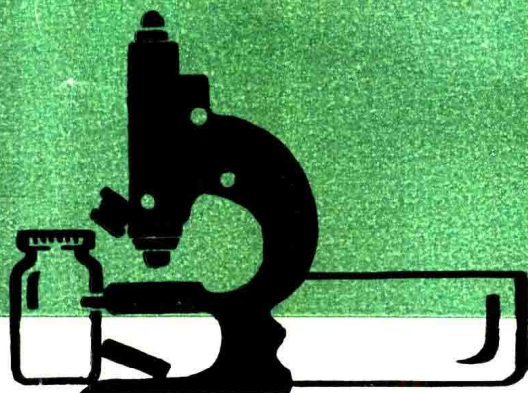


抗菌素检验与 药品生物检定法

药检训练班讲义



江苏省药品检验所

1976.5.

抗菌素检验与药品生物检定法



江苏省药品检验所

1976.5.

前 言

在毛主席革命路线指引下，经过无产阶级文化大革命和批林批孔运动，经过无产阶级专政理论学习运动和评论《水浒》，经过反击右倾翻案风的伟大斗争，我省医药工业包括抗菌素和生物制剂都有了很大发展。为了适应医药生产形势发展的需要，必须以阶级斗争为纲，加强抗菌素和生物制剂的检验，进一步促进医药生产，提高药品质量，保证人民用药安全有效。使药检工作进一步做到面向农村，面向生产，面向基层。根据省革命委员会 卫生局 指示，举办抗菌素检验与药品的生物检定法学习班，以推动我省药检、生产等单位抗菌素检验及生物检定工作的普遍开展，特编写本讲义。

讲义共分五篇（共二十章），第一篇介绍了抗菌素的效价测定、水份测定及规格检查中有关项目的检验方法；第二篇介绍了用生物方法测定药品效价的生物检定法；第三篇介绍了一般注射剂及抗菌素制剂的无菌检查法；第四篇为热原及升、降压物质的检查法；附篇介绍了生物统计；常用中草药的药理实验方法及实验动物的饲养和管理。

本讲义基本上是根据中国药典（75年版）初稿、北京药品生物制品检定所再版的《药品的生物检定法》初稿、抗菌素药品检验操作规程草案（1965年）和其它有关资料，以及我们在日常实际工作中的粗浅体会。中国药典（75年版）出版后，若某些方法与新版药典不符之处，应以新版药典为准。

由于我们水平所限和编写时间的匆促，难免存在不少缺点和错误，希望批评指正。

1976年5月

目 录

第 一 篇 抗 菌 素 检 验

第一章 概 论	1
一、基本概念.....	1
(一) 检定用抗菌素标准品.....	1
(二) 抗菌素的效价单位.....	2
(三) 抗菌素剂量的表示方式.....	3
(四) 剂量以重量表示时折算的依据.....	3
(五) 抗菌素原料药纯度的表示方式.....	3
(六) 抗菌素制剂规格的表示.....	4
(七) 抗菌素粉针剂的装量差异和含量限度问题.....	4
(八) 抗菌素的有效期.....	4
二、抗菌素的质量规格.....	5
第二章 抗菌素水份测定	7
一、干燥失重法.....	7
(一) 常压干烤法.....	7
(二) 低温减压干烤法.....	7
二、水分滴定法.....	8
(一) 原理.....	8
(二) 试剂的配制.....	8
(三) 标准水和试剂的标化.....	10
(四) 供试品的测定.....	10
(五) 讨论.....	10
(六) 水分滴定装置.....	11
第三章 抗菌素效价测定	12
一、概述.....	12
二、化学测定法.....	12
(一) 青霉素钾、钠盐的含量测定——碘量法.....	12
(二) 紫外分光光度法.....	14
三、抗菌素微生物效价测定.....	15
(一) 抗菌素微生物效价测定——管碟法原理.....	15
(二) 抗菌素效价测定的基本方法.....	16

(三)精确测定抗菌素效价的基本条件·····	25
(四)影响效价测定的几个因素·····	26
(五)抗菌素效价测定技术·····	27
第四章 试验用菌种的保存及接种方法 ·····	34
一、试验用菌种的要求·····	34
二、试验用菌种的保存·····	34
三、菌种的接种方法·····	34
四、试验用菌液的制备和保存·····	35
五、菌液浓度的预测试验·····	35
第五章 颗粒长度检查 ·····	37
一、材料和用具·····	37
二、校正方法·····	37
三、试验操作及计算·····	38

第 二 篇 生 物 检 定 法

第六章 概 述 ·····	39
一、生物检定的定义与应用范围·····	39
二、标准品的种类及要求·····	39
三、生物的差异性·····	40
四、生物反应的类型·····	40
五、剂量和反应的关系·····	41
(一)量反应和剂量的关系·····	41
(二)质反应和剂量的关系·····	41
六、效价计算的原理·····	43
(一)效价计算的基本原理·····	43
(二)平行线原理·····	43
七、常用的实验设计和相应的效价计算法·····	44
(一)量反应检定·····	44
(二)质反应检定·····	46
第七章 实验动物的给药法和取血法 ·····	47
一、给药途径的选择·····	47
二、给药方法·····	47
三、取血方法·····	51
第八章 毒性试验 ·····	54
一、毒性试验的种类·····	54
二、毒性试验给药途径·····	55
三、动物的选择·····	55

四、药物剂量和药液的配制·····	55
五、急性毒性试验的结果计算·····	56
第九章 洋地黄生物检定法 ·····	60
一、动物要求·····	60
二、仪器及试药·····	60
三、标准品酞剂的配制与稀释·····	60
四、供试品酞剂的配制与稀释·····	60
五、检定法·····	61
六、结果的计算·····	61
七、注意事项·····	63
第十章 胰岛素生物检定法 ·····	66
一、仪器及试药·····	66
二、动物要求·····	66
三、标准品溶液的配制与稀释·····	66
四、供试品溶液的配制与稀释·····	66
五、检定法·····	67
六、计算举例·····	67
七、注意事项·····	69
第十一章 促皮质激素生物检定法 ·····	71
一、仪器及试药·····	71
二、动物要求·····	71
三、标准品混悬液的配制·····	71
四、供试品混悬液的配制·····	72
五、检定法·····	72
六、计算举例·····	72
七、注意事项·····	75
第十二章 催产素生物检定法 ·····	78
一、仪器及试药·····	78
二、动物要求·····	79
三、标准品溶液的配制与稀释·····	79
四、供试品溶液的配制与稀释·····	79
五、子宫肌蓄养液的配制·····	79
六、检定法·····	79
七、计算举例·····	80
八、注意事项·····	82
第十三章 肝素生物检定法 ·····	85
一、仪器及试药·····	85
二、动物要求·····	85

三、标准品溶液的配制与稀释	86
四、供试品溶液的配制与稀释	86
五、试验准备	86
六、检定法	86
七、计算举例	87
八、注意事项	89
〔附〕硫酸鱼精蛋白生物检定法	90

第三篇 无菌检查法

第十四章 一般注射剂的无菌检查	92
一、无菌检查的原理	92
二、实验材料的准备	92
三、培养基的准备	93
四、无菌检查前的准备	99
五、无菌检查操作	99
六、无菌检查遇到的几种情况	99
七、无菌检查结果判断	100
八、进行复试的条件	101
第十五章 抗菌素的无菌检查法	103
一、青霉素酶灭活法	103
(一)青霉素酶的准备	103
(二)青霉素酶的无菌检查	104
(三)青霉素酶的活力测定	104
二、盐酸羟胺灭活法	105
三、离子交换树脂法	106
(一)树脂交换量的测定	106
(二)树脂混合液的准备	106
(三)试验操作	106
四、薄膜过滤法	107
(一)薄膜的准备	107
(二)薄膜微孔大小的要求	108
(三)薄膜过滤器的准备	108
(四)薄膜过滤法实验操作	108

第四篇 热原和升、降压物质检查法

第十六章 热原检查法	109
-------------------	-----

一、热原的概念与来源	109
二、热原的性质	109
三、热原的药理作用	110
四、热原检查法	110
(一) 检定原理	110
(二) 试验前的准备	110
(三) 供试品溶液的配制与稀释	111
(四) 检查法	111
(五) 结果判断	111
五、注意事项与经验介绍	111
六、常用药品热原检查剂量表	113
第十七章 升、降压物质的检查	116
一、原理	116
二、仪器及试药	116
三、动物要求	116
四、对照品溶液的配制和稀释	117
五、供试品溶液的配制	117
六、检查法	118
(一) 降压物质的检查——猫血压法	118
(二) 升压物质的检查——大白鼠血压法	121
〔附〕肝注射液组胺样物质的检查——豚鼠回肠法	122

附 篇

第十八章 生物检定和新药研究的基本统计方法	124
一、引言	124
二、常态曲线和生物差异的规律	124
三、生物差异的表示和估量	125
四、实验资料的误差估计	127
(一) 实验的重现性、精密度和准确度	127
(二) 标准误	127
(三) 可信限	128
五、实验误差的估计方法	129
(一) 最小效量法实验误差的估计	129
(二) 四点法(或六点法)的实验误差的估计	130
(三) 半数效量法(或半数致死量)实验误差的估计	132
六、显著性测验	134
(一) 显著性测验的意义	134

(二)显著性测验	135
1.均数的显著性测验	135
2.率的显著性测验	137
3.多种率的卡方测验	139
4.进行显著性测验应注意的几个问题	140
第十九章 常用中草药的药理实验方法	141
一、概述	141
二、抗菌药物的药理实验方法	141
三、治疗慢性支气管炎药物的药理实验方法	144
四、解热药的药理实验方法	148
五、镇痛药的药理实验方法	149
六、利尿药的药理实验方法	150
七、治疗关节炎药物的药理实验方法	151
第二十章 实验动物的饲养及管理	153
一、家兔的饲养及管理	153
二、小白鼠的饲养及管理	155
三、动物实验室常用的消毒方法	157
 附 表	
一、机率单位表	159
二、0%或100%反应率的机率单位近似值和权重表	159
三、权重系数表	160
四、t 值表	161
五、 X^2 值表	160
六、常用实验动物生理常数表	162
七、常用生理溶液的种类表	163

第一篇 抗菌素检验

第一章 概 论

一、基本概念

(一) 检定用抗菌素标准品 抗菌素的检验特别是抗菌素效价的检定，主要是将供试品和已知效价的标准品在相同的试验情况下作比较，因此每一抗菌素都有它的标准品，以便大家作出的试验结果趋于一致而易于比较。目前青霉素、链霉素、双氢链霉素的效价单位已获得国际间一致协议，称为“国际单位”，产生国际单位的国家标准品是由联合国世界卫生组织，生物检定专家委员会的主持下，委托指定的机构保管和分发。有部分药品的国际标准品则由英国伦敦与魏桥的国际生物检定实验室保管分发。国际标准品不应在具体检定工作里被直接应用，以免很快用完，因此各国应自己另制一批同样性质的药物，先和国际标准品详细进行比较，检定出它的效价，然后再转而以此作为具体检定的标准品，分发至国内各地使用，这样的标准品叫国家标准品，由北京药品生物制品检定所保管分发。

青霉素的第一国际标准品是在 1944 年 10 月制备的，是纯苄青霉素钠盐晶体，每 1 mg 含 1667 国际单位（即一个国际单位等于 $0.6\mu\text{g}$ 并相当于一个牛津单位）。根据这一国际单位的定义，苄青霉素的其他盐类的效价如下：

名 称	i·u/mg
苄青霉素钾盐	1595
苄青霉素普鲁卡因盐（含 1 分子结晶水）	1009

链霉素的效价单位经过几次改革，最初链霉素的提制不够精纯，只能用它的生物效能来衡量它的效价，晶形链霉素纯品出现之后，就用重量计算单位，即以某一定量纯链霉素碱的生物效能作为单位的根据，这种重量单位是现在常用的，即 $1\mu\text{g}$ 纯链霉素碱等于 1 单位。由于链霉素的效价是以链霉素碱计算，其各种盐类的效价就彼此不同，今以链霉素盐酸盐每 1 mg 含 842 国际单位计算，则其他盐类及其他链霉素衍生物的效价如下：

名 称	i·u/mg
链霉素硫酸盐	798
双氢链霉素盐酸盐	700
链霉素氯化钙复盐	779
甘露糖链霉素盐酸盐	210

以上是根据国际标准品求得的理论数值。其他抗菌素标准品的毫克效价见表 1—1。

表 1—1

常用抗菌素标准品表

品 种	效 价* u/mg	理论效价 u/mg	效 价 基 准
链霉素(硫酸盐)	732(750810)	798	①链霉素、双氢链霉素、土霉素、红霉素等的游离碱均以 1mg 作1000单位计算。
双氢链霉素(硫酸盐)	742(740610)	799	
土霉素(含二分子结晶水)	880(750512)	927	
红霉素	889(74012090)	1000	②纯氯霉素、四环素盐酸盐、金霉素盐酸盐均以 1mg 作1000单位计算。
氯霉素	996(309)	1000	
四环素	977(750612)	1082	③多粘菌素 B 碱 1 mg 作1000单位计算。
金霉素	958(412)	1000	
多粘菌素(抗敌素)	6424(2702)		④卡那霉素、新霉素、紫霉素等的游离碱均以 1 mg 作1000单位计算。
青霉素	1593(116)	1670	
杆菌肽	53(2004)		
制霉菌素	4839(7401209)		⑤万古霉素硫酸盐 1 mg 作1000单位计算。
卡那霉素	765(1906)		
万古霉素			⑥新生霉素酸以 1 mg 作1000单位计算。
紫霉素	650(1403)		
新霉素			
新生霉素			
争光霉素	3850(741002)		
强力霉素(去氧土霉素)	858(740901)		
曲古霉素	10430(2302)		

* 常用抗菌素标准品由北京检定所标定效价后发至各地，其毫克效价随批号不同而异，括号内为标准品的批号。

标准品必须能久贮不变质，一般都制成干燥粉末，封存于充有惰性气体（如氮气）的安瓿里避光贮存在 $0 \sim 10^{\circ}$ 保存。标准品安瓿启开（小心玻璃屑掉入）后贮于密封的小瓶内，将此瓶放于大试管中，其中盛有 $1/3$ 高度的硅胶干燥剂，其上平铺一层棉花，将小瓶直立放于其上，（贮土霉素标准品的大试管中不放干燥剂），或将标准品分装、封存于安瓿内。具体保存和配制的方法按标准品说明书。

（二）抗菌素的效价单位

抗菌素是一种生理活性物质，它对生命现象很敏感，可以利用抗菌性能表示它的效价，通常以单位来表示，是根据抗菌素标准品测定出来的，规定单位的目的，是为了用药安全有效，是衡量药物有效成份的一种尺度，各种抗菌素的单位定义大致有下列几种：

1. 重量单位 即以抗菌素的生物活性部分的重量作为单位，如 1 微克 (μg) = 1 单位， $1\text{ mg} = 1000\mu\text{g} = 1000$ 单位， $1\text{ g} = 1000\text{ mg} = 1000000\mu\text{g} = 1000000$ 单位。链霉素硫酸盐、链霉素氯化钙复盐、双氢链霉素硫酸盐、土霉素盐酸盐、卡那霉素硫酸盐、新生霉素钠（钾）盐、紫霉素硫酸盐、新霉素硫酸盐、红霉素、红霉素乳糖酸盐等均以重量单位表示，用这种

方法表示,对不同有机酸根的同一抗菌素,只要单位一样或有效部分重量一样,则这一抗菌素的各种盐类虽然其称重不同,其实际有效含量却是相同的。

2. 类似重量单位 以特定的纯粹抗菌素盐类的重量作为一单位,例如纯粹金霉素盐酸盐及四环素盐酸盐(包括无生物活性的盐酸根在内) $1\mu\text{g} = 1$ 单位,这样的表示是根据习惯下来的,我国对这种抗菌素曾采用较合理的重量单位表示,但后来为了求得进口商品单位的一致,仍改为以“类似重量单位”表示。

3. 重量折算单位 以特定的纯粹抗菌素的某一重量为 1 单位而加以折算,例如青霉素单位是以第一次“国际”标准品青霉素 G 钠称重 $0.6\mu\text{g}$ 规定为 1 单位(第二次以 $0.5988\mu\text{g}$ 为 1 单位);又如以纯粹多粘菌素 B 碱 $1\mu\text{g}$ 为 10 单位。

4. 特定单位 以特定的抗菌素样品的某一重量作为一定单位,例如特定的一批杆菌肽称重 $1\text{mg} = 55$ 单位,制霉菌素等的单位也属于特定单位。

(三) 抗菌素剂量的表示方式 抗菌素商品的单位,应根据抗菌素标准品相同条件下加以对比测定而得,抗菌素制剂标签上的标示量都是按各种抗菌素指定的单位表示法来表示,例如链霉素及土霉素用“重量单位”来表示,四环素用类似“重量单位”来表示。各种抗菌素商品上标签的 g、mg 等,其意义是各不相同的,因它们的单位定义是不同的,为确切地標示出抗菌素的含量,并避免生产厂家误认 g、mg 等称重,所以在标签上以单位表示,并加以 g、mg 等,例如土霉素 250000 单位(相当于土霉素纯碱 250mg。国际上通常以 mg 表示,此处的 mg 不是指称重而是指重量单位。

由于科学的发展,目前许多抗菌素在发现后即定出化学结构。这样就可由重量表示,以避免繁琐的单位表示方式,方便使用,并与国际通用表示方法取得一致。抗菌素的剂量原则上以重量表示,仅少数成分不清的仍用单位表示,如制霉菌素等。个别品种仍应照顾用药习惯,避免差错,如青霉素暂时仍用单位表示剂量。

(四) 剂量以重量表示时折算的依据 上面讲到抗菌素剂量原则上以重量表示,现介绍其折算的依据。为了使同一抗菌素的不同盐类形式在剂量上能反映出相应的疗效,便于医生使用,剂量原则上按共同的有效部分计算,例如无味红霉素和乳糖酸红霉素都按所含红霉素计算,这种共同的有效部分称为“剂量基准”。因此,盐基类的盐应按盐基计算,如硫酸链霉素按链霉素碱计算剂量。酸类的盐应按酸计算,如苯唑青霉素钠按苯唑青霉素($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}$)计。个别例外如四环素碱和盐酸四环素的剂量习惯上都按盐酸四环素计算的,它的剂量基准即为盐酸四环素,同样金霉素的剂量基准是盐酸金霉素。

(五) 抗菌素原料药纯度的表示方式

可按以下原则分为用 % 含量和用 u/mg 两种方式表示

1. 合成和半合成抗菌素 本类品种的结构清楚而单一,且大都用化学方法测定含量,剂量按重量表示,因此可把品种本身的百分数直观地体现出纯度的水平(此值以整数为宜),为便利制剂厂的投料换算,在括号内按剂量基准折算出一个百分数,如苯唑青霉素钠为 3-苯基-5-甲基异恶唑青霉烷酸的钠盐,含 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_3\text{SNa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ 不得少于 95 %。(相当于 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}$ 90.5 %)

2. 其他抗菌素 绝大部分都是以微生物方法测定含量的,其结构清楚或不清楚,组分单一或复杂,不论剂量按重量或单位表示,均直接以 u/mg 表示。如硫酸链霉素的纯度表示方

法为本品每 1 mg 的效价按干燥品计，不得少于 720 链霉素单位。制霉菌素为每 1 mg 的效价不得少于 3000 个单位。

以上可归纳如下表：

表 1—2 抗菌素原料药纯度的表示方法

	含量测定方法	剂量标示方法	结 构 与 组 分	纯度表示方法
一	化 学	重 量	清 楚、单 一	%
二	微 生 物	重 量	清楚、组分单一或复杂	u/mg
三	微 生 物	单 位	不清楚、组分复杂	u/mg

3. 个别例外如青霉素类，含量测定用化学方法，剂量用单位表示。故写成“含总青霉素不得少于 96.0 %（相当于每 1 mg 不得少于 1603 单位）”。

(六) 抗菌素制剂规格的表示 制剂的规格是指导用药的，它的表示方式同于剂量的表示方式，另外为方便制剂加工和调剂工作可在括号内加必要的附注。

例 苯唑青霉素钠片 0.25g (按 $C_{19}H_{18}O_5N_3S$ 计)
 合霉素片 0.25g (按氯霉素计)
 注射用硫酸链霉素 1g (100 万单位)
 制霉菌素片 50 万单位

抗菌素制剂如胶囊、片、粉针的分装应根据产品的纯度（即每 mg 称重所含单位数）以及欲分装若干重量（重量单位）而定，其关系如下：

$$\text{称重} = \frac{\text{抗菌素总单位数}}{\text{纯度}}$$

如分装土霉素盐酸盐，每胶囊含 250mg（相当于土霉素 250000 单位），如该批产品的纯度为 850u/mg 若按 250mg（称量）而不按 250mg（重量单位）装入胶囊，测出效价就会不足 250mg（250000u）。装入胶囊的实际称重可按上式计算而得，应为 294mg。

$$\text{称重} = \frac{250000}{850} = 294 \text{ mg}$$

这一点生产上和检验上都要加以注意。

(七) 抗菌素粉针剂的装量差异和含量限度问题 1963 年版药典和 1972 年版部颁标准的装量测定抽样量少，而且都是按每瓶含量测定结果，不合格瓶的漏检率高，1972 年部颁中虽列入装量差异项，但与含量限度间无联系，因而作用也不大。新版药典改为按 5 瓶平均含量来判断，这样装量差异和含量限度两项就能密切联系起来，共同保证剂量的准确。效价测定只须测一个样本，求出每 mg 的效价，乘以 5 瓶的平均装量，就可得到 5 瓶的平均含量。另外一个方法是不用平均含量判断，改用以毫克效价乘每瓶装量，而要求每瓶含量都在含量限度范围内，这样就不订装量差异。

(八) 抗菌素的有效期 有效期也是控制药品质量的一个指标，由于抗菌素易受各种因素（如光、水份、温度等）的影响，效价不稳定，贮存的时间太久，总不可避免要变质失效，因此对绝大部分的抗菌素都规定了有效期，各种抗菌素的有效期随其稳定性的不同而异，在有效期内发现其外观有变化，应立即检验，合格后再用，不合格的产品虽不满有效期也不可

再用，到有效期的产品，需经检验合格后，酌情延长使用 3～6 个月。

所谓有效期限，一般是指在规定的贮存条件下质量能够符合规定的期限，有效期是通过积累留样观察数据而规定的，药品的有效期限都是从制造时算起，也有自检验合格之日算起。目前抗菌素有效期比较复杂，同一品种不同生产厂的效期是不统一的，应该提高质量赶超先进厂的水平。

过去有部分药品曾用失效期，现卫生部统一规定，均采用有效期，期限均在药品瓶签上标出。

有效期与失效期的区别，如标有效期为 1975 年 5 月者，系指用到 1975 年 5 月 31 日止，标失效期为 1975 年 5 月者，系指用到 1975 年 4 月 30 日止。

二、抗菌素的质量规格

抗菌素除抗菌作用外，还有其他生理活性作用，如急性或慢性毒性，局部致痛性，神经系统和血液系统毒性，肾脏损害作用，刺激动植物生长作用，甚至有的抗菌素还有致癌作用和致敏作用。这些生理活性作用，有的是抗菌素本身所引起的，有的是制品中杂质所引起的，一般来说，凡杂质所引起的就属于质量问题，凡抗菌素本身所引起的就属于新品种的筛选问题，但由于抗菌素制品特别是新抗菌素制品常提炼不纯，两个问题常混淆起来，因此，从原则上来说抗菌素制品特别是新抗菌素制品应对上述各种有害的生理作用进行仔细的研究考察，才能保证人民用药安全与有效。抗菌素成品的质量检定就是要控制抗菌素成品中不应有的杂质，检定出有效成份的量。一般常规检定要经过下列几项测定：

(一)鉴别试验 用化学方法或生物学方法证明是何种抗菌素。

(二)安全试验 限制产品中毒性杂质。

本法用小白鼠为试验动物，由尾静脉注入一定量的抗菌素产品后，观察其有无急性毒性反应及 24 小时到 48 小时有无不良后果，一般以死亡作指标。对有些不溶性制剂则改用皮下或肌肉注射，并将观察结果适当延长。有些制剂配成混悬液，如用阿拉伯胶配成混悬液后，经腹腔注射或口服给药，以观察其毒性反应。

供试验用的小白鼠均应健康，毛色光滑，眼睛红亮，活泼，体重 17～20g。并须同一起来源，同饲养条件，同品种，同性别，雌者不得有孕。凡衰老体弱，有背部弓起，行动蹒跚，毛皮稀松等现象者，或患脱脚病者均不宜供实验用。在复试时，用 18～19g 的小白鼠。做过试验的未死小白鼠不得重复使用。

供注射或口服的抗菌素产品均应精确称量按规定方法测得的 μ/mg （单位/毫克）值稀释，或按标示量稀释样品，注射或口服给药的剂量均须按规定执行，不得任意改变剂量和给药途径，不然无法判断结果。各种抗菌素毒性试验的剂量，给药途径，小鼠数，判断标准可参阅《药典》。

(三)效价测定 用化学方法或微生物方法测定有效成份的量

(四)无菌检查 检查有无杂菌污染。

(五)热原检查 限制产品中发热杂质

(六)水分测定 限制过高的水分，以免影响稳定性。

(七)pH测定 规定其水溶液的酸碱度，使产品稳定和适合于临床应用。

(八)溶液澄清度检查 限制不溶性杂质混入。

(九)类组胺试验 限制降低血压的杂质。

(十)颗粒长度测定 控制颗粒的大小。

这些项目的测定，每种抗菌素不完全相同。一般说注射剂规定项目较多，要求也较严，而对口服外用品则控制项目较少，规格要求也较低，有的还规定晶体大小、比旋度、紫外吸收系数或刺激性试验等，由于检查方法的不一致，会影响测定结果，因此除规定检定那些项目外，也规定了测定操作方法，这些规定与测定方法均公布在中国药典或卫生部抗菌素标准中以此来判断产品符合规定与否。

以上各项目的测定方法可归纳分成两大类一类是化学测定方法，另一类是生物测定方法，而生物测定方法又可分为二类，一为限制有害毒性物质，如毒性物质、热原质、类组胺以及活菌混入；二为测出有效成份即微生物效价测定，有关这些方法将在下面各章分别叙述。

第二章 抗菌素水分测定

抗菌素含水量的多少与其稳定性、纯度、理化性状等皆有很大关系。影响水分含量的外界与内在因素很多，如湿度、包装、吸湿性、纯度等。以青霉素为例，干品可稳定若干年，而水溶液的效价仅可维持几天，因此制品中水分含量高，就易变质失效，各种抗菌素都应控制一定的水分。一般水分又可分为必要的水分，即结晶水或组成水分，不必要的水分即附着水分或吸留的水分。原则上凡加温后颜色较显著变化的，反映这样的加温条件能使供试品变质，就应用低温减压法，若变化极微则用 105° 干燥，也有用水分滴定法。测定水分常用的方法大致有以下几种：

一、干燥失重法

(一)常压干烤法 为最简便的水分测定，干烤温度一般为 $100 \sim 105^{\circ}$ ，使水分蒸发，同时供试品中含有挥发性物质者亦可蒸发逸出，所以干烤法实际上所得结果为干烤失重，但由于供试品中一般挥发性物质含量极微，干烤失重大部分仍为丧失的水分的重量，本法由于加热温度较高，对一些受热易分解的抗菌素，不能应用。

1.测定方法 将干净的称量瓶一个，连同盖子一起（打开盖子），在 105° 干烤 3 小时，取出放入干燥器内，放冷一定时间，称重后，再精密称入样品约 $200 \sim 300\text{mg}$ ，平铺摊开，厚度在 2mm 以下，在原温度干烤 2 小时（原则上应为干燥至恒重，恒重系指物品连续二次干燥后的重量差异在 0.3mg 以下的重量），与第一次冷却相同的时间后称重。本操作应当天称重，不可隔日再称重。

2.计算 供试品中水分含量(%) = $\frac{\text{供试品烤前称重} - \text{供试品烤后称重}}{\text{供试品烤前称重}} \times 100$

(二)减压低温干烤 本法应用低温真空条件下降低物体表面的大气压至近乎真空，在低温下水分易达其沸点的蒸汽压，使水分及挥发性物质在低温下很快自物体上蒸发。本法适用于对高温易分解的抗菌素药品，对一些制品不宜用水分滴定法测定水分者，亦可应用本法测定。

1.测定方法 先将干净称量瓶在 120° 干烤 2 小时，取出放入干燥器一定时间称重后，再精密称入样品 $200 \sim 300\text{mg}$ ，放进预先将电热调节至 60° 并放有五氧化二磷干燥剂的真空烤箱中，抽真空至烤箱内压力降至汞柱在 5mm 以下，并维持此真空度与温度 3 小时，用浓硫酸洗气瓶缓缓通入空气（注意要缓慢，以免气流过大使供试品飞散），使逐渐接近常压，待烤箱内压力与常压平衡后，启开烤箱，尽速把称量瓶盖盖上，将称量瓶移入置有五氧化二磷的干燥器内，按原时间放冷后称重，照常压干烤计算公式计算供试品水分含量。

2.注意

①当真空烤箱抽至 5mm 以下汞柱真空度后，不应关闭真空泵，须继续抽气，否则由于水分不易逸出而造成不正确之结果。

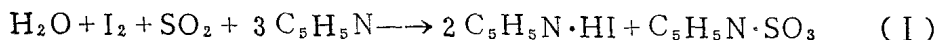
②在真空烤箱内应放置新的五氧化二磷，若数批供试品同时做，需增加五氧化二磷的量，并在烤箱内分散数处放置。

③整个试验在一天内完成，或至少在自真空干燥起至称重应在当天完成。

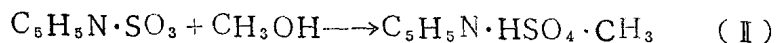
二、水分滴定法（碘、二氧化硫法）

1935年卡尔费休发表了用非水溶液试剂测定水分的方法，可以准确地测定多种物质的水分，因而测定微量水分的问题有了解决的办法。本法因其不用加热，对易于破坏的抗菌素较适宜，试剂大量配制后，其操作简便省时，但对某些含羰基化合物及金属氧化物不能测定，对有颜色的抗菌素终点观察较困难。

（一）原理 本试剂中含碘、二氧化硫、吡啶和甲醇。其与水的作用，据斯密斯等研究，他们认为基本反应分两步进行，滴定时水和碘，二氧化硫及吡啶作用后碘被还原为氢碘酸吡啶，而二氧化硫被氧化与吡啶结合生成亚硫酸吡啶，其反应式如下：

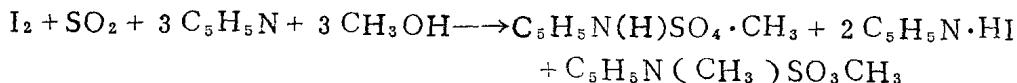
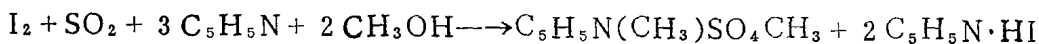


生成的亚硫酸吡啶颇不稳定，易与甲醇结合成稳定的甲基硫酸氢吡啶使反应式（I）顺利进行。



上述反应式（I）及（II）所示的反应可能是本法的基本原理。

若试剂中缺乏甲醇，则反应式（II）生成的亚硫酸吡啶能再次和供试品中的水起作用生成硫酸吡啶，此反应在滴定中并无意义。大量甲醇可避免上述副反应，但也可发生其他的副反应，生成多种产物如下：



因此试剂不稳定的原因，除水分的侵入外，试剂中的甲醇可能也有关。根据反应式（I）和（II）可以看出。

1. 本法灵敏度很高，因一分子水（18g）能与一分子碘（254g）起作用，亦即大量之碘能与微量的水起反应。

2. 由于碘变成碘化物溶液本身之颜色即有显著的变化，由红棕色变成草黄色，终点时溶液由浅黄色变为红棕色（琥珀色）。

（二）试剂的配制 制备试剂用的甲醇，吡啶及二氧化硫都必须脱水。

1. 甲醇脱水 在清洁烤乾的 2000~2500ml 圆底烧瓶中，加入甲醇 1000ml，再加入经剪细的镁条 14~18g 及氯化汞 0.1~0.2g（或碘片 0.5g）混合，瓶内放入若干顶端封闭的毛细管，以使沸腾均匀，瓶上接 50 公分以上的直形冷凝管，冷凝管顶端再接一装有乾燥剂的乾燥管，静置沸腾一小时（注意不准加热）然后在沙浴上回流至镁条全部溶解，若回流未完，在下班前半小时停止加热，将沙浴移去，冷却，在回流过程中，甲醇中含有的水即变为 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 的白色沉淀，待镁条全部溶解后，再倒入烤乾的蒸馏瓶内或直接自原瓶中蒸馏，收集 64~65° 溜出的甲醇，于一烤乾的抽气锥形瓶内，在锥形瓶的支管上再接一干燥管，以防空气中的水气，收集完毕后，加软木塞塞紧，用蜡封口，并用石蜡将软木塞的整个表面四