

そのまま適度に加熱して、液を蒸発させる。

次にこれに硫酸少量を加えて潤し、徐々に加熱してなるべく低温でほとんど灰化又は揮散した後、いったん放冷し、更に硫酸少量で潤して徐々に加熱し、白煙が生じなくなった後、450～550°Cで強熱し、残留物を完全に灰化し、放冷後、その質量を精密に量る。放冷はデシケーター（シリカゲル）で行う。

医薬品各条における強熱残分の規定が%以下又はmg以下で示されていて、上記の操作によって得た値がこの値より大きい場合、又は強熱残分の規定が一定の範囲をもって示されている場合は、恒量になるまで強熱を行う。

17. 屈折率測定法

屈折率測定法は、試料の空気に対する屈折率を測定する方法である。一般に、光が一つの媒質から他の媒質に進むとき、その境界面で進行方向を変える。この現象を屈折といふ。光が等方性の第1の媒質から第2の媒質に入るとき、入射角*i*の正弦と屈折角*r*の正弦との比は、入射角によらずに、この二つの媒質間では一定で、これを第2の媒質の第1の媒質に対する屈折率又は相対屈折率といい、*n*で表す。

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

第1の媒質が特に真空である場合の屈折率を第2の媒質の絶対屈折率といい、*N*で表す。

等方性の物質において、波長、温度及び圧力が一定のとき、その屈折率は物質に固有の定数である。したがって、物質の純度の試験又は均質な2物質の混合物の組成の決定などに用いられる。

通例、温度は、20°C、光線はナトリウムスペクトルのD線を用い、*n_D*で表す。

操作法

屈折率の測定には、通例、アッペ屈折計を用い、医薬品各条に規定する温度の±0.2°Cの範囲内で行う。アッペ屈折計では、白色光を用いて*n_D*を直接読むことができ、測定できる*n_D*の範囲は1.3～1.7、精密度は0.0002である。

18. 蛍光光度法

蛍光光度法は、蛍光物質の溶液に特定波長域の励起光を照射するとき、放射される蛍光の強度を測定する方法である。この方法はリン光物質にも適用される。

蛍光強度*F*は、希薄溶液では、溶液中の蛍光物質の濃度*c*及び層長*l*に比例する。

$$F = kI_0\phi\epsilon cl$$

k：比例定数

I₀：励起光の強さ

ϕ：蛍光又はリン光の量子収率

$$\text{量子収率 } \phi = \frac{\text{発光した蛍光又はリン光量子の数}}{\text{吸収した励起光量子の数}}$$

ε：励起光の波長におけるモル吸光係数

装 置

通例、蛍光分光光度計を用いる。

光源としてはキセノンランプ、レーザー、アルカリハライドランプなど励起光を安定に放射するものを用いる。蛍光測定には、通例、層長1cm×1cmの四面透明で無蛍光の石英製セルを用いる。

操作法

励起スペクトルは、蛍光分光光度計の蛍光波長を適切な波長に固定しておき、励起波長を変化させて試料溶液の蛍光強度を測定し、励起波長と蛍光強度との関係を示す曲線を描くことによって得られる。また、蛍光スペクトルは、適切な波長に固定した励起光を蛍光物質の希薄溶液に照射して得られる蛍光を、少しずつ異なる波長で測定し、波長と蛍光強度との関係を示す曲線を描くことによって得られる。必要ならば、装置の分光特性を加味したスペクトルの補正を行う。

蛍光強度は、通例、蛍光物質の励起及び蛍光スペクトルの極大波長付近において測定するが、蛍光強度はわずかな条件の変化に影響されるので比較となる標準の溶液を用いる。

別に規定するもののほか、医薬品各条に規定する方法で調製した標準溶液及び試料溶液並びに対照溶液につき、次の操作を行う。励起光及び蛍光波長を規定する測定波長に固定し、次にゼロ点を合わせた後、標準溶液を入れた石英セルを試料室の光路に置き、蛍光強度が60～80%目盛りを示すように調整する。次に、試料溶液及び対照溶液の蛍光強度(%目盛り)を同じ条件で測定する。波長幅は、特に規定するもののほか適当に定める。

注意：蛍光強度は溶液の濃度、温度、pH、溶媒又は試薬の種類及びそれらの純度などによって影響されることが多い。

19. 原子吸光光度法

原子吸光光度法は、光が原子蒸気層を通過するとき、基底状態の原子が特有波長の光を吸収する現象を利用し、試料中の被検元素量(濃度)を測定する方法である。

装 置

通例、光源部、試料原子化部、分光部、測光部及び表示記録部からなる。また、バックグラウンド補正部を備えたものもある。光源部には中空陰極ランプ又は放電ランプなどを用いる。試料原子化部はフレーム方式、電気加熱方式及び冷蒸気方式があり、冷蒸気方式は更に還元気化法、加熱気化法に分けられる。フレーム方式はバーナー及びガス流量調節器、電気加熱方式は電気加熱炉及び電源部、冷蒸気方式は還元気化器や加熱気化器などの水銀発生部及び吸収セルからなる。分光部には回折格子又は干渉フィルターを用いる。測光部は検出器及び信号処理系からなる。表示記録部にはディスプレイ、記録装置などがある。バックグラウンド補正部はバックグラウンドを補正するためのもので、方式には連続スペクトル光源方式、ゼーマン方式、非共鳴近接線方式、自己反転方式がある。

その他の特殊な装置として、水素化物発生装置及び加熱吸収セルがあり、セレンなどの分析に用いることができる。水素化物発生装置には、貯留式又は連続式があり、加熱吸収セルには、フレームによる加熱用又は電気炉による加熱用のものがある。

操作法

別に規定するもののほか、次のいずれかの方法による。

- (1) フレーム方式 別に規定する光源ランプを装てんし、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に別に規定する支燃性ガス及び可燃性ガスを用い、これらの混合ガスに点火してガス流量、圧力を調節し、溶媒をフレーム中に噴霧してゼロ合わせを行う。別に規定する方法で調製した試料溶液をフレーム中に噴霧し、その吸光度を測定する。
- (2) 電気加熱方式 別に規定する光源ランプを装てんし、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に別に規定する方法で調製した試料溶液の一定量を電気加熱炉（発熱体）に注入し、適当な流量のフローガスを流し、温度、時間、加熱モードを適当地に設定して、乾燥、灰化、原子化を行い、その吸光度を測定する。
- (3) 冷蒸気方式 低圧水銀ランプを装てんし、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に還元気化法では、別に規定する方法で調製した試料溶液を密閉器にとり、適当な還元剤を加えて元素になるまで還元した後、気化させる。また、加熱気化法では試料を加熱して気化させる。これらのことによって生じた原子蒸気の吸光度を測定する。

定量法

通例、次のいずれかの方法による。なお、定量に際しては、干渉及びバックグラウンドを考慮する必要がある。

- (1) 検量線法 3種以上の濃度の異なる標準溶液を調製し、それぞれの標準溶液につき、その吸光度を測定し、得られた値から検量線を作成する。次に測定可能な濃度範囲に調製した試料溶液の吸光度を測定した後、検量線から被検元素量（濃度）を求める。
- (2) 標準添加法 同量の試料溶液3個以上をとり、それぞれに被検元素が段階的に含まれるように標準溶液を添加し、更に溶媒を加えて一定容量とする。それぞれの溶液につき、吸光度を測定し、横軸に添加した標準被検元素量（濃度）、縦軸に吸光度をとり、グラフにそれぞれの値をプロットする。プロットから得られた回帰線を延長し、横軸との交点と原点との距離から被検元素量（濃度）を求める。ただし、この方法は、(1)による検量線が原点を通る直線の場合にのみ適用できる。
- (3) 内標準法 内標準元素の一定量に対し、標準被検元素の既知量をそれぞれ段階的に加え、標準溶液を調製する。それぞれの溶液につき、各元素の分析線波長で標準被検元素による吸光度及び内標準元素による吸光度を同一条件で測定し、標準被検元素による吸光度と内標準元素による吸光度との比を求める。横軸に標準被検元素量（濃度）、縦軸に吸光度の比をとり、検量線を作成する。次に試料溶液の調製には、あらかじめ標準溶液の場合と同量の内標準元素を加える。次に検量線を作成したときと同一条件で得た被検元素による吸光度と内標準元素による吸光度との比を求め、検量線から被検元素量（濃度）を求める。

注意：試験に用いる試薬、試液及びガスは測定の妨げとならぬ

いものを用いる。

20. 抗生物質の微生物学的力価試験法

抗生物質の微生物学的力価試験法は抗生物質医薬品の抗菌活性を微生物を用いた方法により測定する方法である。本法には、菌の発育阻止円の大きさを指標とする円筒平板法及び穿孔平板法、並びに菌液の濁度を指標とする比濁法がある。別に規定するもののほか、円筒平板法により規定される試験については、同じ試験条件により穿孔平板法で実施することができる。本法で使用する水、生理食塩液、緩衝液、試薬・試液及び計器・器具は、必要ならば滅菌したものを用いる。

I. 円筒平板法

本法は円筒カンテン平板を用いて得られる試験菌の発育阻止円の大きさを指標として、抗菌活性を測定する方法である。

1. 試験菌

別に規定するもののほか、医薬品各条の規定に従い、次のいずれかの菌を用いる。

- (1) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P
- (2) *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
- (3) *Micrococcus luteus* ATCC 10240
- (4) *Micrococcus luteus* ATCC 9341
- (5) *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- (6) *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607
- (7) *Escherichia coli* NIHJ
- (8) *Escherichia coli* ATCC 27166
- (9) *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031
- (10) *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490
- (11) *Comamonas terrigena* ATCC 8461
- (12) *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763
- (13) *Candida albicans* No. Yu 1200
- (14) *Penicillium chrysogenum* ATCC 10002

2. 培地

別に規定するもののほか、次の組成の培地を用いる。ただし、培地の成分として単にペプトンと記載してある場合は、肉製ペプトン又はカゼイン製ペプトンのいずれを用いてもよい。培地のpHは水酸化ナトリウム試液又は1mol/L塩酸試液を用いて調整し、滅菌後のpHが規定の値になるようにする。ただし、*Bacillus subtilis* ATCC 6633を用いる試験の培地のpHは、アンモニア試液、水酸化カリウム試液又は1mol/L塩酸試液を用いて調整する。なお、規定の培地と類似の成分を有し、同等又はより優れた菌の発育を示す他の培地を用いることができる。滅菌は高圧蒸気法で行う。

(1) 基層用及び種層用カンテン培地

1) 試験菌 (5) の場合

i	ペプトン	5.0 g
	肉エキス	3.0 g
	カンテン	15.0 g
	水	1000 mL

全成分を混和し、滅菌する。滅菌後のpHは7.8～8.0とする。

ii	ペプトン	5.0 g
----	------	-------