测定。为实用方便, 溶液的 pH 值规定为由下式测定:

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \frac{E - E_s}{k}$$

式中 E 为含有待测溶液(pH)的原电池电动势, V;

E_s 为含有标准缓冲液(pH_s)的原电池电动势, V;

k 为与温度(t , °C)有关的常数。

$$k = 0.05916 + 0.000198(t - 25)$$

由于待测物的电离常数、介质的介电常数和液接界电位等诸多因素均可影响 pH 值的准确测量, 所以实验测得的数值只是溶液的表观 pH 值, 它不能作为溶液氢离子活度的严格表征。尽管如此, 只要待测溶液与标准缓冲液的组成足够接近, 由上式测得的 pH 值与溶液的真实 pH 值还是颇为接近的。

溶液的 pH 值使用酸度计测定。水溶液的 pH 值通常以玻璃电极为指示电极、饱和甘汞电极为参比电极进行测定。酸度计应定期进行计量检定, 并符合国家有关规定。测定前, 应采用下列标准缓冲液校正仪器, 也可用国家标准物质管理部门发放的标示 pH 值准确至 0.01pH 单位的各种标准缓冲液校正仪器。

1. 仪器校正用的标准缓冲液

(1) 草酸盐标准缓冲液 精密称取在 54℃±3℃干燥 4~5 小时的草酸三氢钾 12.71g, 加水使溶解并稀释至 1000ml。

(2) 苯二甲酸盐标准缓冲液 精密称取在 115℃±5℃干燥 2~3 小时的邻苯二甲酸氢钾 10.21g, 加水使溶解并稀释至 1000ml。

(3) 磷酸盐标准缓冲液 精密称取在 115℃±5℃干燥 2~3 小时的无水磷酸氢二钠 3.55g 与磷酸二氢钾 3.40g, 加水使溶解并稀释至 1000ml。

(4) 硼砂标准缓冲液 精密称取硼砂 3.81g(注意避免风化), 加水使溶解并稀释至 1000ml, 置聚乙烯塑料瓶中, 密封, 避免空气中二氧化碳进入。

(5) 氢氧化钙标准缓冲液 于 25℃, 用无二氧化碳的水和过量氢氧化钙经充分振摇制成饱和溶液, 取上清液使用。因本缓冲液是 25℃时的氢氧化钙饱和溶液, 所以临用前需核对溶液的温度是否在 25℃, 否则需调温至 25℃再经溶解平衡

后, 方可取上清液使用。存放时应防止空气中二氧化碳进入。一旦出现浑浊, 应弃去重配。

上述标准缓冲溶液必须用 pH 值基准试剂配制。不同温度时各种标准缓冲液的 pH 值如下表。

温度 /℃	草酸盐 标准缓冲液	苯二甲酸盐 标准缓冲液	磷酸盐 标准缓冲液	硼砂 标准缓冲液	氢氧化钙 标准缓冲液 (25℃饱和溶液)
0	1.67	4.01	6.98	9.64	13.43
5	1.67	4.00	6.95	9.40	13.21
10	1.67	4.00	6.92	9.33	13.00
15	1.67	4.00	6.90	9.28	12.81
20	1.68	4.00	6.88	9.23	12.63
25	1.68	4.01	6.86	9.18	12.45
30	1.68	4.02	6.85	9.14	12.29
35	1.69	4.02	6.84	9.10	12.13
40	1.69	4.04	6.84	9.07	11.98
45	1.70	4.05	6.83	9.04	11.84
50	1.71	4.06	6.83	9.01	11.71
55	1.72	4.08	6.83	8.99	11.57
60	1.72	4.09	6.84	8.96	11.45

2. 注意事项

测定 pH 值时, 应严格按仪器的使用说明书操作, 并注意下列事项。

(1) 测定前, 按各品种项下的规定, 选择两种 pH 值约相差 3 个 pH 单位的标准缓冲液, 并使供试品溶液的 pH 值处于两者之间。

(2) 取与供试品溶液 pH 值较接近的第一种标准缓冲液对仪器进行校正(定位), 使仪器示值与表列数值一致。

(3) 仪器定位后, 再用第二种标准缓冲液核对仪器示值, 误差应不大于±0.02pH 单位。若大于此偏差, 则应小心调节斜率, 使示值与第二种标准缓冲液的表列数值相符。重复上述定位与斜率调节操作, 至仪器示值与标准缓冲液的规定数值相差不大于 0.02pH 单位。否则, 需检查仪器或更换电极后, 再行校正至符合要求。

(4) 每次更换标准缓冲液或供试品溶液前, 应用纯化水充分洗涤电极, 然后将水吸尽, 也可用所换的标准缓冲液或供试品溶液洗涤。

(5) 在测定高 pH 值的供试品和标准缓冲液时, 应注意碱误差的问题, 必要时选用适当的玻璃电极测定。

(6) 对弱缓冲液或无缓冲作用溶液的 pH 值测定, 除另有规定外, 先用苯二甲酸盐标准缓冲液校正仪器后测定供试品溶液, 并重取供试品溶液再测, 直至 pH 值的读数在 1 分钟内改变不超过±0.05 止; 然后再用硼砂标准缓冲液校正仪器, 再如上法测定; 两次 pH 值的读数相差应不超过 0.1, 取两次读数的平均值为其 pH 值。

附录Ⅷ A 电位滴定法与永停滴定法

(7) 配制标准缓冲液与溶解供试品的水, 应是新沸过并放冷的纯化水, 其 pH 值应为 5.5~7.0。

(8) 标准缓冲液一般可保存 2~3 个月, 但发现有浑浊、发霉或沉淀等现象时, 不能继续使用。

附录Ⅷ

附录Ⅷ A 电位滴定法与永停滴定法

电位滴定法与永停滴定法是容量分析中用以确定终点或选择核对指示剂变色域的方法。选用适当的电极系统可以作氧化还原法、中和法(水溶液或非水溶液)、沉淀法、重氮化法或水分测定法第一法等终点指示。

电位滴定法选用两支不同的电极。一支为指示电极, 其电极电位随溶液中被分析成分的离子浓度的变化而变化; 另一支为参比电极, 其电极电位固定不变。在到达滴定终点时, 因被分析成分的离子浓度急剧变化而引起指示电极的电位突减或突增, 此转折点称为突跃点。

永停滴定法采用两支相同的铂电极, 当在电极间加一低电压(例如 50mV)时, 若电极在溶液中极化, 则在未到滴定终点时, 仅有很小或无电流通过; 但当到达终点时, 滴定液略有过剩, 使电极去极化, 溶液中即有电流通过, 电流计指针突然偏转, 不再回复。反之, 若电极由去极化变为极化, 则电流计指针从有偏转回到零点, 也不再变动。

仪器装置

电位滴定可用电位滴定仪、酸度计或电位差计, 永停滴定可用永停滴定仪或按图示装置。

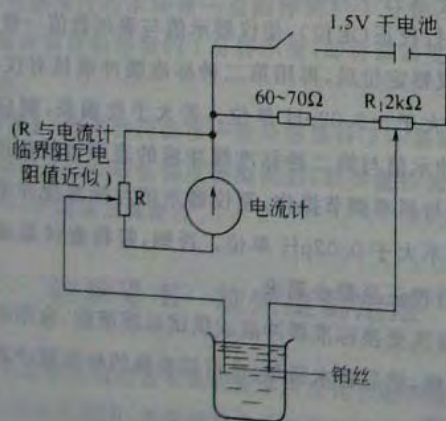


图 永停滴定装置

电流计的灵敏度除另有规定外, 测定水分时用 10^{-6} A/格, 重氮化法用 10^{-9} A/格。所用电极可按下表选择。

滴定法

(1) 电位滴定法 将盛有供试品溶液的烧杯置电磁搅拌器上, 浸入电极, 搅拌, 并自滴定管中分次滴加滴定液; 开始时每次加入较多的量, 搅拌, 记录电位; 至将近终点前, 则应每

次加入少量, 搅拌, 记录电位; 至突跃点已过, 仍应继续滴加几次滴定液, 并记录电位。

方 法	电极系统	说 明
水溶液氧化还原法	铂-饱和甘汞	铂电极用加有少量三氯化铁的硝酸或用铬酸清洁液浸洗
水溶液中和法	玻璃-饱和甘汞	
非水溶液中和法	玻璃-饱和甘汞	饱和甘汞电极套管内装氯化钾的饱和和无水甲醇溶液。玻璃电极用过时应立即清洗并浸在水中保存
	银-玻璃	银电极可用稀硝酸迅速浸洗
水溶液银量法	银-硝酸钾盐桥-饱和甘汞	
$\text{—C}\equiv\text{CH}$ 中氢置换法	玻璃-硝酸钾盐桥-饱和甘汞	
硝酸汞电位滴定法	铂-汞-硫酸亚汞	铂电极可用 10%(g/ml) 硫代硫酸钠溶液浸泡后用水清洗。汞-硫酸亚汞电极可用稀硝酸浸泡后用水清洗
永停滴定法	铂-铂	铂电极用加有少量三氯化铁的硝酸或用铬酸清洁液浸洗

滴定终点的确定 终点的确定分为作图法和计算法两种。作图法是以指示电极的电位(E)为纵坐标, 以滴定液体积(V)为横坐标, 绘制滴定曲线, 以滴定曲线的陡然上升或下降部分的中点或曲线的拐点为滴定终点。根据实验得到的 E 值与相应的 V 值, 依次计算一级微商 $\Delta E/\Delta V$ (相邻两次的电位差与相应滴定液体积差之比) 和二级微商 $\Delta^2 E/\Delta V^2$ (相邻 $\Delta E/\Delta V$ 值间的差与相应滴定液体积差之比) 值, 将测定值(E, V)和计算值列表。再将计算值 $\Delta E/\Delta V$ 或 $\Delta^2 E/\Delta V^2$ 作为纵坐标, 以相应的滴定液体积(V)为横坐标作图, 一级微商 $\Delta E/\Delta V$ 的极值和二级微商 $\Delta^2 E/\Delta V^2$ 等于零(曲线过零)时对应的体积即为滴定终点。前者称为一阶导数法, 终点时的滴定液体积也可由计算求得, 即 $\Delta E/\Delta V$ 达极值时前、后两个滴定液体积读数的平均值; 后者称为二阶导数法, 终点时的滴定液体积也可采用曲线过零前、后两点坐标的线性内插法计算, 即:

$$V_0 = V + \frac{a}{b-a} \times \Delta V$$

式 中 V_0 为终点时的滴定液体积;

a 为曲线过零前的二级微商绝对值;

b 为曲线过零后的二级微商绝对值;

V 为 a 点对应的滴定液体积;

ΔV 为由 a 点至 b 点所滴加的滴定液体积。

由于二阶导数算法最准确,所以最为常用。

采用自动电位滴定仪可方便地获得滴定数据或滴定曲线。

如系供终点时指示剂色调的选择或核对,可在滴定前加入指示剂,观察终点前至终点后的颜色变化,以确定该品种在滴定终点时的指示剂颜色。

(2)永停滴定法 用作重氮化法的终点指示时,调节 R_1 使加于电极上的电压约为 50mV。取供试品适量,精密称定,置烧杯中,除另有规定外,可加水 40ml 与盐酸溶液 (1→2) 15ml,而后置电磁搅拌器上,搅拌使溶解,再加溴化钾 2g,插入铂-铂电极后,将滴定管的尖端插入液面下约 2/3 处,用亚硝酸钠滴定液 (0.1mol/L 或 0.05mol/L) 迅速滴定,随滴随搅拌,至近终点时,将滴定管的尖端提出液面,用少量水淋洗尖端,洗液并入溶液中,继续缓缓滴定,至电流计指针突然偏转,并不再回复,即为滴定终点。

用作水分测定法第一法的终点指示时,可调节 R_1 使电流计的初始电流为 5~10 μ A,待滴定到电流突增至 50~150 μ A,并持续数分钟不退回,即为滴定终点。

附录VIII B 非水溶液滴定法

非水溶液滴定法是在非水溶剂中进行滴定的方法。主要用来测定有机碱及其氢卤酸盐、磷酸盐、硫酸盐或有机酸盐,以及有机酸的碱金属盐类药物的含量,也用于测定某些有机弱酸的含量。

非水溶剂的种类

(1)酸性溶剂 有机弱碱在酸性溶剂中可显著地增强其相对碱度,最常用的酸性溶剂为冰醋酸。

(2)碱性溶剂 有机弱酸在碱性溶剂中可显著地增强其相对酸度,最常用的碱性溶剂为二甲基甲酰胺。

(3)两性溶剂 兼有酸、碱两种性能,最常用的为甲醇。

(4)惰性溶剂 这一类溶剂没有酸、碱性,如苯、三氯甲烷等。

第一法 除另有规定外,精密称取供试品适量(约消耗高氯酸滴定液 (0.1mol/L) 8ml),加冰醋酸 10~30ml 使溶解,加各品种项下规定的指示液 1~2 滴,用高氯酸滴定液 (0.1mol/L) 滴定。终点颜色应以电位滴定时的突跃点为准,并将滴定的结果用空白试验校正。

若滴定供试品与标定高氯酸滴定液时的温度差别超过 10℃,则应重新标定;若未超过 10℃,则可根据下式将高氯酸滴定液的浓度加以校正:

$$N_1 = \frac{N_0}{1 + 0.0011(t_1 - t_0)}$$

式中 0.0011 为冰醋酸的膨胀系数;

t_0 为标定高氯酸滴定液时的温度;

t_1 为滴定供试品时的温度;

N_0 为 t_0 时高氯酸滴定液的浓度;

N_1 为 t_1 时高氯酸滴定液的浓度。

供试品如为氢卤酸盐,应在加入醋酸汞试液 3~5ml 后,再进行滴定;供试品如为磷酸盐,可以直接滴定;硫酸盐也可直接滴定,但滴定至其成为硫酸氢盐为止;供试品如为硝酸盐时,因硝酸可使指示剂褪色,终点极难观察,遇此情况应以电位滴定法指示终点为宜。

电位滴定时用玻璃电极为指示电极,饱和甘汞电极(玻璃套管内装氯化钾的饱和和无水甲醇溶液)为参比电极。

第二法 除另有规定外,精密称取供试品适量(约消耗碱滴定液 (0.1mol/L) 8ml),加各品种项下规定的溶剂使溶解,再加规定的指示液 1~2 滴,用规定的碱滴定液 (0.1mol/L) 滴定。终点颜色应以电位滴定时的突跃点为准,并将滴定的结果用空白试验校正。

在滴定过程中,应注意防止溶剂和碱滴定液吸收大气中的二氧化碳和水蒸气,以及滴定液中溶剂的挥发。

电位滴定时所用的电极同第一法。

附录IX

附录IX A 杂质检查法

药材中混存的杂质系指下列各类物质:

1. 来源与规定相同,但其性状或部位与规定不符;

2. 来源与规定不同的有机质;

3. 无机杂质,如砂石、泥块、尘土等。

检查方法 1. 取规定量的供试品,摊开,用肉眼或放大

镜(5~10 倍)观察,将杂质拣出;如其中有可以筛分的杂质,则通过适当的筛,将杂质分出。

2. 将各类杂质分别称重,计算其在供试品中的含量(%)。

【注意】 1. 药材中混存的杂质如与正品相似,难以从外观鉴别时,可称取适量,进行显微、化学或物理鉴别试验,证明其为杂质后,计入杂质重量中。

2. 杂质检查所用的供试品量,除另有规定外,按药材和饮片取样法称取。

附录IX B 铅、镉、砷、汞、铜测定法

一、原子吸收分光光度法

本法系采用原子吸收分光光度法测定中药中的铅、镉、砷、汞、铜,所用仪器应符合使用要求(附录V D)。除另有规定外,按下列方法测定。

1. 铅的测定(石墨炉法)

测定条件 参考条件:波长 283.3nm,干燥温度 100~120℃,持续 20 秒;灰化温度 400~750℃,持续 20~25 秒;原子化温度 1700~2100℃,持续 4~5 秒。

铅标准储备液的制备 精密量取铅单元素标准溶液适量,用 2%硝酸溶液稀释,制成每 1ml 含铅(Pb)1μg 的溶液,即得(0~5℃贮存)。

标准曲线的制备 分别精密量取铅标准储备液适量,用 2%硝酸溶液制成每 1ml 分别含铅 0ng、5ng、20ng、40ng、60ng、80ng 的溶液。分别精密量取 1ml,精密加含 1%磷酸二氢铵和 0.2%硝酸镁的溶液 0.5ml,混匀,精密吸取 20μl 注入石墨炉原子化器,测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 A 法 取供试品粗粉 0.5g,精密称定,置聚四氟乙烯消解罐内,加硝酸 3~5ml,混匀,浸泡过夜,盖好内盖,旋紧外套,置适宜的微波消解炉内,进行消解(按仪器规定的消解程序操作)。消解完全后,取消解内罐置电热板上缓缓加热至红棕色蒸气挥尽,并继续缓缓浓缩至 2~3ml,放冷,用水转入 25ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。同法同时制备试剂空白溶液。

B 法 取供试品粗粉 1g,精密称定,置凯氏烧瓶中,加硝酸-高氯酸(4:1)混合溶液 5~10ml,混匀,瓶口加一小漏斗,浸泡过夜。置电热板上加热消解,保持微沸,若变棕黑色,再加硝酸-高氯酸(4:1)混合溶液适量,持续加热至溶液澄清后升高温度,继续加热至冒浓烟,直至白烟散尽,消解液呈无色透明或略带黄色,放冷,转入 50ml 量瓶中,用 2%硝酸溶液洗涤容器,洗液合并于量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。同法同时制备试剂空白溶液。

C 法 取供试品粗粉 0.5g,精密称定,置瓷坩埚中,于电热板上先低温炭化至无烟,移入高温炉中,于 500℃灰化 5~6 小时(若个别灰化不完全,加硝酸适量,于电热板上低温加热,反复多次直至灰化完全),取出冷却,加 10%硝酸溶液 5ml 使溶解,转入 25ml 量瓶中,用水洗涤容器,洗液合并于量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。同法同时制备试剂空白溶液。

测定法 精密量取空白溶液与供试品溶液各 1ml,精密加含 1%磷酸二氢铵和 0.2%硝酸镁的溶液 0.5ml,混匀,精密吸取 10~20μl,照标准曲线的制备项下方法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中铅(Pb)的含量,计算,即得。

2. 镉的测定(石墨炉法)

测定条件 参考条件:波长 228.8nm,干燥温度 100~

120℃,持续 20 秒;灰化温度 300~500℃,持续 20~25 秒;原子化温度 1500~1900℃,持续 4~5 秒。

镉标准储备液的制备 精密量取镉单元素标准溶液适量,用 2%硝酸溶液稀释,制成每 1ml 含镉(Cd)1μg 的溶液,即得(0~5℃贮存)。

标准曲线的制备 分别精密量取镉标准储备液适量,用 2%硝酸溶液稀释制成每 1ml 分别含镉 0ng、0.8ng、2.0ng、4.0ng、6.0ng、8.0ng 的溶液。分别精密吸取 10μl,注入石墨炉原子化器,测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 同铅测定项下供试品溶液的制备。

测定法 精密吸取空白溶液与供试品溶液各 10~20μl,照标准曲线的制备项下方法测定吸光度(若供试品有干扰,可分别精密量取标准溶液、空白溶液和供试品溶液各 1ml,精密加含 1%磷酸二氢铵和 0.2%硝酸镁的溶液 0.5ml,混匀,依法测定),从标准曲线上读出供试品溶液中镉(Cd)的含量,计算,即得。

3. 砷的测定(氢化物法)

测定条件 采用适宜的氢化物发生装置,以含 1%硼氢化钠和 0.3%氢氧化钠溶液(临用前配制)作为还原剂,盐酸溶液(1→100)为载液,氮气为载气,检测波长为 193.7nm。

砷标准储备液的制备 精密量取砷单元素标准溶液适量,用 2%硝酸溶液稀释,制成每 1ml 含砷(As)1μg 的溶液,即得(0~5℃贮存)。

标准曲线的制备 分别精密量取砷标准储备液适量,用 2%硝酸溶液稀释制成每 1ml 分别含砷 0ng、5ng、10ng、20ng、30ng、40ng 的溶液。分别精密量取 10ml,置 25ml 量瓶中,加 25%碘化钾溶液(临用前配制)1ml,摇匀,加 10%抗坏血酸溶液(临用前配制)1ml,摇匀,用盐酸溶液(20→100)稀释至刻度,摇匀,密塞,置 80℃水浴中加热 3 分钟,取出,放冷。取适量,吸入氢化物发生装置,测定吸收值,以峰面积(或吸光度)为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 同铅测定项下供试品溶液的制备中的 A 法或 B 法制备。

测定法 精密吸取空白溶液与供试品溶液各 10ml,照标准曲线的制备项下,自“加 25%碘化钾溶液(临用前配制)1ml”起,依法测定。从标准曲线上读出供试品溶液中砷(As)的含量,计算,即得。

4. 汞的测定(冷蒸气吸收法)

测定条件 采用适宜的氢化物发生装置,以含 0.5%硼氢化钠和 0.1%氢氧化钠的溶液(临用前配制)作为还原剂,盐酸溶液(1→100)为载液,氮气为载气,检测波长为 253.6nm。

汞标准储备液的制备 精密量取汞单元素标准溶液适量,用 2%硝酸溶液稀释,制成每 1ml 含汞(Hg)1μg 的溶液,即得(0~5℃贮存)。

标准曲线的制备 分别精密量取汞标准储备液 0ml、0.1ml、0.3ml、0.5ml、0.7ml、0.9ml,置 50ml 量瓶中,加 20%

取供试品溶液 10ml, 5% 高锰酸钾溶液 0.5ml, 摇匀, 滴加 5% 盐酸羟胺溶液至紫红色恰消失, 用水稀释至刻度, 摇匀。取适量, 加入氯化物发生装置, 测定吸收值, 以峰面积 (或吸光度) 为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 A 法 取供试品粗粉 0.5g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐内, 加硝酸 3~5ml, 混匀, 浸泡过夜, 盖好内盖, 旋紧外套, 置适宜的微波消解炉内进行消解 (按仪器规定的消解程序操作)。消解完全后, 取消解罐内罐置电热板上, 于 120℃ 缓慢加热至红棕色蒸气挥尽, 并继续浓缩至 2~3ml, 放冷, 加 20% 硫酸溶液 2ml, 5% 高锰酸钾溶液 0.5ml, 摇匀, 滴加 5% 盐酸羟胺溶液至紫红色恰消失, 转入 10ml 量瓶中, 用水洗涤容器, 洗液合并于量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 必要时离心, 取上清液, 即得。同法同时制备试剂空白溶液。

B 法 取供试品粗粉 1g, 精密称定, 置凯氏烧瓶中, 加硝酸-高氯酸 (4:1) 混合溶液 5~10ml, 混匀, 瓶口加一小漏斗, 浸泡过夜, 置电热板上, 于 120~140℃ 加热消解 4~8 小时 (必要时延长消解时间, 至消解完全), 放冷, 加 20% 硫酸溶液 5ml, 5% 高锰酸钾溶液 0.5ml, 摇匀, 滴加 5% 盐酸羟胺溶液至紫红色恰消失, 转入 25ml 量瓶中, 用水洗涤容器, 洗液合并于量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 必要时离心, 取上清液, 即得。同法同时制备试剂空白溶液。

测定法 精密吸取空白溶液与供试品溶液适量, 照标准曲线制备项下的方法测定。从标准曲线上读出供试品溶液中汞 (Hg) 的含量, 计算, 即得。

5. 铜的测定 (火焰法)

测定条件 检测波长为 324.7nm, 采用空气-乙炔火焰, 必要时进行背景校正。

铜标准储备液的制备 精密量取铜单元素标准溶液适量, 用 2% 硝酸溶液稀释, 制成每 1ml 含铜 (Cu) 10μg 的溶液, 即得 (0~5℃ 贮存)。

标准曲线的制备 分别精密量取铜标准储备液适量, 用 2% 硝酸溶液制成每 1ml 分别含铜 0μg、0.05μg、0.2μg、0.4μg、0.6μg、0.8μg 的溶液。依次喷入火焰, 测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 同铅测定项下供试品溶液的制备。

测定法 精密吸取空白溶液与供试品溶液适量, 照标准曲线的制备项下的方法测定。从标准曲线上读出供试品溶液中铜 (Cu) 的含量, 计算, 即得。

二、电感耦合等离子体质谱法

本法系采用电感耦合等离子体质谱仪测定中药中的铅、砷、镉、汞、铜, 所用仪器应符合使用要求 (附录 XI D)。

标准品储备液的制备 分别精密量取铅、砷、镉、汞、铜单元素标准溶液适量, 用 10% 硝酸溶液稀释制成每 1ml 分别含铅、砷、镉、汞、铜为 1μg、0.5μg、1μg、1μg、10μg 的溶液, 即得。

标准品溶液的制备 精密量取铅、砷、镉、铜标准品储备液适量, 用 10% 硝酸溶液稀释制成每 1ml 含铅、砷 0ng、1ng、5ng、10ng、20ng, 含镉 0ng、0.5ng、2.5ng、5ng、10ng, 含铜 0ng、

50ng、100ng、200ng、500ng 的系列浓度混合溶液。另精密量取标准品储备液适量, 用 10% 硝酸溶液稀释制成每 1ml 分别含汞 0ng、0.2ng、0.5ng、1ng、2ng、5ng 的溶液, 本液应临用配制。

内标溶液的制备 精密量取锗、铟、铋单元素标准溶液适量, 用水稀释制成每 1ml 各含 1μg 的混合溶液, 即得。

供试品溶液的制备 取供试品于 50℃ 干燥 2 小时, 粉碎成粗粉, 取约 0.5g, 精密称定, 置耐压耐高温微波消解罐中, 加硝酸 5~10ml (如果反应剧烈, 放置至反应停止)。密闭并按各微波消解仪的相应要求及一定的消解程序进行消解。消解完全后, 消解液冷却至 60℃ 以下, 取出消解罐, 放冷, 将消解液转入 50ml 量瓶中, 用少量水洗涤消解罐 3 次, 洗液合并于量瓶中, 加入金单元素标准溶液 (1μg/ml) 200μl, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得 (如有少量沉淀, 必要时可离心分取上清液)。

除不加金单元素标准溶液外, 余同法制备试剂空白溶液。

测定法 测定时选取的同位素为 ^{63}Cu 、 ^{75}As 、 ^{114}Cd 、 ^{202}Hg 和 ^{208}Pb , 其中 ^{63}Cu 、 ^{75}As 以 ^{76}Ge 作为内标, ^{114}Cd 以 ^{115}In 作为内标, ^{202}Hg 、 ^{208}Pb 以 ^{209}Bi 作为内标, 并根据不同仪器的要求选用适宜校对方程对测定的元素进行校正。

仪器的内标进样管在仪器分析工作过程中始终插入内标溶液中, 依次将仪器的样品管插入各个浓度的标准品溶液中进行测定 (浓度依次递增), 以测量值 (3 次读数的平均值) 为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。将仪器的样品管插入供试品溶液中, 测定, 取 3 次读数的平均值。从标准曲线上计算得相应的浓度。

在同样的分析条件下进行空白试验, 根据仪器说明书的要求扣除空白干扰。

附录 IX C 氯化物检查法

除另有规定外, 取各品种项下规定量的供试品, 加水溶解使成 25ml (溶液如显碱性, 可滴加硝酸使成中性), 再加稀硝酸 10ml; 溶液如不澄清, 应滤过; 置 50ml 纳氏比色管中, 加水使成约 40ml, 摇匀, 即得供试品溶液。另取该品种项下规定量的标准氯化钠溶液, 置 50ml 纳氏比色管中, 加稀硝酸 10ml, 加水使成 40ml, 摇匀, 即得对照溶液。于供试品溶液与对照溶液中, 分别加入硝酸银试液 1.0ml, 用水稀释使成 50ml, 摇匀, 在暗处放置 5 分钟, 同置黑色背景上, 从比色管上方向下观察、比较, 即得。

供试品溶液如带颜色, 除另有规定外, 可取供试品溶液两份, 分置 50ml 纳氏比色管中, 一份中加硝酸银试液 1.0ml, 摇匀, 放置 10 分钟, 如显浑浊, 可反复滤过, 至滤液完全澄清, 再加规定量的标准氯化钠溶液与水适量使成 50ml, 摇匀, 在暗处放置 5 分钟, 作为对照溶液; 另一份中加硝酸银试液 1.0ml 与水适量使成 50ml, 摇匀, 在暗处放置 5 分钟, 按上述方法与对照溶液比较, 即得。

标准氯化钠溶液的制备 称取氯化钠 0.165g, 置 1000ml 量瓶中, 加水适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。

附录 IX D 铁盐检查法

临用前,精密量取贮备液 10ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 相当于 $10\mu\text{g}$ 的 Cl^-)。

【附注】用滤纸滤过时,滤纸中如含有氯化物,可预先用含有硝酸的水溶液洗净后使用。

附录 IX D 铁盐检查法

除另有规定外,取各品种项下规定量的供试品,加水溶解使成 25ml,移置 50ml 纳氏比色管中,加稀盐酸 4ml 与过硫酸铵 50mg,用水稀释使成 35ml 后,加 30% 硫氰酸铵溶液 3ml,再加水适量稀释成 50ml,摇匀;如显色,立即与标准铁溶液一定量制成的对照溶液(取该品种项下规定量的标准铁溶液,置 50ml 纳氏比色管中,加水使成 25ml,加稀盐酸 4ml 与过硫酸铵 50mg,用水稀释使成 35ml,加 30% 硫氰酸铵溶液 3ml,再加水适量稀释成 50ml,摇匀)比较,即得。

如供试管与对照管色调不一致时,可分别移至分液漏斗中,各加正丁醇 20ml 提取,俟分层后,将正丁醇层移置 50ml 纳氏比色管中,再用正丁醇稀释至 25ml,比较,即得。

标准铁溶液的制备 称取硫酸铁铵 $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ 0.863g,置 1000ml 量瓶中,加水溶解后,加硫酸 2.5ml,用水稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。

临用前,精密量取贮备液 10ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 相当于 $10\mu\text{g}$ 的 Fe)。

附录 IX E 重金属检查法

本法所指的重金属系指在规定实验条件下能与硫代乙酰胺或硫化钠作用显色的金属杂质。

标准铅溶液的制备 称取硝酸铅 0.1599g,置 1000ml 量瓶中,加硝酸 5ml 与水 50ml 溶解后,用水稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。

精密量取贮备液 10ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 相当于 $10\mu\text{g}$ 的 Pb)。本液仅供当日使用。

配制与贮存用的玻璃容器均不得含铅。

第一法

除另有规定外,取 25ml 纳氏比色管三支,甲管中加标准铅溶液一定量与醋酸盐缓冲液 ($\text{pH}3.5$) 2ml 后,加水或各品种项下规定的溶剂稀释成 25ml,乙管中加入按各品种项下规定的方法制成的供试品溶液 25ml,丙管中加入与乙管相同量的供试品,加配制供试品溶液的溶剂适量使溶解,再加与甲管相同量的标准铅溶液与醋酸盐缓冲液 ($\text{pH}3.5$) 2ml 后,用溶剂稀释成 25ml;若供试品溶液带颜色,可在甲管中滴加少量的稀焦糖溶液或其他无干扰的有色溶液,使之与乙管、丙管一致;再在甲、乙、丙三管中分别加硫代乙酰胺试液各 2ml,摇匀,放置 2 分钟,同置白纸上,自上向下透视,当丙管中显出的颜色不浅于甲管时,乙管中显示的颜色与甲管比较,不得更深。如丙管

附录 50

中显出的颜色浅于甲管,应取样按第二法重新检查。

如在甲管中滴加稀焦糖溶液或其他无干扰的有色溶液,仍不能使颜色一致时,应取样按第二法检查。

供试品如含高铁盐影响重金属检查时,可在甲、乙、丙三管中分别加入相同量的维生素 C 0.5~1.0g,再照上述方法检查。

配制供试品溶液时,如使用的盐酸超过 1ml,氨试液超过 2ml,或加入其他试剂进行处理者,除另有规定外,甲管溶液应取同样同量的试剂置瓷皿中蒸干后,加醋酸盐缓冲液 ($\text{pH}3.5$) 2ml 与水 15ml,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加标准铅溶液一定量,再用水或各品种项下规定的溶剂稀释成 25ml。

第二法

除另有规定外,当须改用第二法检查时,取各品种项下规定量的供试品,按炽灼残渣检查法(附录 IX J)进行炽灼处理,然后取遗留的残渣;或直接取炽灼残渣项下遗留的残渣,加供试品为溶液,则取各品种项下规定量的溶液,蒸发至干,再照上述方法处理后取遗留的残渣;加硝酸 0.5ml,蒸干,至氧化氮蒸气除尽后(或取供试品一定量,缓缓炽灼至完全炭化,加硫酸 0.5~1ml,使恰湿润,用低温加热至硫酸除尽后,加硝酸 0.5ml,蒸干,至氧化氮蒸气除尽后,放冷,在 $500\sim600^\circ\text{C}$ 灼使完全灰化),放冷,加盐酸 2ml,置水浴上蒸干后加水 15ml,滴加氨试液至对酚酞指示液显微粉红色,再加醋酸盐缓冲液 ($\text{pH}3.5$) 2ml,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加水稀释成 25ml,作为甲管;另取配制供试品溶液的试剂,置瓷皿中蒸干后,加醋酸盐缓冲液 ($\text{pH}3.5$) 2ml 与水 15ml,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加标准铅溶液一定量,再用水稀释成 25ml,作为乙管;再在甲、乙两管中分别加硫代乙酰胺试液各 2ml,摇匀,放置 2 分钟,同置白纸上,自上向下透视,乙管中显出的颜色与甲管比较,不得更深。

第三法

除另有规定外,取供试品适量,加氢氧化钠试液 5ml 与水 20ml 溶解后,置纳氏比色管中,加硫化钠试液 5 滴,摇匀,加一定量的标准铅溶液同样处理后的颜色比较,不得更深。

附录 IX F 砷盐检查法

标准砷溶液的制备 称取三氧化二砷 0.132g,置 1000ml 量瓶中,加 20% 氢氧化钠溶液 5ml 溶解后,用适量的稀硫酸中和,再加稀硫酸 10ml,用水稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。

临用前,精密量取贮备液 10ml,置 1000ml 量瓶中,加稀硫酸 10ml,用水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 相当于 $1\mu\text{g}$ 的 As_2O_3)。

第一法(古蔡氏法)

仪器装置 如图 1。A 为 100ml 标准磨口锥形瓶;B 为甲空的的标准磨口塞,上连导气管 C(外径 8.0mm,内径 6.0mm),全长约 180mm;D 为具孔的有机玻璃旋塞,其上部为圆锥形面,中央有一圆孔,孔径与导气管 C 的内径一致,其下部孔与导气管 C 的外径相适应,将导气管 C 的顶端套入旋塞下部

孔内,并使管壁与旋塞的圆孔适相吻合,黏合固定;E为中央具有圆孔(孔径6.0mm)的有机玻璃旋塞盖,与D紧密吻合。

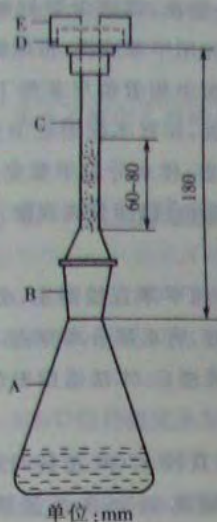


图1 第一法仪器装置

测试时,于导气管C中装入醋酸铅棉花60mg(装管高度为60~80mm),再于旋塞D的顶端平面上放一片溴化汞试纸(试纸大小以能覆盖孔径而不露出平面外为宜),盖上旋塞盖E并旋紧,即得。

标准砷斑的制备 精密量取标准砷溶液2ml,置A瓶中,加盐酸5ml与水21ml,再加碘化钾试液5ml与酸性氯化亚锡试液5滴,在室温放置10分钟后,加锌粒2g,立即将照上法装妥的导气管C密塞于A瓶上,并将A瓶置25~40℃水浴中,反应45分钟,取出溴化汞试纸,即得。

若供试品需经有机破坏后再行检砷,则应取标准砷溶液代替供试品,照该品种项下规定的方法同法处理后,依法制备标准砷斑。

检查法 取按各品种项下规定方法制成的供试品溶液,置A瓶中,照标准砷斑的制备,自“再加碘化钾试液5ml”起,依法操作。将生成的砷斑与标准砷斑比较,不得更深。

第二法(二乙基二硫代氨基甲酸银法)

仪器装置 如图2。A为100ml标准磨口锥形瓶;B为中空的标准磨口塞,上连导气管C(一端的外径为8mm,内径为6mm;另一端长180mm,外径4mm,内径1.6mm,尖端内径为1mm)。D为平底玻璃管(长180mm,内径10mm,于5.0ml处有一刻度)。

测试时,于导气管C中装入醋酸铅棉花60mg(装管高度约80mm),并于D管中精密加入二乙基二硫代氨基甲酸银试液5ml。

标准砷对照液的制备 精密量取标准砷溶液2ml,置A瓶中,加盐酸5ml与水21ml,再加碘化钾试液5ml与酸性氯化亚锡试液5滴,在室温放置10分钟后,加锌粒2g,立即将导气管C与A瓶密塞,使生成的砷化氢气体导入D管中,并将A瓶置25~40℃水浴中反应45分钟,取出D管,添加三氯甲烷至刻度,混匀,即得。

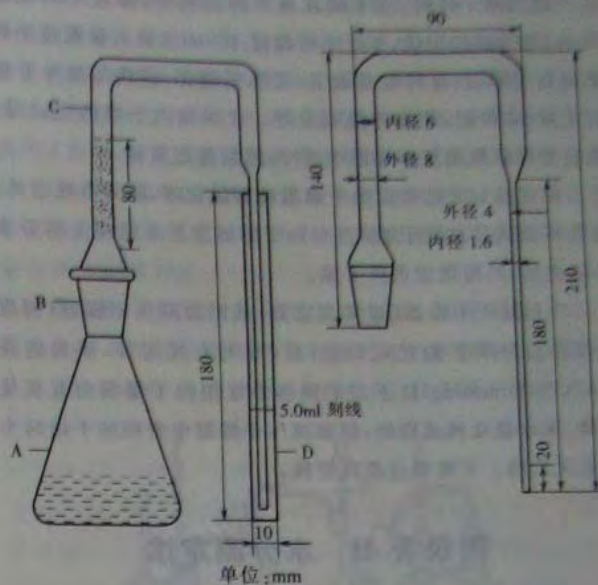


图2 第二法仪器装置

若供试品需经有机破坏后再行检砷,则应取标准砷溶液代替供试品,照各品种项下规定的方法同法处理后,依法制备标准砷对照液。

检查法 取照各品种项下规定方法制成的供试品溶液,置A瓶中,照标准砷对照液的制备,自“再加碘化钾试液5ml”起,依法操作。将所得溶液与标准砷对照液同置白色背景上,从D管上方向下观察、比较,所得溶液的颜色不得比标准砷对照液更深。必要时,可将所得溶液转移至1cm吸收池中,照紫外-可见分光光度法(附录V A)在510nm波长处以二乙基二硫代氨基甲酸银试液作空白,测定吸光度,与标准砷对照液按同法测得的吸光度比较,即得。

【附注】

(1)所用仪器和试液等照本法检查,均不应生成砷斑,或至多生成仅可辨认的斑痕。

(2)制备标准砷斑或标准砷对照液,应与供试品检查同时进行。

(3)本法所用锌粒应无砷,以能通过一号筛的细粒为宜,如使用的锌粒较大时,用量应酌情增加,反应时间亦应延长为1小时。

(4)醋酸铅棉花系取脱脂棉1.0g,浸入醋酸铅试液与水的等容混合液12ml中,湿透后,挤压除去过多的溶液,并使之疏松,在100℃以下干燥后,贮于玻璃塞瓶中备用。

附录Ⅸ G 干燥失重测定法

取供试品,混合均匀(如为较大的结晶,应先迅速捣碎使成2mm以下的小粒),取约1g或各品种项下规定的重量,置与供试品相同条件下干燥至恒重的扁形称量瓶中,精密称定,除另有规定外,在105℃干燥至恒重。由减失的重量和取样量计算供试品的干燥失重。

供试品干燥时,应平铺在扁形称量瓶中,厚度不可超过 5mm,如为疏松物质,厚度不可超过 10mm。放入烘箱或干燥器进行干燥时,应将瓶盖取下,置称量瓶旁,或将瓶盖半开进行干燥;取出时,须将称量瓶盖好。置烘箱内干燥的供试品,应在干燥后取出置干燥器中放冷,然后称定重量。

供试品如未达规定的干燥温度即融化时,除另有规定外,应先将供试品在低于熔点 5~10℃ 的温度下干燥至大部分水分除去后,再按规定条件干燥。

当用减压干燥器(通常为室温)或恒温减压干燥器(温度应按各品种项下的规定设置)时,除另有规定外,压力应在 2.67kPa(20mmHg)以下。干燥器中常用的干燥剂为五氧化二磷、无水氯化钙或硅胶;恒温减压干燥器中常用的干燥剂为五氧化二磷。干燥剂应及时更换。

附录 IX H 水分测定法

测定用的供试品,一般先破碎成直径不超过 3mm 的颗粒或碎片;直径和长度在 3mm 以下的可不破碎;减压干燥法需通过二号筛。

第一法(烘干法) 本法适用于不含或少含挥发性成分的药品。

测定法 取供试品 2~5g,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,厚度不超过 5mm,疏松供试品不超过 10mm,精密称定,打开瓶盖在 100~105℃ 干燥 5 小时,将瓶盖盖好,移置干燥器中,冷却 30 分钟,精密称定,再在上述温度干燥 1 小时,冷却,称重,至连续两次称重的差异不超过 5mg 为止。根据减失的重量,计算供试品中含水量(%)。

第二法(甲苯法) 本法适用于含挥发性成分的药品。

仪器装置 如图。A 为 500ml 的短颈圆底烧瓶;B 为水分测定管;C 为直形冷凝管,外管长 40cm。使用前,全部仪器应清洁,并置烘箱中烘干。

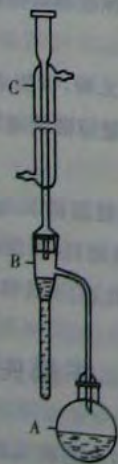


图 甲苯法仪器装置

测定法 取供试品适量(约相当于含水量 1~4ml),精密称定,置 A 瓶中,加甲苯约 200ml,必要时加入干燥、洁净的沸石或玻璃珠数粒,将仪器各部分连接,自冷凝管顶端加入甲

苯,至充满 B 管的狭细部分。将 A 瓶置电热套中或用其他适宜方法缓缓加热,待甲苯开始沸腾时,调节温度,使每秒馏出 2 滴。待水分完全馏出,即测定管刻度部分的水量不再增加时,将冷凝管内先用甲苯冲洗,再用饱和甲苯的长刷或其他适宜的方法,将管壁上附着的甲苯推下,继续蒸馏 5 分钟。放冷至室温,拆卸装置,如有水黏附在 B 管的管壁上,可用蘸甲苯的铜丝推下,放置,使水分与甲苯完全分离(可加亚甲蓝粉末少量,使水染成蓝色,以便分离观察)。检读水量,并计算供试品中的含水量(%)。

【附注】 用化学纯甲苯直接测定,必要时甲苯可先加水少量,充分振摇后放置,将水层分离弃去,经蒸馏后使用。

第三法(减压干燥法) 本法适用于含有挥发性成分的贵重药品。

减压干燥器 取直径 12cm 左右的培养皿,加入五氧化二磷干燥剂适量,使铺成 0.5~1cm 的厚度,放入直径 30cm 的减压干燥器中。

测定法 取供试品 2~4g,混合均匀,分取约 0.5~1g,置已在供试品同样条件下干燥并称重的称量瓶中,精密称定,打开瓶盖,放入上述减压干燥器中,减压至 2.67kPa(20mmHg)以下持续半小时,室温放置 24 小时。在减压干燥器出口连接无水氯化钙干燥管,打开活塞,待内外压一致,关闭活塞,打开干燥器,盖上瓶盖,取出称量瓶迅速精密称定重量,计算供试品中的含水量(%)。

五氧化二磷和无水氯化钙为干燥剂,干燥剂应及时更换。

第四法(气相色谱法)

色谱条件与系统适用性试验 用直径为 0.18~0.25mm 的二乙烯苯-乙基乙烯苯型高分子多孔小球作为载体,柱温为 140~150℃,热导检测器检测。注入无水乙醇,照气相色谱法(附录 VI E)测定,应符合下列要求:

(1)理论板数按水峰计算应大于 1000,理论板数按乙醇峰计算应大于 150;

(2)水和乙醇两峰的分离度应大于 2;

(3)用无水乙醇进样 5 次,水峰面积的相对标准偏差不得大于 3.0%。

对照溶液的制备 取纯化水约 0.2g,精密称定,置 25ml 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液的制备 取供试品适量(含水量约 0.2g),剪碎或研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 50ml,密塞,混匀,超声处理 20 分钟,放置 12 小时,再超声处理 20 分钟,密塞放置,待澄清后倾取上清液,即得。

测定法 取无水乙醇、对照溶液及供试品溶液各 1~5 μ l,注入气相色谱仪,测定,即得。

【附注】 (1)对照溶液与供试品溶液的配制须用新开启的同一瓶无水乙醇。

(2)用外标法计算供试品中的含水量。计算时应扣除无水乙醇中的含水量,方法如下:

对照溶液中实际加入的水的峰面积 = 对照溶液中总水峰

面积 - $K \times$ 对照溶液中乙醇峰面积

供试品中水的峰面积 = 供试品溶液中总水峰面积 - $K \times$

供试品溶液中乙醇峰面积

$$K = \frac{\text{无水乙醇中水峰面积}}{\text{无水乙醇中乙醇峰面积}}$$

附录 IX J 炽灼残渣检查法

取供试品 1.0~2.0g 或各品种项下规定的重量，置已炽灼至恒重的坩埚中，精密称定，缓缓炽灼至完全炭化，放冷至室温，除另有规定外，加硫酸 0.5~1ml 使湿润，低温加热至硫酸蒸气除尽后，在 700~800℃ 炽灼使完全灰化，移置干燥器内，放冷至室温，精密称定后，再在 700~800℃ 炽灼至恒重，即得。

如需将残渣留作重金属检查，则炽灼温度必须控制在 500~600℃。

附录 IX K 灰分测定法

1. 总灰分测定法 测定用的供试品须粉碎，使能通过二号筛，混合均匀后，取供试品 2~3g (如须测定酸不溶性灰分，可取供试品 3~5g)，置炽灼至恒重的坩埚中，称定重量 (准确至 0.01g)，缓缓炽热，注意避免燃烧，至完全炭化时，逐渐升高温度至 500~600℃，使完全灰化并至恒重。根据残渣重量，计算供试品中总灰分的含量 (%)。

如供试品不易灰化，可将坩埚放冷，加热水或 10% 硝酸铵溶液 2ml，使残渣湿润，然后置水浴上蒸干，残渣照前法炽灼，至坩埚内容物完全灰化。

2. 酸不溶性灰分测定法 取上项所得的灰分，在坩埚中小心加入稀盐酸约 10ml，用表面皿覆盖坩埚，置水浴上加热 10 分钟，表面皿用热水 5ml 冲洗，洗液并入坩埚中，用无灰滤纸滤过，坩埚内的残渣用水洗于滤纸上，并洗涤至洗液不显氯化物反应为止。滤渣连同滤纸移置同一坩埚中，干燥，炽灼至恒重。根据残渣重量，计算供试品中酸不溶性灰分的含量 (%)。

附录 IX L 氮测定法

第一法 (常量法) 取供试品适量 (约相当于含氮量 25~30mg)，精密称定，供试品如为固体或半固体，可用滤纸称取，并连同滤纸置干燥的 500ml 凯氏烧瓶中；然后依次加入硫酸钾 (或无水硫酸钠) 10g 和硫酸铜粉末 0.5g，再沿瓶壁缓缓加硫酸 20ml；在凯氏烧瓶口放一小漏斗并使凯氏烧瓶成 45° 斜置，用直火缓缓加热，使溶液的温度保持在沸点以下，等泡沸停止，强热至沸腾，俟溶液成澄明的绿色后，除另有规定外，继续加热 30 分钟，放冷。沿瓶壁缓缓加水 250ml，振摇使混合，放冷后，加 40% 氢氧化钠溶液 75ml，注意使沿瓶壁流至瓶底，自成一液层，加锌粒数粒，用氮气球将凯氏烧瓶与冷凝管连

接；另取 2% 硼酸溶液 50ml，置 500ml 锥形瓶中，加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 10 滴，将冷凝管的下端插入硼酸溶液的液面下，轻轻摆动凯氏烧瓶，使溶液混合均匀，加热蒸馏，至接收液的总体积约为 250ml 时，将冷凝管尖端提出液面，使蒸气冲洗约 1 分钟，用水淋洗尖端后停止蒸馏；馏出液用硫酸滴定液 (0.05mol/L) 滴定至溶液由蓝绿色变为灰紫色，并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 硫酸滴定液 (0.05mol/L) 相当于 1.401mg 的 N。

第二法 (半微量法) 蒸馏装置如图。图中 A 为 1000ml 圆底烧瓶，B 为安全瓶，C 为连有氮气球的蒸馏器，D 为漏斗，E 为直形冷凝管，F 为 100ml 锥形瓶，G、H 为橡皮管夹。

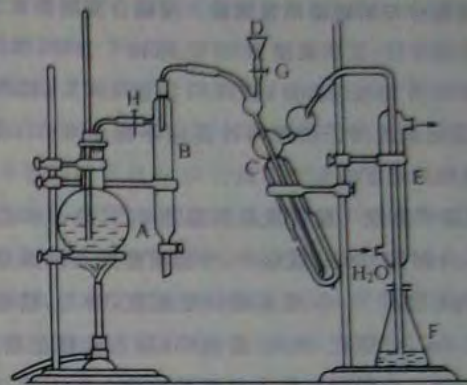


图 蒸馏装置

连接蒸馏装置，A 瓶中加水适量与甲基红指示液数滴，加稀硫酸使成酸性，加玻璃珠或沸石数粒，从 D 漏斗加水约 50ml，关闭 G 夹，开放冷凝水，煮沸 A 瓶中的水，当蒸汽从冷凝管尖端冷凝而出时，移去火源，关 H 夹，使 C 瓶中的水反抽到 B 瓶，开 G 夹，放出 B 瓶中的水，关 B 瓶及 G 夹，将冷凝管尖端插入约 50ml 水中，使水自冷凝管尖端反抽至 C 瓶，再抽至 B 瓶，如上法放去。如此将仪器内部洗涤 2~3 次。

取供试品适量 (约相当于含氮量 1.0~2.0mg)，精密称定，置干燥的 30~50ml 凯氏烧瓶中，加硫酸钾 (或无水硫酸钠) 0.3g 与 30% 硫酸铜溶液 5 滴，再沿瓶壁滴加硫酸 2.0ml；在凯氏烧瓶口放一小漏斗，并使凯氏烧瓶成 45° 斜置，用小火缓缓加热使溶液保持在沸点以下，等泡沸停止，逐步加大火力，沸腾至溶液成澄明的绿色后，除另有规定外，继续加热 10 分钟，放冷，加水 2ml。

取 2% 硼酸溶液 10ml，置 100ml 锥形瓶中，加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 5 滴，将冷凝管尖端插入液面下。然后，将凯氏烧瓶中内容物经由 D 漏斗转入 C 蒸馏瓶中，用水少量淋洗凯氏烧瓶及漏斗数次，再加入 40% 氢氧化钠溶液 10ml，用少量水再洗漏斗数次，关 G 夹，加热 A 瓶进行蒸气蒸馏，至硼酸液开始由酒红色变为蓝绿色时起，继续蒸馏约 10 分钟后，将冷凝管尖端提出液面，使蒸气继续冲洗约 1 分钟，用水淋洗尖端后停止蒸馏。

馏出液用硫酸滴定液 (0.005mol/L) 滴定至溶液由蓝绿色变为灰紫色，并将滴定的结果用空白试验 (空白和供试品所得馏出液的容积应基本相同，约 70~75ml) 校正。每 1ml 硫

附录 IX M 乙醇量测定法

酸滴定液(0.005mol/L)相当于0.1401mg的N。

取用的供试品如在0.1g以上时,应适当增加硫酸的用量,使溶解作用完全,并相应地增加40%氢氧化钠溶液的用量。

附录 IX M 乙醇量测定法

一、气相色谱法

本法系采用气相色谱法(附录 VI E)测定各种制剂中在20℃时乙醇(C_2H_5OH)的含量(%) (ml/ml)。除另有规定外,按下列方法测定。

第一法(毛细管柱法)

色谱条件与系统适用性试验 用键合交联聚乙二醇为固定液的毛细管柱;起始温度为50℃,维持7分钟,再以每分钟10℃的速率升温至110℃;进样口温度190℃;检测器温度220℃。理论板数按正丙醇峰计算应不低于8000,乙醇峰与正丙醇峰的分离度应大于2.0。

校正因子测定 精密量取恒温至20℃的无水乙醇4ml、5ml、6ml,分别置100ml量瓶中,分别精密加入恒温至20℃的正丙醇(内标物质)5ml,用水稀释至刻度,摇匀,精密量取上述各溶液1ml,分别置100ml量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀(必要时可进一步稀释),作为对照品溶液。取上述三种溶液各适量,注入气相色谱仪,分别连续进样3次,测定峰面积,计算校正因子,所得校正因子的相对标准偏差不得大于2.0%。

测定法 精密量取恒温至20℃的供试品适量(相当于乙醇约5ml),置100ml量瓶中,精密加入恒温至20℃的正丙醇5ml,用水稀释至刻度,摇匀,精密量取该溶液1ml,置100ml量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀(必要时可进一步稀释),作为供试品溶液。取1 μ l注入气相色谱仪,测定,即得。

第二法(填充柱法)

色谱条件与系统适用性试验 用直径为0.18~0.25mm的二乙烯苯-乙基乙烯苯型高分子多孔小球作为载体;柱温为120~150℃。理论板数按正丙醇峰计算应不低于700,乙醇峰与正丙醇峰的分离度应大于2.0。

校正因子测定 精密量取恒温至20℃的无水乙醇4ml、5ml、6ml,分别置100ml量瓶中,分别精密加入恒温至20℃的正丙醇(内标物质)5ml,用水稀释至刻度,摇匀(必要时可进一步稀释),取上述三种溶液适量,注入气相色谱仪,分别连续进样3次,测定峰面积,计算校正因子,所得校正因子的相对标准偏差不得大于2.0%。

测定法 精密量取恒温至20℃的供试品溶液适量(相当于乙醇约5ml),置100ml量瓶中,精密加入恒温至20℃的正丙醇5ml,用水稀释至刻度,摇匀(必要时可进一步稀释),取适量注入气相色谱仪,测定,即得。

【附注】除另有规定外,若蒸馏法测定结果与气相色谱法不一致,以气相色谱法测定结果为准。

二、蒸馏法

本法系用蒸馏后测定相对密度的方法测定各种制剂中在

20℃时乙醇(C_2H_5OH)的含量(%) (ml/ml)。按照制剂的性质不同,分为下列三法。

第一法 本法系供测定多数流浸膏、酊剂及甘油制剂中的乙醇含量。根据制剂中含乙醇量的不同,又可分为两种情况。

1. 含乙醇量低于30%者

取供试品,调节温度至20℃,精密量取25ml,置150~200ml蒸馏瓶中,加水约25ml,加玻璃珠数粒或沸石等物质,连接冷凝管,直火加热,缓缓蒸馏,速度以馏出液一滴接一滴为准。馏出液导入25ml量瓶中,俟馏出液约达23ml时,停止蒸馏。将馏出液温度调节至20℃,加20℃的水至刻度,摇匀,在20℃时按相对密度测定法(附录 VI A)项下的方法测定相对密度。在乙醇相对密度表内查出乙醇的含量(%) (ml/ml),即为供试品中的乙醇含量(%) (ml/ml)。

2. 含乙醇量高于30%者

取供试品,调节温度至20℃,精密量取25ml,置150~200ml蒸馏瓶中,加水约50ml,加玻璃珠数粒,如上法蒸馏。馏出液导入50ml量瓶中,俟馏出液约达48ml时,停止蒸馏。调节馏出液温度至20℃,加20℃的水至刻度,摇匀,在20℃时照上法测定相对密度。将查得所含乙醇的含量(%) (ml/ml)与2相乘,即得。

第二法 本法系供测定含有挥发性物质如挥发油、三氯甲烷、乙醚、樟脑等的酊剂、酞剂等制剂中的乙醇量。根据制剂中含乙醇量的不同,也可分为两种情况。

1. 含乙醇量低于30%者

取供试品,调节温度至20℃,精密量取25ml,置150ml分液漏斗中,加等量的水,并加入氯化钠使之饱和,再加石油醚,振摇1~3次,每次约25ml,使妨碍测定的挥发性物质溶于石油醚层中,俟两液分离,分取下层水液,置150~200ml蒸馏瓶中,石油醚层用氯化钠的饱和溶液洗涤3次,每次用10ml,洗液并入蒸馏瓶中,照上述第一法(法1)蒸馏并测定。

2. 含乙醇量高于30%者

取供试品,调节温度至20℃,精密量取25ml,置250ml分液漏斗中,加水约50ml,如上法加入氯化钠使之饱和,并用石油醚提取1~3次,分取下层水液,照上述第一法(法2)蒸馏并测定。

供试品中加石油醚振摇后,如发生乳化现象时,或经石油醚处理后,馏出液仍很浑浊时,可另取供试品,加水稀释,照第一法蒸馏,再将得到的馏出液照本法处理、蒸馏并测定。

供试品如为水棉胶剂,可用水代替饱和氯化钠溶液。

第三法 本法系供测定含有游离氨或挥发性酸的制剂中的乙醇量。供试品中含有游离氨,可酌加稀硫酸,使成微酸性;如含有挥发性酸,可酌加氢氧化钠试液,使成微碱性。再按第一法蒸馏、测定。如同时含有挥发油,除按照上述方法处理外,并照第二法处理。供试品中如含有肥皂,可加过量硫酸,使肥皂分解,再依法测定。

【附注】(1)任何一法的馏出液如显浑浊,可加滑石粉或碳酸钙振摇,滤过,使溶液澄清,再测定相对密度。

(2)蒸馏时,如发生泡沫,可在供试品中酌加硫酸或磷酸,使成强酸性,或加稍过量的氯化钙溶液,或加少量石蜡后再蒸馏。

乙醇相对密度表

相对密度 (20℃/20℃)	浓度 %(ml/ml)	相对密度 (20℃/20℃)	浓度 %(ml/ml)
0.9992	0.5	0.9693	25.5
0.9985	1.0	0.9687	26.0
0.9978	1.5	0.9681	26.5
0.9970	2.0	0.9675	27.0
0.9968	2.5	0.9670	27.5
0.9956	3.0	0.9664	28.0
0.9949	3.5	0.9658	28.5
0.9942	4.0	0.9652	29.0
0.9935	4.5	0.9646	29.5
0.9928	5.0	0.9640	30.0
0.9922	5.5	0.9633	30.5
0.9915	6.0	0.9627	31.0
0.9908	6.5	0.9621	31.5
0.9902	7.0	0.9614	32.0
0.9896	7.5	0.9608	32.5
0.9889	8.0	0.9601	33.0
0.9883	8.5	0.9594	33.5
0.9877	9.0	0.9587	34.0
0.9871	9.5	0.9580	34.5
0.9865	10.0	0.9573	35.0
0.9859	10.5	0.9566	35.5
0.9853	11.0	0.9558	36.0
0.9847	11.5	0.9551	36.5
0.9841	12.0	0.9544	37.0
0.9835	12.5	0.9536	37.5
0.9830	13.0	0.9529	38.0
0.9824	13.5	0.9521	38.5
0.9818	14.0	0.9513	39.0
0.9813	14.5	0.9505	39.5
0.9807	15.0	0.9497	40.0
0.9802	15.5	0.9489	40.5
0.9796	16.0	0.9481	41.0
0.9790	16.5	0.9473	41.5
0.9785	17.0	0.9465	42.0
0.9780	17.5	0.9456	42.5
0.9774	18.0	0.9447	43.0
0.9769	18.5	0.9439	43.5
0.9764	19.0	0.9430	44.0
0.9758	19.5	0.9421	44.5
0.9753	20.0	0.9412	45.0
0.9748	20.5	0.9403	45.5
0.9743	21.0	0.9394	46.0
0.9737	21.5	0.9385	46.5
0.9732	22.0	0.9376	47.0
0.9726	22.5	0.9366	47.5
0.9721	23.0	0.9357	48.0
0.9715	23.5	0.9347	48.5
0.9710	24.0	0.9338	49.0
0.9704	24.5	0.9328	49.5
0.9698	25.0	0.9318	50.0

附录 IX N 脂肪与脂肪油测定法

液体供试品如因析出硬脂发生浑浊时,应先置 50℃ 的水浴上加热,使完全熔化成澄清液体;加热后如仍显浑浊,可离心沉降或用干燥的保温滤器滤过使澄清;将得到的澄清液体搅匀,趁其尚未凝固,用附有滴管的称量瓶或附有玻勺的称量杯,分别称取下述各项检验所需的供试品。固体供试品应先在不高于其熔点 10℃ 的温度下熔化,离心沉降或滤过,再依法称取。

相对密度的测定 照相对密度测定法(附录Ⅷ A)测定。

折光率的测定 照折光率测定法(附录Ⅷ F)测定。

熔点的测定 照熔点测定法(附录Ⅷ C 第二法)测定。

脂肪酸凝点的测定 (1)脂肪酸的提取 取 20%(g/g)氢氧化钾的甘油溶液 75g,置 800ml 烧杯中,加供试品 50g,于 150℃ 在不断搅拌下皂化 15 分钟,放冷至约 100℃,加入新煮沸的水 500ml,搅匀,缓缓加入硫酸溶液(1→4)50ml,加热至脂肪酸明显分离为一个透明层;趁热将脂肪酸移入另一烧杯中,用新煮沸的水反复洗涤,至洗液加入甲基橙指示液显黄色,趁热将澄清的脂肪酸放入干燥的小烧杯中,加无水乙醇 5ml,搅匀,用小火加热至无小气泡逸出,即得。

(2)凝点的测定 取按上法制成的干燥脂肪酸,照凝点测定法(附录Ⅷ D)测定。

酸值的测定 酸值系指中和脂肪、脂肪油或其他类似物质 1g 中含有的游离脂肪酸所需氢氧化钾的重量(mg),但在测定时可采用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)进行滴定。

除另有规定外,按表中规定的重量,精密称取供试品,置 250ml 锥形瓶中,加乙醇-乙醚(1:1)混合液[临用前加酚酞指示液 1.0ml,用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)调至微显粉红色]50ml,振摇使完全溶解(如不易溶解,可缓慢加热回流使溶解),用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)滴定,至粉红色持续 30 秒钟不褪。以消耗氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)的容积(ml)为 A,供试品的重量(g)为 W,照下式计算酸值:

$$\text{供试品的酸值} = \frac{A \times 5.61}{W}$$

酸 值	称重/g	酸 值	称重/g
0.5	10	100	1
1	5	200	0.5
10	4	300	0.4
50	2		

滴定酸值在 10 以下的油脂时,可用 10ml 的半微量滴定管。

皂化值的测定 皂化值系指中和并皂化脂肪、脂肪油或其他类似物质 1g 中含有的游离酸类和酯类所需氢氧化钾的重量(mg)。

取供试品适量[其重量(g)约相当于 250/供试品的最大皂化值],精密称定,置 250ml 锥形瓶中,精密加入 0.5mol/L

附录 IX O 膨胀度测定法

氢氧化钾乙醇溶液 25ml, 加热回流 30 分钟, 然后用乙醇 10ml 冲洗冷凝器的内壁和塞的下部, 加酚酞指示液 1.0ml, 用盐酸滴定液 (0.5mol/L) 滴定剩余的氢氧化钾, 至溶液的粉红色刚好褪去, 加热至沸, 加溶液又出现粉红色, 再滴定至粉红色刚好褪去, 同时做空白试验。以供试品消耗的盐酸滴定液 (0.5mol/L) 的容积 (ml) 为 A, 空白试验消耗的容积 (ml) 为 B, 供试品的重量 (g) 为 W, 照下式计算皂化值:

$$\text{供试品的皂化值} = \frac{(B-A) \times 28.05}{W}$$

羟值的测定 羟值系指供试品 1g 中含有的羟基, 经用下列酰化后, 所需氢氧化钾的重量 (mg)。

除另有规定外, 按表中规定的重量, 精密称取供试品, 置干燥的 250ml 具塞锥形瓶中, 精密加入酰化剂 (取对甲苯磺酸 14.4g, 置 500ml 锥形瓶中, 加乙酸乙酯 360ml, 振摇溶解后, 缓缓加入醋酐 120ml, 摇匀, 放置 3 日后备用) 5ml, 用吡啶少许湿润瓶塞, 稍拧紧, 轻轻摇动使完全溶解, 置 50℃ ± 1℃ 水浴中 25 分钟 (每 10 分钟轻轻摇动) 后, 放冷, 加吡啶-水 (3:5) 20ml, 5 分钟后加甲酚红-麝香草酚蓝混合指示液 8~10 滴, 用氢氧化钾 (或氢氧化钠) 滴定液 (1mol/L) 滴定至溶液显灰蓝色或蓝色; 同时做空白试验。以供试品消耗的氢氧化钾 (或氢氧化钠) 滴定液 (1mol/L) 的容积 (ml) 为 A, 空白试验消耗的容积 (ml) 为 B, 供试品的重量 (g) 为 W, 供试品的酸值为 D, 照下式计算羟值:

$$\text{供试品的羟值} = \frac{(B-A) \times 56.1}{W} + D$$

羟值	称重/g	羟值	称重/g
10~100	2.0	200~250	0.75
100~150	1.5	250~300	0.60
150~200	1.0		

碘值的测定 碘值系指脂肪、脂肪油或其他类似物质 100g, 当充分卤化时所需的碘量 (g)。

取供试品适量 [其重量 (g) 约相当于 25/供试品的最大碘值], 精密称定, 置 250ml 的干燥碘瓶中, 加三氯甲烷 10ml, 溶解后, 精密加入溴化碘溶液 25ml, 密塞, 摇匀, 在暗处放置 30 分钟。加入新制的碘化钾试液 10ml 与水 100ml, 摇匀, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定剩余的碘, 滴定时注意充分振摇, 待混合液的棕色变为淡黄色, 加淀粉指示液 1ml, 继续滴定至蓝色消失; 同时做空白试验。以供试品消耗硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 的容积 (ml) 为 A, 空白试验消耗的容积 (ml) 为 B, 供试品的重量 (g) 为 W, 照下式计算碘值:

$$\text{供试品的碘值} = \frac{(B-A) \times 1.269}{W}$$

加热试验 取供试品约 50ml, 置烧杯中, 在砂浴上加热至 280℃, 升温速率为每分钟上升 10℃, 观察油的颜色和其他性状的变化。

杂质 取供试品约 20g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加石油醚 (60~90℃) 20ml 使溶解, 用于干燥至恒重的垂熔玻璃坩埚滤

附录 56

过 (如溶液不易滤过, 可添加石油醚适量), 用石油醚洗净残渣和滤器, 在 105℃ 干燥至恒重; 精密称定, 增加的重量即为供试品中杂质的重量。

水分与挥发物 取供试品约 5g, 置干燥至恒重的扁形称量瓶中, 精密称定, 在 105℃ 干燥 40 分钟取出, 置干燥器内放冷, 精密称定重量; 再在 105℃ 干燥 20 分钟, 放冷, 精密称定重量, 至连续两次干燥后称重的差异不超过 0.001g, 如遇重量增加的情况, 则以增重前的一次重量为恒重。减失的重量, 即为供试品中含有水分与挥发物的重量。

【附注】 溴化碘溶液 取研细的碘 13.0g, 置干燥的具塞锥形瓶中, 加冰醋酸 1000ml, 微温使碘完全溶解; 另用吸管插入法量取溴 2.5ml (或在通风橱中用架盘天平称取 7.8g), 加入上述碘溶液中, 摇匀, 即得。为了确定加溴量是否合适, 可在加溴前精密取出 20ml, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定, 记下消耗的容积 (ml); 加溴后, 摇匀, 再精密取出 20ml, 加新制的碘化钾试液 10ml, 再用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定, 消耗的容积 (ml), 应略小于加溴前的 2 倍。

本液应置具塞锥形瓶内, 密塞, 在暗处保存。

附录 IX O 膨胀度测定法

膨胀度是药品膨胀性质的指标, 系指按干燥品计算, 每 1g 药品在水或其他规定的溶剂中, 在一定的时间与温度条件下膨胀后所占有的体积 (ml)。主要用于含黏液质、胶质和半纤维素类的天然药品。

测定法 按各该品种项下的规定量取样, 必要时按规定粉碎。称定重量, 置膨胀度测定管中 (全长 160mm, 内径 16mm, 刻度部分长 125mm, 分度 0.2ml), 在 20~25℃ 条件下, 加水或规定的溶剂 25ml, 密塞, 振摇, 静置。除另有规定外, 开始 1 小时内每 10 分钟振摇一次, 然后静置 4 小时, 读取药物膨胀后的体积 (ml), 再静置 1 小时, 如上读数, 至连续两次读数的差异不超过 0.1ml 为止。每一供试品同时测定 3 份, 各取最后一次读取的数值按下式计算, 求其平均数, 即得供试品的膨胀度 (准确至 0.1)。

$$S = \frac{V}{W}$$

式中 S 为膨胀度;

V 为药物膨胀后的体积, ml;

W 为供试品按干燥品计算的重量, g。

附录 IX P 酸败度测定法

酸败是指油脂或含油脂的种子类药材和饮片, 在贮藏过程中发生复杂的化学变化, 生成游离脂肪酸、过氧化物和低分子醛类、酮类等产物, 出现特异臭味, 影响药材和饮片的感观和质量。

本方法通过测定酸值、羰基值和过氧化值, 以检查药材和饮片中油脂的酸败度。

一、油脂提取

除另有规定外,取供试品 30~50g(根据供试品含油脂量而定),研碎成粗粉,置索氏提取器中,加正己烷 100~150ml(根据供试品取样量而定),置水浴上加热回流 2 小时,放冷,用 3 号垂熔玻璃漏斗滤过,滤液置水浴上减压回收溶剂至尽,所得残留物即为油脂。

二、酸败度测定

酸值测定 取油脂,照脂肪与脂肪油测定法(附录IX N)测定。

羰基值测定 羰基值系指每 1kg 油脂中含羰基化合物的毫摩尔数。

除另有规定外,取油脂 0.025~0.5g,精密称定,置 25ml 量瓶中,加甲苯适量溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 5ml,置 25ml 具塞刻度试管中,加 4.3% 三氯醋酸的甲苯溶液 3ml 及 0.05% 2,4-二硝基苯肼的甲苯溶液 5ml,混匀,置 60℃ 水浴加热 30 分钟,取出冷却,沿管壁缓缓加入 4% 氢氧化钾的乙醇溶液 10ml,加乙醇至 25ml,密塞,剧烈振摇 1 分钟,放置 10 分钟,以相应试剂作空白,照紫外-可见分光光度法(附录V A)在 453nm 波长处测定吸光度,按下式计算:

$$\text{供试品的羰基值} = \frac{A \times 125}{854 \times W} \times 1000$$

式中 A 为吸光度;

W 为油脂的重量,g;

854 为各种羰基化合物的 2,4-二硝基苯肼衍生物的摩尔吸收系数平均值。

过氧化值测定 过氧化值系指油脂中过氧化物与碘化钾作用,生成游离碘的百分数。

除另有规定外,取油脂 2~3g,精密称定,置 250ml 的干燥碘瓶中,加三氯甲烷-冰醋酸(1:1)混合溶液 30ml,使溶解。精密加新制碘化钾饱和溶液 1ml,密塞,轻轻振摇半分钟,在暗处放置 3 分钟,加水 100ml,用硫代硫酸钠滴定液(0.01mol/L)滴定至溶液呈浅黄色时,加淀粉指示液 1ml,继续滴定至蓝色消失;同时做空白试验,照下式计算:

$$\text{供试品的过氧化值} = \frac{(A-B) \times 0.001269}{W} \times 100$$

式中 A 为油脂消耗硫代硫酸钠滴定液的体积,ml;

B 为空白试验消耗硫代硫酸钠滴定液的体积,ml;

W 为油脂的重量,g;

0.001269 为硫代硫酸钠滴定液(0.01mol/L)1ml 相当于碘的重量,g。

附录IX Q 农药残留量测定法

本法系用气相色谱法(附录VI E)测定药材、饮片及制剂中部分有机氯、有机磷和拟除虫菊酯类农药,除另有规定外,按下列方法测定。

一、有机氯类农药残留量测定

色谱条件与系统适用性试验 弹性石英毛细管柱

(30m×0.32mm×0.25μm)SE-54(或 DB-1701),⁶³Ni-ECD 电子捕获检测器。进样口温度 230℃,检测器温度 300℃,不分流进样。程序升温:初始 100℃,每分钟 10℃ 升至 220℃,每分钟 8℃ 升至 250℃,保持 10 分钟。理论板数按 α-BHC 峰计算应不低于 4×10⁴,两个相邻色谱峰的分离度应大于 1.5。

对照品储备液的制备 精密称取六六六(BHC)(α-BHC, β-BHC, γ-BHC, δ-BHC)、滴滴涕(DDT)(PP'-DDE, PP'-DDD, OP'-DDT, PP'-DDT)及五氯硝基苯(PCNB)农药对照品适量,用石油醚(60~90℃)分别制成每 1ml 约含 4~5μg 的溶液,即得。

混合对照品储备液的制备 精密量取上述各对照品储备液 0.5ml,置 10ml 量瓶中,用石油醚(60~90℃)稀释至刻度,摇匀,即得。

混合对照品溶液的制备 精密量取上述混合对照品储备液,用石油醚(60~90℃)制成每 1L 分别含 0μg、1μg、5μg、10μg、50μg、100μg、250μg 的溶液,即得。

供试品溶液的制备 药材或饮片 取供试品于 60℃ 干燥 4 小时,粉碎成细粉,取约 2g,精密称定,置 100ml 具塞锥形瓶中,加水 20ml 浸泡过夜,精密加丙酮 40ml,称定重量,超声处理 30 分钟,放冷,再称定重量,用丙酮补足减失的重量,再加氯化钠约 6g,精密加二氯甲烷 30ml,称定重量,超声处理 15 分钟,再称定重量,用二氯甲烷补足减失的重量,静置(使分层),将有机相迅速移入装有适量无水硫酸钠的 100ml 具塞锥形瓶中,放置 4 小时。精密量取 35ml,于 40℃ 水浴上减压浓缩至近干,加少量石油醚(60~90℃)如前反复操作至二氯甲烷及丙酮除净,用石油醚(60~90℃)溶解并转移至 10ml 具塞刻度离心管中,加石油醚(60~90℃)精密稀释至 5ml,小心加入硫酸 1ml,振摇 1 分钟,离心(3000 转/分)10 分钟,精密量取上清液 2ml,置具刻度的浓缩瓶(见图)中,连接旋转蒸发器,40℃ 下(或用氮气)将溶液浓缩至适量,精密稀释至 1ml,即得。

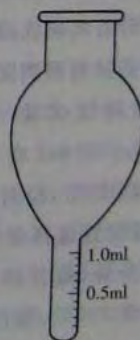


图 刻度浓缩瓶

制剂 取供试品,研成细粉(蜜丸切碎,液体直接量取),精密称取适量(相当于药材 2g),以下按上述供试品溶液制备方法制备,即得供试品溶液。

测定法 分别精密吸取供试品溶液和与之相对应浓度的混合对照品溶液各 1μl,分别连续进样 3 次,取 3 次平均值,按外标法计算供试品中 9 种有机氯农药残留量。

二、有机磷类农药残留量测定

色谱条件与系统适用性试验 弹性石英毛细管柱 (30m×0.25mm×0.25μm) DB-17MS (或 HP-5), 氮磷检测器 (NPD)。进样口温度 220℃, 检测器温度 300℃, 不分流进样。程序升温: 初始 120℃, 每分钟 10℃ 升至 200℃, 每分钟 5℃ 升至 240℃, 保持 2 分钟, 每分钟 20℃ 升至 270℃, 保持 0.5 分钟。理论板数按敌敌畏峰计算应不低于 6000, 两个相邻色谱峰的分离度应大于 1.5。

对照品储备液的制备 精密称取对硫磷、甲基对硫磷、乐果、氧化乐果、甲胺磷、久效磷、二嗪农、乙硫磷、马拉硫磷、杀扑磷、敌敌畏、乙酰甲胺磷农药对照品适量, 用乙酸乙酯分别制成每 1ml 约含 100μg 的溶液, 即得。

混合对照品储备液的制备 精密量取上述各对照品储备液 1ml, 置 20ml 棕色量瓶中, 加乙酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 即得。

混合对照品溶液的制备 精密量取上述混合对照品储备液, 用乙酸乙酯制成每 1ml 分别含 0.1μg、0.5μg、1μg、2μg、5μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备 药材或饮片 取供试品粉末 (过二号筛) 约 5g, 精密称定, 加无水硫酸钠 5g, 加入乙酸乙酯 50~100ml, 冰浴超声处理 3 分钟, 放置, 取上层液滤过, 药渣加乙酸乙酯 30~50ml, 冰浴超声处理 2 分钟, 放置, 滤过, 合并两次滤液, 用少量乙酸乙酯洗涤滤纸及残渣, 与上述滤液合并。取滤液于 40℃ 以下减压浓缩至近干, 用乙酸乙酯转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 精密量取 1ml, 置活性炭小柱 [120~400 目, 0.25g, 内径 0.9cm (如 Supelclean ENVI-Carb SPE Tubes, 3ml 活性炭小柱), 用乙酸乙酯 5ml 预洗] 上, 置多功能真空样品处理器上, 用正己烷-乙酸乙酯 (1:1) 混合溶液 5ml 洗脱, 收集洗脱液, 置氮吹仪上浓缩至近干, 精密加入乙酸乙酯 1ml 使溶解, 即得。

测定法 分别精密吸取供试品溶液和与之相对应浓度的混合对照品溶液各 1μl, 分别连续进样 3 次, 取 3 次平均值, 按外标法计算供试品中 12 种有机磷农药残留量。

三、拟除虫菊酯类农药残留量测定

色谱条件与系统适用性试验 弹性石英毛细管柱 (30m×0.32mm×0.25μm) SE-54 (或 DB-5), ⁶³Ni-ECD 电子捕获检测器。进样口温度 270℃, 检测器温度 330℃。分流比 20:1:5:1 (或根据仪器设置选择最佳的分流比)。程序升温: 初始 160℃, 保持 1 分钟, 每分钟 10℃ 升至 278℃, 保持 0.5 分钟, 每分钟 1℃ 升至 290℃, 保持 5 分钟。理论板数按溴氰菊酯峰计算应不低于 1×10⁵, 两个相邻色谱峰的分离度应大于 1.5。

对照品储备液的制备 精密称取溴氰菊酯、氰戊菊酯及溴氰菊酯农药对照品适量, 用石油醚 (60~90℃) 分别制成每 1ml 约含 20~25μg 的溶液, 即得。

混合对照品储备液的制备 精密量取上述各对照品储备液 1ml, 置 10ml 量瓶中, 用石油醚 (60~90℃) 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

附录 58

混合对照品溶液的制备 精密量取上述混合对照品储备液, 用石油醚 (60~90℃) 稀释制成每 1L 分别含 0μg、4μg、8μg、40μg、200μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备 药材或饮片 取供试品于 60℃ 干燥 4 小时, 粉碎成细粉 (过五号筛), 取约 1~2g, 精密称定, 置 100ml 具塞锥形瓶中, 加石油醚 (60~90℃) 丙酮 (4:1) 混合溶液 30ml, 超声处理 15 分钟, 滤过, 药渣再重复上述操作 2 次后, 合并滤液。滤液加入适量无水硫酸钠脱水后, 于 40~45℃ 减压浓缩至近干, 用少量石油醚 (60~90℃) 反复操作至丙酮除净, 残渣加适量石油醚 (60~90℃) 溶解, 置混合小柱 (从下至上依次为无水硫酸钠 2g, 弗罗里硅土 4g, 微晶纤维素 1g, 氧化铝 1g, 无水硫酸钠 2g, 用石油醚 (60~90℃)-乙醚 (4:1) 混合溶液 20ml 预洗] 上, 用石油醚 (60~90℃)-乙醚 (4:1) 混合溶液 90ml 洗脱, 收集洗脱液, 于 40~45℃ 减压浓缩至近干, 再用石油醚 (60~90℃) 3~4ml 重复操作至乙醚除净, 用石油醚 (60~90℃) 溶解转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 即得。

测定法 分别精密吸取供试品溶液和与之相对应浓度的混合对照品溶液各 1μl, 分别连续进样 3 次, 取 3 次平均值, 按外标法计算供试品中 3 种拟除虫菊酯农药残留量。

附录 IX R 不溶性微粒检查法

本法系在可见异物检查符合规定后, 用以检查静脉用注射剂 (溶液型注射液、注射用无菌粉末、注射用浓溶液) 及静脉注射用无菌原料药中不溶性微粒的大小及数量。

本法包括光阻法和显微计数法。当光阻法测定结果不符合规定或供试品不适于用光阻法测定时, 应采用显微计数法进行测定, 并以显微计数法的测定结果作为判定依据。

光阻法不适用于黏度过高和易析出结晶的制剂, 也不适用于进入传感器时容易产生气泡的注射剂。对于黏度过高, 采用两种方法都无法直接测定的注射液, 可用适宜的溶剂经适当稀释后测定。

试验环境及检测 试验操作环境应不得引入外来微粒。测定前的操作应在层流净化台中进行。玻璃仪器和其他所需的用品均应洁净、无微粒。本法所用微粒检查用水 (或其他适宜溶剂), 使用前须经不大于 1.0μm 的微孔滤膜滤过。

取微粒检查用水 (或其他适宜溶剂) 50ml, 按相应检查法项下规定的方法测定。光阻法要求每 10ml 中含 10μm 及 10μm 以上的不溶性微粒应在 10 粒以下, 含 25μm 及 25μm 以上的不溶性微粒应在 2 粒以下。显微计数法要求每 50ml 中含 10μm 及 10μm 以上的不溶性微粒应在 20 粒以下, 含 25μm 及 25μm 以上的不溶性微粒应在 5 粒以下。否则表明微粒检查用水 (或其他适宜溶剂)、玻璃仪器或试验环境不适于进行微粒检查, 应重新处理, 检测符合规定后方可进行供试品检查。

第一法 (光阻法)

当液体中的微粒通过一窄小的检测区时, 与液体流动垂

直射光,由于被微粒阻挡而减弱,因此由传感器输出的信号降低,这种信号变化与微粒的截面积大小相关,光阻法检查注射剂中不溶性微粒即依据此原理。

对仪器的一般要求 仪器通常包括取样器、传感器和数据处理器三部分。

测量粒径范围为 $2\sim 100\mu\text{m}$,检测微粒浓度为 $0\sim 10\,000$ 个/ml。

仪器的校正与检定 所用仪器应至少每6个月校正一次。

(1)取样体积 待仪器稳定后,取多于取样体积的微粒检查用水置于取样杯中,称定重量,通过取样器由取样杯中量取一定体积的微粒检查用水后,再次称定重量。以两次称定的重量之差计算取样体积。连续测定3次,每次测得体积与量取体积的示值之差应在 $\pm 5\%$ 以内。测定体积的平均值与量取体积的示值之差应在 $\pm 3\%$ 以内。也可采用其他适宜的方法校正,结果应符合上述规定。

(2)微粒计数 取相对标准偏差 $\leq 5\%$,平均粒径为 $10\mu\text{m}$ 的标准粒子,制成每1ml中含 $1000\sim 1500$ 微粒数的悬浮液,静置2分钟脱气,开启搅拌器,缓慢搅拌使其均匀(避免气泡产生),依法测定3次,记录 $5\mu\text{m}$ 通道的累计计数,第一次数据不计,后两次测定结果的平均值与已知粒子数之差应在 $\pm 20\%$ 以内。

(3)传感器分辨率 取相对标准偏差 $\leq 5\%$,平均粒径为 $10\mu\text{m}$ 的标准粒子(均值粒径的标准差应 $\leq 1\mu\text{m}$),制成每1ml中含 $1000\sim 1500$ 微粒数的悬浮液,静置2分钟脱气,开启搅拌器,缓慢搅拌使其均匀(避免气泡产生),依法测定 $8\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 和 $12\mu\text{m}$ 三个通道的粒子数,计算 $8\mu\text{m}$ 与 $10\mu\text{m}$ 两个通道的差值计数和 $10\mu\text{m}$ 与 $12\mu\text{m}$ 两个通道的差值计数,上述两个差值计数与 $10\mu\text{m}$ 通道的累计计数之比都不得小于 68% 。若校正结果不符合规定,应重新调试仪器后再次进行校正,符合规定后方可使用。

如所使用仪器附有自检软件,可进行自检。

检查法

(1)标示装量为25ml或25ml以上的静脉用注射液或注射用浓溶液 除另有规定外,取供试品,用水将容器外壁洗净,小心翻转20次,使溶液混合均匀,立即小心开启容器,先倒出部分供试品溶液冲洗开启口及取样杯,再将供试品溶液倒入取样杯中,静置2分钟或适当时间脱气,置于取样器上(或将供试品容器直接置于取样器上)。开启搅拌,使溶液混匀(避免气泡产生),依法测定至少3次,每次取样应不少于5ml,记录数据;另取至少2个供试品,同法测定。每个供试品第一次数据不计,取后续测定结果的平均值计算。

(2)标示装量为25ml以下的静脉用注射液或注射用浓溶液 除另有规定外,取供试品,用水将容器外壁洗净,小心翻转20次,使溶液混合均匀,静置2分钟或适当时间脱气,小心开启容器,直接将供试品容器置于取样器上,开启搅拌或以手缓慢转动,使溶液混匀(避免产生气泡),由仪器直接抽取适量溶液(以不吸入气泡为限),测定并记录数据;另取至少3个供试

品,同法测定。第一个供试品的数据不计,取后续测定结果的平均值计算。

(1)、(2)项下的注射用浓溶液如黏度太大,不便直接测定时,可经适当稀释,依法测定。

也可采用适宜的方法,在层流净化台上小心合并至少3个供试品的内容物(使总体积不少于25ml),置于取样杯中,静置2分钟或适当时间脱气,置于取样器上。开启搅拌,使溶液混匀(避免气泡产生),依法测定至少4次,每次取样应不少于5ml。第一次数据不计,取后续测定结果的平均值,根据取样体积与每个容器的标示装置体积,计算每个容器所含的微粒数。

(3)静脉注射用无菌粉末 除另有规定外,取供试品,用水将容器外壁洗净,小心开启瓶盖,精密加入适量微粒检查用水(或适宜的溶剂),小心盖上瓶盖,缓缓振摇使内容物溶解,静置2分钟或适当时间脱气,小心开启容器,直接将供试品容器置于取样器上,开启搅拌或以手缓缓转动,使溶液混匀(避免气泡产生),由仪器直接抽取适量溶液(以不吸入气泡为限),测定并记录数据;另取至少3个供试品,同法测定。第一个供试品的数据不计,取后续测定结果的平均值计算。

也可采用适宜的方法,取至少3个供试品,在层流净化台上用水将容器外壁洗净,小心开启瓶盖,分别精密加入适量微粒检查用水(或适宜的溶剂),缓缓振摇使内容物溶解,小心合并容器中的溶液(使总体积不少于25ml),置于取样杯中,静置2分钟或适当时间脱气,置于取样器上。开启搅拌,使溶液混匀(避免气泡产生),依法测定至少4次,每次取样应不少于5ml。第一次数据不计,取后续测定结果的平均值,计算每个容器所含的微粒数。

(4)供注射用无菌原料药 按各品种项下规定,取供试品适量(相当于单个制剂的最大规格量),置取样杯或适宜的容器中,照上述(3)法,自“精密加入适量微粒检查用水(或适宜的溶剂),缓缓振摇使内容物溶解”起,依法操作,测定并记录数据;另取至少三份供试品,同法测定。第一次数据不计,取后续测定结果的平均值,计算每份所含的微粒数。

结果判定

(1)标示装量为100ml或100ml以上的静脉用注射液 除另有规定外,每1ml中含 $10\mu\text{m}$ 及 $10\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过25粒,含 $25\mu\text{m}$ 及 $25\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过3粒。

(2)标示装量为100ml以下的静脉用注射液、静脉注射用无菌粉末、注射用浓溶液及供注射用无菌原料药 除另有规定外,每个供试品容器(份)中含 $10\mu\text{m}$ 及 $10\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过6000粒,含 $25\mu\text{m}$ 及 $25\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过600粒。

第二法(显微计数法)

对仪器的一般要求 仪器通常包括层流净化台、显微镜、微孔滤膜及其滤器、平皿等。

层流净化台 高效空气过滤器孔径 $0.45\mu\text{m}$,气流方向由里向外,应定期检查风速及净化台上空气中的微粒数。

显微镜 双筒大视野显微镜,目镜内附标定的测微尺(每格 $5\sim 10\mu\text{m}$)。坐标轴前后、左右移动范围均应大于30mm。

附录 IX S 注射剂有关物质检查法

显微镜装置内附有光线投射角度、光强度均可调节的照明装置。检测时放大 100 倍。

微孔滤膜 白色,孔径 $0.45\mu\text{m}$ 、直径 25mm 或 13mm,一面印有间隔 3mm 的格栅;膜上如有 $10\mu\text{m}$ 以上的不溶性微粒,应在 5 粒以下,并不得有 $25\mu\text{m}$ 以上的微粒,必要时,可用微粒检查用水冲洗使符合要求。

检查前的准备 试验环境检测符合规定后,在层流净化台上将滤器用微粒检查用水(或其他适宜溶剂)冲洗至洁净,用平头无齿镊子夹取测定用滤膜,用微粒检查用水(或其他适宜溶剂)冲洗后,置滤器托架上;固定滤器,倒置,反复用微粒检查用水(或其他适宜溶剂)冲洗滤器内壁,沥干后安装在抽滤瓶上,备用。

检查法

(1)标示装量为 25ml 或 25ml 以上的静脉用注射液或注射用浓溶液 除另有规定外,取供试品,用水将容器外壁洗净,在层流净化台上小心翻转 20 次,使溶液混合均匀,立即小心开启容器,用适宜的方法抽取或量取供试品溶液 25ml,沿滤器内壁缓缓注入经预处理的滤器(滤膜直径 25mm)中。静置 1 分钟,缓缓抽滤至滤膜近干,再用微粒检查用水 25ml,沿滤器内壁缓缓注入,洗涤并抽滤至滤膜近干,然后用平头镊子将滤膜移置平皿上(必要时,可涂抹极薄层的甘油使滤膜平整),微启盖子使滤膜适当干燥后,将平皿闭合,置显微镜载物台上。调好入射光,放大 100 倍进行显微测量,调节显微镜至滤膜格栅清晰,移动坐标轴,分别测定有效滤过面积上最长粒径大于 $10\mu\text{m}$ 和 $25\mu\text{m}$ 的微粒数。另取至少 2 个供试品,同法测定,计算测定结果的平均值。

(2)标示装量为 25ml 以下的静脉用注射液或注射用浓溶液 除另有规定外,取供试品,用水将容器外壁洗净,在层流净化台上小心翻转 20 次,使混合均匀,立即小心开启容器,用适宜的方法直接抽取每个容器中的全部溶液,沿滤器内壁缓缓注入经预处理的滤器(滤膜直径 13mm)中,照上述(1)同法测定。

(3)静脉注射用无菌粉末及供注射用无菌原料药 除另有规定外,照光阻法中检查法的(3)或(4)制备供试品溶液,同上述(1)操作测定。

结果判定

(1)标示装量为 100ml 或 100ml 以上的静脉用注射液 除另有规定外,每 1ml 中含 $10\mu\text{m}$ 及 $10\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过 12 粒,含 $25\mu\text{m}$ 及 $25\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过 2 粒。

(2)标示装量为 100ml 以下的静脉用注射液,静脉注射用无菌粉末、注射用浓溶液及供注射用无菌原料药 除另有规定外,每个供试品容器(份)中含 $10\mu\text{m}$ 及 $10\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过 3000 粒,含 $25\mu\text{m}$ 及 $25\mu\text{m}$ 以上的微粒不得过 300 粒。

附录 IX S 注射剂有关物质检查法

注射剂有关物质系指中药材经提取、纯化制成注射剂后,残留在注射剂中可能含有并需要控制的物质。除另有规定

附录 60

外,一般应检查蛋白质、鞣质、树脂等,静脉注射液还应检查草酸盐、钾离子等,其检查方法如下。

蛋白质 除另有规定外,取注射液 1ml,加新配制的 36% 磷酸水杨酸溶液 1ml,混匀,放置 5 分钟,不得出现浑浊。注射液如含有遇酸能产生沉淀的成分,可改加鞣酸试液 1~3 滴,不得出现浑浊。

鞣质 除另有规定外,取注射液 1ml,加新配制的含 1% 鸡蛋清的生理氯化钠溶液 5ml(必要时,用微孔滤膜($0.45\mu\text{m}$)滤过),放置 10 分钟,不得出现浑浊或沉淀。如出现浑浊或沉淀,取注射液 1ml,加稀醋酸 1 滴,再加氯化钠明胶试液 4~5 滴,不得出现浑浊或沉淀。

含有聚乙二醇、聚山梨酯等聚氧乙烯基物质的注射液,虽有鞣质也不产生沉淀,对这类注射液应取未加附加剂前的半成品检查。

树脂 除另有规定外,取注射液 5ml,加盐酸 1 滴,放置 30 分钟,不得出现沉淀。如出现沉淀,另取注射液 5ml,加三氯甲烷 10ml 振摇提取,分取三氯甲烷液,置水浴上蒸干,残渣加冰醋酸 2ml 使溶解,置具塞试管中,加水 3ml,混匀,放置 30 分钟,不得出现沉淀。

草酸盐 除另有规定外,取溶液型静脉注射液适量,用稀盐酸调节 pH 值至 1~2,滤过,取滤液 2ml,滤液调节 pH 值至 5~6,加 3% 氯化钙溶液 2~3 滴,放置 10 分钟,不得出现浑浊或沉淀。

钾离子 除另有规定外,取静脉注射液 2ml,蒸干,先用小火炽灼至炭化,再在 $500\sim 600^\circ\text{C}$ 炽灼至完全灰化,加稀醋酸 2ml 使溶解,置 25ml 量瓶中,加水稀释至刻度,混匀,作为供试品溶液。取 10ml 纳氏比色管两支,甲管中精密加入标准钾离子溶液 0.8ml,加碱性甲醛溶液(取甲醛溶液,用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 8.0~9.0)0.6ml、3% 乙二胺四醋酸二钠溶液 2 滴、3% 四苯硼钠溶液 0.5ml,加水稀释成 10ml,乙管中精密加入供试品溶液 1ml,与甲管同时依法操作,摇匀,甲、乙两管同置黑纸上,自上向下透视,乙管中显出的浊度与甲管比较,不得更浓。

注:标准钾离子溶液的配制

取硫酸钾适量,研细,于 110°C 干燥至恒重,精密称取 2.23g,置 1000ml 量瓶中,加水适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。临用前,精密量取贮备液 10ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 相当于 $100\mu\text{g}$ 的 K)。

附录 IX T 甲醇量检查法

本法系用气相色谱法(附录 VI E)测定酒剂或酊剂中甲醇的含量。除另有规定外,按下列方法测定。

第一法(毛细管柱法)

色谱条件与系统适用性试验 用键合交联聚乙二醇为固定液的毛细管柱;起始温度为 40°C ,维持 5 分钟,再以每分钟 10°C 的速率升温至 200°C ,维持 5 分钟;进样口温度 150°C ;检测器温度 250°C 。

温度 200℃; 顶空进样平衡温度为 85℃, 平衡时间为 15~20 分钟。理论板数按甲醇峰计算应不低于 10 000, 甲醇峰与其他色谱峰的分离度应大于 1.5。

测定法 取供试液作为供试品溶液。精密量取甲醇 1ml, 置 100ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10ml, 置 100ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。分别精密量取对照品溶液与供试品溶液各 3ml, 置 10ml 顶空进样瓶中, 密封, 顶空进样。按外标法以峰面积计算, 即得。

第二法(填充柱法)

色谱条件与系统适用性试验 用直径为 0.18~0.25mm 的二乙烯苯-乙基乙烯苯型高分子多孔小球作为载体; 柱温 125℃。理论板数按甲醇峰计算应不低于 1500; 甲醇峰、乙醇峰与内标物质各相邻色谱峰之间的分离度应符合规定。

校正因子测定 精密量取正丙醇 1ml, 置 100ml 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为内标溶液。另精密量取甲醇 1ml, 置 100ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10ml, 置 100ml 量瓶中, 精密加内标溶液 10ml, 用水稀释至刻度, 摇匀, 取 1μl 注入气相色谱仪, 连续进样 3~5 次, 测定峰面积, 计算校正因子。

测定法 精密量取内标溶液 1ml, 置 10ml 量瓶中, 加供试液至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 取 1μl 注入气相色谱仪, 测定, 即得。

除另有规定外, 供试液含甲醇量不得过 0.05%(ml/ml)。

【附注】 如采用填充柱法时, 内标物质峰相应的位置出现杂质峰, 可改用外标法测定。

附录 IX U 二氧化硫残留量测定法

本法系用蒸馏法测定经硫黄熏蒸处理过的药材或饮片中的二氧化硫的残留量。除另有规定外, 按下列方法测定。

仪器装置 如图。A 为 1000ml 两颈圆底烧瓶; B 为竖式回流冷凝管; C 为(带刻度)分液漏斗; D 为连接氮气流入口; E 为二氧化硫气体导出口。另配磁力搅拌器及电热套。

测定法 取药材或饮片细粉约 10g, 精密称定, 置两颈圆底烧瓶中, 加水 300~400ml 和 6mol/L 盐酸溶液 10ml, 连接刻度分液漏斗, 并导入氮气至瓶底, 连接回流冷凝管, 在冷凝管的上端 E 口处连接导气管, 将导气管插入 250ml 锥形瓶底部。锥形瓶内加水 125ml 和淀粉指示液 1ml 作为吸收液, 置于磁力搅拌器上不断搅拌。加热两颈圆底烧瓶内的溶液至沸, 并保持微沸约 3 分钟后开始用碘滴定液(0.01mol/L)滴定, 至蓝色或蓝紫色持续 20 秒钟不褪, 并将滴定的结果用空白试验校正。照下式计算:

$$\text{供试品中二氧化硫残留量(mg/g)} = \frac{(A-B) \times C \times 0.032 \times 1000}{W}$$

式中 A 为供试品消耗碘滴定液的体积, ml;

B 为空白消耗碘滴定液的体积, ml;

C 为碘滴定液浓度, 0.01mol/L;

W 为供试品的重量, g;

0.032 为每 1ml 碘滴定液(1mol/L)相当的二氧化硫的重量, g。

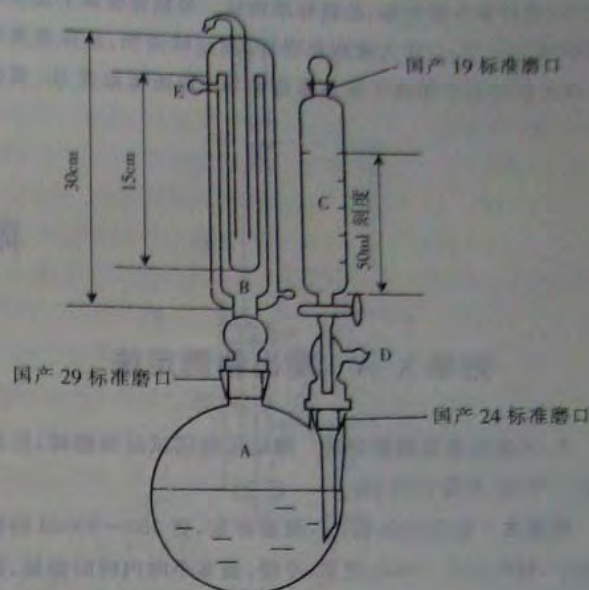


图 二氧化硫残留量测定仪器装置

附录 IX V 黄曲霉毒素测定法

本法系用高效液相色谱法(附录 VI D)测定药材、饮片及制剂中的黄曲霉毒素(以黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₁ 和黄曲霉毒素 G₂ 总量计), 除另有规定外, 按下列方法测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅键合硅胶为填充剂; 以甲醇-乙腈-水(40:18:42)为流动相, 流速每分钟 0.8ml; 采用柱后衍生法检测, 衍生溶液为 0.05% 的碘溶液(取碘 0.5g, 加入甲醇 100ml 使溶解, 用水稀释至 1000ml 制成), 衍生化泵流速每分钟 0.3ml, 衍生化温度 70℃; 以荧光检测器检测, 激发波长 λ_{ex}=360nm(或 365nm), 发射波长 λ_{em}=450nm。两个相邻色谱峰的分离度应大于 1.5。

混合对照品溶液的制备 精密量取黄曲霉毒素混合标准品(黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₁、黄曲霉毒素 G₂ 标示浓度分别为 1.0μg/ml、0.3μg/ml、1.0μg/ml、0.3μg/ml)0.5ml, 置 10ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 作为储备液。精密量取储备液 1ml, 置 25ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得。

供试品溶液的制备 取供试品粉末约 15g(过二号筛), 精密称定, 加入氯化钠 3g, 置于均质瓶中, 精密加入 70% 甲醇溶液 75ml, 高速搅拌 2 分钟(搅拌速度大于 11 000 转/分钟), 离心 5 分钟(离心速度 2500 转/分钟), 精密量取上清液 15ml, 置 50ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45μm)滤过, 量取续滤液 20.0ml, 通过免疫亲和柱(AflaTest® P), 流速每分钟 3ml, 用水 20ml 洗脱, 洗脱液弃去, 使空气进入柱子, 将水挤出柱子, 再用适量甲醇洗脱, 收集洗脱液,

附录 X A 浸出物测定法

置 2ml 量瓶中，并用乙醇稀释至刻度，摇匀，即得。
测定法 分别精密吸取上述混合对照品溶液 5 μ l、10 μ l、15 μ l、20 μ l、25 μ l，注入液相色谱仪，测定峰面积，以峰面积为纵坐标，进样量为横坐标，绘制标准曲线。另精密吸取上述供试品溶液 20~25 μ l，注入液相色谱仪，测定峰面积，从标准曲线上读出供试品中相当于黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲

附录 X A 浸出物测定法

1. 水溶性浸出物测定法 测定用的供试品需粉碎，使能通过二号筛，并混合均匀。

冷浸法 取供试品约 4g，精密称定，置 250~300ml 的锥形瓶中，精密加水 100ml，密塞，冷浸，前 6 小时内时时振摇，再静置 18 小时，用干燥滤器迅速滤过，精密量取续滤液 20ml，置已干燥至恒重的蒸发皿中，在水浴上蒸干后，于 105℃ 干燥 3 小时，置干燥器中冷却 30 分钟，迅速精密称定重量。除另有规定外，以干燥品计算供试品中水溶性浸出物的含量(%)。

热浸法 取供试品约 2~4g，精密称定，置 100~250ml 的锥形瓶中，精密加水 50~100ml，密塞，称定重量，静置 1 小时后，连接回流冷凝管，加热至沸腾，并保持微沸 1 小时。放冷后，取下锥形瓶，密塞，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，用干燥滤器滤过，精密量取续滤液 25ml，置已干燥至恒重的蒸发皿中，在水浴上蒸干后，于 105℃ 干燥 3 小时，置干燥器中冷却 30 分钟，迅速精密称定重量。除另有规定外，以干燥品计算供试品中水溶性浸出物的含量(%)。

2. 醇溶性浸出物测定法 照水溶性浸出物测定法测定。除另有规定外，以各品种项下规定浓度的乙醇代替水为溶剂。

3. 挥发性浸出物测定法 取供试品(过四号筛)2~5g，精密称定，置五氧化二磷干燥器中干燥 12 小时，置索氏提取器中，加乙醚适量，除另有规定外，加热回流 8 小时，取乙醚液，置干燥至恒重的蒸发皿中，挥去乙醚，残渣置五氧化二磷干燥器中干燥 18 小时，精密称定，缓缓加热至 105℃，并于 105℃ 干燥至恒重。其减失重量即为挥发性浸出物的重量。

附录 X B 鞣质含量测定法

本实验应避免光操作。

对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 50mg，置 100ml 棕色量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，精密量取 5ml，置 50ml 棕色量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，即得(每 1ml 中含没食子酸 0.05mg)。
标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 0.5ml、1.0ml、

附录 62

附录 X

2. 0ml、3. 0ml、4. 0ml、5. 0ml，分别置 25ml 棕色量瓶中，各加入磷酸钨酸试液 1ml，再分别加水 11. 5ml、10ml、9ml、8ml、7ml，用 2% 碳酸钠溶液稀释至刻度，摇匀，放置 30 分钟以相应的试剂为空白，照紫外-可见分光光度法(附录 V A)，在 760nm 的波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 取药材粉末适量(按品种项下的规定)，精密称定，置 250ml 棕色量瓶中，加水 150ml，放置过夜，超声处理 10 分钟，放冷，用水稀释至刻度，摇匀，静置(使固体物沉淀)，滤过，弃去初滤液 50ml，精密量取续滤液 20ml，置 100ml 棕色量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，即得。

测定法 总酚 精密量取供试品溶液 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，照标准曲线的制备项下的方法，自“加入磷酸钨酸试液 1ml”起，加水 10ml，依法测定吸光度，从标准曲线中读出供试品溶液中没食子酸的量(mg)，计算，即得。

不被吸附的多酚 精密量取供试品溶液 25ml，加至已盛有干酪素 0. 6g 的 100ml 具塞锥形瓶中，密塞，置 30℃ 水浴中保温 1 小时，时时振摇，取出，放冷，摇匀，滤过，弃去初滤液，精密量取续滤液 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，照标准曲线的制备项下的方法，自“加入磷酸钨酸试液 1ml”起，加水 10ml，依法测定吸光度，从标准曲线中读出供试品溶液中没食子酸的量(mg)，计算，即得。

附录 X C 按油精含量测定法

鞣质含量 = 总酚量 - 不被吸附的多酚量

按下式计算鞣质的含量：

照气相色谱法(附录 VI E)测定。

色谱条件与系统适用性试验 以聚乙二醇 20000(PEG-20M)和硅酮(OV-17)为固定液，涂布浓度分别为 10% 和 2% 涂布后的载体以 7:3 的比例(重量比)装入同一柱内(PEG 在进样口端)；柱温为 110℃ $\pm$ 5℃；理论板数按按油峰计算，不低于 2500；按油精与相邻杂质峰的分离度应符合要求。

校正因子的测定 取环己酮适量，精密称定，加正己烷溶解并稀释成每 1ml 含 50mg 的溶液，作为内标溶液。另取按油精对照品约 100mg，精密称定，置 10ml 量瓶中，精密加入内标溶液 2ml，用正己烷稀释至刻度，摇匀，取 1 μ l 注入气相色谱

测定法 取供试品约100mg,精密称定,置10ml量瓶中,加入内标溶液2ml,用正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。取1 μ l注入气相色谱仪,测定,即得。

附录X D 挥发油测定法

测定用的供试品,除另有规定外,须粉碎使能通过二号筛,并混合均匀。

仪器装置 如图。A为1000ml(或500ml,2000ml)的硬质圆底烧瓶,上接挥发油测定器B,B的上端连接回流冷凝管C,以上各部分均用玻璃磨口连接。测定器B应具有0.1ml的刻度。全部仪器应充分洗净,并检查接合部分是否严密,以防挥发油逸出。

测定法 甲法 本法适用于测定相对密度在1.0以下的挥发油。取供试品适量(约相当于含挥发油0.5~1.0ml),称重(准确至0.01g),置烧瓶中,加水300~500ml(或适量)与玻璃珠数粒,振荡混合后,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并

溢流入烧瓶时为止。置电热套中或用其他适宜方法缓缓加热煮沸,并保持微沸约5小时,至测定器中油量不再增加,停止加热,放置片刻,开启测定器下端的活塞,将水缓缓放出,至油层上端到达刻度0线上面5mm处为止。放置1小时以上,再开启活塞使油层下降至其上端恰与刻度0线平齐,读取挥发油量,并计算供试品中挥发油的含量(%)。

乙法 本法适用于测定相对密度在1.0以上的挥发油。取水约300ml与玻璃珠数粒,置烧瓶中,连接挥发油测定器。自测定器上端加水使充满刻度部分,并溢流入烧瓶时为止,再用移液管加入二甲苯1ml,然后连接回流冷凝管。将烧瓶内容

物移液管加入二甲苯1ml,然后连接回流冷凝管。将烧瓶内容

附录XI A 溶液颜色检查法

药物溶液的颜色及其与规定颜色的差异能在一定程度上反映药物的纯度。本法系将药物溶液的颜色与规定的标准比色液相比较,或在规定的波长处测定其吸光度,以检查其颜色。品种项下规定的“无色或几乎无色”,其“无色”系指供试品溶液的颜色与所用溶剂相同,“几乎无色”系指浅于用水稀释1倍后的相应色调1号标准比色液。

第一法

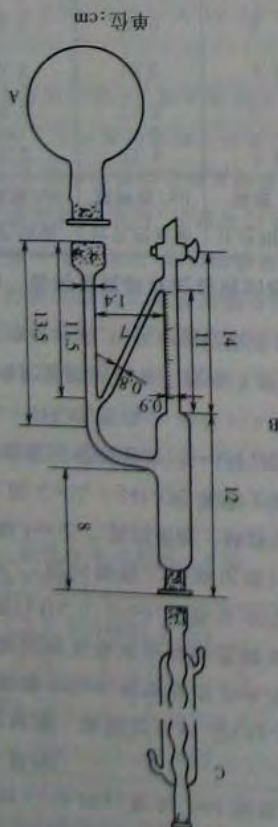
除另有规定外,取各品种项下规定量的供试品,加水溶解,置于25ml的纳氏比色管中,加水稀释至10ml。另取规定色调和色号的标准比色液10ml,置于另一25ml的纳氏比色

附录XI

物加热至沸腾,并继续蒸馏,其速度以保持冷凝管的中部呈冷却状态为度。30分钟后,停止加热,放置15分钟以上,读取二甲苯的容积。然后照甲法自“取供试品适量”起,依法测定。自油层量中减去二甲苯量,即为挥发油量,再计算供试品中挥发油的含量(%)。

注:装置中挥发油测定器的支管分岔处应与基准线平行。

图 挥发油测定仪器装置



附录XI A 溶液颜色检查法

(色差计法)测定,并将其测定结果作为判定依据。 比色用重铬酸钾液 精密称取在120℃干燥至恒重的基准重铬酸钾0.4008g,置500ml量瓶中,加适量水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。每1ml溶液中含0.800mg的 $K_2Cr_2O_7$ 。 比色用硫酸铜液 取硫酸铜约32.5g,加适量的盐酸溶液(1→40)使溶解成500ml,精密量取10ml,置碘量瓶中,加水50ml,醋酸4ml与碘化钾2g,用硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)滴定,至近终点时,加淀粉指示液2ml,继续滴定至蓝色消失。每1ml硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)相当于24.97mg的

附录63

附录 XI A 溶液颜色检查法

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。根据上述测定结果,在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液(1→40),使每 1ml 溶液中含 62.4mg 的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,即得。

比色用氯化钴液 取氯化钴约 32.5g,加适量的盐酸溶液(1→40)使溶解成 500ml,精密量取 2ml,置锥形瓶中,加水 200ml,摇匀,加氨试液至溶液由浅红色转变至绿色后,加醋酸-醋酸钠缓冲液(pH6.0)10ml,加热至 60℃,再加二甲酚橙指示液 5 滴,用乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)滴定至溶液显黄色。每 1ml 乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)相当于 11.90mg 的 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。根据上述测定结果,在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液(1→40),使每 1ml 溶液中含 59.5mg 的 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,即得。

各种色调标准贮备液的制备 按表 1 精密量取比色用氯化钴液、比色用重铬酸钾液、比色用硫酸铜液与水,摇匀,即得。

表 1 各种色调标准贮备液的配制

色调	比色用氯化钴液/ml	比色用重铬酸钾液/ml	比色用硫酸铜液/ml	水/ml
黄绿色	1.2	22.8	7.2	68.8
黄色	4.0	23.3	0	72.7
橙黄色	10.6	19.0	4.0	66.4
橙红色	12.0	20.0	0	68.0
棕红色	22.5	12.5	20.0	45.0

各种色调色号标准比色液的制备 按表 2 精密量取各色标准贮备液与水,摇匀,即得。

表 2 各种色调色号标准比色液的配制

色号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
贮备液/ml	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.5	6.0	7.5	10.0
加水量/ml	9.5	9.0	8.5	8.0	7.5	7.0	5.5	4.0	2.5	0

第二法

除另有规定外,取各品种项下规定量的供试品,加水溶解使成 10ml,必要时滤过,滤液照分光光度法于规定波长处测定,吸光度不得超过规定值。

第三法(色差计法)

本法是通过色差计直接测定溶液的透射三刺激值,对其颜色进行定量表述和分析的方法。当目视比色法较难判定供试品与标准比色液之间的差异时,应考虑采用本法进行测定与判断。

供试品与标准比色液之间的颜色差异,可以通过分别比较它们与水之间的色差值来得到,也可以通过直接比较它们之间的色差值来得到。

现代颜色视觉理论认为,在人眼视网膜上有三种感色的锥体细胞,分别对红、绿、蓝三种颜色敏感。颜色视觉过程可分为两个阶段:第一阶段,视网膜上三种独立的锥体感色物质,有选择地吸收光谱不同波长的辐射,同时每一物质又可单独产生白和黑的反应,即在强光作用下产生白的反应,无外界刺激时产生黑的反应;第二阶段,在神经兴奋由锥体感受器向

附录64

视觉中枢的传导过程中,这三种反应又重新组合,最后形成一对对立性的神经反应,即红或绿、黄或蓝、白或黑的反应。最终在大脑皮层的视觉中枢产生各种颜色感觉。

自然界中的每种颜色都可以用选定的、能刺激人眼中三种受体细胞的红、绿、蓝三原色,按适当比例混合而成。由此引入一个新的概念——三刺激值,即在给定的三色系统中与待测色达到色匹配所需要的三个原刺激量,分别以 X、Y、Z 表示。通过对众多具有正常色觉的人体(称为标准观察者,即标准眼)进行广泛的颜色比较试验,测定了每一种可见波长(400~760nm)的光引起每种锥体刺激的相对数量的色匹配函数,这些色匹配函数分别用 $\bar{x}(\lambda)$ 、 $\bar{y}(\lambda)$ 、 $\bar{z}(\lambda)$ 来表示。把这些色匹配函数组合起来,描绘成曲线,就叫做 CIE 色度标准观察者的光谱三刺激值曲线(图 1)。

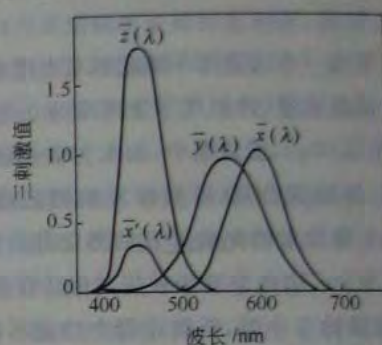


图 1 CIE 1931 色度标准观察者的光谱三刺激值曲线(10°视场)

色匹配函数和三刺激值间的关系以下列方程表示:

$$X = K \int S(\lambda) P(\lambda) \bar{x}(\lambda) d(\lambda)$$

$$Y = K \int S(\lambda) P(\lambda) \bar{y}(\lambda) d(\lambda)$$

$$Z = K \int S(\lambda) P(\lambda) \bar{z}(\lambda) d(\lambda)$$

式中 K 为归化系数;

$S(\lambda)$ 为光源的相对光谱功率分布;

$P(\lambda)$ 为物质色的光谱反射比或透射比;

$\bar{x}(\lambda)$ 、 $\bar{y}(\lambda)$ 、 $\bar{z}(\lambda)$ 为标准观察者的色匹配函数;

$d(\lambda)$ 为波长间隔,一般采用 10nm 或 5nm。

当某种颜色的三刺激值确定之后,则可用其计算出该颜色在一个理想的三维颜色空间中的坐标,由此推导出许多组的颜色方程(称为表色系统)来定义这一空间。如:CIE1931-XYZ 表色系统,CIE1964 补充标准色度系统,CIE1976 $L^*a^*b^*$ 色空间(CIE Lab 均匀色空间),Hunter 表色系统等。

为便于理解和比对,人们通常采用 CIE Lab 均匀色空间来表示颜色及色差。该色空间由直角坐标 $L^*a^*b^*$ 构成。在三维坐标系的任一点都代表一种颜色,其与参比点之间的几何距离代表两种颜色之间的色差(图 2 和图 3)。相等的距离代表相同的色差值。用仪器法对供试品溶液与其规定的标准比色液的颜色进行比较时,需比较的参数就是空白对照液的颜色和供试溶液或其规定的标准比色液颜色在均匀色空间中的差值。

为科学客观,且不随时间、地点、人员变化而发生变化。

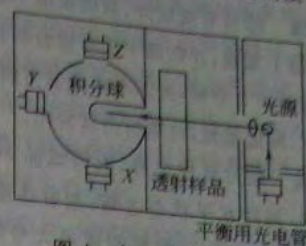


图4 色差计光学系统

1. 对仪器的一般要求

使用的测色仪器一般为光电积分型色差计,照明观察条件为 o/d 条件或 d/o 条件,D65光源照明, 10° 视场,可直接测出三刺激值 X, Y, Z ,并能直接计算给出 L^*, a^*, b^* 和 ΔE^* 及供试品溶液的色调色号。

因溶液的颜色随着被测定溶液的液层厚度而变,所以除另有规定外,测量透射色时,应使用1cm厚度液槽。

为保证测量的可靠性,应定期对仪器进行全面的检定。在每次测量时,要用无色物质如水或空气对仪器进行校准,并规定它在所有波长下的透射率均为1.000。

室温时,在D65为光源, 10° 视场条件下,水或空气的三刺激值分别为:

$$X = 94.81; Y = 100.00; Z = 107.32$$

2. 测定法

除另有规定外,用水对仪器进行校准,取按各品种项下规定的方法分别制得的供试品溶液和标准比色液,置仪器上进行测定,供试品溶液与水的色差值 ΔE^* 应不超过相应色调的标准比色液与水的色差值 ΔE^* 。

如品种项下规定的色调有两种,且供试品溶液的实际色调介于两种规定色调之间,且难以判断更倾向何种色调时,将测得的供试品溶液与水的色差值(ΔE^*)与两种色调标准比色液与水的色差值的平均值 $[(\Delta E^*_{\text{标准1}} + \Delta E^*_{\text{标准2}})/2]$ 比较,不得更深。

附录Ⅱ B 粒度测定法

本法用于测定制剂的粒子大小或限度。

第一法(显微镜法)

本法中的粒度,系以显微镜下观察到的长度表示。

目镜测微尺的标定 照显微鉴别法(附录Ⅱ C)标定。

测定法 除另有规定外,取供试品,用力摇匀(黏度较大者可按品种项下的规定加适量甘油溶液(1→2)稀释),照该剂型或品种项下的规定取供试品,置载玻片上,覆以盖玻片(注意防止气泡混入),轻压使颗粒分布均匀;半固体可直接涂于载玻片上。立即在50~100倍显微镜下检视盖玻片全部视野,应无凝聚现象,并不得检出该剂型或品种项下规定的50 μm 及50 μm 以上的粒子。再在200~500倍显微镜下检视该剂型或品种项下规定的视野内的总粒数及规定大小的粒数,计算所占百分比。

附录65

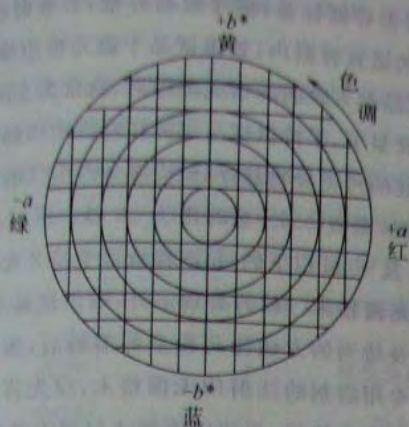


图2 $L^* a^* b^*$ 色品图

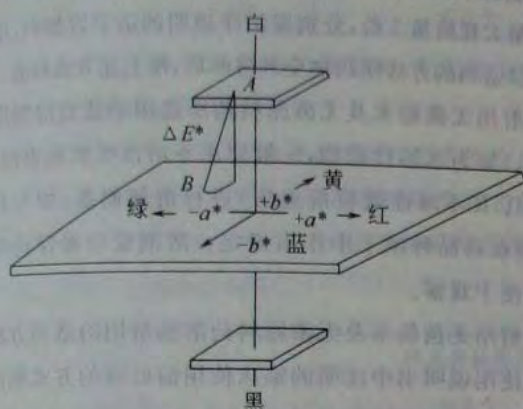


图3 $L^* a^* b^*$ 色空间和色差 ΔE^*

在CIELab均匀色空间中,三维色坐标 L^*, a^*, b^* 与三刺激值 X, Y, Z 和色差之间的关系如下:

$$\text{明度指数 } L^* = 116 \times (Y/Y_n)^{1/3} - 16$$

$$\text{色品指数 } a^* = 500 \times [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}]$$

$$\text{色品指数 } b^* = 200 \times [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}]$$

$$\text{色差 } \Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

以上公式仅适用于 $X/X_n, Y/Y_n, Z/Z_n > 0.008856$ 时。

式中 X, Y, Z 为待测溶液的三刺激值;

X_n, Y_n, Z_n 为完全漫反射体的三刺激值;

ΔE^* 为供试品溶液与标准比色液的色差;

ΔL^* 为供试品溶液与标准比色液的明度指数之差,其中 ΔL^* 为正,表示供试品溶液比标准比色液颜色亮(鲜艳);

$\Delta a^*, \Delta b^*$ 为供试品溶液色与标准比色液色的色品指数之差,其中 $\Delta a^*, \Delta b^*$ 为正,表示供试品比标准比色液颜色更深(饱和)。

色差计的工作原理简单地说是模拟人眼的视觉系统,利用仪器内部的模拟积分光学系统,把光谱光度数据的三刺激值进行积分而得到颜色的数学表达式,从而计算出 L^*, a^*, b^* 值及对比色的色差。图4为色差计光学系统示意图。在仪器使用的标准光源与日常观察供试品所使用光源光谱功率分布一致(比如日光),其光电响应接收条件与标准观察者的色觉特性一致(比如 10° 视场)的条件下,用仪器方法测定颜色,不但能够精确、定量地测定颜色和色差,而且比目测法更

第二法(筛分法)

1. 单筛分法 除另有规定外,取供试品 10g,称定重量,置规定的药筛中,筛上加盖,并在筛下配有密合的接收容器,按水平方向旋转振摇至少 3 分钟,并不时在垂直方向轻叩筛。取筛下的颗粒及粉末,称定重量,计算所占百分比。

2. 双筛分法 除另有规定外,取供试品 30g,称定重量,置规定的药筛中,保持水平状态过筛,左右往返,边筛动边轻叩 3 分钟。取不能通过小号筛和能通过大号筛的颗粒及粉末,称定重量,计算所占百分比。

附录 XI C 可见异物检查法

可见异物是指存在于注射剂、眼用液体制剂中,在规定条件下目视可以观测到的不溶性物质,其粒径或长度通常大于 $50\mu\text{m}$ 。

注射剂、眼用液体制剂应在符合药品生产质量管理规范(GMP)的条件下生产,产品在出厂前应采用适宜的方法逐一检查并同时剔除不合格产品。临用前,也在自然光下目视检查(避免阳光直射),如有可见异物,不得使用。

可见异物检查法有灯检法和光散射法。一般常用灯检法,也可采用光散射法。灯检法不适用的品种,如用深色透明容器包装或液体色泽较深(一般深于各标准比色液 7 号)的品种可选用光散射法。

实验室检测时应避免引入可见异物。当制备注射用无菌粉末和无菌原料药供试品溶液时,或供试品溶液的容器不适用于检测(如不透明、不规则形状容器等),需转移至适宜容器中时,均应在 100 级的洁净环境(如层流净化台)中进行。

用于本试验的供试品,必须按规定随机抽样。

第一法(灯检法)

灯检法应在暗室中进行。

检查装置 如下图所示。

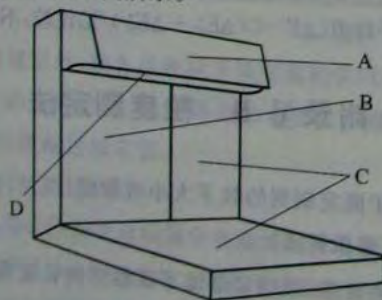


图 灯检法示意

A. 带有遮光板的日光灯光源(光照度可在 $1000\sim 4000\text{lx}$ 范围内调节);

B. 不反光的黑色背景;

C. 不反光的白色背景和底部(供检查有色异物);

D. 反光的白色背景(指遮光板内侧)。

检查人员条件 远距离和近距离视力测验,均应为 4.9 或 4.9 以上(矫正后视力应为 5.0 或 5.0 以上),应无色盲。

检查法

溶液型、乳状液及混悬型制剂 除另有规定外,取供试品

20 支(瓶),除去容器标签,擦净容器外壁,必要时将药液转移至洁净透明的适宜容器内;置供试品于遮光板边缘处,在明视距离(指供试品至人眼的清晰观测距离,通常为 25cm),分别在黑色和白色背景下,手持供试品颈部轻轻旋转和翻转容器使药液中可能存在的可见异物悬浮(但应避免产生气泡),轻轻翻摇后即目检视,重复 3 次,总时限为 20 秒。供试品装量每支(瓶)在 10ml 及 10ml 以下的,每次检查可手持 2 支(瓶)。

注射用无菌粉末 除另有规定外,取供试品 5 支(瓶),用适宜的溶剂及适当的方法使药粉全部溶解后,按上述方法检查。配带有专用溶剂的注射用无菌粉末,应先将专用溶剂按溶液型制剂检查合格后,再用以溶解注射用无菌粉末。

无菌原料药 除另有规定外,按抽样要求称取各品种制剂项下的最大规格量 5 份,分别置洁净透明的适宜容器内,用适宜的溶剂及适当的方法使药物全部溶解后,按上述方法检查。

注射用无菌粉末及无菌原料药所选用的适宜溶剂应无可见异物。如为水溶性药物,一般使用不溶性微粒检查用水(参见附录 IX R 不溶性微粒检查法)进行溶解制备;如为其他溶剂,则应在各品种项下中作出规定。溶剂量应确保药物溶解完全并便于观察。

注射用无菌粉末及无菌原料药溶解所用的适当方法应与其制剂使用说明书中注明的临床使用前处理的方式相同。如除振摇外还需其他辅助条件,则应在各品种项下中作出规定。

用无色透明容器包装的无色供试品溶液,检查时被观察样品所在处的光照度应为 $1000\sim 1500\text{lx}$;用透明塑料容器包装或用棕色透明容器包装的供试品溶液或有色供试品溶液,检查时被观察样品所在处的光照度应为 $2000\sim 3000\text{lx}$;混悬型供试品或乳状液,检查时被观察样品所在处的光照度应增加至约 4000lx 。

结果判定

各类注射剂、眼用液体制剂 在静置一定时间后轻轻旋转时均不得检出烟雾状微粒柱,且不得检出金属屑、玻璃屑、长度或最大粒径超过 2mm 的纤维和块状物等明显可见异物。微细可见异物(如点状物、 2mm 以下的短纤维和块状物等)如有检出,除另有规定外,应分别符合下列规定:

溶液型静脉用注射液、注射用浓溶液 20 支(瓶)检查的供试品中,均不得检出明显可见异物。如检出微细可见异物的供试品仅有 1 支(瓶),应另取 20 支(瓶)同法复试,均不得检出。

溶液型非静脉用注射液 被检查的 20 支(瓶)供试品中,均不得检出明显可见异物。如检出微细可见异物,应另取 20 支(瓶)同法复试,初、复试的供试品中,检出微细可见异物的供试品不得超过 2 支(瓶)。

溶液型滴眼剂 被检查的 20 支(瓶)供试品中,均不得检出明显可见异物。如检出微细可见异物,应另取 20 支(瓶)同法复试,初、复试的供试品中,检出微细可见异物的供试品不得超过 3 支(瓶)。

混悬型、乳状液型注射液及滴眼剂 被检查的 20 支(瓶)

供试品中,均不得检出金属屑、玻璃屑、色块、纤维等明显可见异物。

临用前配制的溶液型和混悬型滴眼剂,除另有规定外,应符合相应的可见异物规定。

注射用无菌粉末 被检查的 5 支(瓶)供试品中,均不得检出明显可见异物。如检出微细可见异物,每支(瓶)供试品中检出微细可见异物的数量应符合下表的规定;如有 1 支(瓶)不符合规定,另取 10 支(瓶)同法复试,均应符合规定。

类别		可见异物限度
化学药		≤4 个
生化药、抗生素药 和中药	≥2g	≤10 个
	<2g	≤8 个

配带有专用溶剂的注射用无菌粉末,专用溶剂应符合相应的溶液型注射液的规定。

无菌原料药 5 份检查的供试品中,均不得检出明显可见异物。如检出微细可见异物,每份供试品中检出微细可见异物的数量应符合下表的规定;如有 1 份不符合规定,另取 10 份同法复试,均应符合规定。

类别	可见异物限度
化学药	≤2 个
生化药、抗生素药和中药	≤5 个

既可静脉用也可非静脉用的注射剂应执行静脉用注射剂的标准。

第二法(光散射法)

当一束单色激光照射溶液时,溶液中存在的不溶性物质使入射光发生散射,散射的能量与不溶性物质的大小有关。本方法通过对溶液中不溶性物质引起的光散射能量的测量,并与规定的阈值比较,以检查可见异物。

不溶性物质的光散射能量可通过被采集的图像进行分析。设不溶性物质的光散射能量为 E ,经过光电信号转换,即可用摄像机采集到一个锥体高度为 H ,直径为 D 的相应立体图像。散射能量 E 为 D 和 H 的一个单调函数,即 $E=f(D, H)$ 。同时,假设不溶性物质的光散射强度为 q ,摄像曝光时间为 T ,则又有 $E=g(q, T)$ 。由此可以得出图像中的 D 与 q, T 之间的关系为 $D=w(q, T)$,也为一个单调函数关系。在测定图像中的 D 值后,即可根据函数曲线计算出不溶性物质的光散射能量。

仪器装置和检测原理 仪器由旋瓶装置、激光光源、图像采集器、数据处理系统和终端显示系统组成,并配有自动上瓶和下瓶装置。

供试品通过上瓶装置被送至旋瓶装置,旋瓶装置应能使供试品沿垂直中轴线高速旋转一定时间后迅速停止,同时激光光源发出的均匀激光束照射在供试品上;当药液涡流基本消失,瓶内药液因惯性继续旋转,图像采集器在特定角度对旋转

药液中悬浮的不溶性物质引起的散射光能量进行连续摄像,采集图像不少于 75 幅;数据处理系统对采集的序列图像进行处理,然后根据预先设定的阈值自动判定超过一定大小的不溶性物质的有无,或在终端显示器上显示图像供人工判定,同时记录检测结果,指令下瓶装置自动分检合格与不合格供试品。

仪器校准 仪器应具备自动校准功能,在检测供试品前须采用标准粒子进行校准。

除另有规定外,分别用粒径为 $40\mu\text{m}$ 和 $50\mu\text{m}$ 的标准粒子对仪器进行标定。根据标定结果得到曲线方程并计算出与粒径 $50\mu\text{m}$ 相对应的检测像素值。

当把检测像素参数设定为与粒径 $50\mu\text{m}$ 相对应的数值时,对 $60\mu\text{m}$ 的标准粒子溶液测定 3 次,应均能检出。

检查法

溶液型注射液 除另有规定外,取供试品 20 支(瓶),除去不透明标签,擦净容器外壁,置仪器上瓶装置上,根据仪器的使用说明书选择适宜的测定参数,启动仪器,将供试品检测 3 次并记录检测结果。凡仪器判定有 1 次不合格者,须用灯检法作进一步确认。用深色透明容器包装或液体色泽较深等灯检法检查困难的品种不用灯检法确认。

注射用无菌粉末 除另有规定外,取供试品 5 支(瓶),用适宜的溶剂及适当的方法使药物全部溶解后,按上述方法检查。

无菌原料药 除另有规定外,称取各品种制剂项下的最大规格量 5 份,分别置洁净透明的专用玻璃容器内,用适宜的溶剂及适当的方法使药物全部溶解后,按上述方法检查。

设置检测参数时,一般情况下取样视窗的左右边线和底线应与瓶体重合,上边线与液面的弯月面成切线;旋转时间的设置应能使液面漩涡到底,以能带动固体物质悬浮并消除气泡;静置时间的设置应尽可能短,但不能短于液面漩涡消失的时间,以避免气泡干扰并保证摄像启动时固体物质仍在转动;嵌瓶松紧度参数与瓶底直径(mm)基本相同,可根据安瓿质量调整,如瓶体不平正,转动时瓶体摇动幅度较大,气泡易产生,则应将嵌瓶松紧度调大以减小摇动,但同时应延长旋转时间,使漩涡仍能看到底。

结果判定 同灯检法。

附录 XI D 电感耦合等离子体质谱法

本法是以等离子体为离子源的一种质谱型元素分析方法。主要用于进行多种元素的同时测定,并可与其他色谱分离技术联用,进行元素价态分析。

样品由载气(氩气)引入雾化系统进行雾化后,以气溶胶形式进入等离子体中心区,在高温和惰性气氛中被去溶剂化、汽化解离和电离,转化成带正电荷的正离子,经离子采集系统进入质谱仪,质谱仪根据质荷比进行分离,根据元素质谱峰强度测定样品中相应元素的含量。

本法灵敏度高,适用于各类药品从痕量到微量的元素分析,尤其是痕量重金属元素的测定。

1. 仪器的一般要求

电感耦合等离子体质谱仪由样品引入系统、电感耦合等离子体(ICP)离子源、接口、离子透镜系统、四极杆质量分析器、检测器等构成,其他支持系统有真空系统、冷却系统、气体控制系统、计算机控制及数据处理系统等。

样品引入系统 按样品的状态不同分为液体、气体或固体进样,通常采用液体进样方式。样品引入系统主要由样品提升和雾化两个部分组成。样品提升部分一般为蠕动泵,也可使用自提升雾化器。要求蠕动泵转速稳定,泵管弹性良好,可使用自提升雾化器。要求蠕动泵转速稳定,泵管弹性良好,可使用自提升雾化器。雾化部分包括雾化器使样品溶液匀速泵入,废液顺畅排出。雾化部分包括雾化器和雾化室。样品以泵入方式或自提升方式进入雾化器后,在载气作用下形成小雾滴并进入雾化室,大雾滴碰到雾化室壁后被排除,只有小雾滴可进入等离子体离子源。要求雾化器雾化效率高,雾化稳定性高,记忆效应小,耐腐蚀;雾化室应保持稳定的低温环境,并应经常清洗。常用的溶液型雾化器有同心雾化器、交叉型雾化器等;常见的雾化室有双通路型和旋流型。实际应用中宜根据样品基质、待测元素、灵敏度等因素选择合适的雾化器和雾化室。

电感耦合等离子体离子源 电感耦合等离子体的“点燃”,需具备持续稳定的高纯氩气流(纯度应不小于99.99%)、炬管、感应圈、高频发生器、冷却系统等条件。样品气溶胶被引入等离子体离子源,在6000~10000K的高温下,发生去溶剂、蒸发、解离、原子化、电离等过程,转化成带正电荷的正离子。测定条件如射频功率、气体流量、炬管位置、蠕动泵流速等工作参数可以根据供试品的具体情况进行优化,使灵敏度最佳,干扰最小。

接口系统 接口系统的功能是将等离子体中的样品离子有效地传输到质谱仪。其关键部件是采样锥和截取锥,平时应经常清洗,并注意确保锥孔不损坏,否则将影响仪器的检测性能。

离子透镜系统 位于截取锥后面高真空区的离子透镜系统的作用是将来自截取锥的离子聚焦到质量过滤器,并阻止中性原子进入和减少来自ICP的光子通过量。离子透镜参数的设置应适当,要注意兼顾低、中、高质量的离子都具有高灵敏度。

四极杆质量分析器 质量分析器通常为四极杆质量分析器,可以实现质谱扫描功能。四极杆的作用是基于在四根电极之间的空间产生一随时间变化的特殊电场,只有给定 m/z 的离子才能获得稳定的路径而通过极棒,从另一端射出。其他离子则将被过分偏转,与极棒碰撞,并在极棒上被中和而丢失,从而实现质量选择。测定中应设置适当的四极杆质量分析器参数,优化质谱分辨率和响应并校准质量轴。

检测器 通常使用的检测器是双通道模式的电子倍增器,四极杆系统将离子按质荷比分离后引入检测器,检测器将离子转换成电子脉冲,由积分线路计数。双模式检测器采用脉冲计数和模拟两种模式,可同时测定同一样品中的低浓度和高浓度元素。检测低含量信号时,检测器使用脉冲模式,直

接记录撞击到检测器的总离子数量;当离子浓度较大时,检测器则自动切换到模拟模式进行检测,以保护检测器,延长使用寿命。测定中应注意设置适当的检测器参数,以优化灵敏度。对双模式检测信号(脉冲和模拟)进行归一化校准。

其他支持系统 真空系统由机械泵和分子涡轮泵组成,用于维持质谱分析器工作所需的真空度,真空度应达到仪器使用要求值。冷却系统包括排风系统和循环水系统,其功能是排出仪器内部的热量,循环水温度和排风口温度应控制在仪器要求范围内。气体控制系统运行应稳定,氢气的纯度应不小于99.99%。

2. 干扰和校正

电感耦合等离子体质谱法测定中的干扰大致可分为两类:一类是质谱型干扰,主要包括同位异位素、多原子离子、双电荷离子等;另一类是非质谱型干扰,主要包括物理干扰、基体效应、记忆效应等。

干扰的消除和校正方法有优化仪器参数、内标校正、干扰方程校正、碰撞反应池技术、稀释校正、标准加入法等。

3. 供试品溶液的制备

所用试剂一般是酸类,包括硝酸、盐酸、过氧化氢、高氯酸、硫酸、氢氟酸,以及混合酸如王水等,纯度应为优级纯。其中硝酸引起的干扰最小,是样品制备的首选酸。所用水应为去离子水(电阻率应不小于18M Ω)。

供试品溶液制备时应同时制备试剂空白,标准溶液的介质和酸度应与供试品溶液保持一致。

固体样品 除另有规定外,称取样品适量(0.1~3g),结合实验室条件以及样品基质类型选用合适的消解方法。消解方法有敞口容器消解法、密闭容器消解法和微波消解法。微波消解法所需试剂少,消解效率高,对于降低试剂空白值、减少样品制备过程中的污染或待测元素的挥发损失以及保护环境都是有益的,可作为首选方法。样品消解后根据待测元素含量定容至适当体积后即可进行质谱测定。

液体样品 根据样品的基质、有机物含量和待测元素含量等情况,可选用直接分析、稀释或浓缩后分析、消化处理后分析等不同的测定方式。

4. 测定法

对待测元素,目标同位素的选择一般需根据待测样品基体中可能出现的干扰情况,选取干扰少,丰度较高的同位素进行测定;有些同位素需采用干扰方程校正;对于干扰不确定的情况亦可选择多个同位素测定,以便比较。常用测定方法包括:

(1) **标准曲线法** 在选定的分析条件下,测定待测元素不少于三个不同浓度的标准系列溶液(标准溶液的介质和酸度应与供试品溶液一致),以选定的分析峰的响应值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程,相关系数应不低于0.99。测定供试品溶液,从标准曲线或回归方程中查得相应的浓度,计算样品中各待测元素的含量。

在同样的分析条件下进行空白试验,根据仪器说明书的要求扣除空白干扰。

附 内标校正的标准曲线法

在每个样品(包括标准溶液、供试品溶液和试剂空白)中添加相同浓度的内标(ISTD)元素,以标准溶液待测元素分析峰响应值与内标元素参比峰响应值的比值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。利用供试品中待测元素分析峰响应值和内标元素参比峰响应值的比值,扣除试剂空白后,从标准曲线或回归方程中查得相应的浓度,计算样品中各待测元素的含量。使用内标可有效地校正响应信号的波动,内标校正的标准曲线法为最常用的测定法。

选择内标时应考虑如下因素:待测样品中不含有该元素;与待测元素质量数接近;电离能与待测元素电离能相近;元素的化学特性。内标的加入可以在每个样品和标准溶液中分别加入,也可通过蠕动泵在线加入。

(2)标准加入法 取同体积的供试品溶液4份,分别置4个同体积的量瓶中,除第1个量瓶外,在其他3个量瓶中分别精密加入不同浓度的待测元素标准溶液,分别稀释至刻度,摇匀,制成系列待测溶液。在选定的分析条件下分别测定,以分析峰的响应值为纵坐标,待测元素加入量为横坐标,绘制标准曲线,将标准曲线延长交于横坐标,交点与原点的距离所相应的含量,即为供试品取用量中待测元素的含量,再以此计算供试品中待测元素的含量。此法仅适用于第(1)法中标准曲线呈线性并通过原点的情况。

附录 XI E 电感耦合等离子体原子发射光谱法

本法是以等离子体为激发光源的原子发射光谱分析方法,可进行多元素的同时测定。

样品由载气(氦气)引入雾化系统进行雾化后,以气溶胶形式进入等离子体的中心通道,在高温和惰性气氛中被充分蒸发、原子化、电离和激发,使所含元素发射各自的特征谱线。根据各元素特征谱线的存在与否,鉴别样品中是否含有某种元素(定性分析);由特征谱线的强度测定样品中相应元素的含量(定量分析)。

本法适用于各类药品从痕量到常量的元素分析,尤其适用于矿物类中药、营养补充剂等的元素定性定量测定。

1. 仪器的一般要求

电感耦合等离子体原子发射光谱仪由样品引入系统、电感耦合等离子体(ICP)光源、色散系统、检测系统等构成,并配有计算机控制及数据处理系统、冷却系统、气体控制系统等。

样品引入系统 按样品状态不同分为液体或固体进样,通常采用液体进样方式。样品引入系统主要由样品提升和雾化两个部分组成。样品提升部分一般为蠕动泵,也可使用自

提升雾化器。要求蠕动泵转速稳定,泵管弹性良好,使样品溶液匀速泵入,废液顺畅排出。雾化部分包括雾化器和雾化室。样品以泵入方式或自提升方式进入雾化器后,在载气作用下形成小雾滴并进入雾化室,大雾滴碰到雾化室壁后被排除,只有小雾滴可进入等离子体源。要求雾化器雾化效率高,雾化稳定性高,记忆效应小,耐腐蚀;雾化室应保持稳定的低温环境,并应经常清洗。常用的溶液型雾化器有同心雾化器、交叉型雾化器等;常见的雾化室有双通路型和旋流型。实际应用宜根据样品基质、待测元素、灵敏度等因素选择合适的雾化器和雾化室。

电感耦合等离子体(ICP)光源 电感耦合等离子体光源的“点燃”,需具备持续稳定的纯氦气流、炬管、感应圈、高频发生器、冷却系统等条件。样品气溶胶被引入等离子体光源,在6000~10 000K的高温下,发生去溶剂、蒸发、解离、激发、电离、发射谱线。根据光路采光方向,可分为水平观察ICP光源和垂直观察ICP光源;双向观察ICP光源可实现垂直/水平双向观察。实际应用宜根据样品基质、待测元素、波长、灵敏度等因素选择合适的观察方式。

色散系统 电感耦合等离子体原子发射光谱的单色器通常采用光栅或棱镜与光栅的组合,光源发出的复合光经色散系统分解成按波长顺序排列的谱线,形成光谱。

检测系统 电感耦合等离子体原子发射光谱的检测系统为光电转换器,它是利用光电效应将不同波长光的辐射能转化成电信号。常见的光电转换器有光电倍增管和固态成像系统两类。固态成像系统是一类以半导体硅片为基材的光敏元件制成的多元阵列集成电路式的焦平面检测器,如电荷耦合器件(CCD)、电荷注入器件(CID)等,具有多谱线同时检测能力,检测速度快,动态线性范围宽,灵敏度高等特点。检测系统应保持性能稳定,具有良好的灵敏度、分辨率和光谱响应范围。

冷却和气体控制系统 冷却系统包括排风系统和循环水系统,其功能是排出仪器内部的热量。循环水温度和排风口温度应控制在仪器要求范围内。气体控制系统运行应稳定,氦气的纯度应不小于99.99%。

2. 干扰和校正

电感耦合等离子体原子发射光谱法测定中通常存在的干扰大致可分为两类:一类是光谱干扰,主要包括连续背景和谱线重叠干扰等;另一类是非光谱干扰,主要包括化学干扰、电离干扰、物理干扰等。

干扰的消除和校正通常可采用空白校正、稀释校正、内标校正、背景扣除校正、干扰系数校正、标准加入等方法。

3. 供试品溶液的制备

所用试剂一般是酸类,包括硝酸、盐酸、过氧化氢、高氯酸、硫酸、氢氟酸,以及混合酸如王水等,纯度应不低于优级纯。其中硝酸引起的干扰最小,是供试品溶液制备的首选酸。所用水应为去离子水(电导率应小于0.056 μ S/cm)。

供试品溶液制备时应同时制备试剂空白,标准溶液的介

质和酸度应与供试品溶液保持一致。

固体样品 除另有规定外,称取样品适量(0.1~3g),结合实验室条件以及样品基质类型选用合适的消解方法。消解方法一般有敞口容器消解法、密闭容器消解法和微波消解法。微波消解法所需试剂少,消解效率高,对于降低试剂空白值、减少样品制备过程中的污染或待测元素的挥发损失以及保护环境都是有益的,可作为首选方法。样品消解后根据待测元素含量定容至适当体积后即可进行测定。

液体样品 根据样品的基质、有机物含量和待测元素含量等情况,可选用直接分析、稀释或浓缩后分析、消化处理后分析等不同的测定方式。

4. 测定法

分析谱线的选择原则一般是选择干扰少,灵敏度高的谱线;同时应考虑分析对象:对于微量元素的分析,采用灵敏线,而对于高含量元素的分析,可采用较弱的谱线。

定性鉴别

根据原子发射光谱中各元素固有的一系列特征谱线的存在与否可以确定供试品中是否含有相应的元素。元素特征光谱中强度最大的谱线称为元素的灵敏线。在供试品光谱中,某元素灵敏线的检出限即为相应元素的检出限。

定量测定

(1) 标准曲线法 在选定的分析条件下,测定不少于三个不同浓度的待测元素的标准系列溶液(标准溶液的介质和酸度应与供试品溶液一致),以分析线的响应值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。除另有规定外,相关系数应不低于0.99。测定供试品溶液,从标准曲线或回归方程中查得相应的浓度,计算样品中各待测元素的含量。

在同样的分析条件下进行空白试验,根据仪器说明书的要求扣除空白干扰。

附 内标校正的标准曲线法

在每个样品(包括标准溶液、供试品溶液和试剂空白)中添加强度相同的内标(ISTD)元素,以标准溶液待测元素分析线的响应值与内标元素参比线响应值的比值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。利用供试品中待测元素分析线的响应值和内标元素参比线响应值的比值,从标准曲线或回归方程中查得相应的浓度,计算样品中含待测元素的含量。

内标元素及参比线的选择原则如下:

内标元素的选择 外加内标元素在分析试样中应不存在或含量极微可忽略,如样品基体元素的含量较稳时,亦可用该基体元素作内标;内标元素与待测元素应有相近的特性;同族元素,具相近的电离能。

参比线的选择 激发能应尽量相近;分析线与参比线的波长及强度接近;无自吸现象且不受其他元素干扰;背景应尽量小。

(2) 标准加入法 取同体积的供试品溶液4份,分别置4个同体积的量瓶中,除第1个量瓶外,在其他3个量瓶中分别

精密加入不同浓度的待测元素标准溶液,分别稀释至刻度,摇匀,制成系列待测溶液。在选定的分析条件下分别测定,以分析线的响应值为纵坐标,待测元素加入量为横坐标,绘制标准曲线,将标准曲线延长交于横坐标,交点与原点的距离所相应的含量,即为供试品取用量中待测元素的含量,再以此计算供试品中待测元素的含量。

附录 XI F 渗透压摩尔浓度测定法

生物膜,例如人体的细胞膜或毛细血管壁,一般具有半透膜的性质,溶剂通过半透膜由低浓度溶液向高浓度溶液扩散的现象称为渗透,阻止渗透所需施加的压力,即为渗透压。在涉及溶质的扩散或通过生物膜的液体转运各种生物过程中,渗透压都起着极其重要的作用。因此,在制备注射剂、眼用液体制剂等药物制剂时,必须关注其渗透压。处方中添加了渗透压调节剂的制剂,均应控制其渗透压摩尔浓度。

静脉输液、营养液、电解质或渗透利尿药(如甘露醇注射液)等制剂,应在药品说明书上标明其渗透压摩尔浓度,以便临床医生根据实际需要对所用制剂进行适当的处置(如稀释)。正常人体血液的渗透压摩尔浓度范围为285~310mOsmol/kg,0.9%氯化钠溶液或5%葡萄糖溶液的渗透压摩尔浓度与人体血液相当。

溶液的渗透压,依赖于溶液中溶质粒子的数量,是溶液的依数性之一,通常以渗透压摩尔浓度(Osmolality)来表示,它反映的是溶液中各种溶质对溶液渗透压贡献的总和。

渗透压摩尔浓度的单位,通常以每千克溶剂中溶质的毫渗透压摩尔来表示,可按下列公式计算毫渗透压摩尔浓度(mOsmol/kg):

$$\text{毫渗透压摩尔浓度 (mOsmol/kg)} = \frac{\text{每千克溶剂中溶解溶质的克数}}{\text{分子量}} \times n \times 1000$$

式中, n 为一个溶质分子溶解或解离时形成的粒子数。在理想溶液中,例如葡萄糖 $n=1$,氯化钠或硫酸镁 $n=2$,氯化钙 $n=3$,枸橼酸钠 $n=4$ 。

在生理范围及稀溶液中,其渗透压摩尔浓度与理想状态下的计算值偏差较小;随着溶液浓度的增加,与计算值比较,实际渗透压摩尔浓度下降。例如0.9%氯化钠注射液,按上式计算,毫渗透压摩尔浓度是 $2 \times 1000 \times 9/58.4 = 308\text{mOsmol/kg}$,而实际上在此浓度时氯化钠溶液的 n 稍小于2,其实际测得值是 286mOsmol/kg ;复杂混合物,如水解蛋白注射液的理论渗透压摩尔浓度不容易计算,因此通常采用实际测定值表示。

1. 渗透压摩尔浓度的测定

通常采用测量溶液的冰点下降来间接测定其渗透压摩尔浓度。在理想的稀溶液中,冰点下降符合 $\Delta T_f = K_f \cdot m$ 的关系,式中, ΔT_f 为冰点下降, K_f 为冰点下降常数(当水为溶剂时为1.86), m 为重量摩尔浓度。而渗透压符合 $P_o = K_o \cdot m$

分别稀释至刻度,摇匀并分别测定,以分为横坐标,绘制标准原点的距离所相应量,再以此计算供

度测定法

壁,一般具有半透高浓度溶液扩散即为渗透压。在各种生物过程中,各注射剂、眼用液处方中添加了渗透度。

(如甘露醇注射摩尔浓度,以便适当的处置(如稀范围为285~糖溶液的渗透数量,是溶液的ity)来表示,它的总和。

剂中溶质的毫透压摩尔浓度

1000

形成的粒子数。

或镁 $n=2$,氯化

度与理想状态

与计算值比较,

内注射液,按上

$\times 9/58.4 =$

液的 n 稍小于

物,如水解蛋白

此通常采用实

其渗透压摩尔

$=K_f \cdot m$ 的关

文(当水为溶剂

合 $P_o = K_o \cdot m$

的关系,式中, P_o 为渗透压, K_o 为渗透压常数, m 为溶液的重摩尔浓度。由于两式中的浓度等同,故可以用冰点下降法测定溶液的渗透压摩尔浓度。

仪器 采用冰点下降的原理设计的渗透压摩尔浓度测定仪通常由制冷系统、用来测定电流或电位差的热敏探头和振荡器(或金属探针)组成。测定时将测定探头浸入供试溶液的中心,并降至仪器的冷却槽中。启动制冷系统,当供试溶液的温度降至凝固点以下时,仪器采用振荡器(或金属探针)诱导溶液结冰,自动记录冰点下降的温度。仪器显示的测定值可以是冰点下降的温度,也可以是渗透压摩尔浓度。

标准溶液的制备 取基准氯化钠试剂,于500~650℃干燥40~50分钟,置干燥器(硅胶)中放冷至室温。根据需要,按表中所列数据精密称取适量,溶于1kg水中,摇匀,即得。

表 渗透压摩尔浓度测定仪校正用标准溶液

每1kg水中氯化钠的重量/g	毫渗透压摩尔浓度/ $\text{mOsmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	冰点下降温度 $\Delta T/^\circ\text{C}$
3.087	100	0.186
6.260	200	0.372
9.463	300	0.558
12.684	400	0.744
15.916	500	0.930
19.147	600	1.116
22.380	700	1.302

供试品溶液 供试品如为液体,通常可直接测定;如其渗透压摩尔浓度大于700mOsmol/kg或为浓溶液,可用适宜的溶剂(通常为注射用水)稀释至表中测定范围内;如为固体(如注射用无菌粉末),可采用药品标签或说明书中的规定溶解并稀释至表中测定范围内。需特别注意的是,溶液经稀释后,粒子间的相互作用与原溶液有所不同,一般不能简单地将稀释后的测定值乘以稀释倍数来计算原溶液的渗透压摩尔浓度。例如,甘露醇注射液、氨基酸注射液等高渗溶液和注射用无菌粉末可用适宜的溶剂(如注射用水)溶解,稀释后测定,并在各品种项下规定具体的溶解或稀释方法。

测定法 按仪器说明书操作,首先取适量新沸放冷的水调节仪器零点,然后由表中选择两种标准溶液(供试品溶液的渗透压摩尔浓度应介于两者之间)校正仪器,再测定供试品溶液的渗透压摩尔浓度或冰点下降值。

2. 渗透压摩尔浓度比的测定

供试品溶液与0.9%(g/ml)氯化钠标准溶液的渗透压摩尔浓度比率称为渗透压摩尔浓度比。用渗透压摩尔浓度测定仪分别测定供试品溶液与0.9%(g/ml)氯化钠标准溶液的渗透压摩尔浓度 O_T 与 O_S ,方法同渗透压摩尔浓度测定法,并用下列公式计算渗透压摩尔浓度比:

$$\text{渗透压摩尔浓度比} = \frac{O_T}{O_S}$$

渗透压摩尔浓度比的测定用标准溶液的制备 精密称取经500~650℃干燥40~50分钟并置干燥器(硅胶)中放冷的基准氯化钠0.900g,加水使溶解并稀释至100ml,摇匀,即得。

附录Ⅷ

附录Ⅷ A 崩解时限检查法

崩解系指固体制剂在检查时限内全部崩解溶散,并通过筛网(不溶性包衣材料或破碎的胶囊壳除外)。

本法系用于检查固体制剂在规定条件下的崩解情况。

凡规定检查溶出度、释放度、融变时限或分散均匀性的制剂,不再进行崩解时限检查。

一、片剂

仪器装置 采用升降式崩解仪,主要结构为一能升降的金属支架与下端镶有筛网的吊篮,并附有挡板。

升降的金属支架上下移动距离为55mm±2mm,往返频率为每分钟30~32次。

吊篮 玻璃管6根,管长77.5mm±2.5mm,内径21.5mm,壁厚2mm;透明塑料板2块,直径90mm,厚6mm,板面有6个孔,孔径26mm;不锈钢板1块(放在上面一块塑料板上),直径90mm,厚1mm,板面有6个孔,孔径22mm;不

锈钢丝筛网1张(放在下面一块塑料板下),直径90mm,筛孔内径2.0mm;以及不锈钢轴1根(固定在上面一块塑料板与不锈钢板上),长80mm。将上述玻璃管6根垂直置于2块塑料板的孔中,并用3只螺丝将不锈钢板、塑料板和不锈钢丝筛网固定,即得(如图1)。

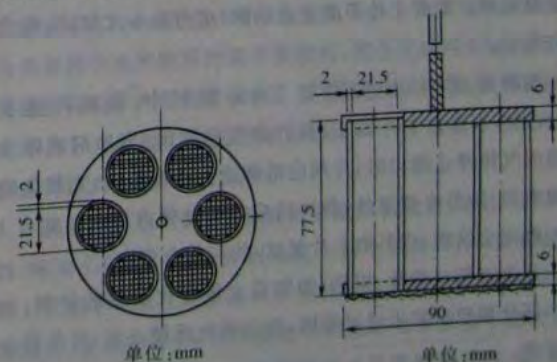


图1 升降式崩解仪吊篮结构

挡板为一平整光滑的透明塑料块,相对密度1.18~

附录Ⅱ B 融变时限检查法

1.20, 直径 $20.7\text{mm} \pm 0.15\text{mm}$, 厚 $9.5\text{mm} \pm 0.15\text{mm}$; 挡板共有 5 个孔, 孔径 2mm , 中央 1 个孔, 其余 4 个孔距中心 6mm , 各孔间距相等; 挡板侧边有 4 个等距离的 V 形槽, V 形槽上端宽 9.5mm , 深 2.55mm , 底部开口处的宽与深度均为 1.6mm (如图 2)。

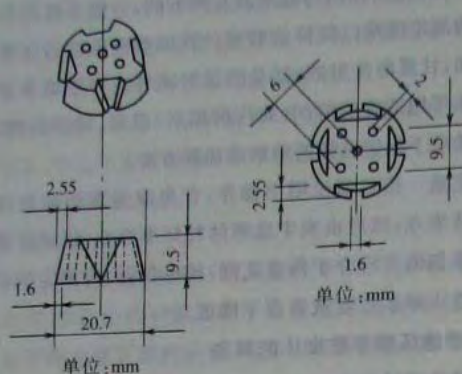


图 2 升降式崩解仪挡板结构

检查法 将吊篮通过上端的不锈钢轴悬挂于金属支架上, 浸入 1000ml 烧杯中, 并调节吊篮位置使其下降时筛网距烧杯底部 25mm, 烧杯内盛有温度为 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水, 调节水位高度使吊篮上升时筛网在水面下 15mm 处。

除另有规定外, 取供试品 6 片, 分别置上述吊篮的玻璃管中, 加挡板, 启动崩解仪进行检查, 药材原粉片各片均应在 30 分钟内全部崩解; 浸膏(半浸膏)片、糖衣片各片均应在 1 小时内全部崩解。如有 1 片不能完全崩解, 应另取 6 片复试, 均应符合规定。

如果供试品黏附挡板, 应另取 6 片, 不加挡板按上述方法检查, 应符合规定。

薄膜衣片, 按上述装置与方法检查, 可改在盐酸溶液(9→1000)中进行检查, 应在 1 小时内全部崩解。如有 1 片不能完全崩解, 应另取 6 片复试, 均应符合规定。

肠溶衣片, 按上述装置与方法不加挡板进行检查, 先在盐酸溶液(9→1000)中检查 2 小时, 每片均不得有裂缝、崩解或软化现象; 继将吊篮取出, 用少量水洗涤后, 每管加入挡板, 再按上述方法在磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中进行检查, 1 小时内应全部崩解。如有 1 片不能完全崩解, 应另取 6 片复试, 均应符合规定。

泡腾片, 取 6 片, 分别置 250ml 烧杯中, 烧杯内盛有 200ml 水, 水温为 $15 \sim 25^\circ\text{C}$, 有许多气泡放出, 当片剂或碎片周围的气体停止逸出时, 片剂应溶解或分散在水中, 无聚集的颗粒残留, 除另有规定外, 各片均应在 5 分钟内崩解。如有 1 片不能完全崩解, 应另取 6 片复试, 均应符合规定。

凡含有药材浸膏、树脂、油脂或大量糊化淀粉的片剂, 如有小部分颗粒状物未通过筛网, 但已软化无硬心者, 可作符合规定论。

二、胶囊剂

硬胶囊或软胶囊, 除另有规定外, 取供试品 6 粒, 按上述

装置与方法加挡板进行检查。硬胶囊应在 30 分钟内全部崩解; 软胶囊可在 1 小时内全部崩解, 软胶囊可改在人工胃液中检查。如有 1 粒不能完全崩解, 应另取 6 粒复试, 均应符合规定。

肠溶胶囊, 除另有规定外, 取供试品 6 粒, 按上述装置与方法不加挡板进行检查。先在盐酸溶液(9→1000)中检查 2 小时, 每粒的囊壳均不得有裂缝或崩解现象; 继将吊篮取出, 用少量水洗涤后, 每管加入挡板, 再按上述方法, 在人工肠液中进行检查, 1 小时内应全部崩解。如有 1 粒不能完全崩解, 应另取 6 粒复试, 均应符合规定。

如有部分颗粒状物不能通过筛网, 但已软化无硬心者, 可作符合规定论。

三、滴丸剂

按上述装置, 但不锈钢筛网的筛孔内径应为 0.42mm ; 除另有规定外, 取供试品 6 粒, 按上述方法不加挡板进行检查, 应在 30 分钟内全部溶散, 包衣滴丸应在 1 小时内全部溶散。如有 1 粒不能完全溶散, 应另取 6 粒复试, 均应符合规定。

以明胶为基质的滴丸, 可在人工胃液中进行检查。

【附注】 人工胃液 取稀盐酸 16.4ml, 加水约 800ml 与胃蛋白酶 10g, 摇匀后, 加水稀释成 1000ml, 即得。

人工肠液 即磷酸盐缓冲液(含胰酶)(pH 6.8)(附录 XV D 缓冲液)。

附录Ⅱ B 融变时限检查法

本法系用于检查栓剂、阴道片等固体制剂在规定条件下的融化、软化或溶散情况。

一、栓剂

仪器装置 由透明的套筒与金属架组成(如图 1a)。

透明套筒 由玻璃或适宜的塑料材料制成, 高为 60mm, 内径为 52mm, 壁厚适当。

金属架 由两片不锈钢的金属圆板及 3 个金属挂钩焊接而成。每个圆板直径为 50mm, 具 39 个孔径为 4mm 的圆孔(如图 1b); 两板相距 30mm, 通过 3 个等距的挂钩焊接在一起。

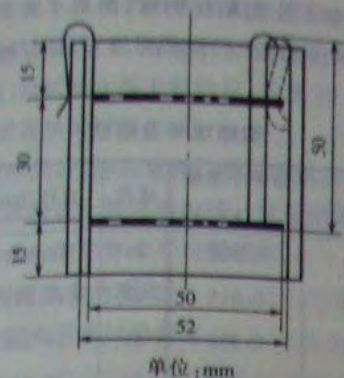
检查法 取供试品 3 粒, 在室温放置 1 小时后, 分别放在 3 个金属架的下层圆板上, 装入各自的套筒内, 并用挂钩固定。除另有规定外, 将上述装置分别垂直浸入盛有不少于 4L 的 $37.0^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水的容器中, 其上端位置应在水面下 90mm 处。容器中装一转动器, 每隔 10 分钟在溶液中翻转该装置一次。

结果判断 除另有规定外, 脂肪性基质的栓剂 3 粒均应在 30 分钟内全部融化、软化或触压时无硬芯; 水溶性基质的栓剂 3 粒均应在 60 分钟内全部溶解。如有 1 粒不符合规定, 应另取 3 粒复试, 均应符合规定。

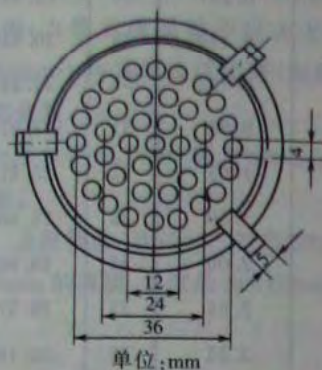
二、阴道片

仪器装置 同上述栓剂的检查装置, 但应将金属架挂钩的钩端向下, 倒置于容器内, 如图 2 示意。

检查法 调节水液面至上层金属圆盘的孔恰为均匀的一



a. 透明套筒与金属架



b. 金属架结构

图1 栓剂检查仪器装置

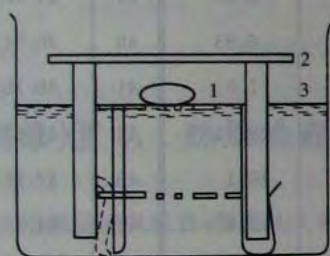


图2 阴道片检查仪器装置

1. 阴道片; 2. 玻璃板; 3. 水面

层水覆盖。取供试品3片,分别置于上面的金属圆盘上,装置上盖一玻璃板,以保证空气潮湿。

结果判断 除另有规定外,阴道片3片,均应在30分钟内全部溶化或崩解溶散并通过开孔金属圆盘,或仅残留少量无硬芯的软性团块。如有1片不符合规定,应另取3片复试,均应符合规定。

附录Ⅱ C 最低装量检查法

本法适用于固体、半固体和液体制剂。除制剂通则中规定检查重(装)量差异的制剂及放射性药品外,按下述方法检查,应符合规定。

检查法

重量法(适用于标示装量以重量计者) 除另有规定外,取供试品5个(50g以上者3个),除去外盖和标签,容器外壁用适宜的方法清洁并干燥,分别精密称定重量,除去内容物,

容器用适宜的溶剂洗净并干燥,再分别精密称定空容器的重量,求出每个容器内容物的装量与平均装量,均应符合下表的有关规定。如有1个容器装量不符合规定,则另取5个(50g以上者3个)复试,应全部符合规定。

容量法(适用于标示装量以容量计者) 除另有规定外,取供试品5个(50ml以上者3个),开启时注意避免损失,将内容物转移至预经标化的干燥量入式量筒中(量具的大小应使待测体积至少占其额定体积的40%),黏稠液体倾出后,除另有规定外,将容器倒置15分钟,尽量倾净,2ml及以下者用预经标化的干燥量入式注射器抽尽。读出每个容器内容物的装量,并求其平均装量,均应符合下表的有关规定。如有1个容器装量不符合规定,则另取5个(50ml以上者3个)复试,应全部符合规定。

标示装量	注射液及注射用浓溶液		口服及外用固体、半固体、液体、黏稠液体	
	平均装量	每个容器装量	平均装量	每个容器装量
20g(ml)以下	/	/	不少于标示装量	不少于标示装量的93%
20g(ml)至50g(ml)	/	/	不少于标示装量	不少于标示装量的95%
50g(ml)以上	不少于标示装量	不少于标示装量的97%	不少于标示装量	不少于标示装量的97%

平均装量与每个容器装量(按标示装量计算的百分率),结果取三位有效数字进行结果判断。

附录Ⅱ D 膏药软化点测定法

本法系用于测定膏药在规定条件下受热软化时的温度情况,即指按照下述方法测定,膏药因受热下坠达25mm时的温度。用于检测膏药的老嫩程度,并可间接反映膏药的黏性。

仪器装置 如图。A为试样环,为倒圆锥形黄铜环,高6.35mm,上口孔径17.46mm,下口径15.88mm;B为钢球定位器,内径20.60mm,使钢球定位于试样中央;C为钢球,直径为9.53mm,质量为 $3.50g \pm 0.05g$;D为支架,上支撑板为具有两个水平圆环的扁平黄铜板,用于支撑两个试样环;下支撑板为扁平光滑的黄铜板。上支撑板上的倒圆锥形黄铜环底部与下支撑板上表面距离为25mm,下支撑板下表面与烧杯底部距离为 $16mm \pm 3mm$ 。

测定法 取供试品,置烘箱中微热软化后,取出,刮下膏料,称取2份,各1.8g,分别填充于两个试样环中,并将试样环上口朝下平放在表面涂有少量甘油并平铺于玻璃板上的箔纸上,置 $75^\circ C \pm 2^\circ C$ 的恒温箱中加热熔化至表面平整时,取出,室温放置1小时,将试样环移至上支撑板圆环内,装上钢球定位器,与钢球分别同置盛水的烧杯中,在 $37^\circ C \pm 1^\circ C$ 的恒温水浴中,平衡20分钟后,按图将钢球置于定位器中,自烧杯

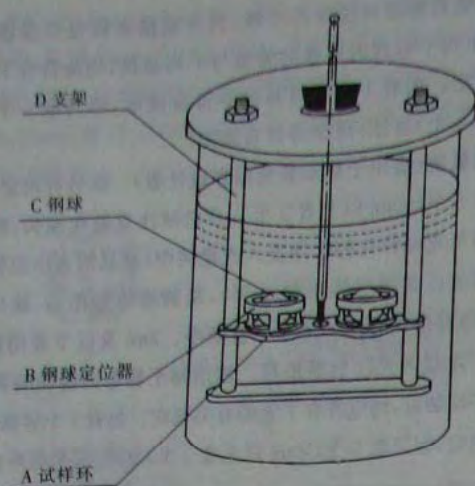


图 膏药软化点测定组合装置

底部加热，控制每分钟升温 $1.0 \sim 1.5^{\circ}\text{C}$ 。读取钢球刚触及下支撑板表面时的温度，取平均值作为供试品的软化点。两个测定温度的差值不得过 1.0°C 。

附录Ⅻ E 贴膏剂黏附力测定法

本法系用于评价贴膏剂敷贴于皮肤表面黏附性的大小。按各品种规定要求，分别用初黏力、持黏力及剥离强度三个指标衡量。

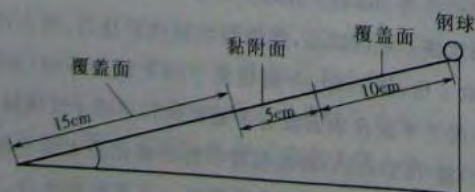
第一法（初黏力的测定）

采用斜坡滚球测定，即将一不锈钢球从置于倾斜板上的供试品黏性面滚过，根据供试品黏性面能够粘住的最大球号钢球，评价其初黏性的大小。

试验装置 主要由倾斜板、底座、不锈钢球和接球盒等组成。倾斜板为厚约 2mm 的不锈钢板，倾斜角为 15° 或 30° ；底座应能调节并保持装置的水平状态；接球盒用于接板上滚落的钢球，其内壁应衬有软质材料；不锈钢球球号及规格应符合下列规定。

测定法 试验前，除去供试品包装材料，使互不重叠在室温放置 2 小时以上。

取供试品 3 片，置于（按各品种项下规定的倾斜角 15° 或 30° ）倾斜板中央，膏面向上，斜面上部 10cm 及下部 15cm 用 0.025mm 厚的涤纶薄膜覆盖，中间留出 5cm 膏面（如图），将各品种项下规定的钢球，自斜面顶端自由滚下。



供试品中，3 片应有 2 片或 2 片以上能在测试段上粘住钢球，如有 1 片不能粘住，再用较小一号的钢球试验，应

附录 74

能粘住。如只有 1 片能粘住钢球，而另 2 片只能粘住较小一号的钢球，则应另取 3 片复试，3 片均应能粘住钢球为符合规定。

钢球球号及规格

球号	直径/mm	每千个重量/kg	球号	直径/mm	每千个重量/kg
1	0.794	0.002	24	16.669	19.1
2	1.588	0.016	25	17.463	21.9
3	2.381	0.055	26	18.256	25.6
4	3.175	0.132	27	19.050	28.4
5	3.969	0.257	28	19.844	32.4
6	4.763	0.440	29	20.638	36.2
7	5.556	0.702	30	22.225	45.2
8	5.953	0.86	31	23.019	50
9	6.350	1.03	32	23.8131	55.5
10	7.144	1.50	33	25.400	57.4
11	7.938	2.06	34	26.988	80.8
12	8.731	2.66	35	28.575	95.5
13	9.525	3.55	36	30.163	112.8
14	10.319	4.43	37	31.750	131.9
15	11.113	5.64	38	33.338	152
16	11.509	6.20	39	34.925	175
17	11.906	6.93	40	36.513	198.1
18	12.303	7.5	41	38.100	227.3
19	12.700	8.42	42	41.275	287.57
20	13.494	10.1	43	42.863	320.4
21	14.288	12.0	44	44.450	361
22	15.081	14.1	45	47.625	439.5
23	15.875	16.5	46	50.800	538.8

第二法（持黏力的测定）

将供试品黏性面粘贴于试验板表面，垂直放置，沿供试品的长度方向悬挂一规定质量的砝码，记录供试品滑移直至脱落的时间或在一定时间内位移的距离。

试验装置

试验架 由可调节水平的底座和悬挂、固定试验板的支架组成。试验架应使悬挂在支架上的试验板的工作面保持竖直方向。

试验板 为厚 $1.5 \sim 2.0\text{mm}$ 、宽 125mm 、长 125mm 的不锈钢板，试验板表面粗糙度应不大于 $0.4\mu\text{m}$ 。试验板表面有永久性污迹或伤痕时，应及时更换。

压辊 为用橡胶包覆的钢轴，重 2000g 。

加载板 材质、尺寸及表面要求同试验板。

测定法 试验前，除去供试品包装材料，使互不重叠在室温放置 2 小时以上。

用擦拭材料蘸清洗剂清洗试验板和加载板，用干净的纱布仔细擦干，如此反复清洗三次以上，直至板的工作面清洁为

洗净后的板面不得用手或其他物体接触。将供试品纵向贴在紧挨着的试验板和加载板的中部,用压辊在供试品上来回滚压三次,供试品在板上粘贴后,放置 20 分钟,固定于试验架,记录测试起始的时间。

达到规定时间后,卸去重物。测量供试品的位移值,或者记录供试品从试验板上脱落的时间。试验结果以一组供试品的位移量或脱落时间的算术平均值表示。

第三法(剥离强度的测定)

采用 180°剥离强度试验测定。

试验装置

拉力试验机 应使供试品的破坏负载在满标负荷的 15%~85% 之间;力值示值误差不应大于 1%;试验机以 300mm/min±10mm/min 速度连续剥离;应附有能自动记录剥离负荷的绘图装置。

试验板 为厚 1.5~2.0mm、宽 50mm±1mm、长 125mm±1mm 的不锈钢板。

聚酯薄膜 采用符合 JB 1256-77(6020 聚酯薄膜)规定的厚度为 0.025mm 的薄膜,长度约为 110mm,宽度应大于供试品约 20mm。

测定法 试验前,除去供试品包装材料,使互不重叠在室温下放置 2 小时以上。

将供试品背衬用双面胶固定在试验板上。必要时,可用胶带沿供试品上下两侧边缘加以固定,使供试品平整地贴合在板上。

将供试品黏性面与洗净的聚酯薄膜粘接,用 2000g 重压辊在供试品上来回滚压三次,以确保粘接处无气泡存在。供试品粘贴后,应放置 20~40 分钟后进行试验。

将聚酯薄膜自由端对折(180°),把薄膜自由端和试验板分别上、下夹持于试验机上。应使剥离面与试验机线保持一致。试验机以 300mm/min±10mm/min 速度连续剥离,并有自动记录仪绘出剥离曲线。试验结果以剥离强度的算术平均值表示。

供试品的剥离强度 σ (kN/m)按下式计算:

$$\sigma = \frac{S}{LB} \cdot C$$

式中 S 为曲线中取值范围内的面积,mm²;

L 为曲线中取值范围内的长度,mm;

B 为供试品实际的宽度,mm;

C 为记录纸单位高度的负荷,kN/m。

附录 XIII

附录 XIII A 热原检查法

本法系将一定剂量的供试品,静脉注入家兔体内,在规定时间内,观察家兔体温升高的情况,以判定供试品中所含热原的限度是否符合规定。

供试用家兔 供试用的家兔应健康合格,体重 1.7kg 以上,雌兔应无孕。预测体温前 7 日即应用同一饲料饲养,在此期间,体重应不减轻,精神、食欲、排泄等不得有异常现象。未曾使用于热原检查的家兔;或供试品判定为符合规定,但组内升温达 0.6℃ 的家兔;或 3 周内未曾使用的家兔,均应在检查供试品前 3~7 日内预测体温,进行挑选。挑选试验的条件与检查供试品时相同,仅不注射药液,每隔 30 分钟测量体温 1 次,共测 8 次,8 次体温均在 38.0~39.6℃ 的范围内,且最高与最低体温相差不超过 0.4℃ 的家兔,方可供热原检查用。用于热原检查后的家兔,如供试品判定为符合规定,至少应休息 48 小时方可再供热原检查用,其中升温达 0.6℃ 的家兔应休息 2 周以上。如供试品判定为不符合规定,则组内全部家兔不再使用。

试验前的准备 在做热原检查前 1~2 日,供试用家兔应尽可能处于同一温度的环境中,实验室和饲养室的温度相差不应大于 3℃,且应控制在 17~25℃,在试验全部过程中,实验室温度变化不得大于 3℃,应防止动物骚动并避免噪声干

扰。家兔在试验前至少 1 小时开始停止给食,并置于宽松适宜的装置中,直至试验完毕。测量家兔体温应使用精密度为 ±0.1℃ 的测温装置。测温探头或肛温计插入肛门的深度和时间各兔应相同,深度一般约 6cm,时间不得少于 1.5 分钟,每隔 30 分钟测量体温 1 次,一般测量 2 次,两次体温之差不得超过 0.2℃,以此两次体温的平均值作为该兔的正常体温。当日使用的家兔,正常体温应在 38.0~39.6℃ 的范围内,且同组各兔间正常体温之差不得超过 1℃。

与供试品接触的试验用器皿应无菌、无热原。去除热原通常采用干热灭菌法(250℃ 加热 30 分钟),也可用其他适宜的方法。

检查法 取适用的家兔 3 只,测定其正常体温后 15 分钟以内,自耳静脉缓缓注入规定剂量并温热至约 38℃ 的供试品溶液,然后每隔 30 分钟按前法测量其体温 1 次,共测 6 次,以 6 次体温中最高的一次减去正常体温,即为该兔体温的升高温度(℃)。如 3 只家兔中有 1 只体温升高 0.6℃ 或高于 0.6℃,或 3 只家兔体温升高的总和达 1.3℃ 或高于 1.3℃,应另取 5 只家兔复试,检查方法同上。

结果判断 在初试的 3 只家兔中,体温升高均低于 0.6℃,并且 3 只家兔体温升高总和低于 1.3℃;或在复试的 5 只家兔中,体温升高 0.6℃ 或高于 0.6℃ 的家兔不超过 1 只,并且初试、复试合并 8 只家兔的体温升高总和为 3.5℃ 或低于 3.5℃,均判定供试品的热原检查符合规定。

在初试的 3 只家兔中,体温升高 0.6°C 或高于 0.6°C 的家兔超过 1 只;或在复试的 5 只家兔中,体温升高 0.6°C 或高于 0.6°C 的家兔超过 1 只;或在初试、复试合并 8 只家兔的体温升高总和超过 3.5°C ,均判定供试品的热原检查不符合规定。

当家兔升温为负值时,均以 0°C 计。

附录 XIII B 无菌检查法

无菌检查法系用于检查药典要求无菌的药品、原料、辅料及其他品种是否无菌的一种方法。若供试品符合无菌检查法的规定,仅表明了供试品在该检验条件下未发现微生物污染。

无菌检查应在环境洁净度 10 000 级下的局部洁净度 100 级的单向流空气区域内或隔离系统中进行,其全过程应严格遵守无菌操作,防止微生物污染,防止污染的措施不得影响供试品中微生物的检出。单向流空气区、工作台面及环境应定期按《医药工业洁净室(区)悬浮粒子、浮游菌和沉降菌的测试方法》的现行国家标准进行洁净度验证。隔离系统按相关的要求进行验证,其内部环境的洁净度须符合无菌检查的要求。日常检验还需对试验环境进行监控。

无菌检查人员必须具备微生物专业知识,并经过无菌技术的培训。

培养基

培养基的制备及培养条件

培养基可按以下处方制备,也可使用按该处方生产的符合规定的脱水培养基。配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。制备好的培养基应保存在 $2\sim 25^{\circ}\text{C}$ 、避光的环境,若保存于非密闭容器中,一般在 3 周内使用;若保存于密闭容器中,一般可在 1 年内使用。

1. 硫乙醇酸盐流体培养基

酪陈(胰酶水解)	15.0g	氯化钠	2.5g
葡萄糖	5.0g	新配制的 0.1% 刃天	
L-胱氨酸	0.5g	青溶液	1.0ml
硫乙醇酸钠	0.5g	琼脂	0.75g
(或硫乙醇酸)	(0.3ml)	水	1000ml
酵母浸出粉	5.0g		

除葡萄糖和刃天青溶液外,取上述成分混合,微温溶解,调节 pH 为弱碱性,煮沸,滤清,加入葡萄糖和刃天青溶液,摇匀,调节 pH 值使灭菌后为 7.1 ± 0.2 。分装至适宜的容器中,其装量与容器高度的比例应符合培养结束后培养基氧化层(粉红色)不超过培养基深度的 $1/2$ 。灭菌。在供试品接种前,培养基氧化层的高度不得超过培养基深度的 $1/5$,否则,须经 100°C 水浴加热至粉红色消失(不超过 20 分钟),迅速冷却,只限加热一次,并防止被污染。

硫乙醇酸盐流体培养基置 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养。

附录 76

2. 改良马丁培养基

胨	5.0g	磷酸氢二钾	1.0g
酵母浸出粉	2.0g	硫酸镁	0.5g
葡萄糖	20.0g	水	1000ml

除葡萄糖外,取上述成分混合,微温溶解,调节 pH 值约为 6.8,煮沸,加入葡萄糖溶解后,摇匀,滤清,调节 pH 值使灭菌后为 6.4 ± 0.2 ,分装,灭菌。

改良马丁培养基置 $23\sim 28^{\circ}\text{C}$ 培养。

3. 选择性培养基

按上述硫乙醇酸盐流体培养基或改良马丁培养基的处方及制法,在培养基灭菌或使用前加入适宜的中和剂、灭活剂或表面活性剂,其用量同方法验证试验。

4. 营养肉汤培养基

胨	10.0g	氯化钠	5.0g
牛肉浸出粉	3.0g	水	1000ml

取上述成分混合,微温溶解,调节 pH 为弱碱性,煮沸,滤清,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.2 ,分装,灭菌。

5. 营养琼脂培养基

按上述营养肉汤培养基的处方及制法,加入 14.0g 琼脂,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.2 ,分装,灭菌。

6. 改良马丁琼脂培养基

按改良马丁培养基的处方及制法,加入 14.0g 琼脂,调节 pH 值使灭菌后为 6.4 ± 0.2 ,分装,灭菌。

培养基的适用性检查

无菌检查用的硫乙醇酸盐流体培养基及改良马丁培养基等应符合培养基的无菌性检查及灵敏度检查的要求。本检查可在供试品的无菌检查前或与供试品的无菌检查同时进行。

无菌性检查 每批培养基随机取不少于 5 支(瓶),培养 14 天,应无菌生长。

灵敏度检查

菌种 培养基灵敏度检查所用的菌株传代次数不得超过 5 代(从菌种保藏中心获得的冷冻干燥菌种为第 0 代),并采用适宜的菌种保藏技术,以保证试验菌株的生物学特性。

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) [CMCC(B) 26 003]

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) [CMCC(B) 10 104]

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) [CMCC(B) 63 501]

生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*) [CMCC(B) 64 941]

白色念珠菌(*Candida albicans*) [CMCC(F) 98 001]

黑曲霉(*Aspergillus niger*) [CMCC(F) 98 003]

菌液制备 接种金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物至营养肉汤培养基中或营养琼脂培养基上,接种生孢梭菌的新鲜培养物至硫乙醇酸盐流体培养基中, $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 小时;接种白色念珠菌的新鲜培养物至改良马丁培养基中或改良马丁琼脂培养基上, $23\sim 28^{\circ}\text{C}$ 培养 24~48 小时,上述培养物用 0.9% 无菌氯化钠溶液制成每

1ml 含菌数小于 100cfu (菌落形成单位) 的菌悬液。接种黑曲霉的新鲜培养物至改良马丁琼脂斜面培养基上, 23~28℃ 培养 5~7 天, 加入 3~5ml 含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液, 将孢子洗脱。然后, 采用适宜的方法将孢子悬液至无菌试管内, 用含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液制成每 1ml 含孢子数小于 100cfu 的孢子悬液。

菌液制备后若在室温下放置, 应在 2 小时内使用; 若保存在 2~8℃, 可在 24 小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在 2~8℃, 在验证过的贮存期内使用。

培养基接种 取每管装量为 12ml 的硫乙醇酸盐流体培养基 9 支, 分别接种小于 100cfu 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌各 2 支, 另 1 支不接种作为空白对照, 培养 3 天; 取每管装量为 9ml 的改良马丁培养基 5 支, 分别接种小于 100cfu 的白色念珠菌、黑曲霉各 2 支, 另 1 支不接种作为空白对照, 培养 5 天。逐日观察结果。

结果判断 空白对照管应无菌生长, 若加菌的培养基管均生长良好, 判该培养基的灵敏度检查符合规定。

稀释液、冲洗液及其制备方法

稀释液、冲洗液配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

1. 0.1% 蛋白胨水溶液 取蛋白胨 1.0g, 加水 1000ml, 微温溶解, 滤清, 调节 pH 值至 7.1 ± 0.2 , 分装, 灭菌。

2. pH7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液 取磷酸二氢钾 3.56g、磷酸氢二钠 7.23g、氯化钠 4.30g、蛋白胨 1.0g, 加水 1000ml, 微温溶解, 滤清, 分装, 灭菌。

根据供试品的特性, 可选用其他经验证过的适宜的溶液作为稀释液、冲洗液。

如需要, 可在上述稀释液或冲洗液的灭菌前或灭菌后加入表面活性剂或中和剂等。

方法验证试验

当建立产品的无菌检查法时, 应进行方法的验证, 以证明所采用的方法适合于该产品的无菌检查。若该产品的组分或原检验条件发生改变时, 检查方法应重新验证。

验证时, 按“供试品的无菌检查”的规定及下列要求进行操作。对每一试验菌应逐一进行验证。

菌种及菌液制备 除大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) (CMCC(B)44 102) 外, 金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌、白色念珠菌、黑曲霉同培养基灵敏度检查。大肠埃希菌的菌液制备同金黄色葡萄球菌。

薄膜过滤法 取每种培养基规定接种的供试品总量按薄膜过滤法过滤, 冲洗, 在最后一轮的冲洗液中加入小于 100cfu 的试验菌, 过滤。取出滤膜接种至硫乙醇酸盐流体培养基或改良马丁培养基中, 或将培养基加至滤筒内。另取一装有同体积培养基的容器, 加入等量试验菌, 作为对照。置规定温度培养 3~5 天。各试验菌同法操作。

直接接种法 取符合直接接种法培养基用量要求的硫乙醇酸盐流体培养基 8 管, 分别接入小于 100cfu 的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌各 2 管; 取符合直接接种法培养基用量要求的改良马丁培养基 4 管, 分别接入小于 100cfu 的白色念珠菌、黑曲霉各 2 管。其中 1 管接入每支培养基规定的供试品接种量, 另 1 管作为对照, 置规定的温度培养 3~5 天。

结果判断 与对照管比较, 如含供试品各容器中的试验菌均生长良好, 则说明供试品的该检验量在该检验条件下无抑菌作用或其抑菌作用可以忽略不计, 照此检查方法和检验条件进行供试品的无菌检查。如含供试品的任一容器中的试验菌生长微弱、缓慢或不生长, 则说明供试品的该检验量在该检验条件下有抑菌作用, 应采用增加冲洗量、增加培养基的用量、使用中和剂、更换滤膜品种等方法, 消除供试品的抑菌作用, 并重新进行方法验证试验。

方法验证试验也可与供试品的无菌检查同时进行。

供试品的无菌检查

检验数量 检验数量是指一次试验所用供试品最小包装容器的数量。除另有规定外, 出厂产品按表 1 规定; 上市产品监督检验按表 2、表 3 规定。表 1、表 2、表 3 中最少检验数量不包括阳性对照试验的供试品用量。一般情况下, 供试品无菌检查若采用薄膜过滤法, 应增加 1/2 的最小检验数量作阳性对照用; 若采用直接接种法, 应增加供试品无菌检查时每个培养基容器接种的样品量作阳性对照用。

检验量 是指一次试验所用的供试品总量 (g 或 ml)。除另有规定外, 每份培养基接种的供试品量按表 2、表 3 规定。若每支 (瓶) 供试品的装量按规定足够接种两份培养基, 则应分别接种硫乙醇酸盐流体培养基和改良马丁培养基。采用薄膜过滤法时, 检验量应不少于直接接种法的供试品总接种量, 只要供试品特性允许, 应将所有容器内的全部内容物过滤。

阳性对照 应根据供试品特性选择阳性对照菌: 无抑菌作用及抗细菌的供试品, 以金黄色葡萄球菌为对照菌; 抗厌氧菌的供试品, 以生孢梭菌为对照菌; 抗真菌的供试品, 以白色念珠菌为对照菌。阳性对照试验的菌液制备同方法验证试验, 加菌量小于 100cfu, 供试品用量同供试品无菌检查每份培养基接种的样品量。阳性对照管培养 48~72 小时应生长良好。

阴性对照 供试品无菌检查时, 应取相应溶剂和稀释液、冲洗液同法操作, 作为阴性对照。阴性对照不得有菌生长。无菌试验过程中, 若需使用表面活性剂、灭活剂、中和剂等试剂, 应证明其有效性, 且对微生物无毒性。

无菌检查法包括薄膜过滤法和直接接种法。只要供试品性状允许, 应采用薄膜过滤法。供试品无菌检查所采用的检验方法和检验条件应与验证的方法相同。

操作时, 用适宜的消毒液对供试品容器表面进行彻底消毒。如果容器内有一定的真空度, 可用适宜的无菌器材 (如带有除菌过滤器的针头), 向容器内导入无菌空气, 再按无菌操

作后开启容器取出内容物。

供试品处理及接种培养基

除另有规定外,按下列方法进行。

1. 薄膜过滤法

薄膜过滤法应优先采用封闭式薄膜过滤器,也可使用一般薄膜过滤器。无菌检查用的滤膜孔径应不大于 $0.45\mu\text{m}$,直径约为 50mm 。根据供试品及其溶剂的特性选择滤膜材质。滤器及滤膜使用前应采用适宜的方法灭菌。使用时,应保证滤膜在过滤前后的完整性。

水溶性供试液过滤前先将少量的冲洗液过滤以润湿滤膜。油类供试品,其滤膜和过滤器在使用前应充分干燥。为发挥滤膜的最大过滤效率,应注意保持供试品溶液及冲洗液覆盖整个滤膜表面。供试液经薄膜过滤后,若需要用冲洗液冲洗滤膜,每张滤膜每次冲洗量一般为 100ml ,且总冲洗量不得超过 1000ml ,以避免滤膜上的微生物受损伤。

水溶液供试品 取规定量,直接过滤,或混合至含适量稀释液的无菌容器内,混匀,立即过滤。如供试品具有抑菌作用或含防腐剂,须用冲洗液冲洗滤膜,冲洗次数一般不少于 3 次。所用的冲洗量、冲洗方法同方法验证试验。冲洗后,如用封闭式薄膜过滤器,分别将 100ml 硫乙醇酸盐流体培养基及改良马丁培养基加入相应的滤筒内。如采用一般薄膜过滤器,取出滤膜,将其分成 3 等份,分别置于含 50ml 硫乙醇酸盐流体培养基及改良马丁培养基的容器中,其中一份作阳性对照用。

可溶于水的固体制剂供试品 取规定量,加适宜的稀释液溶解或按标签说明复溶,然后照水溶液供试品项下的方法操作。

非水溶性制剂供试品 取规定量,直接过滤,或混合溶于含聚山梨酯 80 或其他适宜乳化剂的稀释液中,充分混合,立即过滤。用含 $0.1\%\sim 1\%$ 聚山梨酯 80 的冲洗液冲洗滤膜至少 3 次。滤膜于含或不含聚山梨酯 80 的培养基中培养。接种培养基照水溶液供试品项下的方法操作。

可溶于十四烷酸异丙酯的膏剂和黏性油剂供试品 取规定量,混合至适量的无菌十四烷酸异丙酯^①中,剧烈振摇,使供试品充分溶解,如果需要可适当加热,但温度不得超过 44°C ,趁热迅速过滤。对仍然无法过滤的供试品,于含有适量的无菌十四烷酸异丙酯的供试液中加入不少于 100ml 的稀释液,充分振摇萃取,静置,取下层水相作为供试液过滤。过滤后滤膜冲洗及接种培养基照非水溶性制剂供试品项下的方法操作。

无菌气(喷)雾剂供试品 取规定量,将各容器置至少 -20°C 的冰室冷冻约 1 小时。以无菌操作迅速在容器上端钻一小孔,释放喷射剂后再无菌开启容器,并将供试液转移至无菌容器中,然后照水溶液或非水溶性制剂供试品项下的方法操作。

装有药物的注射器供试品 取规定量,排出注射器中的内容物至无菌容器中,若需要可吸入稀释液或用标签所示的溶剂溶解,然后照水溶液或非水溶性制剂供试品项下的方法操作。同时,应采用直接接种法进行包装中所配带的无菌针

头的无菌检查。

2. 直接接种法

直接接种法即取规定量的供试品分别接种至各含硫乙醇酸盐流体培养基和改良马丁培养基的容器中。除另有规定外,每个容器中培养基的用量应符合接种的供试品体积不得大于培养基体积的 10% ,同时,硫乙醇酸盐流体培养基每管装量不少于 15ml ,改良马丁培养基每管装量不少于 10ml 。若供试品具有抑菌作用,可加入适量的无菌中和剂或灭活剂,或加大每个容器的培养基用量。供试品检查时,培养基的用量和高度同方法验证试验。

混悬液等非澄清水溶液供试品 取规定量,接种至各管培养基中。

固体制剂供试品 取规定量,直接接种至各管培养基中,或加入适宜的溶剂溶解,或按标签说明复溶后,取规定量接种至各管培养基中。

非水溶性制剂供试品 取规定量,混合,加入适量的聚山梨酯 80 或其他适宜的乳化剂及稀释剂使其乳化,接种至各管培养基中。或直接接种至含聚山梨酯 80 或其他适宜乳化剂的各管培养基中。

培养及观察

上述含培养基的容器按规定的温度培养 14 天。培养期间应逐日观察并记录是否有菌生长。如在加入供试品后或在培养过程中,培养基出现浑浊,培养 14 天后,不能从外观上判断有无微生物生长,可取该培养液适量转种至同种新鲜培养基中,细菌培养 2 天、真菌培养 3 天,观察接种的同种新鲜培养基是否再出现浑浊;或取培养液涂片,染色,镜检,判断是否有菌。

结果判断

阳性对照管应生长良好,阴性对照管不得有菌生长。否则,试验无效。

若供试品管均澄清,或虽显浑浊但经确证无菌生长,判供试品符合规定;若供试品管中任何一管显浑浊并确证有菌生长,判供试品不符合规定,除非能充分证明试验结果无效,即生长的微生物非供试品所含。当符合下列至少一个条件时,方可判试验结果无效:

(1) 无菌检查试验所用的设备及环境的微生物监控结果不符合无菌检查法的要求;

(2) 回顾无菌试验过程,发现有可能引起微生物污染的因素;

(3) 供试品管中生长的微生物经鉴定后,确证是因无菌试验中所使用的物品和(或)无菌操作技术不当引起的。

试验若经确认无效,应重试。重试时,重新取同量供试品,依法检查,若无菌生长,判供试品符合规定;若有菌生长,判供试品不符合规定。

① 无菌十四烷酸异丙酯的制备

采用薄膜过滤法过滤除菌。选用孔径为 $0.22\mu\text{m}$ 的脂溶性滤膜,在 140°C 干热灭菌 2 小时。

表1 批出厂产品最少检验数量

供试品	批产量 N (个)	接种每种培养基所需的 最少检验数量
注射剂	≤ 100	10%或4个(取较多者)
	$100 < N \leq 500$	10个
	> 500	2%或20个(取较少者)
大体积注射剂($> 100\text{ml}$)		2%或10个(取较少者)
外用及其他非注射产品	≤ 200	5%或2个(取较多者)
	> 200	10个
桶装固体原料	≤ 4	每个容器
	$4 < N \leq 50$	20%或4个容器(取较多者)
	> 50	2%或10个容器(取较多者)

注:若供试品每个容器中的装量不够接种两种培养基,那么表中的最少检验数量加倍。

表2 液体制剂最少检验量及上市抽验样品的最少检验数量

供试品装量 V (ml)	每支供试品接入每种培 养基的最少量	供试品最少检验 数量(瓶或支)
≤ 1	全量	$10^{\text{①}}$
$1 < V \leq 5$	半量	10
$5 \leq V < 20$	2ml	10
$20 \leq V < 50$	5ml	10
$50 \leq V < 100$	10ml	10
$50 \leq V < 100$ (静脉给药)	半量	10
$100 \leq V \leq 500$	半量	6
$V > 500$	500ml	$6^{\text{①}}$

注:①若供试品每个容器内的装量不够接种两种培养基,那么表中的最少检验数量加倍。

表3 固体制剂最少检验量及上市抽验样品的最少检验数量

供试品装量 M	每支供试品接入每种 培养基的最少量	供试品最少检验 数量(瓶或支)
$M < 50\text{mg}$	全量	$10^{\text{①}}$
$50\text{mg} \leq M < 300\text{mg}$	半量	10
$300\text{mg} \leq M < 5\text{g}$	150mg	10
$M \geq 5\text{g}$	500mg	$10^{\text{②}}$

注:①若供试品每个容器内的装量不够接种两种培养基,那么表中的最少检验数量加倍。

②桶装固体原料的最少检验数量为4个包装。

附录XIII C 微生物限度检查法

微生物限度检查法系检查非规定灭菌制剂及其原料、辅料受微生物污染程度的方法。检查项目包括细菌数、霉菌数、酵母菌数及控制菌检查。

微生物限度检查应在环境洁净度10 000级下的局部洁净度100级的单向流空气区域内进行。检验全过程必须严格

附录XIII C 微生物限度检查法

遵守无菌操作,防止再污染,防止污染的措施不得影响供试品中微生物的检出。单向流空气区域、工作台面及环境应定期按《医药工业洁净室(区)悬浮粒子、浮游菌和沉降菌的测试方法》的现行国家标准进行洁净度验证。

供试品检查时,如果使用了表面活性剂、中和剂或灭活剂,应证明其有效性及对微生物无毒性。

除另有规定外,本检查法中细菌及控制菌培养温度为30~35℃;霉菌、酵母菌培养温度为23~28℃。

检验结果以1g、1ml、10g、10ml或10cm²为单位报告,特殊品种可以最小包装单位报告。

检验量

检验量即一次试验所用的供试品量(g、ml或cm²)。

除另有规定外,一般供试品的检验量为10g或10ml;膜剂为100cm²;贵重药品、微量包装药品的检验量可以酌减。要求检查沙门菌的供试品,其检验量应增加20g或20ml(其中10g或10ml用于阳性对照试验)。

检验时,应从2个以上最小包装单位中抽取供试品,大蜜丸还不得少于4丸,膜剂还不得少于4片。

一般应随机抽取不少于检验用量(两个以上最小包装单位)的3倍量供试品。

供试液的制备

根据供试品的理化特性与生物学特性,采取适宜的方法制备供试液。供试液制备若需加热时,应均匀加热,且温度不应超过45℃。供试液从制备至加入检验用培养基,不得超过1小时。

除另有规定外,常用的供试液制备方法如下。

1. 液体供试品

取供试品10ml,加pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至100ml,混匀,作为1:10的供试液。油剂可加入适量的无菌聚山梨酯80使供试品分散均匀,水溶性液体制剂也可用混合的供试品原液作为供试液。

2. 固体、半固体或黏稠性供试品

取供试品10g,加pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至100ml,用匀浆仪或其他适宜的方法,混匀,作为1:10的供试液。必要时加适量的无菌聚山梨酯80,并置水浴中适当加热使供试品分散均匀。

3. 需用特殊方法制备供试液的供试品

(1)非水溶性供试品

方法1 取供试品5g(或5ml),加至含溶化的(温度不超过45℃)5g司盘80、3g单硬脂酸甘油酯、10g聚山梨酯80无菌混合物的烧杯中,用无菌玻璃棒搅拌成团后,慢慢加入45℃的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至100ml,边加边搅拌,使供试品充分乳化,作为1:20的供试液。

方法2 取供试品10g,加至含20ml无菌十四烷酸异丙酯(制法见附录XIII B无菌检查法中供试品的无菌检查项下)和无菌玻璃珠的适宜容器中,必要时可增加十四烷酸异丙酯

的用量,充分振摇,使供试品溶解。然后加入 45℃ 的 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液 100ml,振摇 5—10 分钟,萃取,静置使油水明显分层,取其水层作为 1:10 的供试液。

(2) 膜剂供试品

取供试品 100cm²,剪碎,加 100ml 的 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(必要时可增加稀释液),浸泡,振摇,作为 1:10 的供试液。

(3) 肠溶及结肠溶制剂供试品

取供试品 10g,加 pH6.8 无菌磷酸盐缓冲液(用于肠溶制剂)或 pH7.6 无菌磷酸盐缓冲液(用于结肠溶制剂)至 100ml,置 45℃ 水浴中,振摇,使溶解,作为 1:10 的供试液。

(4) 气雾剂、喷雾剂供试品

取规定量供试品,置冰冻室冷冻约 1 小时,取出,迅速消毒供试品开启部位,用无菌钢锥在该部位钻一小孔,放至室温,并轻轻转动容器,使抛射剂缓缓全部释出。用无菌注射器吸出全部药液,加至适量的 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(若含非水溶性成分,加适量的无菌聚山梨酯 80)中,混匀,取相当于 10g 或 10ml 的供试品,再稀释成 1:10 的供试液。

(5) 贴膏剂供试品

取规定量供试品,去掉贴膏剂的保护层,放置在无菌玻璃或塑料片上,粘贴面朝上。用适宜的无菌多孔材料(如无菌纱布)覆盖贴剂的粘贴面以避免贴剂粘贴在一起。然后将其置于适宜体积并含有表面活性剂(如聚山梨酯 80 或卵磷脂)的稀释剂中,用力振荡至少 30 分钟,制成供试液。贴膏剂也可采用其他适宜的方法制备成供试液。

(6) 具抑菌活性的供试品

当供试品有抑菌活性时,采用下列方法进行处理,以消除供试液的抑菌活性,再依法检查。常用的方法如下。

① 培养基稀释法 取规定量的供试液,至较大的培养基中,使单位体积内的供试品含量减少,至不含抑菌作用。测定细菌、霉菌及酵母菌的菌数时,取同稀释级的供试液 2ml,每 1ml 供试液可等量分注多个平皿,倾注琼脂培养基,混匀,凝固,培养,计数。每 1ml 供试液所注的平皿中生长的菌落数之和即为 1ml 的菌落数,计算每 1ml 供试液的平均菌落数,按平皿法计数规则报告菌数;控制菌检查时,可加大增菌培养基的用量。

② 离心沉淀法 取一定量的供试液,500 转/分钟离心 3 分钟,取全部上清液混合。用于细菌检查。

③ 薄膜过滤法 见细菌、霉菌及酵母菌计数项下的“薄膜过滤法”。

④ 中和法 凡含汞、砷或防腐剂等具有抑菌作用的供试品,可用适宜的中和剂或灭活剂消除其抑菌成分。中和剂或灭活剂可加在所用的稀释液或培养基中。

细菌、霉菌及酵母菌计数

计数培养基的适用性检查

细菌、霉菌及酵母菌计数用的培养基应进行培养基的适用性检查,成品培养基,由脱水培养基或按处方配制的培养基

均应检查。

菌种 试验用菌株的传代次数不得超过 5 代(从菌种保藏中心获得的冷冻干燥菌种为第 0 代),并采用适宜的菌种保藏技术进行保存,以保证试验菌株的生物学特性。

大肠埃希菌(*Escherichia coli*) [CMCC(B) 44 102]

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) [CMCC(B) 26 003]

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) [CMCC(B) 63 501]

白色念珠菌(*Candida albicans*) [CMCC(F) 98 001]

黑曲霉(*Aspergillus niger*) [CMCC(F) 98 003]

菌液制备 接种大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物至营养肉汤培养基中或营养琼脂培养基上,培养 18~24 小时;接种白色念珠菌的新鲜培养物至改良马丁培养基中或改良马丁琼脂培养基上,培养 24~48 小时。上述培养物用 0.9% 无菌氯化钠溶液制成每 1ml 含菌数为 50~100cfu 的菌悬液。接种黑曲霉的新鲜培养物至改良马丁琼脂斜面培养基上,培养 5~7 天,加入 3~5ml 含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液,将孢子洗脱。然后,采用适宜的方法吸出孢子悬液至无菌试管内,用含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液制成每 1ml 含孢子数 50~100cfu 的孢子悬液。

菌液制备后若在室温下放置,应在 2 小时内使用;若保存在 2~8℃,可在 24 小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在 2~8℃,在验证过的贮存期内使用。

适用性检查 取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌各 50~100cfu,分别注入无菌平皿中,立即倾注营养琼脂培养基,每株试验菌平行制备 2 个平皿,混匀,凝固,置 30~35℃ 培养 48 小时,计数;取白色念珠菌、黑曲霉各 50~100cfu,分别注入无菌平皿中,立即倾注玫瑰红钠琼脂培养基,每株试验菌平行制备 2 个平皿,混匀,凝固,置 23~28℃ 培养 72 小时,计数;取白色念珠菌 50~100cfu,注入无菌平皿中,立即倾注酵母浸出粉胨葡萄糖琼脂培养基,平行制备 2 个平皿,混匀,凝固,置 23~28℃ 培养 72 小时,计数。同时,用相应的对照培养基替代被检培养基进行上述试验。

结果判定 若被检培养基上的菌落平均数不小于对照培养基上的菌落平均数的 70%,且菌落形态大小与对照培养基上的菌落一致,判该培养基的适用性检查符合规定。

计数方法的验证

当建立产品的微生物限度检查法时,应进行细菌、霉菌及酵母菌计数方法的验证,以确认所采用的方法适合于该产品的细菌、霉菌及酵母菌数的测定。若产品的组分或原检验条件发生改变可能影响检验结果时,计数方法应重新验证。

验证时,按供试液的制备和细菌、霉菌及酵母菌计数所规定的方法及下列要求进行。对各试验菌的回收率应逐一进行验证。

菌种及菌液制备 同计数培养基的适用性检查。

验证方法 验证试验至少应进行 3 次独立的平行试验,并分别计算各试验菌每次试验的回收率。

(1) 试验组 平皿法计数时,取试验可能用的最低稀释级供试液 1ml 和 50~100cfu 试验菌,分别注入平皿中,立即倾注琼脂培养基,每株试验菌平行制备 2 个平皿,按平皿法测定其菌数。薄膜过滤法计数时,取规定量试验可能用的最低稀释级供试液,过滤,冲洗,在最后一轮的冲洗液中加入 50~100cfu 试验菌,过滤,按薄膜过滤法测定其菌数。

(2) 菌液组 测定所加的试验菌数。

(3) 供试品对照组 取规定量供试液,按菌落计数方法测定供试品本底菌数。

(4) 稀释剂对照组 若供试液制备需要分散、乳化、中和、离心或薄膜过滤等特殊处理时,应增加稀释剂对照组,以考察供试液制备过程中微生物受影响的程度。试验时,可用相应的稀释液替代供试品,加入试验菌,使最终菌浓度为每 1ml 供试液含 50~100cfu,按试验组的供试液制备方法和菌落计数方法测定其菌数。

结果判断 在 3 次独立的平行试验中,稀释剂对照组的菌数回收率(稀释剂对照组的平均菌落数占菌液组的平均菌落数的百分率)应均不低于 70%。若试验组的菌数回收率(试验组的平均菌落数减去供试品对照组的平均菌落数的值占菌液组的平均菌落数的百分率)均不低于 70%,照该供试液制备方法和计数法测定供试品的细菌、霉菌及酵母菌数;若任一次试验中试验组的菌数回收率低于 70%,应采用培养基稀释法、离心沉淀法、薄膜过滤法、中和法(常见干扰物的中和剂或灭活方法见表 1)等方法或联合使用这些方法消除供试品的抑菌活性,并重新进行方法验证。

表 1 常见干扰物的中和剂或灭活方法

干扰物	可选用的中和剂或灭活方法
戊二醛	亚硫酸氢钠
脂类、乙醇、吸附物	稀释法
醛类	稀释法、甘氨酸、硫代硫酸盐
季铵类化合物(QACs)、	卵磷脂、聚山梨酯
对羟基苯甲酸酯	
汞类制剂	亚硫酸氢钠、巯基乙酸盐、硫代硫酸盐
双胍类化合物	卵磷脂
碘酒、洗必泰类	聚山梨酯
卤化物	硫代硫酸盐
乙二胺四乙酸(EDTA)	镁或钙离子
磺胺类	对氨基苯甲酸
β -内酰胺类抗生素	β -内酰胺酶

若没有适宜的方法消除供试品的抑菌活性,那么验证试验中微生物回收的失败可看成是因供试品的抗菌活性引起的,同时表明该供试品不能被试验菌污染。但是,供试品也可能仅对试验用菌株具有抑制作用,而对其他菌株没有抑制作用。因此,根据供试品须符合的微生物限度标

准和菌数报告规则,在不影响检验结果判断的前提下,应采用能使微生物生长的更高稀释级的供试液进行方法验证试验。若验证试验符合要求,应以该稀释级供试液作为最低稀释级的供试液进行供试品检验。

计数方法验证时,采用上述方法若还存在一株或多株试验菌的回收率达不到要求,那么选择回收率最接近要求的方法和试验条件进行供试品的检验。

验证试验也可与供试品的细菌、霉菌及酵母菌计数同时进行。

供试品检查

计数方法包括平皿法和薄膜过滤法。检查时,按已验证的计数方法进行供试品的细菌、霉菌及酵母菌菌数的测定。

按计数方法的验证试验确认的程序进行供试液制备。用稀释液稀释成 $1:10$ 、 $1:10^2$ 、 $1:10^3$ 等稀释级的供试液。

1. 平皿法

根据菌数报告规则取相应稀释级的供试液 1ml,置直径 90mm 的无菌平皿中,注入 15~20ml 温度不超过 45℃ 的溶化的营养琼脂培养基或玫瑰红钠琼脂培养基或酵母浸出粉琼脂培养基,混匀,凝固,倒置培养。每稀释级每种培养基至少制备 2 个平板。

阴性对照试验 取试验用的稀释液 1ml,置无菌平皿中,注入培养基,凝固,倒置培养。每种计数用的培养基各制备 2 个平板,均不得有菌生长。

培养和计数 除另有规定外,细菌培养 3 天,霉菌、酵母菌培养 5 天,逐日观察菌落生长情况,点计菌落数,必要时,可适当延长培养时间至 7 天进行菌落计数并报告。菌落蔓延生长成片的平板不宜计数。点计菌落数后,计算各稀释级供试液的平均菌落数,按菌数报告规则报告菌数。若同稀释级两个平板的菌落平均数不小于 15,则两个平板的菌落数不能相差 1 倍或以上。

一般营养琼脂培养基用于细菌计数;玫瑰红钠琼脂培养基用于霉菌及酵母菌计数;酵母浸出粉琼脂培养基用于酵母菌计数。在特殊情况下,若营养琼脂培养基上长有霉菌和酵母菌、玫瑰红钠琼脂培养基上长有细菌,则应分别点计霉菌和酵母菌、细菌菌落数。然后将营养琼脂培养基上的霉菌和酵母菌数或玫瑰红钠琼脂培养基上的细菌数,与玫瑰红钠琼脂培养基中的霉菌和酵母菌数或营养琼脂培养基中的细菌数进行比较,以菌落数高的培养基中的菌数为计数结果。

含蜂蜜、王浆的液体制剂,用玫瑰红钠琼脂培养基测定霉菌数,用酵母浸出粉琼脂培养基测定酵母菌数,合并计数。

菌数报告规则 细菌、酵母菌宜选取平均菌落数小于 300cfu,霉菌宜选取平均菌落数小于 100cfu 的稀释级,作为菌数报告(取两位有效数字)的依据。以最高的平均菌落数乘以稀释倍数的值报告 1g、1ml 或 10cm³ 供试品中所含的菌数。如各稀释级的平板均无菌落生长,或仅最低稀释级的平

板有菌落生长,但平均菌落数小于1时,以 <1 乘以最低稀释倍数的值报告菌数。

2. 薄膜过滤法

采用薄膜过滤法,滤膜孔径应不大于 $0.45\mu\text{m}$,直径一般为50mm,若采用其他直径的滤膜,冲洗量应进行相应的调整。选择滤膜材质时应保证供试品及其溶剂不影响微生物的充分被截留。滤器及滤膜使用前应采用适宜的方法灭菌。使用时,应保证滤膜在过滤前后的完整性。水溶性供试液过滤前先将少量的冲洗液过滤以润湿滤膜。油类供试品,其滤膜和滤器在使用前应充分干燥。为发挥滤膜的最大过滤效率,应注意保持供试品溶液及冲洗液覆盖整个滤膜表面。供试液经薄膜过滤后,若需要用冲洗液冲洗滤膜,每张滤膜每次冲洗量为100ml。总冲洗量不得超过1000ml,以避免滤膜上的微生物受损伤。

取相当于每张滤膜含1g、1ml或 10cm^2 供试品的供试液,加至适量的稀释剂中,混匀,过滤。若供试品每1g、1ml或 10cm^2 所含的菌数较多时,可取适宜稀释级的供试液1ml进行试验。用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或其他适宜的冲洗液冲洗滤膜,冲洗方法和冲洗量同“计数方法的验证”。冲洗后取出滤膜,菌面朝上贴于营养琼脂培养基或玫瑰红钠琼脂培养基或酵母浸出粉胨葡萄糖琼脂培养基平板上培养。每种培养基至少制备一张滤膜。

阴性对照试验 取试验用的稀释液1ml照上述薄膜过滤法操作,作为阴性对照。阴性对照不得有菌生长。

培养和计数 培养条件和计数方法同平皿法,每片滤膜上的菌落数应不超过100cfu。

菌数报告规则 以相当于1g、1ml或 10cm^2 供试品的菌落数报告菌数;若滤膜上无菌落生长,以 <1 报告菌数(每张滤膜过滤1g、1ml或 10cm^2 供试品),或 <1 乘以最低稀释倍数的值报告菌数。

控制菌检查

控制菌检查用培养基的适用性检查

控制菌检查用的培养基应进行培养基的适用性检查,成品培养基、由脱水培养基或按处方配制的培养基均应检查。

菌种 对试验菌种的要求同计数培养基的适用性检查。

大肠埃希菌(*Escherichia coli*) [CMCC(B) 44 102]

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) [CMCC(B) 26 003]

乙型副伤寒沙门菌(*Salmonella paratyphi* B) [CMCC(B) 50 094]

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) [CMCC(B) 10 104]

生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*) [CMCC(B) 64 941]

白色念珠菌(*Candida albicans*) [CMCC(F) 98 001]

菌液制备 接种大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型副伤寒

沙门菌、铜绿假单胞菌的新鲜培养物至营养肉汤培养基中或营养琼脂培养基上,生孢梭菌的新鲜培养物至硫乙醇酸盐流体培养基中,培养18~24小时;接种白色念珠菌的新鲜培养物至改良马丁培养基中或改良马丁琼脂培养基上,培养24~48小时。用0.9%无菌氯化钠溶液制成每1ml含菌数为 $10\sim 100\text{cfu}$ 的菌悬液。

菌悬液在室温下放置应在2小时内使用,若保存在 $2\sim 8^\circ\text{C}$ 可在24小时内使用。

适用性检查 控制菌检查用培养基的适用性检查项目包括促生长能力、抑制能力及指示能力的检查。各培养基的检测项目及所用菌株见表2。

液体培养基促生长能力检查 分别接种不大于 100cfu 的试验菌(表2)于被检培养基和对照培养基中,在相应控制菌检查规定的培养温度及最短培养时间下培养。与对照培养基管比较,被检培养基管试验菌应生长良好。

固体培养基促生长能力检查 取试验菌各0.1ml(含菌数 $50\sim 100\text{cfu}$)分别涂布于被检培养基和对照培养基平板上,在相应控制菌检查规定的培养温度及最短培养时间下培养。被检培养基与对照培养基上生长的菌落大小、形态特征应一致。

培养基抑制能力检查 接种不少于 100cfu 的试验菌(表2)于被检培养基中,在相应控制菌检查规定的培养温度及最长时间下培养,试验菌应不得生长。

固体培养基指示能力检查 取试验菌各0.1ml(含菌数不大于 100cfu)(表2)分别涂布于被检培养基和对照培养基平板上,在相应控制菌检查规定的培养温度及时间下培养。被检培养基上试验菌生长的菌落大小、形态特征、指示剂反应情况等应与对照培养基一致。

液体培养基指示能力检查 分别接种不大于 100cfu 的试验菌(表2)于被检培养基和对照培养基中,在相应控制菌检查规定的培养温度及最短培养时间下培养。与对照培养基管比较,被检培养基管试验菌生长情况、指示剂反应等应与对照培养基一致。

控制菌检查方法的验证

当建立产品的微生物限度检查法时,应进行控制菌检查方法的验证,以确认所采用的方法适合于该产品的控制菌检查。若产品的组分或原检验条件发生改变可能影响检验结果时,检查方法应重新验证。

验证时,依各品种项下微生物限度标准中规定检查的控制菌选择相应验证的菌株,验证大肠菌群检查法时,采用大肠埃希菌作为验证菌株。验证试验按供试液的制备和控制菌检查法的规定及下列要求进行。

菌种及菌液制备 同控制菌检查用培养基的适用性检查。

验证方法 取规定量供试液及 $10\sim 100\text{cfu}$ 试验菌加入增菌培养基中,依相应控制菌检查法进行检查。当采用薄膜过滤法时,取规定量供试液,过滤,冲洗,试验菌应加在最后一次冲洗液中,过滤后,注入增菌培养基或取出滤膜接入增菌培养基中。

表 2 控制菌检查用培养基的促生长能力、抑制能力及指示能力检查

控制菌检查	培养基	特性	
		特性	试验菌株
大肠埃希菌	胆盐乳糖培养基	促生长能力	大肠埃希菌
	4-甲基伞形酮葡萄糖苷酸培养基	抑制能力	金黄色葡萄球菌
	曙红亚甲蓝琼脂培养基或麦康凯琼脂培养基	促生长能力+指示能力	大肠埃希菌
大肠菌群	乳糖胆盐发酵培养基	促生长能力+指示能力	大肠埃希菌
	乳糖发酵培养基	促生长能力	大肠埃希菌
	曙红亚甲蓝琼脂培养基或麦康凯琼脂培养基	抑制能力	金黄色葡萄球菌
沙门菌	营养肉汤培养基	促生长能力+指示能力	大肠埃希菌
	四硫磺酸钠亮绿培养基	促生长能力+指示能力	大肠埃希菌
	胆盐硫乳琼脂培养基或沙门、志贺菌属琼脂培养基	抑制能力	乙型副伤寒沙门菌
铜绿假单胞菌	曙红亚甲蓝琼脂培养基或麦康凯琼脂培养基	促生长能力	乙型副伤寒沙门菌
	三糖铁琼脂培养基	抑制能力	金黄色葡萄球菌
	胆盐乳糖培养基	促生长能力+指示能力	乙型副伤寒沙门菌
金黄色葡萄球菌	胆盐乳糖培养基	促生长能力	铜绿假单胞菌
	溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基	抑制能力	金黄色葡萄球菌
	绿脓菌素测定用培养基	促生长能力	铜绿假单胞菌
梭菌	亚碲酸盐肉汤培养基	抑制能力	金黄色葡萄球菌
	卵黄氯化钠琼脂培养基或甘露醇氯化钠琼脂培养基	促生长能力+指示能力	铜绿假单胞菌
		抑制能力	大肠埃希菌
白色念珠菌	梭菌增菌培养基	促生长能力+指示能力	铜绿假单胞菌
	哥伦比亚琼脂培养基	促生长能力	生孢梭菌
	沙氏葡萄糖液体培养基	促生长能力	生孢梭菌
白色念珠菌	沙氏葡萄糖琼脂培养基	促生长能力+指示能力	白色念珠菌
	念珠菌显色培养基	促生长能力+指示能力	白色念珠菌
	1%聚山梨酯 80-玉米琼脂培养基	抑制能力	大肠埃希菌
白色念珠菌		促生长能力+指示能力	白色念珠菌

结果判断 若上述试验检出试验菌,按此供试液制备法和控制菌检查法进行供试品的该控制菌检查;若未检出试验菌,应采用培养基稀释法、离心沉淀法、薄膜过滤法、中和法等方法或联合使用这些方法消除供试品的抑菌活性,并重新进行方法验证。

验证试验也可与供试品的控制菌检查同时进行。

供试品检查

供试品的控制菌检查应按已验证的方法进行。

阳性对照试验 阳性对照试验方法同供试品的控制菌检查,对照菌的加菌量为 $10 \sim 100\text{cfu}$ 。阳性对照试验应检出相应的控制菌。

阴性对照试验 取稀释液 10ml 照相应控制菌检查法检查,作为阴性对照。阴性对照应无菌生长。

(1) 大肠埃希菌(*Escherichia coli*) 取供试液 10ml(相当于供试品 1g、1ml、10cm²),直接或处理后接种至适量(不少于 100ml)的胆盐乳糖培养基中,培养 18~24 小时,必要时可延长至 48 小时。

取上述培养物 0.2ml,接种至含 5ml MUG 培养基的试管内,培养,于 5 小时、24 小时在 366nm 紫外光下观察,同时用未接种的 MUG 培养基作本底对照。若管内培养物呈现荧光,为 MUG 阳性;不呈现荧光,为 MUG 阴性。观察后,沿培养管的管壁加入数滴靛基质试液,液面呈玫瑰红色,为靛基质阳性;呈试剂本色,为靛基质阴性。本底对照应为 MUG 阴性和靛基质阴性。

如 MUG 阳性、靛基质阳性,判供试品检出大肠埃希菌;如 MUG 阴性、靛基质阴性,判供试品未检出大肠埃希菌;如 MUG 阳性、靛基质阴性,或 MUG 阴性、靛基质阳性,则应取胆盐乳糖

培养基的培养物划线接种于曙红亚甲蓝琼脂培养基或麦康凯琼脂培养基的平板上,培养 18~24 小时。

若平板上无菌落生长或生长的菌落与表 3 所列的菌落形态特征不符,判供试品未检出大肠埃希菌。若平板上生长的菌落与表 3 所列的菌落形态特征相符或疑似,应进行分离、纯化、染色镜检和适宜的鉴定试验,确认是否为大肠埃希菌。

表 3 大肠埃希菌菌落形态特征

培养基	菌落形态
曙红亚甲蓝琼脂	紫黑色、浅紫色、蓝紫色或粉红色,菌落中心呈深紫色或无明显暗色中心,圆形,稍凸起,边缘整齐,表面光滑,湿润,常有金属光泽
麦康凯琼脂	鲜桃红色或微红色,菌落中心呈深桃红色,圆形,扁平,边缘整齐,表面光滑,湿润

(2)大肠菌群(Coliform) 取含适量(不少于 10ml)的乳糖胆盐发酵培养基管 3 支,分别加入 1:10 的供试液 1ml(含供试品 0.1g 或 0.1ml)、1:100 的供试液 1ml(含供试品 0.01g 或 0.01ml)、1:1000 的供试液 1ml(含供试品 0.001g 或 0.001ml),另取 1 支乳糖胆盐发酵培养基管加入稀释液 1ml 作为阴性对照管。培养 18~24 小时。

乳糖胆盐发酵管若无菌生长或有菌生长但不产酸产气,判该管未检出大肠菌群;若产酸产气,应将发酵管中的培养物分别划线接种于曙红亚甲蓝琼脂培养基或麦康凯琼脂培养基的平板上,培养 18~24 小时。

若平板上无菌落生长,或生长的菌落与表 4 所列的菌落形态特征不符或为非革兰阴性无芽孢杆菌,判该管未检出大肠菌群;若平板上生长的菌落与表 4 所列的菌落形态特征相符或疑似,且为革兰阴性无芽孢杆菌,应进行确证试验。

表 4 大肠菌群菌落形态特征

培养基	菌落形态
曙红亚甲蓝琼脂	紫黑色、紫红色、红色或粉红色,圆形,扁平或稍凸起,边缘整齐,表面光滑,湿润
麦康凯琼脂	鲜桃红色或粉红色,圆形,扁平或稍凸起,边缘整齐,表面光滑,湿润

确证试验 从上述分离平板上挑选 4~5 个疑似菌落,分别接种于乳糖发酵管中,培养 24~48 小时。若产酸产气,判该乳糖胆盐发酵管检出大肠菌群,否则判未检出大肠菌群。

根据大肠菌群的检数管数,按表 5 报告 1g 或 1ml 供试品中的大肠菌群数。

表 5 可能的大肠菌群数

各供试品量的检出结果			可能的大肠菌群数 N (个/g 或 ml)
0.1g 或 0.1ml	0.01g 或 0.01ml	0.001g 或 0.001ml	
+	+	+	$>10^3$
+	+	-	$10^2 < N < 10^3$
+	-	-	$10 < N < 10^2$
-	-	-	<10

注: + 代表检出大肠菌群, - 代表未检出大肠菌群。

(3)沙门菌(*Salmonella*) 取供试品 10g 或 10ml,直接或处理后接种至适量(不少于 200ml)的营养肉汤培养基中,用匀浆仪或其他适宜方法混匀,培养 18~24 小时。

取上述培养物 1ml,接种于 10ml 四硫磺酸钠亮绿培养基中,培养 18~24 小时后,分别划线接种于胆盐硫乳琼脂(或沙门、志贺菌属琼脂)培养基和麦康凯琼脂(或曙红亚甲蓝琼脂)培养基的平板上,培养 18~24 小时(必要时延长至 40~48 小时)。若平板上无菌落生长或生长的菌落不同于表 6 所列的特征,判供试品未检出沙门菌。

若平板上生长的菌落与表 6 所列的菌落形态特征相符或疑似,用接种针挑选 2~3 个菌落分别于三糖铁琼脂培养基高层斜面上进行斜面和高层穿刺接种,培养 18~24 小时,如斜面未见红色、底层未见黄色;或斜面黄色、底层无黑色,判供试品未检出沙门菌。否则,应取三糖铁琼脂培养基斜面的培养物进行适宜的鉴定试验,确认是否为沙门菌。

表 6 沙门菌菌落形态特征

培养基	菌落形态
胆盐硫乳琼脂	无色至浅橙色,半透明,菌落中心带黑色或全部黑色或无黑色
沙门、志贺菌属琼脂	无色至淡红色,半透明或不透明,菌落中心有时带黑褐色
曙红亚甲蓝琼脂	无色至浅橙色,透明或半透明,光滑湿润的圆形菌落
麦康凯琼脂	无色至浅橙色,透明或半透明,菌落中心有时为暗色

(4)铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) 取供试液 10ml(相当于供试品 1g、1ml、10cm²),直接或处理后接种至适量(不少于 100ml)的胆盐乳糖培养基中,培养 18~24 小时。取上述培养物,划线接种于溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基的平板上,培养 18~24 小时。

铜绿假单胞菌典型菌落呈扁平、无定形、周边扩散、表面湿润,灰白色,周围时有蓝绿色素扩散。如平板上无菌落生长或生长的菌落与上述菌落形态特征不符,判供试品未检出铜绿假单胞菌。如平板生长的菌落与上述菌落形态特征相符或疑似,应挑选 2~3 个菌落,分别接种于营养琼脂培养基斜面上,培养 18~24 小时。取斜面培养物进行革兰染色、镜检及氧化酶试验。

氧化酶试验 取洁净滤纸片置于平皿内,用无菌玻棒取斜面培养物涂于滤纸片上,滴加新配制的 1% 二盐酸二甲基对苯二胺试液,在 30 秒内若培养物呈粉红色并逐渐变为紫红色为氧化酶试验阳性,否则为阴性。

若斜面培养物为非革兰阴性无芽孢杆菌或氧化酶试验阴性,均判供试品未检出铜绿假单胞菌。否则,应进行绿脓菌素试验。

绿脓菌素(Pyocyanin)试验 取斜面培养物接种于 PDP

培养基斜面上,培养 24 小时,加三氯甲烷 3~5ml 至培养基中,搅碎培养基并充分振荡。静置片刻,将三氯甲烷相移至另一试管中,加入 1mol/L 盐酸试液约 1ml,振荡后,静置片刻,观察。若盐酸溶液呈粉红色,为绿脓菌素试验阳性,否则为阴性。同时用未接种的 PDP 琼脂培养基斜面同法作阴性对照,阴性对照试验应呈阴性。

若上述疑似菌为革兰阴性杆菌、氧化酶试验阳性及绿脓菌素试验阳性,判供试品检出铜绿假单胞菌。若上述疑似菌为革兰阴性杆菌、氧化酶试验阳性及绿脓菌素试验阴性,应继续进行适宜的鉴定试验,确认是否为铜绿假单胞菌。

(5)金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 取供试液 10ml(相当于供试品 1g、1ml、10cm²),直接或处理后接种至适量(不少于 100ml)的亚碲酸钠(钾)肉汤(或营养肉汤)培养基中,培养 18~24 小时,必要时可延长至 48 小时。取上述培养物,划线接种于卵黄氯化钠琼脂培养基或甘露醇氯化钠琼脂培养基的平板上,培养 24~72 小时。若平板上无菌落生长或生长的菌落不同于表 7 所列特征,判供试品未检出金黄色葡萄球菌。

表 7 金黄色葡萄球菌菌落形态特征

培养基	菌落形态
甘露醇氯化钠琼脂	金黄色,圆形凸起,边缘整齐,外围有黄色环,菌落直径 0.7~1mm
卵黄氯化钠琼脂	金黄色,圆形凸起,边缘整齐,外围有卵磷脂分解的乳浊圈,菌落直径 1~2mm

若平板上生长的菌落与表 7 所列的菌落特征相符或疑似,应挑选 2~3 个菌落,分别接种于营养琼脂培养基斜面上,培养 18~24 小时。取营养琼脂培养基的培养物进行革兰染色,并接种于营养肉汤培养基中,培养 18~24 小时,作血浆凝固酶试验。

血浆凝固酶试验 取灭菌小试管 3 支,各加入血浆和无菌水混合液(1:1)0.5ml,再分别加入可疑菌株的营养肉汤培养物(或由营养琼脂培养基斜面培养物制备的浓菌悬液)0.5ml、金黄色葡萄球菌营养肉汤培养物(或由营养琼脂培养基斜面培养物制备的浓菌悬液)0.5ml、营养肉汤或 0.9% 无菌氯化钠溶液 0.5ml,即为试验管、阳性对照管和阴性对照管。将 3 管同时培养,3 小时后开始观察直至 24 小时。阴性对照管的血浆应流动自如,阳性对照管血浆应凝固,若试验管血浆凝固为血浆凝固酶试验阳性,否则为阴性。如阳性对照管或阴性对照管不符合规定时,应另制备血浆,重新试验。

若上述疑似菌为非革兰阳性球菌、血浆凝固酶试验阴性,判供试品未检出金黄色葡萄球菌。

(6)梭菌(*Clostridium*) 取供试液 10ml(相当于供试品 1g、1ml、10cm²)2 份,其中 1 份置 80℃ 保温 10 分钟后迅速冷却。上述 2 份供试液直接或处理后分别接种至 100ml 的梭菌增菌培养基中。置厌氧条件下培养 48 小时。取上述每一培养物 0.2ml,分别涂抹接种于含庆大霉素的哥伦比亚琼脂培

养基平板上,置厌氧条件下培养 48~72 小时。若平板上无菌落生长,判供试品未检出梭菌;若平板上有菌落生长,应挑选 2~3 个菌落分别进行革兰染色和过氧化氢酶试验。

过氧化氢酶试验 取上述平板上的菌落,置洁净玻片上,滴加 3% 过氧化氢试液,若菌落表面有气泡产生,为过氧化氢酶试验阳性,否则为阴性。

若上述可疑菌落为革兰阳性梭菌,有或无卵圆形或球形的芽孢,过氧化氢酶试验阴性,判供试品检出梭菌,否则判供试品未检出梭菌。

(7)白色念珠菌(*Candida albicans*) 取供试液 10ml(相当于供试品 1g、1ml、10cm²)直接或处理后接种至适量(不少于 100ml)的沙氏葡萄糖液体培养基中,培养 48~72 小时。取上述培养物划线接种于沙氏葡萄糖琼脂培养基平板上,培养 24~48 小时(必要时延长至 72 小时)。

白色念珠菌在沙氏葡萄糖琼脂培养基上生长的菌落呈乳白色,偶见淡黄色,表面光滑有浓酵母气味,培养时间稍久则菌落增大,颜色变深,质地变硬或有皱褶。若平板上无菌落生长或生长的菌落与上述菌落形态特征不符,判供试品未检出白色念珠菌。如平板上生长的菌落与上述菌落形态特征相符或疑似,应挑选 2~3 个菌落分别接种至念珠菌显色培养基平板上,培养 24~48 小时(必要时延长至 72 小时)。若平板上无绿色或翠绿色的菌落生长,判供试品未检出白色念珠菌。

若平板上生长的菌落为绿色或翠绿色,挑取相符或疑似的菌落接种于 1% 聚山梨酯 80-玉米琼脂培养基上,培养 24~48 小时。取培养物进行染色,镜检及芽管试验。

芽管试验 挑取 1% 聚山梨酯 80-玉米琼脂培养基上的培养物,接种于加有一滴血清的载玻片上,盖上盖玻片,置湿润的平皿内,于 35~37℃ 培养 1~3 小时,置显微镜下观察孢子子上有否长出短小芽管。

若上述疑似菌为非革兰阳性菌,显微镜下未见厚膜孢子、假菌丝和芽管,判供试品未检出白色念珠菌。

结果判断

供试品检出控制菌或其他致病菌时,按一次检出结果为准,不再复试。

供试品的细菌数、霉菌和酵母菌数其中任何一项不符合该品种项下的规定,应从同一批样品中随机抽样,独立复试两次,以 3 次结果的平均值报告菌数。

若供试品的细菌数、霉菌和酵母菌数、控制菌三项检验结果均符合该品种项下的规定,判供试品符合规定;若其中任何一项不符合该品种项下的规定,判供试品不符合规定。

稀释液

稀释液配制后,应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

1. pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液 照无菌检查法(附录 XIII B)制备。

2. pH6.8 无菌磷酸盐缓冲液、pH7.6 无菌磷酸盐缓冲液

附录 XIII C 微生物限度检查法

按缓冲液(附录 XV D)配制后,过滤,分装,灭菌。

如需要,可在上述稀释液灭菌前或灭菌后加入表面活性剂或中和剂等。

3. 0.9%无菌氯化钠溶液 取氯化钠 9.0g,加水溶解使成 1000ml,过滤,分装,灭菌。

培养基及其制备方法

培养基可按以下处方制备,也可使用按该处方生产的符合要求的脱水培养基。配制后,应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

1. 营养琼脂培养基、营养肉汤培养基、硫乙醇酸盐流体培养基、改良马丁培养基及改良马丁琼脂培养基

照无菌检查法(附录 XIII B)制备。

2. 玫瑰红钠琼脂培养基

胨	5.0g	玫瑰红钠	0.0133g
葡萄糖	10.0g	琼脂	14.0g
磷酸二氢钾	1.0g	水	1000ml
硫酸镁	0.5g		

除葡萄糖、玫瑰红钠外,取上述成分,混合,微温溶解,滤过,加入葡萄糖、玫瑰红钠,分装,灭菌。

3. 酵母浸出粉胨葡萄糖琼脂培养基(YPD)

胨	10.0g	琼脂	14.0g
酵母浸出粉	5.0g	水	1000ml
葡萄糖	20.0g		

除葡萄糖外,取上述成分,混合,微温溶解,滤过,加入葡萄糖,分装,灭菌。

4. 胆盐乳糖培养基(BL)

胨	20.0g	磷酸二氢钾	1.3g
乳糖	5.0g	牛胆盐	2.0g
氯化钠	5.0g	(或去氧胆酸钠)	(0.5g)
磷酸氢二钾	4.0g	水	1000ml

除乳糖、牛胆盐(或去氧胆酸钠)外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.4 ± 0.2 ,煮沸,滤清,加入乳糖、牛胆盐(或去氧胆酸钠),分装,灭菌。

5. 乳糖胆盐发酵培养基

胨	20.0g	0.04% 溴甲酚紫指示液	25ml
乳糖	10.0g	水	1000ml
牛胆盐	5.0g		

除 0.04% 溴甲酚紫指示液外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.4 ± 0.2 ,加入 0.04% 溴甲酚紫指示液,根据要求的用量分装于含倒管的试管中。灭菌。所用倒管的规格应保证产气结果的观察。

6. 曙红亚甲蓝琼脂培养基(EMB)

营养琼脂培养基	100ml	曙红钠指示液	2ml
20% 乳糖溶液	5ml	亚甲蓝指示液	1.3~1.6ml

取营养琼脂培养基,加热溶化后,冷至 60°C ,按无菌操作加入灭菌的其他 3 种溶液,摇匀,倾注平皿。

附录 86

7. 麦康凯琼脂培养基(MacC)

胨	20.0g	1% 中性红指示液	3ml
乳糖	10.0g	琼脂	14.0g
牛胆盐	5.0g	水	1000ml
氯化钠	5.0g		

除乳糖、1% 中性指示液、牛胆盐及琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.2 ,加入琼脂,加热溶化后,再加入其余各成分,摇匀,分装,灭菌,冷至约 60°C ,倾注平皿。

8. 4-甲基伞形酮葡萄糖苷酸(4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide, MUG)培养基

胨	10.0g	磷酸二氢钾(无水)	0.9g
硫酸锰	0.5mg	磷酸氢二钠(无水)	6.2g
硫酸锌	0.5mg	亚硫酸钠	40mg
硫酸镁	0.1g	去氧胆酸钠	1.0g
氯化钠	5.0g	MUG	75mg
氯化钙	50mg	水	1000ml

除 MUG 外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.3 ± 0.1 ,加入 MUG,溶解,每管分装 5ml,灭菌。

9. 三糖铁琼脂培养基(TSI)

胨	20.0g	硫酸亚铁	0.2g
牛肉浸出粉	5.0g	硫代硫酸钠	0.2g
乳糖	10.0g	0.2% 酚磺酞指示液	12.5ml
蔗糖	10.0g	琼脂	12.0g
葡萄糖	1.0g	水	1000ml
氯化钠	5.0g		

除三种糖、0.2% 酚磺酞指示液、琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.3 ± 0.1 ,加入琼脂,加热溶化后,再加入其余各成分,摇匀,分装,灭菌,制成高底层(2~3cm)短斜面。

10. 四硫磺酸钠亮绿培养基(TTB)

胨	5.0g	硫代硫酸钠	30.0g
牛胆盐	1.0g	水	1000ml
碳酸钙	10.0g		

取上述成分,混合,微温溶解,灭菌。

临用前,取上述培养基,每 10ml 加入碘试液 0.2ml 和亮绿试液 0.1ml,混匀。

11. 沙门、志贺菌属琼脂培养基(SS)

胨	5.0g	硫代硫酸钠	8.5g
牛肉浸出粉	5.0g	中性红指示液	2.5ml
乳糖	10.0g	亮绿试液	0.33ml
牛胆盐	8.5g	琼脂	16.0g
枸橼酸钠	8.5g	水	1000ml
枸橼酸铁铵	1.0g		

除乳糖、中性红指示液、琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,滤过,加入琼脂,加热溶化后,再加入其余各成分,摇匀,灭菌,冷至 60°C ,倾注

12. 胆盐硫乳琼脂培养基(DHL)

20.0g	枸橼酸钠	1.0g
3.0g	枸橼酸铁铵	1.0g
10.0g	中性红指示液	3ml
10.0g	琼脂	16.0g
1.0g	水	1000ml
2.3g		

除糖、指示液及琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,加入琼脂,加热溶化后,再加入其余成分,摇匀,冷至 60°C ,倾注平皿。

13. 溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基

10.0g	溴化十六烷基三甲铵	0.3g
3.0g	琼脂	14.0g
5.0g	水	1000ml

除琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.5 ± 0.1 ,加入琼脂,加热溶化后,分装,灭菌,冷至 60°C ,倾注平皿。

14. 亚硝酸盐肉汤培养基

临用前,取灭菌的营养肉汤培养基,每 100ml 中加入新配制的 1% 亚硝酸钠(钾)试液 0.2ml,混匀,即得。

15. 卵黄氯化钠琼脂培养基

6.0g	10% 氯化钠卵黄液	100ml
1.8g	琼脂	14.0g
30.0g	水	650ml

除 10% 氯化钠卵黄液外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.6 ± 0.1 ,灭菌,待冷至约 60°C ,以无菌操作加入 10% 氯化钠卵黄液,充分振摇,倾注平皿。

10% 氯化钠卵黄液的制备 取新鲜鸡蛋 1 个,以无菌操作取出卵黄,放入 10% 无菌氯化钠溶液 100ml 中,充分振摇,即得。

16. 甘露醇氯化钠琼脂培养基

10.0g	酚磺酞指示液	2.5ml
1.0g	琼脂	14.0g
10.0g	水	1000ml
75.0g		

除甘露醇、酚磺酞指示液及琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.4 ± 0.2 ,加入琼脂,加热溶化后,滤过,分装,灭菌,冷至 60°C ,倾注平皿。

17. 乳糖发酵培养基

20.0g	乳糖	10.0g
25ml	水	1000ml

除 0.04% 溴甲酚紫指示液外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值至

除 0.04% 溴甲酚紫指示液外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.2 ± 0.2 ,加入指示液,分装于含倒管的小试管中,每管 3ml,灭菌。

18. 绿脓菌素(Pyocyanin)测定用培养基(PDP 琼脂培养基)

20.0g	甘油	10ml
1.4g	琼脂	14.0g
10.0g	水	1000ml

取琼脂、氯化镁、硫酸钾和水混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.3 ± 0.1 ,加入甘油及琼脂,加热溶化,混匀,分装于试管,灭菌,置成斜面。

19. 梭菌增菌培养基

10.0g	盐酸半胱氨酸	0.5g
10.0g	氯化钠	5.0g
3.0g	醋酸钠	3.0g
1.0g	琼脂	0.5g
5.0g	水	1000ml

取上述成分,混合,加热煮沸使溶解,调节 pH 值使灭菌后为 6.8 ± 0.2 ,加热溶化,滤过,分装,灭菌。

20. 哥伦比亚琼脂培养基

10.0g	肉胃酶消化物	5.0g
3.0g	酵母浸出粉	5.0g
1.0g	氯化钠	5.0g
15.0g	水	1000ml

除琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值使灭菌后为 7.3 ± 0.2 ,加入琼脂,加热溶化,滤过,分装,灭菌,冷至 $45 \sim 50^{\circ}\text{C}$,加入相当于 20mg 庆大霉素的无菌硫酸庆大霉素,混匀,倾注平皿。

21. 沙氏葡萄糖液体培养基

10g	葡萄糖	40g
1000ml		

除葡萄糖外,取上述成分,混合,微温溶解,滤过,加入葡萄糖,溶解,分装,灭菌。

22. 沙氏葡萄糖琼脂培养基

10g	水	1000ml
40g	琼脂	14g

除琼脂和葡萄糖外,混合,微温溶解,滤过。加入琼脂和葡萄糖,溶解,分装,灭菌。

23. (科玛嘉)念珠菌显色培养基^①

10.2g	琼脂	15g
0.5g	灭菌水	1000ml
22.0g		

除琼脂外,取上述成分,混合,微温溶解,调节 pH 值至

^① 本检查法中白色念珠菌检查所描述该菌在念珠菌显色培养基上的菌落特征,是指该菌在法国科玛嘉公司提供的科玛嘉念珠菌显色培养基上生长的菌落特征。给出这一信息是为了方便本方法的使用者,并不表示对该公司产品的认可。若其他等效产品具有相同的效果,那么也可以使用其他等效的产品。

附录 XIII D 细菌内毒素检查法

6.3±0.2。滤过,加入琼脂,加热煮沸,不断搅拌至琼脂完全溶解,倾注平皿。

24.1%聚山梨酯 80-玉米琼脂培养基

黄色玉米粉	40g	琼脂	10~15g
聚山梨酯 80	10ml	水	1000ml

取玉米粉、聚山梨酯 80 及蒸馏水 500ml,混合,60℃ 加热 30 分钟,混匀,用纱布滤过,补足原水量。取琼脂,水 500ml,混合,加热溶解。将以上两种溶液混合,摇匀,分装,灭菌。

微生物限度标准

非无菌药品的微生物限度标准是基于药品的给药途径和对患者健康潜在的危害以及中药的特殊性而制订的。药品的生产、贮存、销售过程中的检验,中药提取物及辅料的检验,新药标准制订,进口药品标准复核,考察药品质量及仲裁等,除另有规定外,其微生物限度均以本标准为依据。

1. 制剂通则、品种项下要求无菌的制剂及标示无菌的制剂应符合无菌检查法规定。

2. 口服给药制剂

2.1 不含药材原粉的制剂

细菌数 每 1g 不得过 1000cfu。每 1ml 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g 或 1ml 不得过 100cfu。

大肠埃希菌 每 1g 或 1ml 不得检出。

2.2 含药材原粉的制剂

细菌数 每 1g 不得过 10 000cfu(丸剂每 1g 不得过 30 000cfu)。每 1ml 不得过 500cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g 或 1ml 不得过 100cfu。

大肠埃希菌 每 1g 或 1ml 不得检出。

大肠菌群 每 1g 应小于 100 个。每 1ml 应小于 10 个。

2.3 含豆豉、神曲等发酵原粉的制剂

细菌数 每 1g 不得过 100 000cfu。每 1ml 不得过 1000cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g 不得过 500cfu。每 1ml 不得过 100cfu。

大肠埃希菌 每 1g 或 1ml 不得检出。

大肠菌群 每 1g 应小于 100 个。每 1ml 应小于 10 个。

3. 局部给药制剂

3.1 用于手术、烧伤或严重创伤的局部给药制剂应符合无菌检查法规定。

3.2 用于表皮或黏膜不完整的含药材原粉的局部给药制剂

细菌数 每 1g 或 10cm² 不得过 1000cfu。每 1ml 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌 每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

3.3 用于表皮或黏膜完整的含药材原粉的局部给药制剂

附录 88

细菌数 每 1g 或 10cm² 不得过 10 000cfu。每 1ml 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌 每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

3.4 耳、鼻及呼吸道吸入给药制剂

细菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 10cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌 每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

大肠埃希菌 鼻及呼吸道给药的制剂,每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

3.5 阴道、尿道给药制剂

细菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 应小于 10cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、梭菌、白色念珠菌 每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

3.6 直肠给药制剂

细菌数 每 1g 不得过 1000cfu。每 1ml 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g 或 1ml 不得过 100cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌 每 1g 或 1ml 不得检出。

3.7 其他局部给药制剂

细菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

霉菌和酵母菌数 每 1g、1ml 或 10cm² 不得过 100cfu。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌 每 1g、1ml 或 10cm² 不得检出。

4. 含动物组织(包括脏器提取物)及动物类原药材粉(蜂蜜、王浆、动物角、阿胶除外)的口服给药制剂 每 10g 或 10ml 还不得检出沙门菌。

5. 有兼用途的制剂 应符合各给药途径的标准。

6. 霉变、长螨者 以不合格论。

7. 中药提取物及辅料 参照相应制剂的微生物限度标准执行。

附录 XIII D 细菌内毒素检查法

本法系利用鲎试剂来检测或量化由革兰阴性菌产生的细菌内毒素,以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定的一种方法。

细菌内毒素检查包括两种方法,即凝胶法和光度测定法,后者包括浊度法和显色基质法。供试品检测时,可使用其中任何一种方法进行试验。当测定结果有争议时,除另有规定外,以凝胶法结果为准。

本试验操作过程应防止微生物和内毒素的污染。

细菌内毒素的量用内毒素单位(EU)表示,1EU 与 1 个内毒素国际单位(IU)相当。

细菌内毒素国家标准品系自大肠埃希菌提取精制而成,用于标定、复核、仲裁鲎试剂灵敏度和标定细菌内毒素工作标准品的效价。

细菌内毒素工作标准品系以细菌内毒素国家标准品为基础标定其效价,用于试验中的鲎试剂灵敏度复核、干扰试验及各种阳性对照。

细菌内毒素检查用水系指内毒素含量小于 0.015 EU/ml (用于凝胶法) 或 0.005 EU/ml (用于光度测定法) 且对内毒素试验无干扰作用的灭菌注射用水。

试验所用的器皿需经处理,以去除可能存在的外源性内毒素。耐热器皿常用干热灭菌法(250℃、30 分钟以上)去除,也可采用其他确证不干扰细菌内毒素检查的适宜方法。若使用塑料器械,如微孔板和与微量加样器配套的吸头等,应选用标明无内毒素并且对试验无干扰的器械。

供试品溶液的制备 某些供试品需进行复溶、稀释或在水性溶液中浸提制成供试品溶液。一般要求供试品溶液的 pH 值在 6.0~8.0 的范围内。对于过酸、过碱或本身有缓冲能力的供试品,需调节被测溶液(或其稀释液)的 pH 值,可使用酸、碱溶液或适宜的缓冲液调节 pH 值。酸或碱溶液须用细菌内毒素检查用水在已去除内毒素的容器中配制。缓冲液必须经过验证不含内毒素和干扰因子。

内毒素限值的确定 药品、生物制品的细菌内毒素限值(L)一般按以下公式确定:

$$L = K/M$$

式中 L 为供试品的细菌内毒素限值,一般以 EU/ml、EU/mg 或 EU/U(活性单位)表示;

K 为人每千克体重每小时最大可接受的内毒素剂量,以 EU/(kg·h) 表示,注射剂 $K = 5 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,放射性药品注射剂 $K = 2.5 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,鞘内用注射剂 $K = 0.2 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$;

M 为人用每千克体重每小时的最高供试品剂量,以 ml/(kg·h)、mg/(kg·h) 或 U/(kg·h) 表示,人均体重按 60kg 计算,人体表面积按 1.62 m^2 计算。注射时间若不足 1 小时,按 1 小时计算。供试品每平方米体表面积剂量乘以 0.027 即可转换为每千克体重剂量(M)。

按人用剂量计算限时,如遇特殊情况,可根据生产和临床用药实际情况做必要调整,但需说明理由。

确定最大有效稀释倍数(MVD) 最大有效稀释倍数是指在试验中供试品溶液被允许达到稀释的最大倍数(1→MVD),在不超过此稀释倍数的浓度下进行内毒素限值的检测。用以下公式来确定 MVD:

$$\text{MVD} = cL/\lambda$$

式中 L 为供试品的细菌内毒素限值;

c 为供试品溶液的浓度,当 L 以 EU/ml 表示时,则 c 等于 1.0 ml/ml,当 L 以 EU/mg 或 EU/U 表示时, c 的单位需为 mg/ml 或 U/ml。如供试品为注射用无菌

粉末或原料药,则 MVD 取 1,可计算供试品的最小有效稀释浓度 $c = \lambda/L$;

λ 为在凝胶法中鲎试剂的标示灵敏度(EU/ml),或是在光度测定法中所使用的标准曲线上最低的内毒素浓度。

方法 1 凝胶法

凝胶法系通过鲎试剂与内毒素产生凝集反应的原理来检测或半定量内毒素的方法。

鲎试剂灵敏度复核试验 在本检查法规定的条件下,使鲎试剂产生凝集的内毒素的最低浓度即为鲎试剂的标示灵敏度,用 EU/ml 表示。当使用新批号的鲎试剂或试验条件发生了任何可能影响检验结果的改变时,应进行鲎试剂灵敏度复核试验。

根据鲎试剂灵敏度的标示值(λ),将细菌内毒素国家标准品或细菌内毒素工作标准品用细菌内毒素检查用水溶解,在旋涡混合器上混匀 15 分钟,然后制成 2λ 、 0.5λ 和 0.25λ 四个浓度的内毒素标准溶液,每稀释一步均应在旋涡混合器上混匀 30 秒钟。取分装有 0.1 ml 鲎试剂溶液的 10 mm × 75 mm 试管或复溶后的 0.1 ml/支规格的鲎试剂原安瓿 18 支,其中 16 管分别加入 0.1 ml 不同浓度的内毒素标准溶液,每一个内毒素浓度平行做 4 管;另外 2 管加入 0.1 ml 细菌内毒素检查用水作为阴性对照。将试管中溶液轻轻混匀后,封闭管口,垂直放入 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温器中,保温 60 分钟 ± 2 分钟。

将试管从恒温器中轻轻取出,缓缓倒转 180° ,若管内形成凝胶,并且凝胶不变形、不从管壁滑脱者为阳性;未形成凝胶或形成的凝胶不坚实、变形并从管壁滑脱者为阴性。保温和拿取试管过程应避免受到振动造成假阴性结果。

当最大浓度 2λ 管均为阳性,最低浓度 0.25λ 管均为阴性,阴性对照管为阴性,试验方为有效。按下式计算反应终点浓度的几何平均值,即为鲎试剂灵敏度的测定值(λ_c)。

$$\lambda_c = \text{antilg}(\sum X/4)$$

式中 X 为反应终点浓度的对数值(lg)。反应终点浓度是指系列递减的内毒素浓度中最后一个呈阳性结果的浓度。

当 λ_c 在 $0.5\lambda \sim 2\lambda$ (包括 0.5λ 和 2λ) 时,方可用于细菌内毒素检查,并以标示灵敏度 λ 为该批鲎试剂的灵敏度。

干扰试验 按表 1 制备溶液 A、B、C 和 D,使用的供试品溶液应为未检出内毒素且不超过最大有效稀释倍数(MVD)的溶液,按鲎试剂灵敏度复核试验项下操作。

只有当溶液 A 和阴性对照溶液 D 的所有平行管都为阴性,并且系列溶液 C 的结果在鲎试剂灵敏度复核范围内时,试验方为有效。按下式计算系列溶液 C 和 B 的反应终点浓度的几何平均值(E_c 和 E_b)。

$$E_c = \text{antilg}(\sum X_c/4)$$

$$E_b = \text{antilg}(\sum X_b/4)$$

式中 X_c 、 X_b 分别为系列溶液 C 和溶液 B 的反应终点浓度的对数值(lg)。

当 E_1 在 $0.5\lambda \sim 2\lambda$ (包括 0.5λ 和 2λ) 及 E_2 在 $0.5E_1 \sim 2E_1$ (包括 $0.5E_1$ 和 $2E_1$) 时,认为供试品在该浓度下无干扰作用。若供试品溶液在小于 MVD 的稀释倍数下对试验有干扰,应将供试品溶液进行不超过 MVD 的进一步稀释,再重复干扰试验。

表 1 凝胶法干扰试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/被加入内毒素的溶液	稀释用液	稀释倍数	所含内毒素的浓度	平行管数
A	无/供试品溶液	—	—	—	2
B	2λ/供试品溶液	供试品溶液	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	0.5λ	4
			8	0.25λ	4
C	2λ/检查用水	检查用水	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	0.5λ	4
			8	0.25λ	4
D	无/检查用水	—	—	—	2

注: A 为供试品溶液; B 为干扰试验系列; C 为鲎试剂标示灵敏度的对照系列; D 为阴性对照。

可通过对供试品进行更大倍数的稀释或通过其他适宜的方法(如过滤、中和、透析或加热处理等)排除干扰。为确保所选择的处理方法能有效地排除干扰且不会使内毒素失去活性,要使用预先添加了标准内毒素再经过处理的供试品溶液进行干扰试验。

当进行新药的内毒素检查试验前,或无内毒素检查项的品种建立内毒素检查法时,须进行干扰试验。

当鲎试剂、供试品的处方、生产工艺改变或试验环境中发生了任何有可能影响试验结果的变化时,须重新进行干扰试验。

检查法

(1) 凝胶限度试验

按表 2 制备溶液 A、B、C 和 D。使用稀释倍数为 MVD 并且已经排除干扰的供试品溶液来制备溶液 A 和 B。按鲎试剂灵敏度复核试验项下操作。

表 2 凝胶限度试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/被加入内毒素的溶液	平行管数
A	无/供试品溶液	2
B	2λ/供试品溶液	2
C	2λ/检查用水	2
D	无/检查用水	2

注: A 为供试品溶液; B 为供试品阳性对照; C 为阳性对照; D 为阴性对照。

结果判断 保温 60 分钟 ± 2 分钟后观察结果。若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性,供试品阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性,阳性对照溶液 C 的平行管均为阳性,试验有效。

若溶液 A 的两个平行管均为阴性,判定供试品符合规定;若溶液 A 的两个平行管均为阳性,判定供试品不符合规定。若溶液 A 的两个平行管中的一管为阳性,另一管为阴性,需进行复试。复试时,溶液 A 需做 4 支平行管,若所有平行管均为阴性,判定供试品符合规定;否则判定供试品不符合规定。

(2) 凝胶半定量试验

本方法系通过确定反应终点浓度来量化供试品中内毒素的含量。按表 3 制备溶液 A、B、C 和 D。按鲎试剂灵敏度复核试验项下操作。

表 3 凝胶半定量试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/被加入内毒素的溶液	稀释用液	稀释倍数	所含内毒素的浓度	平行管数
A	无/供试品溶液	检查用水	1	—	2
			2	—	2
			4	—	2
			8	—	2
B	2λ/供试品溶液	—	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
C	2λ/检查用水	检查用水	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
D	无/检查用水	—	—	—	2

注: A 为不超过 MVD 并且通过干扰试验的供试品溶液。从通过干扰试验的稀释倍数开始用检查用水稀释至 1 倍、2 倍、4 倍和 8 倍,最后的稀释倍数不得超过 MVD。

B 为含 2λ 浓度标准内毒素的溶液 A (供试品阳性对照)。

C 为鲎试剂标示灵敏度的对照系列。

D 为阴性对照。

结果判断 若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性,供试品阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性,系列溶液 C 的反应终点浓度的几何平均值在 $0.5\lambda \sim 2\lambda$ 之间,试验有效。

系列溶液 A 中每一系列平行管的终点稀释倍数乘以 λ,为每个系列的反应终点浓度,所有平行管反应终点浓度的几何平均值即为供试品溶液的内毒素浓度 [按公式 $c_E = \text{antilg}(\sum X/2)$]。如果检验时采用的是供试品的稀释液,则计算原始溶液内毒素浓度时要将结果乘以稀释倍数。

如试验中供试品溶液的所有平行管均为阴性,应记为内毒素浓度小于 λ (如果检验的是稀释过的供试品,则记为小于 λ 乘以供试品进行半定量试验的初始稀释倍数)。如果供试品溶液的所有平行管均为阳性,应记为内毒素的浓度大于或等于最大的稀释倍数。

若内毒素浓度小于规定的限值,判供试品符合规定。若内毒素浓度大于或等于规定的限值,判供试品不符合规定。

方法2 光度测定法

光度测定法分为浊度法和显色基质法。

浊度法系利用检测试剂与内毒素反应过程中的浊度变化而测定内毒素含量的方法。根据检测原理,可分为终点浊度法和动态浊度法。终点浊度法是依据反应混合物中的内毒素浓度和其在孵育终止时的浊度(吸光度或透光率)之间存在量化关系来测定内毒素含量的方法。动态浊度法是检测反应混合物的浊度到达某一预先设定的吸光度所需要的反应时间,或是检测浊度增加速度的方法。

显色基质法系利用检测试剂与内毒素反应过程中产生的凝固酶使特定底物释放出呈色团的多少而测定内毒素含量的方法。根据检测原理,分为终点显色法和动态显色法。终点显色法是依据反应混合物中内毒素浓度和其在孵育终止时释放出的呈色团的量之间存在的量化关系来测定内毒素含量的方法。动态显色法是检测反应混合物的色度达到某一预先设定的吸光度所需要的反应时间,或检测色度增长速度的方法。

光度测定试验需在特定的仪器中进行,温度一般为 $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

供试品和试剂的加样量、供试品和试剂的比例以及保温时间等,参照所用仪器和试剂的有关说明进行。

为保证浊度和显色试验的有效性,应预先进行标准曲线的可靠性试验以及供试品的干扰试验。

标准曲线的可靠性试验 当使用新批号的试剂或试验条件有任何可能会影响检验结果的改变时,需进行标准曲线的可靠性试验。

用标准内毒素制成溶液,制成至少3个浓度的稀释液(相邻浓度间稀释倍数不得大于10),最低浓度不得低于所用试剂的标示检测限。每一稀释步骤的混匀时间同凝胶法,每一浓度至少做3支平行管。同时要求做2支阴性对照。当阴性对照的反应时间大于标准曲线最低浓度的反应时间,将全部数据进行线性回归分析。

根据线性回归分析,标准曲线的相关系数(r)的绝对值应大于或等于0.980,试验方为有效。否则须重新试验。

干扰试验 选择标准曲线中点或一个靠近中点的内毒素浓度(设为 λ_m),作为供试品干扰试验中添加的内毒素浓度。按表4制备溶液A、B、C和D。

按所得线性回归方程分别计算出供试品溶液和含标准内毒素的供试品溶液的内毒素含量 c_i 和 c_s ,再按下式计算该试验条件下的回收率(R)。

$$R = (c_s - c_i) / \lambda_m \times 100\%$$

当内毒素的回收率在50%~200%之间,则认为在此试验条件下供试品溶液不存在干扰作用。

当内毒素的回收率不在指定的范围内,须按“凝胶法干扰试验”中的方法去除干扰因素。并重复干扰试验来验证处理的有效性。

表4 光度测定法干扰试验溶液的制备

编号	内毒素浓度	被加入内毒素的溶液	平行管数
A	无	供试品溶液	至少2
B	标准曲线的中点(或附近点)的浓度(设为 λ_m)	供试品溶液	至少2
C	至少3个浓度(最低一点设定为 λ)	检查用水	每一浓度至少2
D	无	检查用水	至少2

注: A为稀释倍数不超过MVD的供试品溶液。

B为加入了标准曲线中点或靠近中点的一个已知内毒素浓度的,且与溶液A有相同稀释倍数的供试品溶液。

C为如“标准曲线的可靠性试验”项下描述的,用于制备标准曲线的标准内毒素溶液。

D为阴性对照。

当试剂、供试品的来源、处方、生产工艺改变或试验环境中发生了任何有可能影响试验结果的变化时,须重新进行干扰试验。

检查法

按“光度测定法的干扰试验”中的操作步骤进行检测。

使用系列溶液C生成的标准曲线来计算溶液A的每一个平行管的内毒素浓度。

试验必须符合以下三个条件方为有效:

(1)系列溶液C的结果要符合“标准曲线的可靠性试验”中的要求;

(2)用溶液B中的内毒素浓度减去溶液A中的内毒素浓度后,计算出的内毒素的回收率要在50%~200%的范围内;

(3)溶液D的反应时间应大于标准曲线最低浓度的反应时间。

结果判断 若供试品溶液所有平行管的平均内毒素浓度乘以稀释倍数后,小于规定的内毒素限值,判定供试品符合规定。若大于或等于规定的内毒素限值,判定供试品不符合规定。

注:本检查法中,“管”的意思包括其他任何反应容器,如微孔板中的孔。

附录 XIII E 异常毒性检查法

本法系给予小鼠一定剂量的供试品溶液,在规定时间内观察小鼠出现的死亡情况,以判断供试品是否符合规定的一种方法。

供试用的小鼠应健康合格,体重17~20g,在试验前及试验的观察期内,均应按正常饲养条件饲养。做过本试验的小鼠不得重复使用。

供试品溶液的制备 除另有规定外,用氯化钠注射液按各品种项下规定的浓度制成供试品溶液。

检查法 除另有规定外,取上述小鼠5只,按各品种项下

附录 XIII F 降压物质检查法

规定的给药途径,每只小鼠分别给予供试品溶液 0.5ml。给药途径分为以下几种:

静脉注射 将供试品溶液注入小鼠尾静脉,应在 4~5 秒内匀速注射完毕。规定缓慢注射的品种可延长至 30 秒。

腹腔注射 将供试品溶液注入小鼠腹腔。

皮下注射 将供试品溶液注入小鼠腹部或背部两侧皮下。

口服给药 将供试品溶液通过适宜的导管,灌入小鼠胃中。

结果判断 除另有规定外,全部小鼠在给药后 48 小时内不得有死亡;如有死亡时,应另取体重 18~19g 的小鼠 10 只复试,全部小鼠在 48 小时内不得有死亡。

附录 XIII F 降压物质检查法

本法系比较组胺对照品(S)与供试品(T)引起麻醉猫血压下降的程度,以判定供试品中所含降压物质的限度是否符合规定。

对照品溶液的制备 精密称取磷酸组胺对照品适量,按组胺计算,加水溶解使成每 1ml 中含 1.0mg 的溶液,分装于适宜的容器内,4~8℃贮存,经验证保持活性符合要求的条件下,可在 3 个月内使用。

对照品稀释液的制备 临用前,精密量取组胺对照品溶液适量,用氯化钠注射液配成每 1ml 中含组胺 0.5μg 的溶液。

供试品溶液的制备 按品种项下规定的限值,且供试品溶液与标准品稀释液的注入体积应相等的要求,制成适当浓度的供试品溶液。

检查法 取健康合格、体重 2kg 以上的猫,雌者应无孕,用适宜的麻醉剂(如巴比妥类)麻醉后,固定于保温手术台上,分离气管,必要时插入插管以使呼吸畅通,或可进行人工呼吸。在一侧颈动脉插入连接测压计的动脉套管,管内充满适宜的抗凝剂溶液,以记录血压,也可用其他适当仪器记录血压。在一侧股静脉内插入静脉插管,供注射药液用。试验中应注意保持动物体温。全部手术完毕后,将测压计调节到与动物血压相当的高度(一般为 13.3~20.0kPa),开启动脉夹,待血压稳定后,方可进行药液注射。各次注射速度应基本相同,每次注射后立即注入一定量的氯化钠注射液。每次注射应在前一次反应恢复稳定以后进行,且相邻两次注射的间隔时间应尽量保持一致。

自静脉依次注入上述对照品稀释液,剂量按动物体重每 1kg 注射组胺 0.05μg、0.1μg 及 0.15μg,重复 2~3 次,如 0.1μg 剂量所致的血压下降值均不小于 2.67kPa,同时相应各剂量所致反应的平均值有差别,可认为该动物的灵敏度符合要求。

取对照品稀释液按动物体重每 1kg 注射组胺 0.1μg 的剂量(d_s),供试品溶液按品种项下规定的剂量(d_T),照下列次序注射一组 4 个剂量: d_s 、 d_T 、 d_T 、 d_s 。然后以第一与第三、第二与第四剂量所致的反应分别比较;如 d_T 所致的反应值均不大于 d_s 所致反应值的一半,则判定供试品的降压物质检查符合规定。否则应按上述次序继续注射一组 4 个剂量,并按相同方法分别比较两组内各对 d_s 、 d_T 剂量所致的反应值;如 d_T 所致

附录 92

的反应值均不大于 d_s 所致的反应值,则判定供试品的降压物质检查符合规定;如 d_T 所致的反应值均大于 d_s 所致的反应值,则判定供试品的降压物质检查不符合规定;否则应另取动物复试。如复试的结果仍有 d_T 所致的反应值大于 d_s 所致的反应值,则判定供试品的降压物质检查不符合规定。

所用动物经灵敏度检查如仍符合要求,可继续用于降压物质检查。

附录 XIII G 过敏反应检查法

本法系将一定量的供试品溶液注入豚鼠体内,间隔一定时间后静脉注射供试品溶液进行激发,观察动物出现过敏反应的情况,以判定供试品是否引起动物全身过敏反应。

供试用的豚鼠应健康合格,体重 250~350g,雌鼠应无孕。在试验前和试验过程中,均应按正常饲养条件饲养。做过本试验的豚鼠不得重复使用。

供试品溶液的制备 除另有规定外,按品种项下规定的浓度制备供试品溶液。

检查法 除另有规定外,取上述豚鼠 6 只,隔日每只每次腹腔或适宜的途径注射供试品溶液 0.5ml,共 3 次,进行致敏。每日观察每只动物的行为和体征,首次致敏和激发前称量并记录每只动物的体重。然后将其均分为 2 组,每组 3 只,分别在首次注射后第 14 日和第 21 日,由静脉注射供试品溶液 1ml 进行激发。观察激发后 30 分钟内动物有无过敏反应症状。

结果判断 静脉注射供试品溶液 30 分钟内,不得出现过敏反应。如在同一只动物上出现竖毛、发抖、干呕、连续喷嚏 3 声、连续咳嗽 3 声、紫癜和呼吸困难等现象中的 2 种或 2 种以上,或出现二便失禁、步态不稳或倒地、抽搐、休克、死亡现象之一者,判定供试品不符合规定。

附录 XIII H 溶血与凝聚检查法

本法系将一定量供试品与 2% 的家兔红细胞混悬液混合,温育一定时间后,观察其对红细胞状态是否产生影响的一种方法。

2% 红细胞混悬液的制备 取健康家兔血液,放入含玻璃珠的锥形瓶中振摇 10 分钟,或用玻璃棒搅动血液,以除去纤维蛋白原,使成脱纤血液。加入 0.9% 氯化钠溶液约 10 倍量,摇匀,每分钟 1000~1500 转离心 15 分钟,除去上清液,沉淀的红细胞再用 0.9% 氯化钠溶液按上述方法洗涤 2~3 次,至上清液不显红色为止。将所得红细胞用 0.9% 氯化钠溶液制成 2% 的混悬液,供试验用。

供试品溶液的制备 除另有规定外,按品种项下规定的浓度制成供试品溶液。

检查法 取洁净玻璃试管 5 只,编号,1、2 号管为供试品管,3 号管为阴性对照管,4 号管为阳性对照管,5 号管为供试

品对照管。按下表所示依次加入 2% 红细胞悬液、0.9% 氯化钠溶液、蒸馏水，混匀后，立即置 37℃ ± 0.5℃ 的恒温箱中进行温育。3 小时后观察溶血和凝集反应。

试管编号	1、2	3	4	5
2% 红细胞悬液/ml	2.5	2.5	2.5	
0.9% 氯化钠溶液/ml	2.2	2.5		4.7
蒸馏水/ml			2.5	
供试品溶液/ml	0.3			0.3

如试管中的溶液呈澄明红色，管底无细胞残留或有少量

红细胞残留，表明有溶血发生；如红细胞全部下沉，上清液无色澄明，或上清液虽有色澄明，但 1、2 号管和 5 号管肉眼观察无明显差异，则表明无溶血发生。

若溶液中有棕红色或红棕色絮状沉淀，轻轻倒转 3 次仍不分散，表明可能有红细胞凝集发生，应进一步置显微镜下观察，如可见红细胞聚集为凝集。

结果判断 当阴性对照管无溶血和凝集发生，阳性对照管有溶血发生，若供试品管中的溶液在 3 小时内不发生溶血和凝集，判定供试品符合规定；若供试品管的溶液在 3 小时内发生溶血和（或）凝集，判定供试品不符合规定。

附录 XIV

制药用水

水是药物生产中用量大、使用广的一种辅料，用于生产过程及药物制剂的制备。

本版药典中所收载的制药用水，因其使用的范围不同而分为饮用水、纯化水、注射用水及灭菌注射用水。一般应根据各生产工序或使用目的与要求选用适宜的制药用水。药品生产企业应确保制药用水的质量符合预期用途的要求。

制药用水的原水通常为饮用水。

制药用水的制备从系统设计、材质选择、制备过程、贮存、分配和使用均应符合药品生产质量管理规范的要求。

制水系统应经过验证，并建立日常监控、检测和报告制度，有完善的原始记录备查。制药用水系统应定期进行清洗与消毒，消毒可以采用热处理或化学处理等方法。采用的消毒方法以及化学处理后消毒剂的去除应经过验证。

饮用水 为天然水经净化处理所得的水，其质量必须符合现行中华人民共和国国家标准《生活饮用水卫生标准》。饮用水可作为药材净制时的漂洗、制药用具的粗洗用水。除另有规定外，也可作为饮片的提取溶剂。

纯化水 为饮用水经蒸馏法、离子交换法、反渗透法或其他适宜的方法制备的制药用水。不含任何附加剂，其质量应符合二部纯化水项下的规定。

纯化水可作为配制普通药物制剂用的溶剂或试验用水；

可作为中药注射剂、滴眼剂等灭菌制剂所用饮片的提取溶剂；口服、外用制剂配制用溶剂或稀释剂；非灭菌制剂用器具的精洗用水。也用作非灭菌制剂所用饮片的提取溶剂。纯化水不得用于注射剂的配制与稀释。

纯化水有多种制备方法，应严格监测各生产环节，防止微生物污染，确保使用点的水质。

注射用水 为纯化水经蒸馏所得的水，应符合细菌内毒素试验要求。注射用水必须在防止细菌内毒素产生的设计条件下生产、贮藏及分装。其质量应符合二部注射用水项下的规定。

注射用水可作为配制注射剂、滴眼剂等溶剂或稀释剂及容器的精洗。

为保证注射用水的质量，应减少原水中的细菌内毒素，监控蒸馏法制备注射用水的各生产环节，并防止微生物的污染。应定期清洗与消毒注射用水系统。注射用水的储存方式和静态储存期限应经过验证确保水质符合质量要求，例如可以在 80℃ 以上保温或 70℃ 以上保温循环或 4℃ 以下的状态下存放。

灭菌注射用水 为注射用水按照注射剂生产工艺制备所得。不含任何添加剂。主要用于注射用灭菌粉末的溶剂或注射剂的稀释剂。其质量应符合二部灭菌注射用水项下的规定。

灭菌注射用水灌装规格应适应临床需要，避免大规格、多次使用造成的污染。

附录 XV

附录 XV A 试药

试药系指在本版药典中供各项试验用的试剂，但不包括各种色谱用的吸附剂、载体与填充剂。除生化试剂与指示剂外，一般常用的化学试剂分为基准试剂、优级纯、分析纯与化

学纯四个等级，选用时可参考下列原则：

- (1) 标定滴定液用基准试剂；
- (2) 制备滴定液可采用分析纯或化学纯试剂，但不经标定直接按称重计算浓度者，则应采用基准试剂；
- (3) 制备杂质限度检查用的标准溶液，采用优级纯或分析纯试剂；

(4) 制备试液、缓冲液等可采用分析纯或化学纯试剂。

一水合碳酸钠 Sodium Carbonate Monohydrate

$[\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} = 124.00]$

本品为白色斜方晶体；有引湿性，加热至 100°C 失水。在水中易溶，在乙醇中不溶。

一氧化铅 Lead Monoxide

$[\text{PbO} = 223.20]$

本品为黄色至橙黄色粉末或结晶；加热至 $300 \sim 500^\circ\text{C}$ 时变为四氧化三铅，温度再升高时又变为一氧化铅。在热的氢氧化钠溶液、醋酸或稀硝酸中溶解。

一氯化碘 Iodine Monochloride

$[\text{ICl} = 162.36]$

本品为棕红色油状液体或暗红色结晶；具强烈刺激性，有氯和碘的臭，有腐蚀性和氧化性。

乙二胺四醋酸二钠 Disodium Edetate

$[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 372.24]$

本品为白色结晶性粉末。在水中溶解，在乙醇中极微溶解。

乙腈 Acetonitrile

$[\text{CH}_3\text{CN} = 41.05]$

本品为无色透明液体；微有醚样臭；易燃。与水或乙醇能任意混合。

乙酰丙酮 Acetylacetone

$[\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COCH}_3 = 100.12]$

本品为无色或淡黄色液体；微有丙酮和醋酸的臭；易燃。与水、乙醇、乙醚或三氯甲烷能任意混合。

乙酰氯 Acetyl Chloride

$[\text{CH}_3\text{COCl} = 78.50]$

本品为无色液体；有刺激性臭；能发烟，易燃；对皮肤及黏膜有强烈刺激性；遇水或乙醇引起剧烈分解。在三氯甲烷、乙醚、苯、石油醚或冰醋酸中溶解。

乙酸乙酯 Ethyl Acetate

$[\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5 = 88.11]$

本品为无色透明液体。与丙酮、三氯甲烷或乙醚能任意混合，在水中溶解。

乙酸丁酯 Butyl Acetate

$[\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 = 116.16]$

本品为无色透明液体，与乙醇或乙醚能任意混合，在水中不溶。

乙醇 Ethanol

$[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 46.07]$

本品为无色透明液体；易挥发，易燃。与水、乙醚或苯等能任意混合。

乙醚 Ether

$[\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5 = 74.12]$

本品为无色透明液体；具有麻而甜湿的刺激味，易挥发，易燃；有麻醉性；遇光或久置空气中可被氧化成过氧化物。沸点为 34.6°C 。

附录 94

二乙胺 Diethylamine

$[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NH} = 73.14]$

本品为无色液体；有氨样特臭；强碱性；具腐蚀性；易挥发，易燃。与水或乙醇能任意混合。

二乙基二硫代氨基甲酸银 Silver Diethyldithiocarbamate

$[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}_2\text{Ag} = 256.14]$

本品为淡黄色结晶。在吡啶中易溶，在三氯甲烷中溶解，在水、乙醇、丙酮或苯中不溶。

二甲苯 Xylene

$[\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2 = 106.17]$

本品为无色透明液体；为邻、间、对三种异构体的混合物，具特臭；易燃。与乙醇、三氯甲烷或乙醚能任意混合，在水中不溶。沸程为 $137 \sim 140^\circ\text{C}$ 。

二甲苯蓝 FF Xylene Cyanol Blue FF

$[\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{S}_2 = 538.62]$

本品为棕色或蓝黑色粉末。在乙醇中易溶，在水中溶解。

二甲酚橙 Xylenol Orange

$[\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{Na}_4\text{O}_{12}\text{S} = 760.59]$

本品为红棕色结晶性粉末；易潮解。在水中易溶，在乙醇中不溶。

二甲基甲酰胺 Dimethylformamide

$[\text{HCON}(\text{CH}_3)_2 = 73.09]$

本品为无色液体；微有氨臭。与水、乙醇、三氯甲烷或乙醚能任意混合。

二苯胺 Diphenylamine

$[(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH} = 169.23]$

本品为白色结晶；有芳香臭；遇光逐渐变色。在乙醚、苯、冰醋酸或二硫化碳中溶解，在水中不溶。

二苯胺磺酸钠 Sodium Diphenylamine Sulfonate

$[\text{C}_6\text{H}_5\text{NHC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na} = 271.27]$

本品为无色或白色结晶性粉末。在水或热乙醇中溶解，在醚、苯、甲苯或二硫化碳中不溶。

二苯脒 Diphenylcarbazine

$[(\text{C}_6\text{H}_5\text{NHNH})_2\text{CO} = 242.28]$

本品为白色结晶性粉末；在空气中渐变红色。在热乙醇、丙酮或冰醋酸中溶解，在水中极微溶解。

二氧化硅 Silicon Dioxide

$[\text{SiO}_2 = 60.08]$

本品为无色透明结晶或无定形粉末。在过量氢氟酸中溶解，在水或酸中几乎不溶。

二氧化锰 Manganese Dioxide

$[\text{MnO}_2 = 86.94]$

本品为黑色结晶或粉末；与有机物或其他还原性物质摩擦或共热能引起燃烧或爆炸。在水、硝酸或冷硫酸中不溶，有过氧化氢或草酸存在时，在硝酸或稀硫酸中溶解。

二氧六环 Dioxane

$[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2 = 88.11]$

本品为无色液体；有醚样特臭；易燃；易吸收氧形成过氧化物。与水或多数有机溶剂能任意混合。沸程为 $100-103^{\circ}\text{C}$ 。

3,5-二硝基苯甲酸 3,5-Dinitrobenzoic Acid

$[\text{C}_7\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_6=212.12]$

本品为白色或淡黄色结晶；能随水蒸气挥发。在乙醇或冰醋酸中易溶，在水、乙醚、苯或二硫化碳中微溶。

2,4-二硝基苯肼 2,4-Dinitrophenylhydrazine

$[\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4=198.140]$

本品为红色结晶性粉末；在酸性溶液中稳定，在碱性溶液中不稳定。在热乙醇、乙酸乙酯、苯胺或稀无机酸中溶解，在水或乙醇中微溶。

2,4-二硝基氯苯 2,4-Dinitrochlorobenzene

$[\text{C}_6\text{H}_3\text{ClN}_2\text{O}_4=202.55]$

本品为黄色结晶；速热至高温即爆炸。在热乙醇中易溶，在乙醚、苯或二硫化碳中溶解，在水中不溶。

二硫化碳 Carbon Disulfide

$[\text{CS}_2=76.14]$

本品为无色透明液体；纯品有醚臭，一般商品有恶臭；易燃，久置易分解。在乙醇或乙醚中易溶，在水中不溶。能溶解碘、溴、硫、脂肪、橡胶等。沸点为 46.5°C 。

二氯化汞 Mercuric Dichloride

$[\text{HgCl}_2=271.50]$

本品为白色结晶或结晶性粉末；常温下微量挥发；遇光分解成氯化亚汞。在水、乙醇、丙酮或乙醚中溶解。

二氯化氧锆 Zirconyl Dichloride

$[\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}=322.25]$

本品为白色结晶。在水或乙醇中易溶。

十二烷基硫酸钠 Sodium Laurylsulfate

$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}=288.38]$

本品为白色或淡黄色结晶或粉末；有特臭；在湿热空气中分解；本品为含 85% 的十二烷基硫酸钠与其他同系的烷基硫酸钠的混合物。在水中易溶，其 10% 水溶液在低温时不透明，在热乙醇中溶解。

丁酮 Butanone

$[\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5=72.11]$

本品为无色液体；易挥发，易燃；与水能共沸；对眼、鼻黏膜有强烈的刺激性。与乙醇或乙醚能任意混合。

三乙胺 Triethylamine

$[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}=101.19]$

本品为无色液体；有强烈臭。与乙醇或乙醚能任意混合，在水中微溶。沸点为 89.5°C 。

三乙醇胺 Triethanolamine

$[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3=149.19]$

本品为无色或淡黄色黏稠状液体；久置色变褐，露置空气中能吸收水分和二氧化碳；呈强碱性。与水或乙醇能任意混合。

三氧化二砷 Arsenic Trioxide

$[\text{As}_2\text{O}_3=197.84]$

本品为白色结晶性粉末；无臭，无味；徐徐加热能升华而不分解。在沸水、氢氧化钠或碳酸钠溶液中溶解，在水中微溶，在乙醇、三氯甲烷或乙醚中几乎不溶。

三氧化铬 Chromium Trioxide

$[\text{CrO}_3=99.99]$

本品为暗红色结晶；有强氧化性和腐蚀性；有引湿性；与有机物接触能引起燃烧。在水中易溶，在硫酸中溶解。

三硝基苯酚 Trinitrophenol

$[\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7=229.11]$

本品为淡黄色结晶；无臭，味苦；干燥时遇强热或撞击、摩擦易发生猛烈爆炸。在热水、乙醇或苯中溶解。

三氯化钛 Titanium Trichloride

$[\text{TiCl}_3=154.24]$

本品为暗红紫色结晶；易引湿；不稳定，干燥粉末在空气中易引火，在潮湿空气中极易反应很快解离。在醇中溶解，在醚中几乎不溶。

三氯化铁 Ferric Chloride

$[\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}=270.30]$

本品为棕黄色或橙黄色结晶形块状物；极易引湿。在水、乙醇、丙酮、乙醚或甘油中易溶。

三氯化铝 Aluminium Trichloride

$[\text{AlCl}_3=133.34]$

本品为白色或淡黄色结晶或结晶性粉末；具盐酸的特臭；在空气中发烟；遇水发热甚至爆炸；有引湿性；有腐蚀性。在水或乙醚中溶解。

三氯化锑 Antimony Trichloride

$[\text{SbCl}_3=228.11]$

本品为白色结晶；在空气中发烟；有引湿性；有腐蚀性。在乙醇、丙酮、乙醚或苯中溶解，在水中溶解并分解为不溶的氢氧化锑。

三氯化碘 Iodine Trichloride

$[\text{ICl}_3=223.26]$

本品为黄色或淡棕色结晶；有强刺激臭；在室温下能挥发，遇水易分解；有引湿性；有腐蚀性。在水、乙醇、乙醚或苯中溶解。

三氯甲烷 Chloroform

$[\text{CHCl}_3=119.38]$

本品为无色透明液体；质重；有折光性；易挥发。与乙醇、乙醚、苯或石油醚能任意混合，在水中微溶。

三氯醋酸 Trichloroacetic Acid

$[\text{CCl}_3\text{COOH}=163.39]$

本品为无色结晶；有特臭；有引湿性；有腐蚀性。水溶液呈强酸性。在乙醇或乙醚中易溶，在水中溶解。

干酪素 Casein

本品为白色无定形粉末或颗粒；无臭，无味；有引湿性。

本品为暗绿色结晶。在水或乙醇中溶解,在乙醚或甘油中微溶。

醋酸铵 Ammonium Acetate

$[\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 = 77.08]$

本品为白色颗粒或结晶,有引湿性。在水或乙醇中溶解,在丙酮中微溶。

醋酸联苯胺 Benzidine Acetate

$[\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2 = 244.29]$

本品为白色或淡黄色结晶或粉末。在水、醋酸或盐酸中溶解,在乙醇中极微溶解。

醋酸锌 Zinc Acetate

$[\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 219.51]$

本品为白色结晶。在水或沸乙醇中易溶,在乙醇中微溶。

醋酸镁 Magnesium Acetate

$[\text{Mg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 = 142.39]$

本品为白色结晶,有引湿性。在水或乙醇中易溶。

糊精 Dextrin

本品为白色或类白色的无定形粉末;无臭,味微甜。在沸水中易溶,在乙醇或乙醚中不溶。

橙黄 IV (金莲橙 OO) Orange IV (Tropaeolin OO)

$[\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S} = 375.38]$

本品为黄色粉末。在水或乙醇中溶解。

磷钨酸 Phosphotungstic Acid

$[\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 20\text{WO}_3 \cdot 28\text{H}_2\text{O} = 5283.34]$

本品为白色或淡黄色结晶。在水、乙醇或乙醚中溶解。

磷钼酸 Phosphomolybdic Acid

$[\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 20\text{MoO}_3 \cdot 51\text{H}_2\text{O} = 3939.49]$

本品为鲜黄色结晶。在水、乙醇或乙醚中溶解。

磷酸 Phosphoric Acid

$[\text{H}_3\text{PO}_4 = 98.00]$

本品为无色透明的黏稠状液体,有腐蚀性。在水中溶解。

磷酸二氢钠 Sodium Dihydrogen Phosphate

$[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 137.99]$

本品为白色结晶或颗粒。在水中易溶,在乙醇中几乎不溶。

磷酸二氢钾 Potassium Dihydrogen Phosphate

$[\text{KH}_2\text{PO}_4 = 136.09]$

本品为白色结晶或结晶性粉末。在水中溶解,在乙醇中不溶。

磷酸三钙 Calcium Orthophosphate

$[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 = 310.20]$

本品为白色无定形粉末;无味;在空气中稳定,在热水中分解。在稀盐酸或硝酸中溶解,在水、乙醇或醋酸中几乎不溶。

磷酸氢二钠 Disodium Hydrogen Phosphate

$[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O} = 358.14]$

本品为白色结晶或颗粒状粉末,易风化。在水中溶解,在

乙醇中不溶。

磷酸氢二钾 Dipotassium Hydrogen Phosphate

$[\text{K}_2\text{HPO}_4 = 174.18]$

本品为白色颗粒或结晶性粉末。在水中易溶,在乙醇中微溶。

糠醛 Furfural

$[\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2 = 96.09]$

本品为无色或淡黄色油状液体;置空气中或见光易变为棕色。与水、乙醇或乙醚能任意混合。

鞣酸 Tannic Acid

$[\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{48} = 1701.22]$

本品为淡黄色至淡棕色粉末,质疏松;有特臭;置空气中或见光逐渐变深。在水或乙醇中溶解。

麝香草酚酞 Thymolphthalein

$[\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_4 = 430.54]$

本品为白色粉末。在乙醇中溶解,在水中不溶。

麝香草酚蓝 Thymol Blue

$[\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{S} = 466.60]$

本品为棕绿色结晶性粉末。在乙醇中溶解,在水中不溶。

附录 XV B 试液

乙醇制氢氧化钾试液 可取用乙醇制氢氧化钾滴定液(0.5mol/L)。

乙醇制氨试液 取无水乙醇,加浓氨溶液使每100ml中含 NH_3 9~11g,即得。本液应置橡皮塞瓶中保存。

乙醇制硫酸试液 取硫酸57ml,加乙醇稀释至1000ml,即得。本液含 H_2SO_4 应为9.5%~10.5%。

乙醇制溴化汞试液 取溴化汞2.5g,加乙醇50ml,微热使溶解,即得。本液应置玻璃塞瓶中,在暗处保存。

二乙基二硫代氨基甲酸银试液 取二乙基二硫代氨基甲酸银0.25g,加三氯甲烷适量与三乙胺1.8ml,加三氯甲烷至100ml,搅拌使溶解,放置过夜,用脱脂棉滤过,即得。本液应置棕色玻璃瓶中,密塞,置阴凉处保存。

二硝基苯试液 取间二硝基苯2g,加乙醇使溶解成100ml,即得。

二硝基苯甲酸试液 取3,5-二硝基苯甲酸1g,加乙醇使溶解成100ml,即得。

二硝基苯胍乙醇试液 取2,4-二硝基苯胍1g,加乙醇1000ml使溶解,再缓缓加入盐酸10ml,摇匀,即得。

二硝基苯胍试液 取2,4-二硝基苯胍1.5g,加硫酸溶液(1→2)20ml,溶解后,加水使成100ml,滤过,即得。

三硝基苯酚试液 本液为三硝基苯酚的饱和水溶液。

三氯化铁试液 取三氯化铁9g,加水使溶解成100ml,即得。

三氯化铝试液 取三氯化铝1g,加乙醇使溶解成100ml,即得。

三氯化铋试液 本液为三氯化铋饱和的三氯甲烷溶液。

水合氯醛试液 取水合氯醛 50g, 加水 15ml 与甘油 10ml

使溶解, 即得。

甘油乙醇试液 取甘油、稀乙醇各 1 份, 混合, 即得。

甘油醋酸试液 取甘油、50% 醋酸与水各 1 份, 混合,

即得。

甲醛试液 取用“甲醛溶液”。

四苯硼钠试液 取四苯硼钠 0.1g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

对二甲氨基苯甲醛试液 取对二甲氨基苯甲醛 0.125g, 加无氮硫酸 65ml 与水 35ml 的冷混合液溶解后, 加三氯化铁试液 0.05ml, 摇匀, 即得。本液配制后在 7 日内应用。

亚铁氰化钾试液 取亚铁氰化钾 1g, 加水 10ml 使溶解, 即得。本液应临用新制。

亚硝基铁氰化钠试液 取亚硝基铁氰化钠 1g, 加水使溶解成 20ml, 即得。本液应临用新制。

亚硝酸钠乙醇试液 取亚硝酸钠 5g, 加 60% 乙醇使溶解成 1000ml, 即得。

亚硝酸钴钠试液 取亚硝酸钴钠 10g, 加水使溶解成 50ml, 滤过, 即得。

过氧化氢试液 取浓过氧化氢溶液 (30%), 加水稀释成 3% 的溶液, 即得。

苏丹Ⅲ试液 取苏丹Ⅲ 0.01g, 加 90% 乙醇 5ml 溶解后, 加甘油 5ml, 摇匀, 即得。本液应置棕色的玻璃瓶中保存, 在 2 个月内应用。

吡啶试液 取 α 、 β -吡啶 0.1g, 加丙酮 10ml 溶解后, 加冰醋酸 1ml, 摇匀, 即得。

钨红试液 取 10% 醋酸钠溶液 1~2ml, 加钨红适量使呈酒红色, 即得。本液应临用新制。

间苯三酚试液 取间苯三酚 0.5g, 加乙醇使溶解成 25ml, 即得。本品应置玻璃塞瓶中, 在暗处保存。

间苯三酚盐酸试液 取间苯三酚 0.1g, 加乙醇 1ml, 再加盐酸 9ml, 混匀。本液应临用新制。

茛三酮试液 取茛三酮 2g, 加乙醇使溶解成 100ml, 即得。

钼酸铵试液 取钼酸铵 0.25g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

变色酸试液 取变色酸钠 50mg, 加硫酸与水的冷混合液 (9:4) 100ml 使溶解, 即得。本液应临用新制。

草酸铵试液 取草酸铵 3.5g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

茴香醛试液 取茴香醛 0.5ml, 加醋酸 50ml 使溶解, 加硫酸 1ml, 摇匀, 即得。本液应临用新制。

钨酸钠试液 取钨酸钠 25g, 加水 72ml 溶解后, 加磷酸 2ml, 摇匀, 即得。

品红亚硫酸试液 取碱式品红 0.2g, 加热水 100ml 溶解后, 放冷加亚硫酸钠溶液 (1→10) 20ml, 盐酸 2ml, 用水稀释至

200ml, 加活性炭 0.1g, 搅拌并迅速滤过, 放置 1 小时以上, 即得。本液应临用新制。

香草醛试液 取香草醛 0.1g, 加盐酸 10ml 使溶解, 即得。

香草醛硫酸试液 取香草醛 0.2g, 加硫酸 10ml 使溶解, 即得。

氢氧化钙试液 取氢氧化钙 3g, 置玻璃瓶中, 加水 1000ml, 密塞。时时猛力振摇, 放置 1 小时, 即得。用时倾取上清液。

氢氧化钠试液 取氢氧化钠 4.3g, 加水溶解成 100ml, 即得。

氢氧化钡试液 取氢氧化钡, 加新沸过的冷水使成饱和溶液, 即得。本液应临用新制。

氢氧化钾试液 取氢氧化钾 6.5g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

重铬酸钾试液 取重铬酸钾 7.5g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

重氮对硝基苯胺试液 取对硝基苯胺 0.4g, 加稀盐酸 20ml 与水 40ml 使溶解, 冷却至 15℃, 缓缓加入 10% 亚硝酸钠溶液, 至取溶液 1 滴能使碘化钾淀粉试纸变为蓝色, 即得。本液应临用新制。

重氮苯磺酸试液 取对氨基苯磺酸 1.57g, 加水 80ml 与稀盐酸 10ml, 在水浴上加热溶解后, 放冷至 15℃, 缓缓加入亚硝酸钠溶液 (1→10) 6.5ml, 随加随搅拌, 再加水稀释至 100ml, 即得。本液应临用新制。

盐酸羟胺试液 取盐酸羟胺 3.5g, 加 60% 乙醇使溶解成 100ml, 即得。

钼硫酸试液 取钼酸铵 0.1g, 加硫酸 10ml 使溶解, 即得。

钼酸铵试液 取钼酸铵 10g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

钼酸铵硫酸试液 取钼酸铵 2.5g, 加硫酸 15ml, 加水使溶解成 100ml, 即得。本液配制后两周内应用。

铁氰化钾试液 取铁氰化钾 1g, 加水 10ml 使溶解, 即得。本液应临用新制。

氨试液 取浓氨溶液 400ml, 加水使成 1000ml, 即得。

浓氨试液 取用“浓氨溶液”。

氨制硝酸银试液 取硝酸银 1g, 加水 20ml 溶解后, 滴加氨试液, 随加随搅拌, 至初起的沉淀将近全溶, 滤过, 即得。本液应置棕色瓶中, 在暗处保存。

氨制氯化铜试液 取氯化铜 22.5g, 加水 200ml 溶解后, 加浓氨试液 100ml, 摇匀, 即得。

高锰酸钾试液 可取用高锰酸钾滴定液 (0.02mol/L)。

高氯酸试液 取 70% 高氯酸 13ml, 加水 500ml, 用 70% 高氯酸精确调至 pH0.5, 即得。

高氯酸铁试液 取 70% 高氯酸 10ml, 缓缓分次加入铁粉 0.8g, 微热使溶解, 放冷, 加无水乙醇稀释至 100ml, 即得。用时取上液 20ml, 加 70% 高氯酸 6ml, 用无水乙醇稀释至 500ml。

α -萘酚试液 取 15% 的 α -萘酚乙醇溶液 10.5ml, 缓缓加碱

取 5ml, 混匀后再加乙醇 40.5ml 及水 4ml, 混匀, 即得。

硅钨酸试液 取硅钨酸 10g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

硝酸试液 (1) 取硝酸 10ml, 加入 100ml 水中, 混匀。

(2) 取三氧化铬 10g, 加水 100ml 使溶解。

用时将两液等量混合, 即得。

硝酸汞试液 取黄氧化汞 40g, 加硝酸 32ml 与水 15ml

使溶解, 即得。本液应置玻璃塞瓶中, 在暗处保存。

硝酸银试液 可取用硝酸银滴定液 (0.1mol/L)。

硫化氢试液 本液为硫化氢的饱和水溶液。本液置棕色

瓶中, 在暗处保存。本液如无明显的硫化氢臭, 或与等容的三

氯化铁试液混合时不能生成大量的硫黄沉淀, 即不适用。

硫化钠试液 取硫化钠 1g, 加水使溶解成 10ml, 即得。

本液应临用新制。

硫代乙酰胺试液 取硫代乙酰胺 4g, 加水使溶解成

100ml, 置冰箱中保存。临用前取 1.0ml, 加入混合液 (由

1mol/L 氢氧化钠溶液 15ml、水 5.0ml 及甘油 20ml 组成)

5.0ml, 置水浴上加热 20 秒钟, 冷却, 立即使用。

硫脲试液 取硫脲 10g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

硫氰酸汞铵试液 取硫氰酸铵 5g 与二氯化汞 4.5g, 加

水使溶解成 100ml, 即得。

硫氰酸铵试液 取硫氰酸铵 8g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

硫酸亚铁试液 取硫酸亚铁结晶 8g, 加新沸过的冷水

100ml 使溶解, 即得。本液应临用新制。

硫酸汞试液 取黄氧化汞 5g, 加水 40ml 后, 缓缓加硫酸

20ml, 随加随搅拌, 再加水 40ml, 搅拌使溶解, 即得。

硫酸铜试液 取硫酸铜 12.5g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

硫酸镁试液 取未风化的硫酸镁结晶 12g, 加水使溶解

成 100ml, 即得。

紫草试液 取紫草粗粉 10g, 加 90% 乙醇 100ml, 浸渍 24

小时后, 滤过, 滤液中加入等量的甘油, 混合, 放置 2 小时, 滤

过, 即得。本液应置棕色玻璃瓶中, 在 2 个月内应用。

氯试液 本液为氯的饱和水溶液。本液应临用新制。

氯化亚锡试液 取氯化亚锡 1.5g, 加水 10ml 与少量的

盐酸使溶解, 即得。本液应临用新制。

氯化金试液 取氯化金 1g, 加水 35ml 使溶解, 即得。

氯化钙试液 取氯化钙 7.5g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

氯化钠明胶试液 取明胶 1g 与氯化钠 10g, 加水 100ml, 置

不超过 60℃ 的水浴上微热使溶解。本液应临用新制。

氯化钡试液 取氯化钡的细粉 5g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

氯化铂试液 取氯铂酸 2.6g, 加水使溶解成 20ml, 即得。

氯化铵试液 取氯化铵 10.5g, 加水使溶解成 100ml,

即得。

氯化铵镁试液 取氯化镁 5.5g 与氯化铵 7g, 加水 65ml

溶解后, 加氨试液 35ml, 置玻璃瓶中, 放置数日后, 滤过, 即得。本液如显浑浊, 应滤过后再用。

氯化铵试液 取氯化铵 20g, 加水 10ml 使溶解, 加碘

化钾 2g 溶解后, 再加碘使饱和, 即得。本液应置棕色玻璃瓶

中保存。

氯酸钾试液 本液为氯酸钾的饱和硝酸溶液。

稀乙醇 取乙醇 529ml, 加水稀释至 1000ml, 即得。本液

在 20℃ 时含 C_2H_5OH 应为 49.5%~50.5% (ml/ml)。

稀甘油 取甘油 33ml, 加水稀释使成 100ml, 再加樟脑一

小块或液化苯酚 1 滴, 即得。

稀盐酸 取盐酸 234ml, 加水稀释至 1000ml, 即得。本液

含 HCl 应为 9.5%~10.5%。

稀硝酸 取硝酸 105ml, 加水稀释至 1000ml, 即得。本液

含 HNO_3 应为 9.5%~10.5%。

稀硫酸 取硫酸 57ml, 加水稀释至 1000ml, 即得。本液

含 H_2SO_4 应为 9.5%~10.5%。

稀醋酸 取冰醋酸 60ml, 加水稀释至 1000ml, 即得。

碘试液 可取用碘滴定液 (0.05mol/L)。

碘化汞钾试液 取二氯化汞 1.36g, 加水 60ml 使溶解,

另取碘化钾 5g, 加水 10ml 使溶解, 将二液混合, 加水稀释至

100ml, 即得。

碘化钾试液 取碘化钾 16.5g, 加水使溶解成 100ml, 即

得。本液应临用新制。

碘化钾碘试液 取碘 0.5g 与碘化钾 1.5g, 加水 25ml 使

溶解, 即得。

碘化铋钾试液 取碱式硝酸铋 0.85g, 加冰醋酸 10ml 与水

40ml 溶解后, 加碘化钾溶液 (4→10) 20ml, 摇匀, 即得。

改良碘化铋钾试液 取碘化铋钾试液 1ml, 加 0.6 mol/L

盐酸溶液 2ml, 加水至 10ml, 即得。

稀碘化铋钾试液 取碱式硝酸铋 0.85g, 加冰醋酸 10ml

与水 40ml 溶解后, 即得。临用前取 5ml, 加碘化钾溶液 (4→

10) 5ml, 再加冰醋酸 20ml, 用水稀释至 100ml, 即得。

硼酸试液 本液为硼酸饱和的丙酮溶液。

溴百里香酚蓝试液 取溴百里香酚蓝 0.5g, 加 1mol/L

的氢氧化钠溶液 5ml 使溶解, 加水稀释至 1000ml, 即得。

溴试液 取溴 2~3ml, 置用凡士林涂塞的玻璃瓶中, 加水

100ml, 振摇使成饱和的溶液, 即得。本液应置暗处保存。

福林酚试液 福林酚试液 A 取 4% 碳酸钠溶液与

0.2mol/L 的氢氧化钠溶液等体积混合 (溶液甲); 取 0.04mol/L

硫酸铜溶液与 2% 酒石酸钠溶液等体积混合 (溶液乙), 用时将

溶液甲、溶液乙两种溶液按 50:1 混合, 即得。

福林酚试液 B 取钨酸钠 100g、钼酸钠 25g, 加水 700ml,

85% 磷酸 50ml 与盐酸 100ml, 置磨口圆底烧瓶中, 缓缓加热

回流 10 小时, 放冷, 再加硫酸锂 150g、水 50ml 和溴数滴, 加

热煮沸 15 分钟, 冷却, 加水稀释至 1000ml, 滤过, 滤液作为贮

备液, 置棕色瓶中。临用前加水一倍, 摇匀, 即得。

酸性氯化亚锡试液 取氯化亚锡 20g, 加盐酸使溶解成

50ml, 滤过, 即得。本液配制后 3 个月内应用。

碱式醋酸铅试液 取一氧化铅 14g, 加水 10ml, 研磨成糊状, 用水 10ml 洗入玻璃瓶中, 加醋酸铅 22g 的水溶液 70ml, 用力振摇 5 分钟后, 时时振摇, 放置 7 天, 滤过, 加新沸过的冷水使成 100ml, 即得。

碱性三硝基苯酚试液 取 1% 三硝基苯酚溶液 20ml, 加 5% 氢氧化钠溶液 10ml, 用水稀释至 100ml, 即得。本液应临用新制。

碱性盐酸羟胺试液 (1) 取氢氧化钠 12.5g, 加无水甲醇使溶解成 100ml。

(2) 取盐酸羟胺 12.5g, 加无水甲醇 100ml, 加热回流使溶解。

用时将两液等量混合, 滤过, 即得。本液应临用新制, 配制后 4 小时内应用。

碱性酒石酸铜试液 (1) 取硫酸铜结晶 6.93g, 加水使溶解成 100ml。

(2) 取酒石酸钾钠结晶 34.6g 与氢氧化钠 10g, 加水使溶解 100ml。

用时将两液等量混合, 即得。

碱性 β -萘酚试液 取 β -萘酚 0.25g, 加氢氧化钠溶液 (1→10) 10ml 使溶解, 即得。本液应临用新制。

碱性碘化汞钾试液 取碘化钾 10g, 加水 10ml 溶解后, 缓缓加入二氯化汞的饱和水溶液, 随加随搅拌, 至生成的红色沉淀不再溶解, 加氢氧化钾 30g, 溶解后, 再加二氯化汞的饱和水溶液 1ml 或 1ml 以上, 并用适量的水稀释使成 200ml, 静置, 使沉淀, 即得。用时倾取上层的澄清液应用。

[检查] 取本液 2ml, 加入含氨 0.05mg 的水 50ml 中, 应即时显黄棕色。

碳酸钠试液 取一水合碳酸钠 12.5g 或无水碳酸钠 10.5g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

碳酸氢钠试液 取碳酸氢钠 5g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

碳酸铵试液 取碳酸铵 20g 与氨试液 20ml, 加水使溶解成 100ml, 即得。

醋酸汞试液 取醋酸汞 5g, 研细, 加温热的冰醋酸使溶解成 100ml, 即得。本液应置棕色玻璃瓶中, 密闭保存。

醋酸铅试液 取醋酸铅 10g, 加新沸过的冷水溶解后, 滴加醋酸使溶液澄清, 再加新沸过的冷水使成 100ml, 即得。

醋酸氧铈试液 取醋酸氧铈 10g, 加冰醋酸 5ml 与水 50ml, 微热使溶解, 另取醋酸铈 30g, 加冰醋酸 3ml 与水 30ml, 微热使溶解, 将两液混合, 放冷, 滤过, 即得。

醋酸铵试液 取醋酸铵 10g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

铜试液 取氧化铜 (La_2O_3) 5g, 用水润湿, 缓慢加盐酸 25ml 使溶解, 并用水稀释成 100ml, 静置过夜, 即得。

磷钨酸试液 取磷钨酸 1g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

磷钼钨酸试液 取钨酸钠 100g、钼酸钠 25g, 加水 700ml 使溶解, 加盐酸 100ml、磷酸 50ml, 加热回流 10 小时, 放冷, 再

附录 110

加硫酸钾 150g, 水 100ml, 煮沸 1 小时, 冷却, 加水稀释至 1000ml, 滤过, 即得。本液不得显绿色 (如放置后变为绿色, 可加溴 0.2ml, 煮沸除去多余的溴即可)。

磷钼酸试液 取磷钼酸 5g, 加无水乙醇使溶解成 100ml, 即得。

磷酸氢二钠试液 取磷酸氢二钠结晶 12g, 加水使溶解成 100ml, 即得。

糖醛试液 取糖醛 1ml, 加水使溶解成 100ml, 即得。本液应临用新制。

鞣酸试液 取鞣酸 1g, 加乙醇 1ml, 加水溶解并稀释至 100ml, 即得。本液应临用新制。

附录 XV C 试纸

二氯化汞试纸 取滤纸条浸入二氯化汞的饱和溶液中, 1 小时后取出, 在暗处用 60℃ 干燥, 即得。

三硝基苯酚试纸 取滤纸条浸入三硝基苯酚的饱和水溶液中, 湿透后, 取出, 阴干, 即得。临用时, 浸入碳酸钠溶液 (1→10) 中, 使均匀湿润。

红色石蕊试纸 取滤纸条浸入石蕊指示液中, 加极少量的盐酸使成红色, 取出, 干燥, 即得。

[检查] 灵敏度 取 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 0.5ml, 置烧杯中, 加新沸过的冷水 100ml 混合后, 投入 10~12mm 宽的红色石蕊试纸一条, 不断搅拌, 30 秒钟内, 试纸应变色。

姜黄试纸 取滤纸条浸入姜黄指示液中, 湿透后, 置玻璃板上, 在 100℃ 干燥, 即得。

硝酸汞试纸 取硝酸汞的饱和溶液 45ml, 加硝酸 1ml, 摇匀, 将滤纸条浸入此溶液中, 湿透后, 取出晾干, 即得。

蓝色石蕊试纸 取滤纸条浸入石蕊指示液中, 湿透后, 取出, 干燥, 即得。

[检查] 灵敏度 取 0.1mol/L 盐酸溶液 0.5ml, 置烧杯中, 加新沸过的冷水 100ml 混合后, 投入 10~12mm 宽的蓝色石蕊试纸一条, 不断搅拌, 45 秒钟内, 试纸应变色。

碘化钾淀粉试纸 取滤纸条浸入含有碘化钾 0.5g 的新制的淀粉指示液 100ml 中, 湿透后, 取出, 干燥, 即得。

溴化汞试纸 取滤纸条浸入乙醇制溴化汞试液中, 1 小时后取出, 在暗处干燥, 即得。

醋酸铅试纸 取滤纸条浸入醋酸铅试液中, 湿透后, 取出, 在 100℃ 干燥, 即得。

醋酸铜联苯胺试纸 取醋酸联苯胺的饱和溶液 9ml, 加水 7ml 与 0.3% 醋酸铜溶液 16ml, 将滤纸条浸入此溶液中, 湿透后, 取出, 晾干, 即得。

附录 XV D 缓冲液

邻苯二甲酸氢钾-氢氧化钠缓冲液 (pH5.0) 取 0.2mol/L 的邻苯二甲酸氢钾 100ml, 用 0.2mol/L 氢氧化钠溶液约

30ml 调节 pH 值至 5.0, 即得。

枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液 (pH4.0) 甲液: 取枸橼酸 21g 或无水枸橼酸 19.2g, 加水使溶解成 1000ml, 置冰箱中保存。乙液: 取磷酸氢二钠 71.63g, 加水使溶解成 1000ml。

取上述甲液 61.45ml 与乙液 38.55ml 混合, 摇匀, 即得。

枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液 (pH7.0) 甲液: 取枸橼酸 21g 或无水枸橼酸 19.2g, 加水使溶解成 1000ml, 置冰箱中保存。乙液: 取磷酸氢二钠 71.63g, 加水使溶解成 1000ml。

取上述甲液 17.65ml 与乙液 82.35ml 混合, 摇匀, 即得。

氨-氯化铵缓冲液 (pH8.0) 取氯化铵 1.07g, 加水使溶解成 100ml, 再加稀氨溶液 (1→30) 调节 pH 值至 8.0, 即得。

氨-氯化铵缓冲液 (pH10.0) 取氯化铵 5.4g, 加水 20ml 溶解后, 加浓氨溶液 35ml, 再加水稀释至 100ml, 即得。

醋酸盐缓冲液 (pH3.5) 取醋酸铵 25g, 加水 25ml 溶解后, 加 7mol/L 盐酸溶液 38ml, 用 2mol/L 盐酸溶液或 5mol/L 氨溶液准确调节 pH 值至 3.5 (电位法指示), 用水稀释至 100ml, 即得。

醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH3.7) 取无水醋酸钠 20g, 加水 300ml 溶解后, 加溴酚蓝指示液 1ml 及冰醋酸 60~80ml, 至溶液从蓝色转变为纯绿色, 再加水稀释至 1000ml, 即得。

醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH4.5) 取醋酸钠 18g, 加冰醋酸 9.8ml, 再加水稀释至 1000ml, 即得。

醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH6.0) 取醋酸钠 54.6g, 加 1mol/L 醋酸溶液 20ml 溶解后, 加水稀释至 500ml, 即得。

醋酸-醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 取醋酸铵 7.7g, 加水 50ml 溶解后, 加冰醋酸 6ml 与适量的水使成 100ml, 即得。

醋酸-醋酸铵缓冲液 (pH4.8) 取醋酸铵 77g, 加水约 200ml 使溶解, 加冰醋酸 57ml, 再加水至 1000ml, 即得。

醋酸-醋酸铵缓冲液 (pH6.0) 取醋酸铵 100g, 加水 300ml 使溶解, 加冰醋酸 7ml, 摇匀, 即得。

磷酸盐缓冲液 (pH6.8) 取 0.2mol/L 磷酸二氢钾溶液 250ml, 加 0.2mol/L 氢氧化钠溶液 118ml, 用水稀释至 1000ml, 即得。

磷酸盐缓冲液 (含胰酶) (pH6.8) 取磷酸二氢钾 6.8g, 加水 500ml 使溶解, 用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8; 另取胰酶 10g, 加水适量使溶解, 将两液混合后, 加水稀释至 1000ml, 即得。

磷酸盐缓冲液 (pH7.6) 取磷酸二氢钾 27.22g, 加水使溶解成 1000ml, 取 50ml, 加 0.2mol/L 氢氧化钠溶液 42.4ml, 再加水稀释至 200ml, 即得。

附录 XV E 指示剂与指示液

二苯胺磺酸钠指示液 取二苯胺磺酸钠 0.2g, 加水 100ml 使溶解, 即得。

二苯偕肼指示液 取二苯偕肼 1g, 加乙醇 100ml 使溶解, 即得。

儿茶酚紫指示液 取儿茶酚紫 0.1g, 加水 100ml 使溶解, 即得。

变色范围 pH6.0~7.0~9.0 (黄→紫→紫红)。

双硫腙指示液 取双硫腙 50mg, 加乙醇 100ml 使溶解, 即得。

石蕊指示液 取石蕊粉末 10g, 加乙醇 40ml, 回流煮沸 1 小时, 静置, 倾去上清液, 再用同一方法处理二次, 每次用乙醇 30ml, 残渣用水 10ml 洗涤, 倾去洗液, 再加水 50ml 煮沸, 放冷, 滤过, 即得。

变色范围 pH4.5~8.0 (红→蓝)。

甲酚红指示液 取甲酚红 0.1g, 加 0.05mol/L 氢氧化钠溶液 5.3ml 使溶解, 再加水稀释至 100ml, 即得。

变色范围 pH7.2~8.8 (黄→红)。

甲酚红-麝香草酚蓝混合指示液 取甲酚红指示液 1 份与 0.1% 麝香草酚蓝溶液 3 份, 混合, 即得。

甲基红指示液 取甲基红 0.1g, 加 0.05mol/L 氢氧化钠溶液 7.4ml 使溶解, 再加水稀释至 200ml, 即得。

变色范围 pH4.2~6.3 (红→黄)。

甲基红-亚甲蓝混合指示液 取 0.1% 甲基红的乙醇溶液 20ml, 加 0.2% 亚甲蓝溶液 8ml, 摇匀, 即得。

甲基红-溴甲酚绿混合指示液 取 0.1% 甲基红的乙醇溶液 20ml, 加 0.2% 溴甲酚绿的乙醇溶液 30ml, 摇匀, 即得。

甲基橙指示液 取甲基橙 0.1g, 加水 100ml 使溶解, 即得。

变色范围 pH3.2~4.4 (红→黄)。

甲基橙-二甲苯蓝 FF 混合指示液 取甲基橙与二甲苯蓝 FF 各 0.1g, 加乙醇 100ml 使溶解, 即得。

邻二氮菲指示液 取硫酸亚铁 0.5g, 加水 100ml 使溶解, 加硫酸 2 滴与邻二氮菲 0.5g, 摇匀, 即得。本液应临用新制。

茜素磺酸钠指示液 取茜素磺酸钠 0.1g, 加水 100ml 使溶解, 即得。

变色范围 pH3.7~5.2 (黄→紫)。

荧光黄指示液 取荧光黄 0.1g, 加乙醇 100ml 使溶解, 即得。

钙黄绿素指示剂 取钙黄绿素 0.1g, 加氯化钾 10g, 研磨均匀, 即得。

钙紫红素指示剂 取钙紫红素 0.1g, 加无水硫酸钠 10g, 研磨均匀, 即得。

姜黄指示液 取姜黄粉末 20g, 用水浸渍 4 次, 每次 100ml, 除去水溶性物质后, 残渣在 100℃ 干燥, 加乙醇 100ml, 浸渍数日, 滤过, 即得。

结晶紫指示液 取结晶紫 0.5g, 加冰醋酸 100ml 使溶解, 即得。

酚酞指示液 取酚酞 1g, 加乙醇 100ml 使溶解, 即得。

变色范围 pH8.3~10.0 (无色→红)。

铬黑 T 指示剂 取铬黑 T 0.1g, 加氯化钠 10g, 研磨均

匀,即得。

淀粉指示液 取可溶性淀粉 0.5g,加水 5ml 搅匀后,缓缓倾入 100ml 沸水中,随加随搅拌,继续煮沸 2 分钟,放冷,倾取上清液,即得。本液应临用新制。

硫酸铁铵指示液 取硫酸铁铵 8g,加水 100ml 使溶解,即得。

溴酚蓝指示液 取溴酚蓝 0.1g,加 0.05mol/L 氢氧化钠溶液 3.0ml 使溶解,再加水稀释至 200ml,即得。

变色范围 pH2.8~4.6(黄→蓝绿)。

溴麝香草酚蓝指示液 取溴麝香草酚蓝 0.1g,加 0.05mol/L 氢氧化钠溶液 3.2ml 使溶解,再加水稀释至 200ml,即得。

变色范围 pH6.0~7.6(黄→蓝)。

麝香草酚酞指示液 取麝香草酚酞 0.1g,加乙醇 100ml 使溶解,即得。

变色范围 pH9.3~10.5(无色→蓝)。

麝香草酚蓝指示液 取麝香草酚蓝 0.1g,加 0.05mol/L 氢氧化钠溶液 4.3ml 使溶解,再加水稀释至 200ml,即得。

变色范围 pH1.2~2.8(红→黄);pH8.0~9.6(黄→紫蓝)。

附录 XV F 滴定液

乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)

$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O = 372.24$ 18.61g→1000ml

【配制】 取乙二胺四醋酸二钠 19g,加适量的水使溶解成 1000ml,摇匀。

【标定】 取于约 800℃ 灼烧至恒重的基准氧化锌 0.12g,精密称定,加稀盐酸 3ml 使溶解,加水 25ml,加 0.025% 甲基红的乙醇溶液 1 滴,滴加氨试液至溶液显微黄色,加水 25ml 与氨-氯化铵缓冲液(pH10.0)10ml,再加铬黑 T 指示剂少量,用本液滴定至溶液由紫色变为纯蓝色,并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)相当于 4.069mg 的氧化锌。根据本液的消耗量与氧化锌的取用量,算出本液的浓度,即得。

【贮藏】 置玻璃塞瓶中,避免与橡皮塞、橡皮管等接触。

乙醇制氢氧化钾滴定液(0.5mol/L)

$KOH = 56.11$

28.06g→1000ml

【配制】 取氢氧化钾 35g,置锥形瓶中,加无醛乙醇适量使溶解并稀释成 1000ml,用橡皮塞密塞,静置 24 小时后,迅速倾取上清液,置具橡皮塞的棕色玻璃瓶中。

【标定】 精密量取盐酸滴定液(0.5mol/L)25ml,加水 50ml 稀释后,加酚酞指示液数滴,用本液滴定。根据本液的消耗量,算出本液的浓度,即得。

本液临用前应标定浓度。

【贮藏】 置橡皮塞的棕色玻璃瓶中,密闭保存。

附录 112

四苯硼钠滴定液(0.02mol/L)

$(C_6H_5)_3BNa = 342.22$

6.845g→1000ml

【配制】 取四苯硼钠 7.0g,加水 50ml 振摇使溶解,加入新配制的氢氧化铝凝胶(取三氯化铝 1.0g,溶于 25ml 水中,在不断搅拌下缓缓滴加氢氧化钠试液至 pH8~9),加氯化钠 16.6g,充分搅匀,加水 250ml,振摇 15 分钟,静置 10 分钟,滤过,滤液中滴加氢氧化钠试液至 pH8~9,再加水稀释至 1000ml,摇匀。

【标定】 精密量取本液 10ml,加醋酸-醋酸钠缓冲液(pH3.7)10ml 与溴酚蓝指示液 0.5ml,用铈铵盐滴定液(0.01mol/L)滴定至蓝色,并将滴定的结果用空白试验校正。根据铈铵盐滴定液(0.01mol/L)消耗量,算出本液的浓度,即得。

本液临用前应标定浓度。

如需用四苯硼钠滴定液(0.01mol/L)时,可取四苯硼钠滴定液(0.02mol/L)在临用前加水稀释制成。必要时标定浓度。

【贮藏】 置棕色玻璃瓶中,密闭保存。

甲醇钠滴定液(0.1mol/L)

$CH_3ONa = 54.02$

5.402g→1000ml

【配制】 取无水甲醇(含水量 0.2% 以下)150ml,置于冰水冷却的容器中,分次加入新切的金属钠 2.5g,俟完全溶解后,加无水苯(含水量 0.02% 以下)适量,使成 1000ml,摇匀。

【标定】 取在五氧化二磷干燥器中减压干燥至恒重的基准苯甲酸约 0.4g,精密称定,加无水甲醇 15ml 使溶解,加无水苯 5ml 与 1% 麝香草酚蓝的无水甲醇溶液 1 滴,用本液滴定至蓝色,并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 甲醇钠滴定液(0.1mol/L)相当于 12.21mg 的苯甲酸。根据本液的消耗量与苯甲酸的取用量,算出本液的浓度,即得。

本液标定时应注意防止二氧化碳的干扰和溶剂的挥发,每次临用前均应重新标定。

【贮藏】 置密闭的附有滴定装置的容器内,避免与空气中的二氧化碳及湿气接触。

亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L)

$NaNO_2 = 69.00$

6.900g→1000ml

【配制】 取亚硝酸钠 7.2g,加无水碳酸钠(Na_2CO_3)0.10g,加水适量使溶解成 1000ml,摇匀。

【标定】 取在 120℃ 干燥至恒重的基准对氨基苯磺酸约 0.5g,精密称定,加水 30ml 与浓氨试液 3ml,溶解后,加盐酸(1→2)20ml,搅拌,在 30℃ 以下用本液迅速滴定;滴定时将滴定管尖端插入液面下约 2/3 处,随滴随搅拌;至近终点时,将滴定管尖端提出液面,用少量水洗涤尖端,洗液并入溶液中,继续缓缓滴定,用水停滴定法(附录 VIII A)指示终点。

每 1ml 亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L)相当于 17.32mg 的对氨基苯磺酸。根据本液的消耗量与对氨基苯磺酸的取用

量,算出本液的浓度,即得。

如需用亚硝酸钠滴定液(0.05mol/L)时,可取亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L)加水稀释制成。必要时,标定浓度。

【贮藏】置玻璃塞的棕色玻璃瓶中,密闭保存。

草酸滴定液(0.05mol/L)

$C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O = 126.07$ 6.304g→1000ml

【配制】取草酸 6.4g,加水适量使溶解成 1000ml,摇匀。

【标定】精密量取本液 25ml,加水 200ml 与硫酸 10ml,用高锰酸钾滴定液(0.02mol/L)滴定,至近终点时,加热至 65℃,继续滴定至溶液显微红色,并保持 30 秒钟不褪;当滴定终了时,溶液温度应不低于 55℃。根据高锰酸钾滴定液(0.02mol/L)的消耗量,算出本液的浓度,即得。

如需用草酸滴定液(0.25mol/L)时,可取草酸约 32g,照上法配制与标定,但改用高锰酸钾滴定液(0.1mol/L)滴定。

【贮藏】置玻璃塞的棕色玻璃瓶中,密闭保存。

氢氧化四丁基铵滴定液(0.1mol/L)

$(C_4H_9)_4NOH = 259.48$ 25.95g→1000ml

【配制】取碘化四丁基铵 40g,置具塞锥形瓶中,加无水甲醇 90ml 使溶解,置冰浴中放冷,加氧化银细粉 20g,密塞,剧烈振摇 60 分钟,取此混合液数毫升,离心,取上清液检查碘化物,若显碘化物正反应,则在上述混合液中再加氧化银 2g,剧烈振摇 30 分钟后,再做碘化物试验,直至无碘化物反应为止。混合液用垂熔玻璃滤器滤过,容器和垂熔玻璃滤器用无水甲苯洗涤 3 次,每次 50ml;合并洗液和滤液,用无水甲苯-无水甲醇(3:1)稀释至 1000ml,摇匀,并通入不含二氧化碳的干燥氮气 10 分钟。若溶液不澄清,可再加少量无水甲醇。

【标定】取在五氧化二磷干燥器中减压干燥至恒重的基准苯甲酸约 90mg,精密称定,加二甲基甲酰胺 10ml 使溶解,加 0.3%麝香草酚蓝的无水甲醇溶液 3 滴,用本液滴定至蓝色(以电位法校对终点),并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 氢氧化四丁基铵滴定液(0.1mol/L)相当于 12.21mg 的苯甲酸。根据本液的消耗量与苯甲酸的取用量,算出本液的浓度,即得。

【贮藏】置密闭的容器内,避免与空气中的二氧化碳及湿气接触。

氢氧化钠滴定液(1mol/L、0.5mol/L 或 0.1mol/L)

$NaOH = 40.00$ 40.00g→1000ml; 20.00g→1000ml;

4.000g→1000ml

【配制】取氢氧化钠液适量,加水振摇使溶解成饱和溶液,冷却后,置聚乙烯塑料瓶中,静置数日,澄清后备用。

氢氧化钠滴定液(1mol/L) 取澄清的氢氧化钠饱和溶液 56ml,加新沸过的冷水使成 1000ml,摇匀。

氢氧化钠滴定液(0.5mol/L) 取澄清的氢氧化钠饱和

溶液 28ml,加新沸过的冷水使成 1000ml。

氢氧化钠滴定液(0.1mol/L) 取澄清的氢氧化钠饱和溶液 5.6ml,加新沸过的冷水使成 1000ml。

【标定】氢氧化钠滴定液(1mol/L) 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 6g,精密称定,加新沸过的冷水 50ml,振摇,使其尽量溶解;加酚酞指示液 2 滴,用本液滴定;在接近终点时,应使邻苯二甲酸氢钾完全溶解,滴定至溶液显粉红色。每 1ml 氢氧化钠滴定液(1mol/L)相当于 204.2mg 的邻苯二甲酸氢钾。根据本液的消耗量与邻苯二甲酸氢钾的取用量,算出本液的浓度,即得。

氢氧化钠滴定液(0.5mol/L) 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 3g,照上法标定。每 1ml 氢氧化钠滴定液(0.5mol/L)相当于 102.1mg 的邻苯二甲酸氢钾。

氢氧化钠滴定液(0.1mol/L) 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 0.6g,照上法标定。每 1ml 氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)相当于 20.42mg 的邻苯二甲酸氢钾。

如需用氢氧化钠滴定液(0.05mol/L、0.02mol/L 或 0.01mol/L)时,可取氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)加新沸过的冷水稀释制成。必要时,可用盐酸滴定液(0.05mol/L、0.02mol/L 或 0.01mol/L)标定浓度。

【贮藏】置聚乙烯塑料瓶中,密封保存;塞中有 2 孔,孔内各插入玻璃管 1 支,1 管与钠石灰管相连,1 管供吸出本液使用。

重铬酸钾滴定液(0.016 67mol/L)

$K_2Cr_2O_7 = 294.18$ 4.903g→1000ml

【配制】取基准重铬酸钾,在 120℃干燥至恒重后,称取 4.903g,置 1000ml 量瓶中,加水适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

羟铵盐滴定液(0.01mol/L)

【配制】取氯化二甲基苄基羟铵 3.8g,加水溶解后,加醋酸-醋酸钠缓冲液(pH3.7)10ml,再加水稀释成 1000ml,摇匀。

【标定】取在 150℃干燥 1 小时的分析纯氯化钾约 0.18g,精密称定,置 250ml 量瓶中,加醋酸-醋酸钠缓冲液(pH3.7)使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 20ml,置 50ml 量瓶中,精密加入四苯硼钠滴定液(0.02mol/L)25ml,用水稀释至刻度,摇匀,经干燥滤纸滤过,精密量取续滤液 25ml,置 150ml 锥形瓶中,加溴酚蓝指示液 0.5ml,用本液滴定至蓝色,并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 羟铵盐滴定液(0.01mol/L)相当于 0.7455mg 的氯化钾。

盐酸滴定液

(1mol/L、0.5mol/L、0.2mol/L 或 0.1mol/L)

$HCl = 36.46$ 36.46g→1000ml; 18.23g→1000ml;

7.292g→1000ml; 3.646g→1000ml

【配制】盐酸滴定液(1mol/L) 取盐酸 90ml,加水适量

使成 1000ml, 摇匀。

盐酸滴定液(0.5mol/L、0.2mol/L 或 0.1mol/L) 照上法配制, 但盐酸的取用量分别为 45ml、18ml 或 9.0ml。

【标定】 盐酸滴定液(1mol/L) 取在 270~300℃ 干燥至恒重的基准无水碳酸钠约 1.5g, 精密称定, 加水 50ml 使溶解, 加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 10 滴, 用本液滴定至溶液由绿色转变为紫红色时, 煮沸 2 分钟, 冷却至室温, 继续滴定至溶液由绿色变为暗紫色。每 1ml 盐酸滴定液(1mol/L) 相当于 53.00mg 的无水碳酸钠。根据本液的消耗量与无水碳酸钠的取用量, 算出本液的浓度, 即得。

盐酸滴定液(0.5mol/L) 照上法标定, 但基准无水碳酸钠的取用量改为约 0.8g。每 1ml 盐酸滴定液(0.5mol/L) 相当于 26.50mg 的无水碳酸钠。

盐酸滴定液(0.2mol/L) 照上法标定, 但基准无水碳酸钠的取用量改为约 0.3g。每 1ml 盐酸滴定液(0.2mol/L) 相当于 10.60mg 的无水碳酸钠。

盐酸滴定液(0.1mol/L) 照上法标定, 但基准无水碳酸钠的取用量改为约 0.15g。每 1ml 盐酸滴定液(0.1mol/L) 相当于 5.30mg 的无水碳酸钠。

如需用盐酸滴定液(0.05mol/L、0.02mol/L 或 0.01mol/L) 时, 可取盐酸滴定液(1mol/L 或 0.1mol/L) 加水稀释制成。必要时, 标定浓度。

高氯酸滴定液(0.1mol/L)

$\text{HClO}_4 = 100.46$

10.05g → 1000ml

【配制】 取无水冰醋酸(按含水量计算, 每 1g 水加醋酐 5.22ml) 750ml, 加入高氯酸(70%~72%) 8.5ml, 摇匀, 在室温下缓缓滴加醋酐 23ml, 边加边摇, 加完后再振摇均匀, 放冷, 加无水冰醋酸适量使成 1000ml, 摇匀, 放置 24 小时。若所测供试品易乙酰化, 则须用水分测定法(本版药典二部附录 VIII M 第一法 A) 测定本液的含水量, 醋酐调节至本液的含水量为 0.01%~0.2%。

【标定】 取在 105℃ 干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 0.16g, 精密称定, 加无水冰醋酸 20ml 使溶解, 加结晶紫指示液 1 滴, 用本液缓缓滴定至蓝色, 并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 高氯酸滴定液(0.1mol/L) 相当于 20.42mg 的邻苯二甲酸氢钾。根据本液的消耗量与邻苯二甲酸氢钾的取用量, 算出本液的浓度, 即得。

如需用高氯酸滴定液(0.05mol/L 或 0.02mol/L) 时, 可取高氯酸滴定液(0.1mol/L) 用无水冰醋酸稀释制成, 并标定浓度。

本液也可用二氧六环配制: 取高氯酸(70%~72%) 8.5ml, 加异丙醇 100ml 溶解后, 再加二氧六环稀释至 1000ml。标定时, 取在 105℃ 干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 0.16g, 精密称定, 加异丙醇 25ml 与异丙醇 5ml, 加热使溶解, 放冷, 加二氧六环 30ml 与甲基橙-二甲苯蓝 FF 混合指示液数滴, 用本液滴定至由绿色变为蓝灰色, 并将滴定的结果用空白试验校正, 即得。

附录 114

【贮藏】 置棕色玻璃瓶中, 密闭保存。

高锰酸钾滴定液(0.02mol/L)

$\text{KMnO}_4 = 158.03$

3.161g → 1000ml

【配制】 取高锰酸钾 3.2g, 加水 1000ml, 煮沸 15 分钟, 密塞, 静置 2 日以上, 用垂熔玻璃滤器滤过, 摇匀。

【标定】 取在 105℃ 干燥至恒重的基准草酸钠约 0.2g, 精密称定, 加新沸过的冷水 250ml 与硫酸 10ml, 搅拌使溶解, 自滴定管中迅速加入本液约 25ml(边加边振摇, 以避免产生沉淀), 待褪色后, 加热至 65℃, 继续滴定至溶液显微红色并保持 30 秒钟不褪; 当滴定终了时, 溶液温度应不低于 55℃。每 1ml 高锰酸钾滴定液(0.02mol/L) 相当于 6.70mg 的草酸钠, 根据本液的消耗量与草酸钠的取用量, 算出本液的浓度, 即得。

如需用高锰酸钾滴定液(0.002mol/L) 时, 可取高锰酸钾滴定液(0.02mol/L) 加水稀释, 煮沸, 放冷, 必要时滤过, 再标定其浓度。

【贮藏】 置玻璃塞的棕色玻璃瓶中, 密闭保存。

硝酸汞滴定液(0.05mol/L)

$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} = 342.62$

17.13g → 1000ml

【配制】 取硝酸汞 17.2g, 加水 400ml 与硝酸 5ml 溶解后, 滤过, 再加水适量使成 1000ml, 摇匀。

【标定】 取在 110℃ 干燥至恒重的基准氯化钠约 0.15g, 精密称定, 加水 100ml 使溶解, 加二苯偕肼指示液 1ml, 在剧烈振摇下用本液滴定至显淡玫瑰紫色。每 1ml 硝酸汞滴定液(0.05mol/L) 相当于 5.844mg 的氯化钠。根据本液的消耗量与氯化钠的取用量, 算出本液的浓度, 即得。

硝酸银滴定液(0.1mol/L)

$\text{AgNO}_3 = 169.87$

16.99g → 1000ml

【配制】 取硝酸银 17.5g, 加水适量使溶解成 1000ml, 摇匀。

【标定】 取在 110℃ 干燥至恒重的基准氯化钠约 0.2g, 精密称定, 加水 50ml 使溶解, 再加糊精溶液(1→50) 5ml, 碳酸钙 0.1g 与荧光黄指示液 8 滴, 用本液滴定至浑浊液由黄绿色变为微红色。每 1ml 硝酸银滴定液(0.1mol/L) 相当于 5.844mg 的氯化钠。根据本液的消耗量与氯化钠的取用量, 算出本液的浓度, 即得。

如需用硝酸银滴定液(0.01mol/L) 时, 可取硝酸银滴定液(0.1mol/L) 在临用前加水稀释制成。

【贮藏】 置玻璃塞的棕色玻璃瓶中, 密闭保存。

硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 248.19$

24.82g → 1000ml

【配制】 取硫代硫酸钠 26g 与无水碳酸钠 0.20g, 加新沸过的冷水 1000ml, 摇匀。

【标定】 取在 120℃ 干燥至恒重的基准重铬酸钾 0.15g，精密称定，置碘瓶中，加水 50ml 使溶解，加碘化钾 2.0g，轻轻振荡使溶解，加稀硫酸 40ml，摇匀，密塞，在暗处放置 10 分钟后，加水 250ml 稀释，用本液滴定至近终点时，加淀粉指示液 3ml，继续滴定至蓝色消失而显亮绿色，并将滴定的结果用空白试验校正。每 1ml 硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 相当于 4.903mg 的重铬酸钾。根据本液的消耗量与重铬酸钾的取用量，算出本液的浓度，即得。

室温在 25℃ 以上时，应将反应液及稀释用水降温至 20℃。

如需用硫代硫酸钠滴定液 (0.01mol/L 或 0.005mol/L) 时，可取硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 在临用前加新沸过的冷水稀释制成。

硫氰酸铵滴定液 (0.1mol/L)

$\text{NH}_4\text{SCN} = 76.12$ 7.612g → 1000ml

【配制】 取硫氰酸铵 8.0g，加水使溶解成 1000ml，摇匀。

【标定】 精密量取硝酸银滴定液 (0.1mol/L) 25ml，加水 50ml，硝酸 2ml 与硫酸铁铵指示液 2ml，用本液滴定至溶液微显淡棕色，经剧烈振摇后仍不褪色，即为终点。根据本液的消耗量算出本液的浓度，即得。

硫氰酸钠滴定液 (0.1mol/L) 或硫氰酸钾滴定液 (0.1mol/L) 均可作为本液的代用品。

硫酸滴定液

(0.5mol/L、0.25mol/L、0.1mol/L 或 0.05mol/L)

$\text{H}_2\text{SO}_4 = 98.08$ 49.04g → 1000ml; 24.52g → 1000ml
9.81g → 1000ml; 4.904g → 1000ml

【配制】 硫酸滴定液 (0.5mol/L) 取硫酸 30ml 缓缓注入适量水中，冷却至室温，加水稀释至 1000ml，摇匀。

硫酸滴定液 (0.25mol/L、0.1mol/L 或 0.05mol/L) 照上法配制，但硫酸的取用量分别为 15ml、6.0ml 及 3.0ml。

【标定】 照盐酸滴定液 (1mol/L、0.5mol/L、0.2mol/L 或 0.1mol/L) 项下的方法标定，即得。

如需用硫酸滴定液 (0.01mol/L) 时，可取硫酸滴定液 (0.5mol/L、0.1mol/L 或 0.05mol/L) 加水稀释制成。必要时，标定浓度。

硫酸铈滴定液 (0.1mol/L)

$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 404.30$ 40.43g → 1000ml

【配制】 取硫酸铈 42g (或硫酸铈铵 70g)，加含有硫酸 28ml 的水 500ml，加热溶解后，放冷，加水适量使成 1000ml，摇匀。

【标定】 取在 105℃ 干燥至恒重的基准三氧化二砷 0.15g，精密称定，加氢氧化钠滴定液 (1mol/L) 10ml，微热使溶解，加水 50ml，盐酸 25ml，一氯化碘试液 5ml 与邻二氯菲指示液 2 滴，用本液滴定至近终点时，加热至 50℃，继续滴定至

溶液由浅红色转变为淡绿色。每 1ml 硫酸铈滴定液 (0.1mol/L) 相当于 4.946mg 的三氧化二砷。根据本液的消耗量与三氧化二砷的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用硫酸铈滴定液 (0.01mol/L) 时，可精密量取硫酸铈滴定液 (0.1mol/L)，用每 100ml 中含硫酸 2.8ml 的水定量稀释制成。

锌滴定液 (0.05mol/L)

$\text{Zn} = 65.39$ 3.270g → 1000ml

【配制】 取硫酸锌 15g (相当于锌约 3.3g)，加稀盐酸 10ml 与水适量使溶解成 1000ml，摇匀。

【标定】 精密量取本液 25ml，加 0.025% 甲基红的乙醇溶液 1 滴，滴加氨试液至溶液显微黄色，加水 25ml，氨-氯化铵缓冲液 (pH10.0) 10ml 与铬黑 T 指示剂少量，用乙二胺四醋酸二钠滴定液 (0.05mol/L) 滴定至溶液由紫色变为纯蓝色，并将滴定的结果用空白试验校正。根据乙二胺四醋酸二钠滴定液 (0.05mol/L) 的消耗量，算出本液的浓度，即得。

碘滴定液 (0.05mol/L)

$\text{I}_2 = 253.81$ 12.69g → 1000ml

【配制】 取碘 13.0g，加碘化钾 36g 与水 50ml 溶解后，加盐酸 3 滴与水适量使成 1000ml，摇匀，用垂熔玻璃滤器滤过。

【标定】 取在 105℃ 干燥至恒重的基准三氧化二砷约 0.15g，精密称定，加氢氧化钠滴定液 (1mol/L) 10ml，微热使溶解，加水 20ml 与甲基橙指示液 1 滴，加硫酸滴定液 (0.5mol/L) 适量使黄色转变为粉红色，再加碳酸氢钠 2g，水 50ml 与淀粉指示液 2ml，用本液滴定至溶液显浅蓝紫色。每 1ml 碘滴定液 (0.05mol/L) 相当于 4.946mg 的三氧化二砷。根据本液的消耗量与三氧化二砷的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用碘滴定液 (0.025mol/L) 时，可取碘滴定液 (0.05mol/L) 加水稀释制成。

【贮藏】 置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭，在凉处保存。

碘酸钾滴定液 (0.05mol/L 或 0.01667mol/L)

$\text{KIO}_3 = 214.00$ 10.700g → 1000ml;
3.5667g → 1000ml

【配制】 碘酸钾滴定液 (0.05mol/L) 取基准碘酸钾，在 105℃ 干燥至恒重后，精密称取 10.700g，置 1000ml 量瓶中，加水适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。

碘酸钾液 (0.01667mol/L) 取基准碘酸钾，在 105℃ 干燥至恒重后，精密称取 3.5667g，置 1000ml 量瓶中，加水适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。

溴滴定液 (0.05mol/L)

$\text{Br}_2 = 159.81$ 7.990g → 1000ml

【配制】 取溴酸钾 3.0g 与溴化钾 15g，加水适量使溶解成 1000ml，摇匀。

【标定】精密量取本液 25ml, 置碘瓶中, 加水 100ml 与碘化钾 2.0g, 振摇使溶解, 加盐酸 5ml, 密塞, 振摇, 在暗处放置 5 分钟, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定至近终点时, 加淀粉指示液 2ml, 继续滴定至蓝色消失。根据硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 的消耗量, 算出本液的浓度, 即得。

室温在 25℃ 以上时, 应将反应液降温至约 20℃。本液每次临用前均应标定浓度。

如需用溴滴定液 (0.005mol/L) 时, 可取溴滴定液 (0.05mol/L) 加水稀释制成, 并标定浓度。

【贮藏】置玻璃塞的棕色玻瓶中, 密闭, 在凉处保存。

溴酸钾滴定液 (0.016 67mol/L)

$KBrO_3 = 167.00$

2.784g → 1000ml

【配制】取溴酸钾 2.8g, 加水适量使溶解成 1000ml, 摇匀。

【标定】精密量取本液 25ml, 置碘瓶中, 加碘化钾 2.0g 与稀硫酸 5ml, 密塞, 摇匀, 在暗处放置 5 分钟后, 加水 100ml 稀释, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定至近终点时, 加淀粉指示液 2ml, 继续滴定至蓝色消失。根据硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 的消耗量, 算出本液的浓度, 即得。

室温至 25℃ 以上时, 应将反应液及稀释用水降温至约 20℃。

附录 XV G 对照品 对照药材 对照提取物

对照品

1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	1,3-Dicaffeoylquinic acid
1,8-二羟基蒽醌	1,8-Dihydroxyanthraquinone
1-甲基海因	1-Methyl hydantoin
2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷	2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside
3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸	3,5-Dicaffeoylquinic acid
3',6-二芥子酰基蔗糖	3',6-Disinapoyl sucrose
3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇	3,29-Dibenzoylkarounitriol
4-甲氧基水杨醛	4-Methoxysalicylaldehyde
4-羟基苯乙酸	4-Hydroxyphenylacetic acid
4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸	4,5-Dicaffeoylquinic acid
5-O-甲基维斯阿米醇苷	4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvisammioside
5-甲基蜂蜜曲霉素	5-Methyl mellein
5-羟甲基糠醛	5-Hydroxymethyl furfural
6-姜辣素	6-Gingerol
8-O-乙酰山梗苷甲酯	8-Acetylshanzhiside methyl ester
23-乙酰泽泻醇 B	23-Acetate alisol B

附录 116

α-三联噻吩	α-Terthiophene
α-亚麻酸	α-Linolenic acid
α-油松节醇	α-Terpineol
α-香附酮	α-Cyperone
α-常春藤皂苷	α-Hederin
α-蒎烯	α-Pinene
β,β'-二甲基丙烯酰阿卡宁	β,β'-Dimethylacrylsalkarin
β-丁香烯	β-Caryophyllene
β-谷甾醇	β-Sitosterol
β-蒎烯	β-Pinene
β-蜕皮甾酮	β-Ecdysterone
乙氧基白屈菜红碱	5-Ethoxychelerythrine
乙硫磷	Diethion
乙酰车叶草酸甲酯	Acetyl asperulosidic acid methyl ester
乙酰甲胺磷	Acephate
乙酰哈巴苷	Acetylharpagide
乙酰缬草三酯	Acetvaltrate
乙酸龙脑酯	Bornyl acetate
二氢欧山芹醇当归酸酯	Columbianadin
二氢辣椒素	Dihydrocapsaicin
二嗪农	Dimpylate
(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷	(-)-Syringaresinol-4-O-β-D-furanapiosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside
丁香酚	Eugenol
七叶皂苷钠	Sodium aescinate
人参二醇	Panaxadiol
人参三醇	Panaxatriol
人参皂苷 Rb ₁	Ginsenoside Rb ₁
人参皂苷 Rb ₃	Ginsenoside Rb ₃
人参皂苷 Rd	Ginsenoside Rd
人参皂苷 Re	Ginsenoside Re
人参皂苷 Rf	Ginsenoside Rf
人参皂苷 Rg ₁	Ginsenoside Rg ₁
人参皂苷 Ro	Ginsenoside Ro
儿茶素	(+)-Catechin
三七皂苷 R ₁	Notoginsenoside R ₁
三白草酮	Saichinone
土的宁	Strychnine
土木香内酯	Alantolactone
土贝母苷甲	Tubemoside I
土荆皮乙酸	Pseudolaric acid B
大车前苷	Plantamajoside
大叶茜草素	Mollugin
大豆苷	Daidzin
大豆苷元	

槐米	Sophorae Flos Immaturus
槐花	Sophorae Flos
雷丸	Omphalia
闹灯笼	Physalis Calyx seu Fructus
滇山红	Rhododendri Daurici Folium
滇鸡血藤	Kadsurae Caulis
椰子	Torreyae Semen
槟榔	Arecae Semen
酸枣仁	Ziziphi Spinosae Semen
锦荔枝	Siegesbeckiae Herba
罂粟壳	Papaveris Pericarpium
锦牙菜	Swertiae Bimaculatae Herba
漏芦	Rhapontici Radix
槲叶	Querci Dentatae Folium
槲寄生	Visci Herba
暴马子皮	Syringae Cortex
墨旱莲	Ecliptae Herba
箭根薯	Taccaes Esquiroliae Rhizoma
熟地黄	Rehmanniae Radix Praeparata
鹤虱	Carpesii Fructus
菴白	Allii Macrostemonis Bulbus
薏苡仁	Coicis Semen
橘叶	Citri Reticulatae Folium
藏木香	Inulae Racemosae Radix
藏菖蒲	Acori Calami Rhizoma
螃蟹甲	Phlomidis Youngusbandii Radix

藁本	Ligustici Rhizoma et Radix
藕节	Nelumbinis Rhizomatis Nodus
藤苦参	Streptocauli Griffithii Radix
瞿麦	Dianthi Herba
蟾皮	Bufois Corium
蟾酥	Bufois Venenum
猫油	Melis Adeps

对照提取物

八角茴香油	Star Anise Oil
三七总皂苷	Notoginseng Total Saponins
广藿香油	Patchouli Oil
云南白药提取物	Yunnan Baiyao Extract
木香挥发油	Costusroot Essential Oil
乌灵菌粉	Xylaria Powder
发酵虫草菌粉(C ₅ -C-Q80)	Fermented Cordyceps Powder
牡荆油	Vitex Oil
松节油	Turpentine oil
穿龙薯蓣皂苷提取物	Dioscorea Nipponica Saponin Extract
总银杏酸	Total Ginkgolic Acids
黄山药皂苷提取物	Dioscorea Extract
银杏叶提取物	Ginkgo Leaves Extract
温莪术油	Curcuma Oil
薄荷素油	Peppermint Oil
檀香油	Sandal Wood Oil

附录 XVI 灭菌法

灭菌法系指用适当的物理或化学手段将物品中活的微生物杀灭或除去,从而使物品残存活微生物的概率下降至预期的无菌保证水平的方法。本法适用于制剂、原料、辅料及医疗器械等物品的灭菌。

无菌物品是指物品中不含任何活的微生物。对于任何一批灭菌物品而言,绝对无菌无法保证,也无法用试验来证实。一批物品的无菌特性只能相对地通过物品中活微生物的概率低至某个可接受的水平来表述,即无菌保证水平(Sterility assurance level,简称SAL)。实际生产过程中,灭菌是指将物品中污染微生物的概率下降至预期的无菌保证水平。最终灭菌的物品微生物存活概率,即无菌保证水平不得高于 10^{-6} 。已灭菌物品达到的无菌保证水平可通过验证确定。

灭菌物品的无菌保证不能依赖于最终产品的无菌检验,而是取决于生产过程中采用合格的灭菌工艺、严格的GMP管理和良好的无菌保证体系。灭菌工艺的确定应综合考虑被

灭菌物品的性质、灭菌方法的有效性和经济性、灭菌后物品的完整性和稳定性等因素。

灭菌程序的验证是无菌保证的必要条件。灭菌程序经验证后,方可交付正式使用。验证内容包括:

- (1) 撰写验证方案及制定评估标准。
- (2) 确认灭菌设备技术资料齐全、安装正确,并能处于正常运行(安装确认)。
- (3) 确认灭菌设备、关键控制和记录系统能在规定的参数范围内正常运行(运行确认)。
- (4) 采用被灭菌物品或模拟物品按预定灭菌程序进行重复试验,确认各关键工艺与参数符合预定标准,确定经灭菌物品的无菌保证水平符合规定(性能确认)。
- (5) 汇总并完善各种文件和记录,撰写验证报告。

日常生产中,应对灭菌程序的运行情况进行监控,确认关键参数(如温度、压力、时间、湿度、灭菌气体浓度及吸收的辐照剂量等)均在验证确定的范围内。灭菌程序应定期进行再

验证。当灭菌设备或程序发生变更(包括灭菌物品装载方式和数量的改变)时,应进行再验证。

物品的无菌保证与灭菌工艺、灭菌前物品被污染的程度及污染菌的特性相关。因此,应根据灭菌工艺的特点制定灭菌物品灭菌前的微生物污染水平及污染菌的耐受限度并进行监控,并在生产的各个环节采取各种措施降低污染,确保微生物污染控制在规定的限度内。

灭菌的冷却阶段,应采取措施防止已灭菌物品被再次污染。任何情况下,都应要求容器及其密封系统确保物品在有效期内符合无菌要求。

灭菌方法

常用的灭菌方法有湿热灭菌法、干热灭菌法、辐射灭菌法、气体灭菌法和过滤除菌法。可根据被灭菌物品的特性采用一种或多种方法组合灭菌。只要物品允许,应尽可能选用最终灭菌法灭菌。若物品不适合采用最终灭菌法,可选用过滤除菌法或无菌生产工艺达到无菌保证要求,只要可能,应对非最终灭菌的物品作补充性灭菌处理(如流通蒸汽灭菌)。

一、湿热灭菌法

本法系指将物品置于灭菌柜内利用高压饱和蒸汽、过热水喷淋等手段使微生物菌体中的蛋白质、核酸发生变性而杀灭微生物的方法。该法灭菌能力强,为热力灭菌中最有效、应用最广泛的灭菌方法。药品、容器、培养基、无菌衣、胶塞以及其他遇高温和潮湿不发生变化或损坏的物品,均可采用本法灭菌。流通蒸汽不能完全杀灭细菌孢子,一般可作为不耐热无菌产品的辅助灭菌手段。

湿热灭菌条件的选择应考虑灭菌物品的热稳定性、热穿透力、微生物污染程度等因素。湿热灭菌条件通常采用 $121^{\circ}\text{C} \times 15\text{min}$ 、 $121^{\circ}\text{C} \times 30\text{min}$ 或 $116^{\circ}\text{C} \times 40\text{min}$ 的程序,也可采用其他温度和时间参数,但无论采用何种灭菌温度和时间参数,都必须证明所采用的灭菌工艺和监控措施在日常运行过程中能确保物品灭菌后的 $\text{SAL} \leq 10^{-6}$ 。当灭菌程序的选定采用 F_0 值概念时(F_0 值为标准灭菌时间,系灭菌过程赋予被灭菌物品 121°C 下的灭菌时间),应采取特别措施确保被灭菌物品能得到足够的无菌保证,此时,除对灭菌程序进行验证外,还必须在生产过程中对微生物进行监控,证明污染的微生物指标低于设定的限度。对热稳定的物品,灭菌工艺可首选过度杀灭法,以保证被灭菌物品获得足够的无菌保证值。热不稳定性物品,其灭菌工艺的确定依赖于在一定的时间内,一定的生产批次的被灭菌物品灭菌前微生物污染的水平及其耐热性。因此,日常生产全过程应对产品中污染的微生物进行连续地、严格地监控,并采取各种措施降低物品微生物污染水平,特别是防止耐热菌的污染。热不稳定性物品的 F_0 值一般不低于 8min。

采用湿热灭菌时,被灭菌物品应有适当的装载方式,不能排列过密,以保证灭菌的有效性和均一性。

湿热灭菌法应确认灭菌柜在不同装载时可能存在的冷点。当用生物指示剂进一步确认灭菌效果时,应将其置于冷点处。本法常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus stearothermophilus*)。

二、干热灭菌法

本法系指将物品置于干热灭菌柜、隧道灭菌器等设备中,利用干热空气达到杀灭微生物或消除热原物质的方法。适用于耐高温但不宜用湿热灭菌法灭菌的物品灭菌,如玻璃器具、金属制容器、纤维制品、固体试药、液状石蜡等均可采用本法灭菌。

干热灭菌条件一般为 $160 \sim 170^{\circ}\text{C} \times 120\text{min}$ 以上、 $170 \sim 180^{\circ}\text{C} \times 60\text{min}$ 以上或 $250^{\circ}\text{C} \times 45\text{min}$ 以上,也可采用其他温度和时间参数。无论采用何种灭菌条件,均应保证灭菌后的物品的 $\text{SAL} \leq 10^{-6}$ 。采用干热过度杀灭后的物品一般无需进行灭菌前污染微生物的测定。 $250^{\circ}\text{C} \times 45\text{min}$ 的干热灭菌也可除去无菌产品包装容器及有关生产灌装用具中的热原物质。

采用干热灭菌时,被灭菌物品应有适当的装载方式,不能排列过密,以保证灭菌的有效性和均一性。

干热灭菌法应确认灭菌柜中的温度分布符合设定的标准及确定最冷点位置等。常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus subtilis*)。细菌内毒素灭活验证试验是证明除热原过程有效性的试验。一般将不小于 1000 单位的细菌内毒素加入待去热原的物品中,证明该去热原工艺能使内毒素至少下降 3 个对数单位。细菌内毒素灭活验证试验所用的细菌内毒素一般为大肠埃希菌内毒素(*Escherichia coli* endotoxin)。

三、辐射灭菌法

本法系指将物品置于适宜放射源辐射的 γ 射线或适宜的电子加速器发生的电子束中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法。本法最常用的为 ^{60}Co γ 射线辐射灭菌。医疗器械、容器、生产辅助用品、不受辐射破坏的原料药及成品等均可用本法灭菌。

采用辐射灭菌法灭菌的无菌物品其 SAL 应 $\leq 10^{-6}$ 。 γ 射线辐射灭菌所控制的参数主要是辐射剂量(指灭菌物品的吸收剂量)。该剂量的制定应考虑灭菌物品的适应性及可能污染的微生物最大数量及最强抗辐射力,事先应验证所使用的剂量不影响被灭菌物品的安全性、有效性及稳定性。常用的辐射灭菌吸收剂量为 25kGy 。对最终产品、原料药、某些医疗器材应尽可能采用低辐射剂量灭菌。灭菌前,应对被灭菌物品微生物污染的数量和抗辐射强度进行测定,以评价灭菌过程赋予该灭菌物品的无菌保证水平。对于已设定的剂量,应定期审核,以验证其有效性。

灭菌时,应采用适当的化学或物理方法对灭菌物品吸收的辐射剂量进行监控,以充分证实灭菌物品吸收的剂量是在规定的限度内。如采用与灭菌物品一起被辐射的放射性剂量计,剂量计要置于规定的部位。在初安装时剂量计应用标准

菌进行校正,并定期进行再校正。

“Co-γ射线辐射灭菌法常用的生物指示剂为短小芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus pumilus*)。

四、气体灭菌法

本法系指用化学消毒剂形成的气体杀灭微生物的方法。常用的化学消毒剂有环氧乙烷、气态过氧化氢、甲醛、臭氧(O₃)等,本法适用于在气体中稳定的物品灭菌。采用气体灭菌法时,应注意灭菌气体的可燃易爆性、致畸性和残留毒性。

本法中最常用的气体是环氧乙烷,一般与80%~90%的惰性气体混合使用,在充有灭菌气体的高压腔室内进行。该法可用于医疗器械、塑料制品等不能采用高温灭菌的物品灭菌。含氯的物品及能吸附环氧乙烷的物品则不宜使用本法灭菌。

采用环氧乙烷灭菌时,灭菌柜内的温度、湿度、灭菌气体浓度、灭菌时间是影响灭菌效果的重要因素。可采用下列灭菌条件:

温度	54℃±10℃
相对湿度	60%±10%
灭菌压力	8×10 ⁵ Pa
灭菌时间	90min

灭菌条件应予验证。灭菌时,将灭菌腔室抽成真空,然后通入蒸汽使腔室内达到设定的温湿度平衡的额定值,再通入经过滤和预热的环氧乙烷气体。灭菌过程中,应严密监控腔室的温度、湿度、压力、环氧乙烷浓度及灭菌时间。必要时使用生物指示剂监控灭菌效果。本法灭菌程序的控制具有一定难度,整个灭菌过程应在技术熟练人员的监督下进行。灭菌后,应采取新鲜空气置换,使残留环氧乙烷和其他易挥发性残留物消散。并对灭菌物品中的环氧乙烷残留物和反应产物进行监控,以证明其不超过规定的浓度,避免产生毒性。

采用环氧乙烷灭菌时,应进行泄漏试验,以确认灭菌腔室的密闭性。灭菌程序确认时,还应考虑物品包装材料和灭菌腔室中物品的排列方式对灭菌气体的扩散和渗透的影响。生物指示剂一般采用枯草芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus subtilis*)。

五、过滤除菌法

本法系利用细菌不能通过致密具孔滤材的原理以除去气体或液体中微生物的方法。常用于气体、热不稳定的药品溶液或原料的除菌。

除菌过滤器采用孔径分布均匀的微孔滤膜作过滤材料,微孔滤膜分亲水性和疏水性两种。滤膜材质依过滤物品的性质及过滤目的而定。药品生产中采用的除菌滤膜孔径一般不超过0.22μm。过滤器的孔径定义来自过滤器对微生物的截留,而非平均孔径的分布系数。所以,用于最终除菌的过滤器必须选择具有截流实验证明的除菌级过滤器。过滤器对滤液的吸附不得影响药品质量,不得有纤维脱落,禁用含石棉的过滤器。过滤器的使用者应了解滤液

过滤过程中的析出物性质、数量并评估其毒性影响。过滤器和滤膜在使用前应进行洁净处理,并用高压蒸汽进行灭菌或作在线灭菌。更换品种和批次应先清洗过滤器,再更换滤芯或滤膜或直接更换过滤器。

过滤过程中无菌保证与过滤液体的初始生物负荷及过滤器的对数下降值LRV(log reduction value)有关。LRV系指规定条件下,被过滤液体过滤前的微生物数量与过滤后的微生物数量比的常用对数值。

即:

$$LRV = \lg N_0 - \lg N$$

式中 N_0 为产品除菌前的微生物数量。

N 为产品除菌后的微生物数量。

LRV用于表示过滤器的过滤除菌效率,对孔径为0.22μm的过滤器而言,要求每1cm²有效过滤面积的LRV应不小于7。因此过滤除菌时,被过滤产品总的污染量应控制在规定的限度内。为保证过滤除菌效果,可使用两个除菌级的过滤器串连过滤,或在灌装前用过滤器进行再次过滤。

在过滤除菌中,一般无法对全过程中过滤器的关键参数(滤膜孔径的大小及分布,滤膜的完整性及LRV)进行监控。因此,在每一次过滤除菌前后均应作滤器的完整性试验,即气泡点试验或压力维持试验或气体扩散流量试验,确认滤膜在除菌过滤过程中的有效性和完整性。完整性的测试标准来自于相关细菌截留实验数据。除菌过滤器的使用时间应进行验证,一般不应超过一个工作日,否则应进行验证。

过滤除菌法常用的生物指示剂为缺陷假单胞菌(*Pseudomonas diminuta*)。

通过过滤除菌法达到无菌的产品应严密监控其生产环境的洁净度,应在无菌环境下进行过滤操作。相关的设备、包装容器、塞子及其他物品应采用适当的方法进行灭菌,并防止再污染。

六、无菌生产工艺

无菌生产工艺系指必须在无菌控制条件下生产无菌制剂的方法,无菌分装及无菌冻干是最常见的无菌生产工艺。后者在工艺过程中须采用过滤除菌法。

无菌生产工艺应严密监控其生产环境的洁净度,并应在无菌控制的环境下进行过滤操作。相关的设备、包装容器、塞子及其他物品应采用适当的方法进行灭菌,并防止被再次污染。

无菌生产工艺过程的无菌保证应通过培养基无菌灌装模拟试验验证。在生产过程中,应严密监控生产环境的无菌空气质量、操作人员的素质、各物品的无菌性。

无菌生产工艺应定期进行验证,包括对环境空气过滤系统有效性验证及培养基模拟灌装试验。

生物指示剂

生物指示剂系一类特殊的活微生物制品,可用于确认灭

菌设备的性能、灭菌程序的验证、生产过程灭菌效果的监控等。用于灭菌验证中的生物指示剂一般是细菌的孢子。

1. 制备生物指示剂用微生物的基本要求

不同的灭菌方法使用不同的生物指示剂,制备生物指示剂所选用的微生物必须具备以下特性:

(1)菌种的耐受性应大于需灭菌产品中所有可能污染菌的耐受性。

(2)菌种应无致病性。

(3)菌株应稳定。存活期长,易于保存。

(4)易于培养。若使用休眠孢子,生物指示剂中休眠孢子含量要在90%以上。

2. 生物指示剂的制备

生物指示剂的制备应按一定的程序进行,制备前,需先确定所用微生物的特性,如D值(微生物的耐热参数,系指一定温度下,将微生物杀灭90%所需的时间,以分钟表示)等。菌株应用适宜的培养基进行培养。培养物应制成悬浮液,其中孢子的数量应占优势,孢子应悬浮于无营养的液体中保存。

生物指示剂中包含一定数量的一种或多种孢子,可制成多种形式。通常是将一定数量的孢子附着在惰性的载体上,如滤纸条、玻片、不锈钢、塑料制品等;孢子悬浮液也可密封于安瓿中;有的生物指示剂还配有培养基系统。D值除与灭菌条件相关外,还与微生物存在的环境有关。因此,一定形式的生物指示剂制备完成后,应测定D值和孢子总数。生物指示剂应选用合适的材料包装,并设定有效期。载体和包装材料在保护生物指示剂不致污染的同时,还应保证灭菌剂穿透并能与生物指示剂充分接触。载体和包装的设计原则是便于贮存、运输、取样、转移接种。

有些生物指示剂可直接将孢子接种至液体灭菌物或具有与其相似的物理和化学特性的替代品中。使用替代品时,应用数据证明二者的等效性。

3. 生物指示剂的应用

在灭菌程序的验证中,尽管可通过灭菌过程某些参数的监控来评估灭菌效果,但生物指示剂的被杀灭程度,则是评价一个灭菌程序有效性最直观的指标。可使用市售的标准生物指示剂,也可使用由日常生产污染菌监控中分离的耐受性最强的微生物制备的孢子。在生物指示剂验证试验中,需确定孢子在实际灭菌条件下的D值,并测定孢子的纯度和数量。验证时,生物指示剂的微生物用量应比日常检出的微生物污染量大,耐受性强,以保证灭菌程序有更大的安全性。在最终灭菌法中,生物指示剂应放在灭菌柜的不同部位。并避免指示剂直接接触到的被灭菌物品。生物指示

剂按设定的条件灭菌后取出,分别置培养基中培养,确定生物指示剂中的孢子是否被完全杀灭。

过度杀灭产品灭菌验证一般不考虑微生物污染水平,可采用市售的生物指示剂。对灭菌手段耐受性差的产品,设计灭菌程序时,根据经验预计在该生产工艺中产品微生物污染的水平,选择生物指示剂的菌种和孢子数量。这类产品的无菌保证应通过监控每批灭菌前的微生物污染的数量,耐受性和灭菌程序验证所获得的数据进行评估。

4. 常用生物指示剂

(1)湿热灭菌法 湿热灭菌法最常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus stearothermophilus*, 如 NCTC 10007、NCIMB 8157、ATCC 7953), D 值为1.5~3.0min, 每片(或每瓶)活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个,在121℃、19min下应被完全杀灭。此外,还可使用生孢梭菌孢子(Spores of *Clostridium sporogenes*, 如 NCTC 8594、NCIMB 8053、ATCC 7955), D 值为0.4~0.8min。

(2)干热灭菌法 干热灭菌法最常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus subtilis*, 如 NCIMB 8058、ATCC 9372)。D 值大于1.5min, 每片活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个。去热原验证时使用大肠埃希菌内毒素(*Escherichia coli* endotoxin), 加量不小于1000细菌内毒素单位。

(3)辐射灭菌法 辐射灭菌法最常用的生物指示剂为短小芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus pumilus*, 如 NCTC 10327、NCIMB 10692、ATCC 27142)。每片活孢子数 $10^5 \sim 10^6$, 置于放射剂量25kGy条件下, D 值约3kGy。但应注意灭菌物品中所负载的微生物可能比短小芽孢杆菌孢子显示更强的抗辐射力。因此短小芽孢杆菌孢子可用于监控灭菌过程,但不能用于灭菌辐射剂量建立的依据。

(4)气体灭菌法 环氧乙烷灭菌最常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus subtilis*, 如 NCTC 10073、ATCC 9372)。气态过氧化氢灭菌最常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus stearothermophilus*, 如 NCTC 10007、NCIMB 8157、ATCC 7953)。每片活孢子数 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个。环氧乙烷灭菌中, 枯草芽孢杆菌孢子 D 值大于2.5min, 在环氧乙烷浓度为600mg/L, 相对湿度为60%, 温度为54℃下灭菌, 60min 应被杀灭。

(5)过滤除菌法 过滤除菌法最常用的生物指示剂为缺陷假单胞菌(*Pseudomonas diminuta*, 如 ATCC 19146), 用于滤膜孔径为0.22μm的滤器; 黏质沙雷菌(*Serratia marcescens*) (ATCC 14756) 用于滤膜孔径为0.45μm的滤器。

附录XVII 原子量表

 $(^{12}\text{C}=12.00)$

(摘自 2001 年国际原子量表)

中文名	英文名	符号	原子量	中文名	英文名	符号	原子量
氢	Hydrogen	H	1.00794(7)	砷	Arsenic	As	74.92160(2)
氦	Helium	He	4.002602(2)	硒	Selenium	Se	78.96(3)
锂	Lithium	Li	6.941(2)	溴	Bromine	Br	79.904(1)
硼	Boron	B	10.811(7)	锶	Strontium	Sr	87.62(1)
碳	Carbon	C	12.0107(8)	锆	Zirconium	Zr	91.224(2)
氮	Nitrogen	N	14.0067(2)	钼	Molybdenum	Mo	95.94(2)
氧	Oxygen	O	15.9994(3)	锝	Technetium	Tc	[99]
氟	Fluorine	F	18.9984032(5)	钯	Palladium	Pd	106.42(1)
钠	Sodium(Natrium)	Na	22.989770(2)	银	Silver(Argentum)	Ag	107.8682(2)
镁	Magnesium	Mg	24.3050(6)	镉	Cadmium	Cd	112.411(8)
铝	Aluminium	Al	26.981538(2)	铟	Indium	In	114.818(3)
硅	Silicon	Si	28.0855(3)	锡	Tin(Stannum)	Sn	118.710(7)
磷	Phosphorus	P	30.973761(2)	锑	Antimony(Stibium)	Sb	121.760(1)
硫	Sulfur	S	32.065(5)	碘	Iodine	I	126.90447(3)
氯	Chlorine	Cl	35.453(2)	碲	Tellurium	Te	127.60(3)
氩	Argon	Ar	39.948(1)	氙	Xenon	Xe	131.293(6)
钾	Potassium(Kalium)	K	39.0983(1)	钡	Barium	Ba	137.327(7)
钙	Calcium	Ca	40.078(4)	镧	Lanthanum	La	138.9055(2)
钛	Titanium	Ti	47.867(1)	铈	Cerium	Ce	140.116(1)
钒	Vanadium	V	50.9415(1)	铥	Holmium	Ho	164.93032(2)
铬	Chromium	Cr	51.9961(6)	镱	Ytterbium	Yb	173.04(3)
锰	Manganese	Mn	54.938049(9)	钨	Tungsten(Wolfram)	W	183.84(1)
铁	Iron(Ferrum)	Fe	55.845(2)	铂	Platinum	Pt	195.078(2)
钴	Cobalt	Co	58.933200(9)	金	Gold(Aurum)	Au	196.96655(2)
镍	Nickel	Ni	58.6934(2)	汞	Mercury(Hydrargyrum)	Hg	200.59(2)
铜	Copper(Cuprum)	Cu	63.546(3)	铅	Lead(Plumbum)	Pb	207.2(1)
锌	Zinc	Zn	65.409(4)	铋	Bismuth	Bi	208.98038(2)
镓	Gallium	Ga	69.723(1)	钍	Thorium	Th	232.0381(1)
锗	Germanium	Ge	72.64(1)	铀	Uranium	U	238.02891(3)

注:1. 原子量末位数的准确度加注在其后括号内。

2. 中括号内的数字是半衰期最长的放射性同位素的质量数。

附录 XVIII A 中药质量标准分析方法 验证指导原则

中药质量标准分析方法验证的目的是证明采用的方法是否适合于相应检测要求。在建立中药质量标准时,分析方法需经验证;在处方、工艺等变更或改变原分析方法时,也需对分析方法进行验证。方法验证过程和结果均应记载在药品质量标准起草说明或修订说明中。

需验证的分析项目有:鉴别试验、限量检查和含量测定,以及其他需控制成分(如残留物、添加剂等)的测定。中药制剂溶出度、释放度等检查中,其溶出量等检测方法也应作必要验证。

验证内容有:准确度、精密度(包括重复性、中间精密度和重现性)、专属性、检测限、定量限、线性、范围和耐用性。应视具体方法拟订验证的内容。附表中列出的分析项目和相应的验证内容可供参考。

方法验证内容如下:

一、准确度

准确度系指用该方法测定的结果与真实值或参考值接近的程度,一般用回收率(%)表示。准确度应在规定的范围内测试。用于定量测定的分析方法均需做准确度验证。

1. 测定方法的准确度

可用已知纯度的对照品做加样回收测定,即于已知被测成分含量的供试品中再精密加入一定量的已知纯度的被测成分对照品,依法测定。用实测值与供试品中含有量之差,除以加入对照品量计算回收率。

在加样回收试验中须注意对照品的加入量与供试品中被测成分含有量之和必须在标准曲线线性范围之内;加入的对照品的量要适当,过小则引起较大的相对误差,过大则干扰成分相对减少,真实性差。

$$\text{回收率}\% = \frac{C-A}{B} \times 100\%$$

式中 A 为供试品所含被测成分量;

B 为加入对照品量;

C 为实测值。

2. 数据要求

在规定范围内,取同一浓度的供试品,用 6 个测定结果进行评价;或设计 3 个不同浓度,每个浓度各分别制备 3 份供试品溶液进行测定,用 9 个测定结果进行评价,一般中间浓度加入量与所取供试品含量之比控制在 1:1 左右。应报告供试品取样量、供试品中含有量、对照品加入量、测定结果和回收率(%)计算值,以及回收率(%)的相对标准偏差(RSD%)或

可信限。

二、精密度

精密度系指在规定的测试条件下,同一个均匀供试品,经多次取样测定所得结果之间的接近程度。精密度一般用偏差、标准偏差或相对标准偏差表示。

精密度包含重复性、中间精密度和重现性。

在相同操作条件下,由同一个分析人员在较短的间隔时间内测定所得结果的精密度称为重复性;在同一个实验室,不同时间由不同分析人员用不同设备测定结果之间的精密度称为中间精密度;在不同实验室由不同分析人员测定结果之间的精密度称为重现性。

用于定量测定的分析方法均应考察方法的精密度。

1. 重复性

在规定范围内,取同一浓度的供试品,用 6 个测定结果进行评价;或设计 3 个不同浓度,每个浓度各分别制备 3 份供试品溶液进行测定,用 9 个测定结果进行评价。

2. 中间精密度

为考察随机变动因素对精密度的影响,应进行中间精密度试验。变动因素为不同日期、不同分析人员、不同设备等。

3. 重现性

当分析方法将被法定标准采用时,应进行重现性试验。例如建立药典分析方法时通过不同实验室的复核检验得出重现性结果。复核检验的目的、过程和重现性结果均应记载在起草说明中。应注意重现性试验用的样品本身的质量均匀性和贮存运输中的环境影响因素,以免影响重现性结果。

4. 数据要求

均应报告标准偏差、相对标准偏差或可信限。

三、专属性

专属性系指在其他成分可能存在下,采用的方法能正确测定出被测成分的特性。鉴别试验、限量检查、含量测定等方法均应考察其专属性。

1. 鉴别试验

应能与可能共存的物质或结构相似化合物区分。不含被测成分的供试品,以及结构相似或组分中的有关化合物,均不得干扰测定。显微鉴别、色谱及光谱鉴别等应附相应的代表性图像或图谱。

2. 含量测定和限量检查

以不含被测成分的供试品(除去含待测成分药材或不含待测成分的模拟复方)试验说明方法的专属性。色谱法、光谱法等应附代表性图谱,并标明相关成分在图中的位置,色谱法中的分离度应符合要求。必要时可采用二极管阵列检测和质谱检测,进行峰纯度检查。

四、检测限

检测限系指供试品中被测物能被检测出的最低量。确定检测限常用的方法如下。

1. 直观法

用一系列已知浓度的供试品进行分析,试验出能被可靠地检测出的最低浓度或量。

可用于非仪器分析方法,也可用于仪器分析方法。

2. 信噪比法

仅适用于能显示基线噪声的分析方法,即把已知低浓度供试品测出的信号与空白样品测出的信号进行比较,算出能被可靠地检测出的最低浓度或量。一般以信噪比为 3:1 或 2:1 时相应浓度或注入仪器的量确定检测限。

3. 数据要求

应附测试图谱,说明测试过程和检测限结果。

五、定量限

定量限系指供试品中被测成分能被定量测定的最低量,其测定结果应具一定准确度和精密度。用于限量检查的定量测定的分析方法应确定定量限。

常用信噪比法确定定量限。一般以信噪比为 10:1 时相应浓度或注入仪器的量进行确定。

六、线性

线性系指在设计的范围内,测试结果与供试品中被测物浓度直接呈正比关系的程度。

应在规定的范围内测定线性关系。可用一贮备液经精密稀释,或分别精密称样,制备一系列供试品的方法进行测定,至少制备 5 个浓度的供试品。以测得的响应信号作为被测物浓度的函数作图,观察是否呈线性,再用最小二乘法进行线性回归。必要时,响应信号可经数学转换,再进行线性回归计算。

数据要求:应列出回归方程、相关系数和线性图。

七、范围

范围系指能达到一定精密度、准确度和线性,测试方法适用的高低限浓度或量的区间。

范围应根据分析方法的具体应用和线性、准确度、精密度结果及要求确定。对于有毒的、具特殊功效或药理作用的成分,其范围应大于被限定含量的区间。溶出度或释放度中的溶出量测定,范围应为限度的 $\pm 20\%$ 。

八、耐用性

耐用性系指在测定条件有小的变动时,测定结果不受影响的承受程度,为使方法用于常规检验提供依据。开始研究方法时,就应考虑其耐用性。如果测试条件要求苛刻,则应在方法中写明。典型的变动因素有:被测溶液的稳定性,样品提取次数、时间等。液相色谱法中典型的变动因素有:流动相的组成比例或 pH 值,不同厂牌或不同批号的同类型色谱柱,柱温,流速及检测波长等。气相色谱法变动因素有:不同厂牌或批号的色谱柱,固定相,不同类型的担体,柱温,进样口和检测器温度等。薄层色谱的变动因素有:不同厂牌的薄层板,点样方式及薄层展开时温度及相对湿度的变化等。

经试验,应说明小的变动能否通过设计的系统适用性试验,以确保方法有效。

附表 检验项目和验证内容

项目 内容	鉴 别	限量检查		含量测定及 溶出量测定
		定量	限度	
准确度	—	+	—	+
重复性	—	+	—	+
中间精密度	—	+	—	+
重现性 ^①	+	+	—	+
专属性 ^②	+	+	+	+
检测限	—	—	+	—
定量限	—	+	—	—
线性	—	+	—	+
范围	—	+	—	+
耐用性	+	+	+	+

①已有重现性验证,不需验证中间精密度。

②重现性只有在该分析方法将被法定标准采用时做。

③如一种方法不够专属,可用其他分析方法予以补充。

上表中列举了在不同类型的分析方法验证中被认为是最重要的项目,“—”表示通常不需要验证的项目,“+”表示通常需要验证的项目,如遇特殊情况,仍应根据具体分析对象和情况而定。

附录 XVIII B 中药注射剂安全性检查法应用指导原则

本指导原则为中药注射剂临床使用的安全性和制剂质量可控性而定。

中药注射剂安全性检查包括热原(或细菌内毒素)、异常毒性、降压物质、过敏反应物质、溶血与凝聚等项。根据处方、工艺、用法及用量等设定相应的检查项目并进行适用性研究。

一、中药安全性检查项目的设定

静脉用注射剂 应设热原(或细菌内毒素)、异常毒性、过敏反应、溶血与凝聚等安全性检查项,除功能主治中具有与降压物质相关内容的注射剂外,还应考虑设降压物质检查项。

由于中药注射剂中致人体发热成分和干扰细菌内毒素检查法的因素复杂多变,一般首选热原检查项,但若该药本身的药理作用或对家兔的毒性反应影响热原检测,可选择细菌内毒素检查项。

肌内注射用注射剂 应设异常毒性、过敏反应等检查项。

二、安全性检查方法和检查限值确定

检查方法和检查限值可按以下各项目内容要求进行研究。研究确定限值后,至少应进行 3 批以上供试品的检查验证。

1. 热原或细菌内毒素检查

本法系利用家兔(或鲎试剂)测定供试品所含的热原(或细菌内毒素)的限量是否符合规定。不合格供试品在临床应用时可产生热原反应而造成严重的不良后果。

检查方法 参照热原检查法(附录 XIII A)或细菌内毒素

检查法(附录XIII D)。

设定限值前研究 热原检查应做适用性研究,求得对家兔无毒性反应、不影响正常体温和无解热作用剂量;细菌内毒素检查应进行干扰试验,求得最大无干扰浓度。

设定限值 热原和细菌内毒素检查的限值根据临床1小时内最大用药剂量计算。热原检查限值可参照临床剂量计算,一般为每人用每千克体重每小时最大供试品剂量的3~5倍,供试品注射体积每千克体重一般不少于0.5ml,不超过10ml。细菌内毒素检查限值按规定要求计算,根据药品和适应症(如抗感染、抗肿瘤、心血管药等急重病症用药、儿童老人用药、复合用药、大输液等)的不同,限值可适当严格,至计算值的1/3~1/2,以保证安全用药。

热原限值剂量应不影响正常体温,细菌内毒素测定浓度应无干扰反应。如有干扰或影响,可在品种项下增加稀释浓度、调节pH和渗透压或缓慢注射等排除干扰或影响的特殊规定。

2. 异常毒性检查

本法系将一定量的供试品溶液注入小鼠体内,规定时间内观察小鼠出现的死亡情况,以判定供试品是否符合规定。供试品的不合格表明药品中混有超过药物本身毒性的毒性杂质,临床用药将可能增加急性不良反应。

检查方法 参照异常毒性检查法(附录XIII E)。

设定限值前研究 参考文献数据并经单次静脉注射给药确定该注射剂的急性毒性数据(LD₅₀或LD₀₁及其可信限)。有条件时,由多个实验室或多种来源动物试验求得LD₅₀和LD₀₁数据。注射速度0.1ml/s,观察时间为72小时。如其他给药途径或延长观察时间,应进行相应途径或相应观察时间的急性毒性试验。

设定限值 异常毒性检查的限值应低于该注射剂本身毒性的最低致死剂量,考虑到实验室间差异、动物反应差异和制剂的差异,建议限值至少应小于LD₀₁可信限下限的1/3(建议采用1/3~1/6),如难以计算得最低致死量,可采用小于LD₅₀可信限下限的1/4(建议采用1/4~1/8)。如半数致死量与临床体重剂量之比小于20可采用LD₅₀可信限下限的1/4或LD₀₁可信限下限的1/3。静脉注射最大剂量0.8ml/20g仍未见毒性反应或死亡,可以此作为检查限值。

如对动物、给药途径和给药次数、观察指标和时间等方法 and 限值有特殊要求时应在品种项下另作规定。

3. 降压物质检查

本法系通过静脉注射限值剂量供试品,观察对麻醉猫的血压反应,以判定供试品中所含降压物质的限值是否符合规定。供试品的不合格表明药品中含有限值以上的影响血压反应的物质,临床用药时可能引起急性降压不良反应。

检查方法 参照降压物质检查法(附录XIII F)。

设定限值前研究 供试品按一定注射速度静脉注射不同剂量后(供试品溶液与组胺对照品溶液的注射体积一般应相同,通常为0.2~1ml/kg),观察供试品对猫血压反应的剂量反应关系,求得供试品降压物质检查符合规定的最大剂量(最

大无降压反应剂量)。

设定限值 一般以临床单次用药剂量的1/5~5倍作为降压反应物质检查剂量限值,急重病症用药尽可能采用高限。

特殊情况下,如供试品有一定降压作用,则可按最大无降压反应剂量的1/2~1/4作为限值剂量;供试品原液静脉注射1ml/kg剂量未见降压反应,该剂量可作为给药限值。

4. 过敏反应检查

本法系将一定量的供试品皮下或腹腔注射入豚鼠体内致敏,间隔一定时间后静脉注射供试品进行激发,观察豚鼠出现过敏反应的情况,以此判定供试品是否符合规定。供试品不合格表明注射剂含有过敏反应物质,临床用药时可能使患者致敏或产生过敏反应,引起严重不良反应。

检查方法 参照过敏反应检查法(附录XIII G)。

设定限值前研究 测定供试品对豚鼠腹腔(或皮下)和静脉给药的无毒性反应剂量。必要时,可采用注射剂的半成品原辅料进行致敏和激发研究,确定致敏方式和次数,在首次给药后14、21、28天中选择最佳激发时间。

设定限值 致敏和激发剂量应小于该途径的急性毒性反应剂量,适当参考临床剂量。一般激发剂量大于致敏剂量。常用腹腔或鼠蹊部皮下注射途径致敏,每次每只0.5ml,每只1ml静脉注射激发。如致敏剂量较小,可适当增加致敏次数,方法和限值的特殊要求应在品种项下规定。

5. 溶血与凝聚检查

本法系将一定量供试品与2%兔红细胞混悬液混合,温育一定时间后,观察其对红细胞的溶血与凝聚反应以判定供试品是否符合规定。

检查方法 参照溶血与凝聚检查法(附录XIII H)。

设定限值前研究 对注射剂原液和稀释液进行溶血与凝聚实验研究,指标除目测外可增加比色法和显微镜下观察的方法,同时观察溶血和凝聚,确定无溶血和凝聚的最大浓度。

设定限值 以无溶血和凝聚的最大浓度的1/2作为限值浓度,一般应高于临床最大使用浓度。

附录XVIII C 中药生物活性测定指导原则

生物活性测定法是以药物的生物效应为基础,以生物统计为工具,运用特定的实验设计,测定药物有效性的一种方法,从而达到控制药品质量的作用。其测定方法包括生物效价测定法和生物活性限值测定法。

中药的药材来源广泛、多变,制备工艺复杂,使得中药制剂的质量控制相对困难,此外,中药含有多种活性成分和具有多种药理作用,因此,仅控制少数成分不能完全控制其质量和反映临床疗效。为了使中药的质量标准能更好地保证每批药品的临床使用安全有效,有必要在现有含量测定的基础上增加生物活性测定,以综合评价其质量。

本指导原则的目的是规范中药生物活性测定研究,为该

类研究的实验设计、方法学建立等过程和测定方法的适用范围提供指导性的原则要求。

基本原则

符合药理学研究基本原则 建立的生物活性测定方法应符合药理学研究的随机、对照、重复的基本原则；具备简单、精确的特点；应有明确的判断标准。

体现中医药特点 鼓励应用生物活性测定方法探索中药质量控制，拟建立的方法的测定指标应与该中药的“功能与主治”相关。

品种选择合理 拟开展生物活性测定研究的中药材、饮片、提取物或中成药应功能主治明确，其中，优先考虑适应症明确的品种，对中药注射剂、急重症用药等应重点进行研究。

方法科学可靠 优先选用生物效价测定法，不能建立生物效价测定的品种可考虑采用生物活性限值测定法，待条件成熟后可进一步研究采用生物效价测定法。

基本内容

1. 实验条件

试验系选择 生物活性测定所用的试验系，包括整体动物、离体器官、血清、微生物、组织、细胞、亚细胞器、受体、离子通道和酶等。试验系的选择与试验原理和测定指标密切相关，应选择背景资料清楚、影响因素少、检测指标灵敏和成本低廉的试验系统。应尽可能研究各种因素对试验系的影响，采取必要的措施对影响因素进行控制。

如采用实验动物，尽可能使用小鼠和大鼠等来源多，成本低的实验动物，并说明其种属、品系、性别和年龄。实验动物的使用，应遵循“优化、减少、替代”的“3R”原则。

供试品选择 应选择工艺稳定，质量合格的供试品。若为饮片，应基源清楚。应至少使用 3 批供试品。

标准品或对照品选择 如采用生物效价测定法，应有基本同质的标准品以测定供试品的相对效价，标准品的选择应首选中药标准品，也可以考虑化学药作为标准品。如采用生物活性限值测定法，可采用中药成分或化学药品作为方法可靠性验证用对照品。采用标准品或对照品均应有理论依据和/或实验依据。国家标准中采用的标准品或对照品的使用应符合国家有关规定要求。

2. 实验设计

设计原理 所选实验方法的原理应明确，所选择的检测指标应客观、专属性强，能够体现供试品的功能与主治或药理作用。

设计类型 如采用生物效价测定法，应按中国药典二部附录生物检定统计法(附录 XI V)的要求进行实验设计研究；如采用生物活性限值测定法，试验设计可考虑设供试品组、阴性对照组或阳性对照组，测定方法使用动物模型时，应考虑设置模型对照组。重现性好的试验，也可以不设或仅在复试时

设阳性对照组。

剂量设计 如采用生物效价测定法，供试品和标准品均采用多剂量组试验，并按生物检定的要求进行合理的剂量设计，使不同剂量之间的生物效应有显著性差异。如采用生物活性限值测定法，建议只设一个限值剂量，限值剂量应以产生生物效应为宜；但在方法学研究时，应采用多剂量试验，充分说明标准中设定限值剂量的依据。

给药途径 一般应与临床用药途径一致。如采用不同的给药途径，应说明理由。

给药次数 根据药效学研究合理设计给药次数，可采用多次或单次给药。

指标选择 应客观、明确、专属，与“功能主治”相关。

3. 结果与统计

试验结果评价应符合生物统计要求。生物效价测定法应符合中国药典二部附录生物检定统计法(附录 XI V)的要求，根据样品测定结果的变异性决定效价范围和可信限率(FL%)限值；生物活性限值测定法，应对误差控制进行说明，明确试验成立的判定依据，对结果进行统计学分析，并说明具体的统计方法和选择依据。

4. 判断标准

生物效价测定，应按品种的效价范围和可信限率(FL%)限值进行结果判断。生物活性限值测定，应在规定的限值剂量下判定结果，初试结果有统计学意义者，可判定为符合规定；初试结果没有统计学意义者，可增加样本数进行一次复试，复试时应增设阳性对照组，复试结果有统计学意义，判定为符合规定，否则为不符合规定。

方法学验证

1. 测定方法影响因素考察

应考察测定方法的各种影响因素，通过考察确定最佳的试验条件，以保证试验方法的专属性和准确性。根据对影响因素考察结果，规定方法的误差控制限值或对统计有效性进行说明。

2. 精密度考察

应进行重复性、中间精密度、重现性考察。

重复性 按确定的测定方法，至少用 3 批供试品，每批 3 次或同批供试品进行 6 次测定试验后对结果进行评价。生物活性测定试验结果判断应基本一致。

中间精密度 考察实验室内部条件改变(如不同人员、不同仪器、不同工作日和实验时间)对测定结果的影响，至少应对同实验室改变人员进行考察。

重现性 生物活性测定试验结果必须在 3 家以上实验室能够重现。

3. 方法适用性考察

按拟采用的生物活性测定方法和剂量对 10 批以上该产品进行测定，以积累数据，考察质量标准中该测定项目的适用性。

附录XVIII D 抑菌剂效力检查法 指导原则

抑菌剂效力检查法系用于测定灭菌、非灭菌制剂中抑菌剂的活性,以评价最终产品的抑菌效力,同时也可用于指导生产企业在研发阶段制剂中抑菌剂浓度的确定。

如果药物本身不具有充分的抗菌活性,那么应根据制剂特性(如水溶液制剂)添加适宜的抑菌剂,以防止制剂在正常贮藏和使用过程中可能发生的微生物污染和繁殖使药物发生变质而对使用者造成危害,尤其是多剂量包装的制剂。

在药品生产过程中,抑菌剂不能用于替代药品生产的GMP管理,不能作为非灭菌制剂降低微生物污染的唯一途径,也不能作为控制多剂量包装制剂灭菌前的生物负载的手段。

所有抑菌剂都具有一定的毒性,制剂中抑菌剂的量应为最低有效量。同时,为保证用药安全,最终包装容器中的抑菌剂有效浓度应低于对人体有害的浓度。

在制剂通则中要求具有抗菌活性的制剂,不管是添加的抑菌剂,还是药物本身具有抗菌活性,在药物研发阶段,均应确认其抗菌效力。抑菌剂的抗菌效力在贮存过程中有可能因药物的成分或包装容器等因素影响而提高或降低,因此,应验证最终容器中的抑菌剂效力在有效期内不因贮藏条件而降低。

本试验方法和抑菌剂抑菌效力判断标准用于包装未启开的成品制剂。

产品分类

进行本试验的药品分为四类(见表1),以便标准的制定和执行。

表1 产品分类

类别	药 品
1类	注射剂、其他非肠道制剂,包括乳剂、耳用制剂、无菌鼻用制剂及眼用制剂
2类	局部给药制剂、非灭菌鼻用制剂及用于黏膜的乳剂
3类	口服非固体制剂(非抗酸制剂)
4类	非固体抗酸制剂

培养基

培养基的制备

1. 胰酪胨大豆肉汤培养基(TSB)

酪蛋白胨	17.0g	磷酸二氢钾	2.5g
大豆木瓜蛋白酶消化物	3.0g	氯化钠	5.0g
葡萄糖	2.5g	水	1000ml

除葡萄糖外,取上述成分混合,微温溶解,调pH值约7.0,煮沸,加入葡萄糖溶解后,摇匀,滤清,调节pH值使灭菌后为 7.3 ± 0.2 ,分装,灭菌。

2. 胰酪胨大豆琼脂培养基(TSA)

附录134

除上述胰酪胨大豆肉汤培养基的处方和制法,加入14.5g琼脂,调pH值使灭菌后为 7.3 ± 0.2 ,分装,灭菌。

3. 沙氏葡萄糖液体培养基、沙氏葡萄糖琼脂培养基 照微生物限度检查法(附录XIII C)制备。

培养基的适用性检查

抑菌剂效力测定用培养基应进行培养基的适用性检查,包括成品培养基,由脱水培养基或按处方配制的培养基均应检查。

菌种 试验所用的菌株传代次数不得超过5代(从菌种保藏中心获得的冷冻干燥菌种为第0代),并采用适宜的菌种保藏技术进行保存,以保证试验菌株的生物学特性。

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) [CMCC(B) 10104]

大肠埃希菌(*Escherichia coli*) [CMCC(B) 44102]

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) [CMCC(B) 26103]

白色念珠菌(*Candida albicans*) [CMCC(F) 98001]

黑曲霉(*Aspergillus niger*) [CMCC(F) 98003]

菌液制备 接种大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌的新鲜培养物至胰酪胨大豆肉汤培养基中,30~35℃培养18~24小时;接种白色念珠菌的新鲜培养物至沙氏葡萄糖液体培养基中,20~25℃培养24~48小时。上述培养物用0.9%无菌氯化钠溶液制成每1ml含菌数为50~100cfu的菌悬液。接种黑曲霉的新鲜培养物至沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基中,20~25℃培养5~7天,加入3~5ml含0.05%(ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液,将孢子洗脱。然后,用适宜方法吸出孢子悬液至无菌试管内,用含0.05%(ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液制成每1ml含孢子数50~100cfu的孢子悬液。

菌液制备后若在室温下放置,应在2小时内使用;若保存在2~8℃,可在24小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在2~8℃,在验证过的贮存期内使用。

适用性检查 取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌各50~100cfu,分别注入无菌平皿中,立即倾注胰酪胨大豆琼脂培养基,每株试验菌平行制备2个平皿,混匀,凝固,置30~35℃培养48小时,计数;取白色念珠菌、黑曲霉各50~100cfu,分别注入无菌平皿中,立即倾注沙氏葡萄糖琼脂培养基,每株试验菌平行制备2个平皿,混匀,凝固,置20~25℃培养72小时,计数;同时,用对应的对照培养基替代被检培养基进行上述试验。

结果判定 若被检培养基上的菌落平均数不小于对照培养基上菌落平均数的70%,且菌落形态大小与对照培养基上的菌落一致,判该培养基的适用性检查符合规定。

抑菌剂效力测定

菌种 同培养基的适用性检查,若需要,制剂中常见的污染微生物也可作为试验菌株。

菌液制备 接种铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃

菌的新鲜培养物至胰酪胨大豆肉汤培养基或胰酪胨大豆琼脂培养基中, 30~35℃ 培养 18~24 小时; 接种白色念珠菌于沙氏葡萄糖液体培养基或沙氏葡萄糖琼脂培养基中, 20~25℃ 培养 24~48 小时。若为琼脂培养物, 加入适量的 0.9% 无菌氯化钠溶液将琼脂表面的培养物洗脱, 然后, 用适宜方法吸出菌悬液至无菌试管内, 加入适量的 0.9% 无菌氯化钠溶液并采用比浊法制成每 1ml 含菌数约为 10^8 cfu 的菌悬液。若为液体培养物, 用离心法收集菌体, 并用 0.9% 无菌氯化钠溶液冲洗, 采用比浊法制成每 1ml 含菌数约为 10^8 cfu 的菌悬液。接种黑曲霉的新鲜培养物至沙氏葡萄糖琼脂培养基中, 23~28℃ 培养 5~7 天, 加入 3~5ml 含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液, 将孢子洗脱, 然后, 用适宜方法吸出孢子悬液至无菌试管内, 加入适量的含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液并采用比浊法制成每 1ml 含孢子数 10^8 cfu 的孢子悬液。同时采用平皿法测定 1ml 菌悬液的菌数。

菌液制备后若在室温下放置, 应在 2 小时内使用; 若保存在 2~8℃, 可在 24 小时内使用。黑曲霉的孢子悬液可保存在 2~8℃, 在 1 周内使用。

供试品接种 抑菌剂效力可能受试验用容器特征的影响, 如容器的材质、形状、体积及封口的方式等。因此, 只要供试品每个包装容器的装量足够试验用, 同时容器便于按无菌操作技术接入试验菌液、混合及取样等, 一般应将试验菌直接接种于供试品原包装容器中进行贮存。若因供试品的性状或每个容器装量等因素需将供试品转移至无菌容器时, 该容器的材质不得影响供试品的特性 (如吸附作用), 特别应注意不得影响供试品的 pH, pH 对抑菌剂的活性影响很大, 同时容器的口径大小应便于供试品的进出及混匀。

取包装完整的供试品至少 5 份, 直接接种试验菌, 或取适量供试品分别转移至 5 个适宜的无菌容器中 (若试验菌株数超过 5 株, 应增加相应的供试品份数), 每一容器接种一种试验菌, 1、2、3 类供试品中 1g 或 1ml 接种菌量为 $10^5 \sim 10^6$ cfu, 4 类供试品中 1g 或 1ml 接种菌量为 $10^3 \sim 10^4$ cfu, 接种菌液的体积不得超过供试品体积的 0.5%~1%, 充分混合, 使供试品中的试验菌均匀分布。然后将接种的供试品在试验期间置 20~25℃, 避光贮存, 贮存温度的变化应尽可能控制在最小范围, 并防止被污染。

存活菌数测定 根据产品类型, 在供试品刚接种 (0 时) 及表 2 规定的间隔时间, 分别从上述每个容器中取供试品 1ml (g), 用 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液稀释成 1:10、1:10²、1:10³ 等稀释级。采用平皿法或薄膜过滤法 (照附录 XIII C 微生物限度检查法, 其中测定细菌用胰酪胨大豆琼脂培养基, 测定真菌用沙氏葡萄糖琼脂培养基) 测定每份供试品中所含的菌数。菌数测定方法应进行验证, 验证方法按微生物限度检查法 (附录 XIII C) 中的“计数方法的验证”进行, 其中测定细菌用胰酪胨大豆琼脂培养基, 测定真菌用沙氏葡萄糖琼脂培养基。

根据菌数测定结果, 计算 1ml (g) 供试品各试验菌所加的菌数及各间隔时间的菌数, 并换算成 lg 值。

结果判断 抑菌剂效力根据各间隔时间的菌数 lg 值相对于初始值 (0 时菌数 lg 值) 减少程度进行评价 (表 2)。试验结果按有效数字的修约规则进舍, 保留小数点后 1 位有效数字。结果符合表 2 要求可判定该产品抑菌效力符合规定。

表 2 抑菌剂抑菌效力判断标准

1 类供试品	
细菌	7 天菌数下降不少于 1.0 lg, 14 天菌数下降不少于 3.0 lg, 14 天到 28 天菌数不增加
真菌	与初始值比, 7、14、28 天菌数均不增加
2 类供试品	
细菌	14 天菌数下降不少于 2.0 lg, 14 天到 28 天菌数不增加
真菌	与初始值比, 14、28 天菌数均不增加
3 类供试品	
细菌	14 天菌数下降不少于 1.0 lg, 14 天到 28 天菌数不增加
真菌	与初始值比, 14、28 天菌数均不增加
4 类供试品	
细菌, 真菌	与初始值比, 14、28 天菌数均不增加

注: 表中“不增加”是指对前一个测定时间, 试验菌增加的数量不超过 0.5 lg。

附录 XVIII E 药品微生物检验替代方法验证指导原则

本指导原则是为所采用的试验方法能否替代药典规定的方法用于药品微生物的检验提供指导。

随着微生物学的迅速发展, 制药领域不断引入了一些新的微生物检验技术, 大体可分为三类: (1) 基于微生物生长信息的检验技术, 如生物发光技术、电化学技术、比浊法等; (2) 直接测定被测介质中活微生物的检验技术, 如固相细胞技术法、流式细胞计数法等; (3) 基于微生物细胞所含有特定组成成分的分析技术, 如脂肪酸测定技术、核酸扩增技术、基因指纹分析技术等。这些方法与传统检查方法比较, 或简便快速, 或具有实时或近实时监控的潜力, 使生产早期采取纠正措施及监控和指导优良生产成为可能, 同时新技术的使用也促进了生产成本降低及检验水平的提高。

在控制中药微生物质量中, 微生物实验室出于各种原因如成本、生产量、快速简便及提高药品质量等需要而采用非药典规定的检验方法 (即替代方法) 时, 应进行替代方法的验证, 确认其应用效果优于或等同于药典的方法。

微生物检验的类型及验证参数

药品微生物检验方法主要分两种类型: 定性试验和定量

试验。定性试验就是测定样品中是否存在活的微生物,如无菌检查及控制菌检查。定量试验就是测定样品中存在的微生物数量,如菌落计数试验。

由于生物试验的特殊性,如微生物检验方法中的抽样误差、稀释误差、操作误差、培养误差和计数误差都会对检验结果造成影响,因此,中药质量标准分析方法验证指导原则(附录 XVIII A)不完全适用于微生物替代方法的验证。药品微生物检验替代方法的验证参数见表 1。

表 1 不同微生物检验类型验证参数

参数	定性检验	定量检验
准确度	—	+
精密度	—	+
专属性	+	+
检测限	+	—
定量限	—	+
线性	—	+
范围	—	+
耐用性	+	+
重现性	+	+

注: + 表示需要验证的参数;—表示不需要验证的参数。

尽管替代方法的验证参数与中药质量标准分析方法验证参数有相似之处,但是其具体的内容是依据微生物检验特点而设立的。替代方法验证的实验结果需进行统计分析,当替代方法属于定性检验时,一般采用非参数的统计技术;当替代方法属于定量检验时,需要采用参数统计技术。

进行微生物替代方法的验证时,若替代方法只是针对药典方法中的某一环节进行技术修改,此时,需要验证的对象仅是该项替代技术而不是整个检验方法。如无菌试验若改为使用含培养基的过滤器,然后通过适宜的技术确认活的微生物存在,那么,验证时仅需验证所用的微生物回收系统而不是整个无菌试验方法。

替代方法验证的一般要求

在开展替代方法对样品检验的适用性验证前,有必要对替代方法有一个全面的了解。首先,所选用的替代方法应具备必要的方法适用性证据,表明在不含样品的情况下,替代方法在不同类型的微生物检验中所具有的专属性、精密度和检测限等参数。这些证据或由替代方法的研发者提供,或由方法使用者完成。

使用者在基本确认替代方法的适用性后,应采用样品按表 1 规定的参数逐一进行验证,以确认替代方法可否用于该样品的检验。验证至少使用 2 个批号的样品,每批样品应平行进行至少 3 次独立实验。

在开展各参数验证时,涉及的菌种除应包括微生物限度检查法(附录 XIII C)和无菌检查法(附录 XIII B)中培养基适用性检查规定的菌株外,还应根据替代方法及样品的特点增加

相应的菌株。各菌种应分别进行验证。

样品中微生物定性检验方法的验证

1. 专属性

微生物定性检验的专属性是指检测样品中可能存在的特定微生物种类的能力。当替代方法以微生物生长作为判断微生物是否存在时,其专属性验证时应确认所用培养基的促生长试验,还应考虑样品的存在对检验结果的影响。当替代方法不是以微生物生长作为判断指标时,其专属性验证应确认检测系统中的外来成分不得干扰试验而影响结果,如确认样品的存在不会对检验结果造成影响。采用替代方法进行控制菌的检验,还应选择与控制菌具有类似特性的菌株作为验证对象。

2. 检测限

微生物定性检验的检测限是指在替代方法设定的检验条件下,样品中能被检出的微生物的最低数量。由于微生物所具有的特殊性质,检测限是指在稀释或培养之前初始样品所含有的微生物数量,而不是指检验过程中某一环节的供试液中所含有的微生物数量。例如,微生物限度检查中规定不得检出沙门菌,对检测限而言,是指每 10g 样品中能被检出的沙门菌的最低数量。

检测限确定的方法是在样品中接种较低浓度的试验菌(每单位不超过 5cfu),然后分别采用药典方法和替代方法对该试验菌进行检验,以检出与否来比较两种方法的差异。试验菌的接种量须根据试验而定,以接种后采用药典方法 50% 的样品可检出该试验菌为宜。检测限验证至少应重复进行 5 次。对于同一种试验菌可采用卡方检验(χ^2)来评价两种方法的检测限是否存在差异。

3. 重现性

微生物定性检验的重现性是指相同的样品在正常的实验条件(如实验地点、实验人员、仪器、试剂的批次等)发生变化时,所得检验结果的精密度。重现性可视为微生物检验方法在检验结果上抵抗操作和环境变化的能力。方法使用者应优先测定该验证参数。在样品中接种一定数量的试验菌(接种量应在检测限以上),采用药典方法和替代方法,分别由不同人员,在不同时间,使用不同的试剂(或仪器)进行检验,采用卡方检验(χ^2)来评价两种方法的重现性是否存在差异。验证过程中,应关注样品的一致性。

4. 耐用性

微生物定性检验的耐用性是指当方法参数有小的刻意变化时,检验结果不受影响的能力,为方法正常使用时的可靠性提供依据。方法使用者应优先测定该验证参数。与药典方法比较,若替代方法检验条件较为苛刻,则应在方法中加以说明。替代方法与药典方法的耐用性比较不是必须的,但应单独对替代方法的耐用性进行评价,以便使用者了解方法的关键操作点。

样品中微生物定量检验方法的验证

微生物定量检验一般都涉及菌落计数。对计数结果进行

数据处理时通常需要使用统计的方法。由于菌落计数服从泊松分布,因此采用泊松分布的统计方法对计数结果进行数据处理优于采用正态分布的统计方法。检验者往往习惯采用正态分布的统计方法,因此也可以通过对数转换或平方根加1的方法将原始数据转换为正态分布数据后再进行统计分析。两种统计方法都适用于微生物数据的统计分析。

1. 准确度

微生物定量检验的准确度是指替代方法的检验结果与药典方法检验结果一致的程度。准确度的确认应在检测的范围内,通常用微生物的回收率(%)来表示。

检测范围内的准确度都应符合要求,准确度验证的方法是:制备试验菌的菌悬液,菌悬液的浓度应选择为能够准确计数的最高浓度,然后系列稀释至较低浓度(如小于 10^6 cfu/ml)。例如,菌落计数平皿法的替代方法,在制备高浓度菌悬液时,其浓度可以是 10^9 cfu/ml,并系列稀释至 10^6 cfu/ml。每个试验菌应至少选择5个菌浓度进行准确度确认,替代方法的检验结果不得少于药典方法检验结果的70%,也可以采用合适的统计学方法表明替代方法的回收率至少与药典方法一致。当替代方法的回收率高于药典方法时,有必要结合专属性项下的有关内容对准确度进行评价。

2. 精密度

微生物定量检验的精密度是指在检验范围内,对同一个均匀的样品多次重复取样测定,其检验结果的一致程度,通常采用标准偏差或相对标准偏差来表示,也可以采用其他适宜的方式。

精密度验证的方法是:制备试验菌的菌悬液,菌悬液的浓度应选择为能够准确读数的最高浓度,然后系列稀释至较低浓度(如小于 10^6 cfu/ml)。每个试验菌选择其中至少5个浓度的菌悬液进行检验。每一个浓度至少应进行10次重复检验,以便能够采用统计分析方法得到标准偏差或相对标准偏差。一般情况下,可以接受的相对标准偏差(RSD)应不大于35%。不考虑特殊的检验结果,替代方法的相对标准偏差(RSD)应不大于药典方法。例如,药典菌落计数平皿法其可接受的相对标准偏差(RSD)与含菌浓度的关系见表2。

表2 不同含菌浓度下预期的相对标准偏差

cfu/皿	预期 RSD
<10	<35%
10~30	<25%
30~300	<15%

3. 专属性

微生物定量检验的专属性是指通过检测适宜的试验菌,以证明检验方法与其设定目的相适应的能力。例如,菌落计数平皿法其设定目的在于检出一定数量的微生物,则其专属性验证应证明当样品中存在一定数量的试验菌时,通过平皿法检验,能够检出试验菌,而样品的存在不会对结果造成影响。

专属性验证时,应能够设计出可能使替代方法出现假阳性的实验模型来挑战替代方法,从而确认替代方法的适用性。当替代方法不依赖微生物生长出菌落或出现混浊就可以定量时(如不需要增菌或在 $1\sim 50$ cfu范围内就可直接测定菌数的定量方法),以上验证方式就显得更为重要。

4. 定量限

微生物定量检验的定量限是指样品中能被准确定量测定的微生物最低数量。由于无法得到含有已知微生物数量的实验样品,因此,在定量限验证时,应选择在检验范围内至少5个菌浓度,每个浓度重复取样测定不少于5次,替代方法的定量限不得大于药典方法。需要注意的是,由于细菌计数和菌落数服从泊松分布,可能存在计数结果的误差,因此替代方法的定量限仅需证实相近的低限度下其灵敏度至少相当于药典方法。

定量限验证的方法是:在检验范围的低限制制备5份不同含菌浓度的菌悬液,每份菌悬液分别用药典方法和替代方法进行不少于5次检验,采用统计方法比较替代方法的检验结果与药典方法结果的差异,从而评价替代方法的定量限。

5. 线性

微生物定量检验的线性是指在一定范围内,检验结果与样品中微生物数量成比例关系的程度。线性验证时必须覆盖能够准确测定的所有浓度范围。每株试验菌应选择至少5个浓度,每个浓度至少测定5次。根据以上实验数据,以检验结果为因变量,以样品中微生物的预期数量为自变量进行线性回归分析,计算相关系数 r 。当相关系数不能准确评估线性时,只能确定简单大约的关系值。替代方法的相关系数不得低于0.95。

6. 范围

微生物定量检验的范围是指能够达到一定的准确度、精密度和线性,检验方法适用的高低限浓度或数量的区间。

7. 重现性

微生物定量检验的重现性是指相同的样品在正常的实验条件(如实验地点、实验人员、仪器、试剂的批次等)发生变化时,所得检验结果的精密度。重现性可视为微生物检验方法在检验结果上抵抗操作和环境变化的能力。方法使用者应优先测定该验证参数。在样品中接种一定数量的试验菌(接种量应在定量限以上),采用药典方法和替代方法,分别由不同人员,在不同时间,使用不同的试剂(或仪器)进行检验,对检验结果进行统计分析,以相对标准偏差(RSD)来评价两种方法的重现性差异。验证过程中,应关注样品的一致性。

8. 耐用性

微生物定量检验的耐用性是指当方法参数有小的刻意变化时,检验结果不受影响的能力,为方法正常使用时的可靠性提供依据。方法使用者应优先测定该验证参数。与药典方法比较,若替代方法检验条件较为苛刻,则应在方法中加以说明。替代方法与药典方法的耐用性比较不是必须的,但应单独对替代方法的耐用性进行评价,以便使用者了解方法的关键操作点。

附录XVIII F 微生物限度检查法 应用指导原则

为更好应用微生物限度检查法(附录XIII C),特制定本指导原则。

微生物限度检查法可用于判断非规定灭菌制剂及原料、辅料是否符合药典的规定,也可用于指导制剂、原料、辅料的微生物质量标准的制定,及指导生产过程中中间产品微生物质量的监控。本指导原则将对标准和方法中的特定内容及标准的应用做进一步的说明。

1. 微生物限度检查过程中,如需要使用表面活性剂、灭活剂及中和剂,在确定其能否适用于所检样品及其用量时,除应证明该试剂对所检样品的处理有效外,还须确认该试剂不影响样品中可能污染的微生物的检出(即无毒性),因此无毒性确认试验的菌株不能仅局限于验证试验菌株,而应当包括产品中可能污染的微生物。

2. 供试液制备方法、抑菌成分的消除方法及细菌、霉菌及酵母菌计数方法应尽量选择微生物限度检查法中操作简便、快速的方法,同时,所选用的方法应避免损伤供试品中污染的微生物。对于抑菌作用较强的供试品,在供试品溶液性状允许的情况下,应尽量选用薄膜过滤法进行试验。

3. 微生物限度检查法(附录XIII C)收载的离心沉淀法仅适用于制备细菌计数或控制菌(细菌)检查用的供试液,规定的500转/分钟、不超过3分钟只用于去除供试液中的沉淀物。采用该方法时,供试液中的样品颗粒大小、黏稠度及污染的微生物大小、转速等直接影响着样品中微生物的回收,易造成检验结果不能真实反映供试品的污染情况。因此,供试液制备时尽量避免使用该方法,更不宜采用高速离心沉降集菌。

4. 对照培养基系指按培养基处方特别制备、质量优良的培养基,用于培养基适用性检查。由中国药品生物制品检定所研制及分发。

5. 进行验证试验时,若因没有适宜的方法消除供试品中的抑菌作用而导致微生物回收的失败,应采用能使微生物生长的更高稀释级供试液进行方法验证试验。此时更高稀释级供试液的确认要从低往高的稀释级进行,但最高稀释级供试液选择应根据供试品应符合的微生物限度标准和菌数报告规则,如供试品应符合的微生物限度标准是1g细菌数不得超过1000cfu,那么最高稀释级是 1×10^{-3} 。

若采用允许的最高稀释级供试液进行验证试验还存在1株或多株试验菌的回收率达不到要求,那么应选择回收情况最接近要求的方法进行供试品的检测。如某种产品对某试验菌有较强的抑菌性能,采用薄膜过滤法的回收率为40%,而采用培养基稀释法的回收率为30%,那么应选择薄膜过滤法进行该供试品的检测。在此情况下,生产单位或研制单位应根据原辅料的微生物质量、生产工艺及产品特性进行产品的风险评估,以保证检验方法的可靠性,从而保证产品质量。

附录138

6. 微生物限度检查法中控制菌检查法没有规定进一步确证疑似致病菌的方法。若供试品检出疑似致病菌,确证的方法应选择已被认可的菌种鉴定方法,如细菌鉴定一般依据《伯杰氏细菌鉴定手册》。

7. 在药品的生产、贮存、销售及新药标准制订、进口药品标准复核、考察药品质量、仲裁中,除在品种项下及制剂通则项下另有规定外,其微生物限度均以药典的“药品微生物限度标准”(附录XIII C)为依据。

8. 用于手术、烧伤及严重创伤的局部给药制剂应符合无菌检查法要求。对于创伤程度难以判断的局部给药制剂,若没有证据证明药品不存在安全性风险,那么该药品应符合无菌检查法要求。

9. 含动物类原药材粉的口服中药制剂要求不得检出沙门菌。其中的动物类原药材粉是指除蜂蜜、王浆、动物角、阿胶外的所有动物类原药材粉,如牡蛎、珍珠等贝类,海蜇、冬虫夏草、人工牛黄等。

10. 制定药品的微生物限度标准时,除了依据“药品微生物限度标准”(附录XIII C)外,还应综合考虑原料来源、性质、生产工艺条件、给药途径及微生物污染对患者的潜在危险等因素,提出合理安全的微生物限度标准,因此,必要时,特殊品种为保证其疗效、稳定性及避免对患者的潜在危害性,应制定更严格的微生物限度标准,并在品种项下规定,如吸入粉末剂,从使用者的安全性考虑,应按无菌产品的要求进行控制。

制定辅料、中药提取物的微生物限度标准时,除参照相应制剂的微生物限度标准外,还应综合考虑相应制剂及其生产工艺的特性。

附录XVIII G 药品微生物实验室 规范指导原则

药品微生物实验室规范指导原则用于指导药品微生物检验实验室的质量控制。

药品微生物的检验结果受很多因素的影响,如样品中微生物可能分布不均匀、微生物检验方法的误差较大等。因此,在药品微生物检验中,为保证检验结果的可靠性,必须使用经验证的检测方法并严格按照药品微生物实验室规范要求进行试验。

药品微生物实验室规范包括以下几个方面:人员、培养基、菌种、实验室的布局和运行、设备、文件、实验记录、结果的判断等。

人员

从事药品微生物试验工作的人员应具备微生物学或相近专业知识的教育背景。

实验人员应依据所在岗位和职责接受相应的培训,在确认他们可以承担某一试验前,他们不能独立从事该项微生物试验。应保证所有人员在上岗前接受胜任工作所必需的设备操作、微生物检验技术和实验室生物安全等方面的培训,经考

考核合格后方可上岗,同时,实验室应制定所有级别实验人员的继续教育计划。

检验人员必须熟悉相关检测方法、程序、检测目的和结果评价。微生物实验室的管理者其专业技能和经验水平应与他们的职责范围相符。如:管理技能、实验室安全、试验安排、预算、实验研究、实验结果的评估和数据偏差的调查、技术报告书写等。

实验室应通过参加内部质量控制、能力验证或使用标准菌株等方法客观评估检验人员的能力,必要时对其进行再培训并重新评估。当使用一种非经常使用的方法或技术时,有必要在检测前确认微生物检测人员的操作技能。

所有人员的培训、考核内容和结果均应记录归档。

培养基

培养基是微生物试验的基础,直接影响微生物试验结果。适宜的培养基制备方法、贮藏条件和质量控制试验是提供优质培养基的保证。

1. 培养基的制备

培养基可按处方配制,也可使用按处方生产的符合规定的脱水培养基。

在制备培养基时,应选择质量符合要求的脱水培养基或单独配方组分进行配制。脱水培养基应附有处方和使用说明,配制时应按使用说明上的要求操作以确保培养基的质量符合要求,不得使用结块或颜色发生改变的脱水培养基。

脱水培养基或单独配方组分应在适当的条件下贮藏,如低温、干燥和避光,所有的容器应密封,尤其是盛放脱水培养基的容器。商品化的成品培养基除了应附有处方和使用说明外,还应注明有效期、贮藏条件、适用性检查试验的质控菌和用途。

为保证培养基质量的稳定可靠,各脱水培养基或各配方组分应准确称量,并要求有一定的精确度。配制培养基最常用的溶剂是纯化水,特殊情况下,可能需要用去离子水和蒸馏水。应记录各称量物的重量和水的使用量。

配制培养基所用容器和配套器具应洁净,可用纯化水冲洗玻璃器皿以消除清洁剂和外来物质的残留。对热敏感的培养基如糖发酵培养基其分装容器一般应预先进行灭菌,以保证培养基的无菌性。

脱水培养基应完全溶解于水中,再行分装与灭菌。配制时若需要加热助溶,应注意不要过度加热,以避免培养基颜色变深。如需要添加其他组分时,加入后应充分混匀。

应按照生产商提供或使用者验证的参数进行培养基的灭菌。商品化的成品培养基必须附有所用灭菌方法的资料。培养基灭菌一般采用湿热灭菌技术,特殊培养基可采用薄膜过滤除菌。

培养基若采用不适当的加热和灭菌条件,有可能引起颜色变化、透明度降低、琼脂凝固力或 pH 的改变。因此,培养基应采用验证的灭菌程序灭菌,培养基灭菌方法和条件,应通过无菌性试验和促生长试验进行验证。此外,对高压灭菌器

的蒸汽循环系统也要加以验证,以保证在一定装载方式下的正常热分布。温度缓慢上升的高压灭菌器可能导致培养基的过热,过度灭菌可能会破坏绝大多数的细菌和真菌培养基生长的质量。灭菌器中培养基的容积和装载方式也将影响加热的速度。因此,应根据灭菌培养基的特性,进行全面的灭菌程序验证。

应确定每批培养基灭菌后的 pH 值(冷却至室温 25℃ 测定)。若培养基处方中未列出 pH 值的范围,除非经验证表明培养基的 pH 值允许的变化范围很宽,否则, pH 值的范围不能超过规定值 ± 0.2 。

制成平板或分装于试管的培养基应进行下列检查:容器和盖子不得破裂;装量应相同,尽量避免形成气泡;固体培养基表面不得产生裂缝或涟漪,在冷藏温度下不得形成结晶,不得污染微生物等。应检查和记录批数量、有效期及培养基的无菌检查。

2. 培养基的贮藏

自配的培养基应标记名称、批号、配制日期等信息,并在已验证的条件下贮藏。商品化的成品培养基标签上应标有名称、批号、生产日期、失效期及培养基的有关特性,生产商和使用者应根据培养基使用说明书上的要求进行贮藏,所采用的贮藏和运输条件应使成品培养基最低限度的失去水分并提供机械保护。

培养基灭菌后若贮藏 in 高压灭菌器中,质量可能会受影响,一般不提倡这种存放法。琼脂培养基不得在 0℃ 或 0℃ 以下存放,因为冷冻可能破坏凝胶特性。培养基应避光保存,若要长期保存,应置于密闭容器中以防止水分流失。琼脂平板最好现配现用,如置冰箱保存,一般不超过 1 周,且应密闭包装,若延长保存期限,保存期需经验证确定。

固体培养基灭菌后的再融化只允许 1 次,以避免因过度受热造成培养基质量下降或微生物污染。培养基的再融化一般采用水浴或流通蒸汽加热。若使用微波炉,应避免培养基过度受热及水分的蒸发,更要注意安全。融化的培养基应置于 45~50℃ 的水浴中,不得超过 8 小时。倾注培养基时,应擦干培养基容器外表面的水分,避免容器外壁的水滴进入培养基中造成污染。

使用过的培养基(包括失效的培养基)应按照国家污染废物处理相关规定进行。

3. 质量控制试验

实验室应对试验用培养基建立质量控制程序,以确保所用培养基质量符合相关检测的需要。

实验室配制或商品化的成品培养基的质量依赖于其制备过程,采用不适宜方法制备的培养基将影响微生物的生长或复苏,从而影响试验结果的可靠性。

所有配制好的培养基均应进行质量控制试验。实验室配制的培养基的常规监控项目是 pH、适用性检查试验,定期的稳定性检查以确定有效期。培养基在有效期内应依据适用性检查试验确定培养基质量是否符合要求。有效期的长短将取

决于在一定存放条件下(包括容器特性及密封性)的培养基其组成成分的稳定性。

除药典附录另有规定外,在实验室中,若采用已验证的配制和灭菌程序制备培养基且过程受控,那么同一批脱水培养基的适用性检查试验可只进行一次。如果培养基的制备过程未经验证,那么每一批培养基均要进行适用性检查试验,试验的菌种可根据培养基的用途从相关附录中进行选择,也可增加从生产环境及产品常见的污染菌株。

培养基的质量控制试验若不符合规定,应寻找不合格的原因,以防止问题重复出现。任何不符合要求的培养基均不能使用。

用于环境监控的培养基须特别防护,最好要双层包装和终端灭菌,如果不能采用终端灭菌的培养基,那么在使用前应进行100%的预培养以防止外来的污染物带到环境中及避免出现假阳性结果。

菌种

试验过程中,生物样本可能是最敏感的,因为它们的活动和特性依赖于合适的试验操作和贮藏条件。实验室菌种的处理和保藏的程序应标准化,使尽可能减少菌种污染和生长特性的改变。按统一操作程序制备的菌株是微生物试验结果一致性的重要保证。

药品微生物检验用的试验菌应来自认可的国内或国外菌种保藏机构的标准菌株,或使用与标准菌株所有相关特性等效的商业派生菌株。

标准菌株的复活或培养物的制备应按供应商提供的说明或按已验证的方法进行。从国内或国外菌种保藏机构获得的标准菌株经过复活并在适宜的培养基中生长后,即为标准储备菌株。标准储备菌株应进行纯度和特性确认。标准储备菌株保存时,可将培养物等份悬浮于抗冷冻的培养基中,并分装于小瓶中,建议采用低温冷冻干燥、液氮贮存、超低温冷冻(低于-30℃)等方法保存。低于-70℃或低温冷冻干燥方法可以延长菌种保存时间。标准储备菌株可用于制备每月或每周1次转种的工作菌株。冷冻菌种一旦解冻转种制备工作菌株后,不得重新冷冻和再次使用。

工作菌株的传代次数应严格控制,不得超过5代(从菌种保藏机构获得的标准菌株为第0代),以防止过度的传代增加菌种变异的风险。1代是指将活的培养物接种到微生物生长的新鲜培养基中培养,任何亚培养的形式均被认为是转种或传代一次。必要时,实验室应对工作菌株的特性和纯度进行确认。

工作菌株不可替代标准菌株,标准菌株的商业衍生物仅可用作工作菌株。

实验室必须建立和保存其所有菌种的进出、收集、贮藏、确认试验以及销毁的记录,应有菌种管理的程序文件(从标准菌株到工作菌株),该程序包括:标准菌种的申购记录;从标准菌株到工作菌株操作及记录;菌种必须定期转种传代,并做纯度、特性等实验室所需关键指标的确认,并记录;每支菌种都应注

明其名称、标准号、接种日期、传代数、菌种生长的培养基和培养条件、菌种保藏的位置和条件;其他需要的程序。

实验室的布局 and 运行

实验室应具有进行微生物检测所需的适宜、充分的设施条件。实验室的布局与设计应充分考虑到良好微生物实验室操作规范和实验室安全的要求。实验室布局设计的基本原则是既要最大可能防止微生物的污染,又要防止检验过程对环境和人员造成危害。活动区域的合理规划及区分将提高微生物实验室操作的可靠性。

通常,实验室应划分成相应的洁净区域和活菌操作区域,同时应根据试验目的,在时间或空间上有效分隔不相容的试验活动,将交叉污染的风险降低到最低。

一般情况下,药品微生物检验的实验室应有符合无菌检查法(附录 XIII B)和微生物限度检查法(附录 XIII C)要求的、用于具有开展无菌检查、微生物限度检查、无菌采样等检测活动的、独立设置的洁净室(区)或隔离系统,并为上述检验配备相应的阳性菌实验室、培养室、试验结果观察区、培养基及实验用具准备(包括灭菌)区、样品接收和贮藏区、标准菌株贮藏区、污染物处理区和文档处理区等辅助区域,同时,应对上述区域明确标识。

实验室应对进出洁净区域的人和物建立控制程序和标准操作规程,应按相关国家标准建立洁净室(区)和隔离系统的验证、使用和清洁维护标准操作规程,对可能影响检测结果的工作(如洁净度验证及监测、消毒、清洁维护等)能够有效地控制、监测并记录。

实验室对所用的消毒剂种类应定期更换,使用的消毒剂应无菌。

若需要进一步分析培养物的特性,如再培养、染色、微生物鉴定或其他确定试验均应在实验室的活菌操作区进行。任何出现微生物生长的培养物不得在实验室无菌区域内打开。对染菌的样品及培养物应有效隔离以减少假阳性结果的出现。

不能在实验室的活菌操作区域或邻近区域进行抽样。采样时,应采用无菌操作技术进行取样,防止在取样过程中使样品受到微生物的污染而导致假阳性的结果。因此,实验设施应设计成保证样品在控制条件下抽样,包括能有效防止微生物污染的无菌设施及环境、适宜的无菌服、无菌抽样器具和合格的操作人员,并记录抽样环境的监测结果。如果可能,所有的样品应在具有无菌条件的特定抽样间进行无菌抽样。

被检样品应有传递、贮藏、处置和识别管理程序。待验样品应在合适的条件下贮藏并能够保证其完整性而不改变其性状,应明确规定和记录贮藏条件。

实验室应有妥善处理废弃样品和有害废弃物的设施和制度,还应针对类似于带菌培养物溢出的意外事件制定处理规程,如:活的培养物洒出必须就地处理,不得使培养物污染扩散。

设备

实验室应配备与检验能力和工作量相适应的仪器设备,其类型、测量范围和准确度等级应满足检验所采用标准的要求,设备的安装和布局应便于操作,易于维护、清洁和校准。

实验室在仪器设备完成相应的检定、校准、验证、确认其性能,并形成相应的操作、维护和保养的标准操作规程后方可正式使用,使用要有记录。为保证设备处于良好工作状态,应定期维护和期间核查,并保存相关记录。

微生物实验室所用的仪器应根据日常使用的情况进行定期的校准,并记录。校准的周期和校验的内容根据仪器的类型和设备在实验室产生的数据的重要性的不同而不同。重要的仪器设备,如培养箱、冰箱等,应由专人负责,保证其运行状态正常和受控,同时应有相应的备用设备以保证试验菌株和微生物培养的连续性;对于培养箱、冰箱、高压灭菌锅等影响实验准确性的关键设备应在其运行过程中对关键参数(如温度、压力)进行连续观测和记录,有条件的情况下尽量使用自动记录装置。如果发生偏差,应评估对以前的检测结果造成的影响并采取必要的纠正措施。

对于一些容易污染微生物的仪器设备如水浴锅、培养箱、冰箱和生物安全柜等应定期进行清洁和消毒。

对试验需用的无菌器具应实施正确的清洗、灭菌措施,并形成相应的标准操作规程,无菌器具应有明确标识并与非无菌器具加以区别。

文件

文件应当充分表明试验是在实验室里按可控的检查法进行的,一般包括以下方面:人员培训与资格确认;设备验收、验证、检定(或校准期间核查)和维修;设备使用中的运行状态(设备的关键参数);培养基制备、贮藏和质量控制;检验规程中的关键步骤;数据记录与结果计算的确认;质量责任人对试验报告的评估;数据偏离的调查。

实验记录

实验结果的可靠性依赖于试验严格按照标准操作规程进行,而标准操作规程应指出如何进行正确的试验操作。实验记录应包含所有关键的实验细节,以便确认数据的完整性。

实验室原始记录至少应包括以下内容:实验日期、检品名称、实验人员姓名、标准操作规程编号或方法、实验结果、偏差(存在时)、实验参数(所使用的设备、菌种、培养基和批号以及培养温度等)、主管/复核人签名。

试验所用的每一个关键的实验设备均应记录在案,任何恰当的日常记录都是有用的。应设计合适的设备日志或表格,以满足试验记录的追踪性,设备温度(水浴、培养箱、灭菌器)必须记录,且具有追溯性。

实验记录写错时,用单线划掉并签字。原来的数据不能抹去或被覆盖。

所有实验室记录应以文件形式保存并防止意外遗失,正规的记录应存放在特定的地方并有登记。

结果的判断

由于微生物试验的特殊性,在实验结果分析时,应从各个可能的方面去考虑,不但要假设被污染,而且要考虑微生物在原料、辅料或试验环境中存活的可能性。此外,还应考虑微生物的生长特性。

对实验结果应进行充分和全面的评价。所有影响结果观察的微生物条件和因素应完全考虑,包括与规定的限度或标准有很大偏差的结果。关键是应知道实验结果与标准的差别是否有统计学意义。

若发现实验结果不符合药典各品种项下要求或另外建立的质量标准,应进行原因调查。引起微生物污染结果不符合标准的原因主要有两个:试验操作错误或产生无效结果的试验环境条件;产品本身的微生物污染总数超过规定的限度或检出控制菌。

异常结果分析时,应考虑实验室环境、抽样区的防护条件、样品在该检验条件下以往检验的情况、样品本身具有使微生物存活或繁殖的特性等情况。此外,回顾试验过程,也可评价该实验结果的可靠性及实验过程是否恰当。如果试验操作被确认是引起实验结果不符合的原因,那么应制定改错方案以解决问题,按照正确的操作方案进行实验,在这种情况下,对试验过程及试验操作应特别认真地进行监控。

如果依据分析调查结果发现试验有错误而判实验结果无效,那么这种情况必须记录。实验室也必须认可复试程序,如果需要,可按相关规定重新抽样,但抽样方法不能影响不符合规定结果的分析调查。