

80 °C 以下で蒸留し始める液では、あらかじめ試料を 10 ~ 15 °C に冷却してその容量を量り、蒸留中はメスリンダーの上部から 25 mm 以下を氷冷する。

気圧に対する温度の補正是 0.36 kPa につき 0.1 °C とし、気圧 101.3 kPa 未満のときはこれを加え、101.3 kPa を超えるときはこれを減じる。

## 第2法 規定の温度範囲が 5 °C 以上のとき

### (1) 装置

第1法と同様の装置を用いる。ただし、蒸留フラスコ A は内容 200 mL、首の内径 18 ~ 24 mm で内径 5 ~ 6 mm の留出管が付いているものを用いる。また、直火で加熱するとき用いる石綿板は中央部に直径 50 mm の円形の穴を開いたものとする。

### (2) 操作法

あらかじめ液温を測定した試料 100 mL を 1 mL の目盛りのあるメスリンダーを用いて量り、第1法と同様に操作する。

## 55. プラスチック製医薬品容器試験法

本試験法は、プラスチック製医薬品容器の設計及び品質評価に用いることができる。常に、どのような医薬品容器についても、ここに記述したすべての試験を行うことが必要なわけではない。他方、本試験法はプラスチック製医薬品容器の設計・品質評価に必要なすべての試験方法を示すものではない。したがって、必要に応じて他の試験を追加すべきである。

### 1. 灰化試験

#### 1.1 強熱残分

容器の切片約 5 g を精密に量り、強熱残分試験法により操作して、試験を行う。

#### 1.2 重金属

容器の切片の適当量を磁製るつぼにとり、重金属試験法第2法により操作し、試験を行う。比較液には鉛標準液 2.0 mL を加える。

#### 1.3 鉛

第1法：容器の切片 2.0 g を白金製又は石英製るつぼにとり、硫酸 2 mL で潤し、徐々に加熱して乾固した後、450 ~ 500 °C で灰化する。必要ならばこの操作を繰り返す。冷後、残留物を水で潤し、塩酸 2 ~ 4 mL を加え、水浴上で蒸発乾固し、更に塩酸 1 ~ 5 mL を加え、加温して溶かす。次にクエン酸一水和物溶液 (1 → 2) / 塩酸混液 (1 : 1) 0.5 ~ 1 mL 及び加熱した酢酸アンモニウム溶液 (2 → 5) 0.5 ~ 1 mL を加える。不溶物が残るときはガラスろ過器 (G3) でろ過する。得られたろ液にクエン酸水素二アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、液の色が黄色から緑色になるまでアンモニア試液を加える。これに硫酸アンモニウム溶液 (2 → 5) 10 mL 及び水を加えて 100 mL とする。次に N,N-ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム三水和物溶液 (1 → 20) 20 mL を加えて混和し、数分間放置した後、4-メチル-2-ペントノン 20.0 mL を加え、激しく振り混ぜる。これを静置して 4-メチル-2-ペントノン層を分取し、必要ならばろ過し、試験溶液とする。

別に鉛標準液 2.0 mL をとり、水を加えて正確に 10 mL

とし、この液 1.0 mL にクエン酸水素二アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、以下試験溶液と同様に操作し、標準溶液とする。

試験溶液及び標準溶液につき、次の条件で原子吸光光度法により試験を行い、試験溶液中の鉛濃度を定量する。

#### 使用ガス：

可燃性ガス アセチレン又は水素

支燃性ガス 空気

ランプ：鉛中空陰極ランプ

波長：283.3 nm

第2法：容器の切片を 5 mm 角以下に細断し、その 2.0 g をビーカーにとり、2-ブタノン 50 mL 及び硝酸 0.1 mL を加えて加温し、溶解する。これにメタノール 96 mL を徐々に加えて樹脂分を沈殿させた後、吸引ろ過する。

ビーカー及び樹脂分をメタノール 12 mL、次に水 12 mL で洗い、洗液とろ液を合わせて減圧で約 10 mL になるまで濃縮し、分液漏斗に移す。これに酢酸エチル 10 mL 及び水 10 mL を加えて激しく振り混ぜた後、静置し、水層を分取し、これを蒸発乾固する。残留物に塩酸 5 mL を加え、加温して溶かす。次にクエン酸一水和物溶液 (1 → 2) / 塩酸混液 (1 : 1) 1 mL 及び加温した酢酸アンモニウム溶液 (2 → 5) 1 mL を加える。不溶物が残るときはガラスろ過器 (G3) でろ過する。得られたろ液にクエン酸水素二アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、液の色が黄色から緑色になるまでアンモニア試液を加える。これに硫酸アンモニウム溶液 (2 → 5) 10 mL 及び水を加えて 100 mL とする。次に N,N-ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム三水和物溶液 (1 → 20) 20 mL を加えて混和し、数分間放置した後、4-メチル-2-ペントノン 20.0 mL を加え、激しく振り混ぜる。これを静置して 4-メチル-2-ペントノン層を分取し、必要ならばろ過し、試験溶液とする。

別に鉛標準液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50 mL とする。この液 2.0 mL をとり、クエン酸水素二アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、以下試験溶液と同様に操作し、標準溶液とする。

試験溶液及び標準溶液につき、第1法と同じ条件で原子吸光光度法により試験を行い、試験溶液中の鉛濃度を定量する。

#### 1.4 カドミウム

第1法：カドミウム標準液 2.0 mL にクエン酸アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、以下 1.3 の第1法の試験溶液と同様に操作し、標準溶液とする。1.3 の第1法の試験溶液及び標準溶液につき、次の条件で原子吸光光度法により試験を行い、試験溶液中のカドミウム濃度を定量する。

#### 使用ガス：

可燃性ガス アセチレン又は水素

支燃性ガス 空気

ランプ：カドミウム中空陰極ランプ

波長：228.8 nm

第2法：カドミウム標準液 2.0 mL にクエン酸水素二アンモニウム溶液 (1 → 4) 10 mL 及びプロモチモールブルー試液 2 滴を加え、以下 1.3 の第2法の試験溶液と同様に操作し、標準溶液とする。1.3 の第2法の試験溶液及び標準溶液につき、第1法と同じ条件で原子吸光光度法により試験を行

い、試料溶液中のカドミウム濃度を定量する。

#### 1.5 スズ

容器の切片を 5 mm 角以下に細断し、その 5.0 g をケルダールフラスコにとり、硫酸/硝酸混液(1:1) 30 mL を加え、マッフル炉で穏やかに加熱しながら内容物が褐色透明の液になるまで、時々、硫酸/硝酸混液(1:1)を少量ずつ滴加して分解する。次に液の色が淡黄色透明となるまで加熱した後、徐々に濃縮し、液をほとんど蒸発乾固するまで加熱する。冷後、残留物に塩酸 5 mL を加え、加温して溶かし、冷後、水を加えて正確に 10 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、25 mL のメスフラスコ(A)にとる。次に残りの液を 25 mL のビーカー(B)に水 10 mL を用いて移し、プロモクレゾールグリーン試液 2 滴を加え、薄めたアンモニア水(28)(1→2)を用いて中和し、中和に要した容量を  $\alpha$  mL とする。次に A に液の色がわずかに微紅色を呈するまで過マンガン酸カリウム試液を滴加した後、L-アスコルビン酸少量を脱色するまで加える。次に 1 mol/L 塩酸試液 1.5 mL、クエン酸一水和物溶液(1→10) 5 mL、薄めたアンモニア水(28)(1→2)  $\alpha$  mL 及びポリビニルアルコール試液 2.5 mL を順次加え、更にフェニルフルオロン・エタノール試液 5.0 mL 及び水を加えて 25 mL とし、よく振り混ぜて約 20 分間静置し、これを試料溶液とする。

別にスズ標準液 1.0 mL を正確に量り、水 5 mL を加え、液の色がわずかに微紅色を呈するまで過マンガン酸カリウム試液を滴加し、以下、試料溶液と同様に操作して得た液を標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液につき、水を対照として紫外可視吸光度測定法により波長 510 nm の吸光度を測定する。

#### 2. 溶出物試験

容器のできるだけ湾曲が少なく、厚さが均一な部分をとって切断し、厚みが 0.5 mm 以下のときは、表裏の表面積の合計が約 1200 cm<sup>2</sup> になるように、また、厚みが 0.5 mm を超えるときは、約 600 cm<sup>2</sup> になるように切断片を集め、更にこれらを、通例、長さ約 5 cm、幅約 0.5 cm の大きさに細断し、水で洗った後、室温で乾燥する。これを内容約 300 mL の硬質ガラス製容器に入れ、水 200 mL を正確に加え、適当に密栓した後、高圧蒸気滅菌器を用いて 121 °C で 1 時間加熱した後、硬質ガラス製容器を取り出して室温になるまで放置し、この内容液を試験液とする。

なお、複合材料容器の場合は、容器に表示容量の水を入れて抽出を行ってもよい。ただし、抽出液量と材料面積の比を記録しておくこと。

また、容器が 121 °C では変形する場合は、耐えられる最高温度で抽出する。その場合、温度と抽出時間の関係は次の通りとする：70 ± 2 °C, 24 ± 2 時間；50 ± 2 °C, 72 ± 2 時間；37 ± 1 °C, 72 ± 2 時間。

別に水につき、同様の方法で操作し空試験液を調製する。ただし、複合材料容器の場合は、水を空試験液とする。試験液及び空試験液につき、次の試験を行う。

(i) 泡立ち 試験液 5 mL を内径約 15 mm、長さ約 200 mm の共栓試験管に入れ、3 分間激しく振り混ぜ、生じた泡がほとんど消失するまでの時間を測定する。

(ii) pH 試験液及び空試験液 20 mL ずつをとり、これに塩化カリウム 1.0 g を水に溶かして 1000 mL とした液

1.0 mL ずつを加え、両液の pH を測定し、その差を算出する。

(iii) 過マンガン酸カリウム還元性物質 試験液 20 mL を共栓三角フラスコにとり、0.002 mol/L 過マンガン酸カリウム液 20.0 mL 及び希硫酸 1 mL を加え、3 分間煮沸し、冷後、これにヨウ化カリウム 0.10 g を加えて密栓し、振り混ぜて 10 分間放置した後、0.01 mol/L チオ硫酸ナトリウム液で滴定する(指示薬：デンプン試液 5 滴)。別に空試験液 20.0 mL を用い、同様に操作する。試験液及び空試験液の 0.002 mol/L 過マンガン酸カリウム液消費量の差を算出する。

(iv) 紫外吸収スペクトル 試験液につき、空試験液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 220 ~ 240 nm の区間及び 241 ~ 350 nm のそれぞれの区間での最大吸光度を記録する。

(v) 蒸発残留物 試験液 20 mL を水浴上で蒸発乾固し、残留物を 105 °C で 1 時間乾燥し、その質量を量る。

#### 3. 微粒子試験

容器の内外を試験に用いる水でよく洗い、容器に表示された内容量の水又は 0.9 w/v% 塩化ナトリウム溶液を入れ、表示内容量 500 mL につき容器内の空気の量が約 50 mL となるようにして密栓した後、高圧蒸気滅菌器を用いて 121 °C で 25 分間加熱し、2 時間放冷した後に取り出し、常温で約 24 時間静置する。なお、容器が 121 °C で変形する場合にあっては、溶出物試験の温度・時間条件に関する規定を準用する。次に容器の外部を清浄にし、5 ~ 6 回転倒混和した後、直ちに容器のゴム栓にフィルターのない清浄な輸液セットの針をさし、穏やかに振り混ぜながら、流出液を清浄な測定用容器にとり、試験液とする。試験液につき、次の微粒子試験法によって試験を行い、試験液 1.0 mL 中の 5 ~ 10 μm, 10 ~ 25 μm 及び 25 μm 以上の微粒子数を測定する。

微粒子試験法 微粒子の測定は、塵埃の少ない清浄な設備内又は装置内で光遮へい型自動微粒子測定装置を用いて行う。装置のセンサーは、粒子径 1.5 μm 以上の微粒子が測定できるものを用い、測定用量は 10 mL とする。装置をあらかじめ調整した後、その状態で測定する。粒子径及び粒子数の校正は、光遮へい型自動微粒子測定器校正用標準粒子を水又は 0.9 w/v% 塩化ナトリウム溶液に懸濁させた液を用いて行う。

試験液をかき混ぜながら粒子径 5 ~ 10 μm, 10 ~ 25 μm, 25 μm 以上の粒子数をそれぞれ 5 回測定し、初めの測定値を除いた 4 回の平均粒子数から試験液 1.0 mL 中の粒子数を求める。

注意：試験に用いる水及び 0.9 w/v% 塩化ナトリウム溶液は、微粒子試験法により試験するとき、5 ~ 10 μm の粒子数が 1.0 mL につき、0.5 個以下のものを用いる。

#### 4. 透明性試験

第 1 法 容器表面に凹凸やエムボス加工などがない、比較的の湾曲の少ない容器の試験に適用できる。

容器の胴部から、できるだけ湾曲が少なく厚さが均一な部分をとって、約 0.9 × 4 cm の大きさに切断したもの 5 個を作り、それぞれを水を満たした紫外線吸収スペクトル測定用セルに浸し、水だけを満たしたセルを対照として、紫外可視吸光度測定法により波長 450 nm の透過率を測定する。

第 2 法 官能試験 容器表面に凹凸やエムボス加工がある容器の試験に適用できる。また、内容医薬品の析出などによる

濁りを見つける必要があるような医薬品の容器の透明性を試験する場合に適用できる。

#### 試 液

ヘキサメチレンテトラミン試液 ヘキサメチレンテトラミン 2.5 g を 25 mL の水に溶かす。

ホルマジン乳濁原液 ヘキサメチレンテトラミン試液に硫酸ヒドロジニウム試液 25 mL を加え 25 ± 3 °C で 24 時間放置後使用する。本原液は表面に傷のないガラス容器中で約 2 カ月間有効である。用時よく振り混ぜて用いる。

標準乳濁液 ホルマジン乳濁原液 15 mL を水で薄めて 1000 mL とする。調製後 24 時間以内に使用する。

参照乳濁液 標準乳濁液 50 mL をとり、水で薄めて 100 mL とする。

#### 試 驗

(i) 有対照法 試験容器 2 個を用意し、片方に参照乳濁液を表示容量だけ入れ、他方に水を同じ量だけ入れる。どちらに参照乳濁液を入れたか知らされていない 5 人の被験者それぞれに、個別にこの二つの試料をみせて比較させ、どちらが濁っているかを問い合わせ、正解率を求める。

(ii) 無対照法 試験容器 6 個を用意し、番号をふる。その中の 3 個には水を、他の 3 個には参照乳濁液を表示容量だけ入れる。どの容器に何が入っているか知らされていない被験者 5 人を個別に呼び、ランダムな順序でこの 6 個の容器を一つ一つみせて、内容液が濁っているかどうかを問い合わせ、水及び参照乳濁液を入れた 2 容器群について、濁っていると判断した率 (100 X/15 : X は濁っていると判断された試験容器の数) を求める。

#### 5. 水蒸気透過性試験

第 1 法 主に水性注射剤容器に適用する。容器に表示された内容量の水を入れ、密封した後、その質量を精密に量る。次に相対湿度 65 ± 5 %、温度 20 ± 2 °C で 14 日間放置した後、再び質量を精密に量り、その減量を算出する。

第 2 法 製剤の容器を通じた吸湿性の評価に適用する。別に規定するもののほか、次の方法により試験を行う。

乾燥剤 微粉を入れないように注意しながら、水分測定用塩化カルシウムを浅い容器にとり、110 °C で 1 時間乾燥後、デシケーター中で放冷する。

操作法 容器 12 個をとり、乾燥布で表面を清浄にし、各容器を 30 回、毎回一様に開閉する。この中の 10 個を試験容器として、残りの 2 個を対照容器として用いる。ねじ付栓は、添付表に規定されたトルクで閉める。試験容器 10 個をとり、各々に乾燥剤を内容 20 mL 以上の容器では栓から 13 mm 以内まで、内容 20 mL 未満の容器では容器容積の  $\frac{2}{3}$  まで加える。内部の深さが 63 mm 以上の容器では、容器と乾燥剤の総質量を最小にするような詰め物かスペーサーを底部に入れてもよいが、容器内の乾燥剤の層は 5 cm 以上になるようにする。乾燥剤を加えた後、直ちにねじ付栓を規定のトルクで閉める。対照容器 2 個をとり、試験容器の質量とほぼ等しくなるようにガラスピーブを加え、同様の強さで閉める。調製した各容器の質量を、内容 20 mL 未満の容器では 0.1 mg 単位まで、内容 20 mL 以上 200 mL 未満の容器では 1 mg 単位まで、内容 200 mL 以上の容器では 10 mg 単位まで精密に量り、相対湿度 75 ± 3 %、温度 20 ± 2 °C で保存する。

14 日間放置した後、同様にそれぞれの容器の質量を精密に

量る。別に空容器 5 個をとり、水又は微細なガラスピーブのような非圧縮、非流動性の固体で、正しく栓をした時の表面のレベルまで完全に満たす。それぞれの内容物をメスリンダーに移し、平均内容量 (mL) を量る。水分透過速度 (mg/日/L) を次の式により計算する。

$$\text{水分透過速度 (mg/日/L)}$$

$$= (1000/14V) \{(T_f - T_i) - (C_f - C_i)\}$$

V : 平均内容量 (mL)

T<sub>f</sub> - T<sub>i</sub> : 各試験容器の最終時と開始時の質量の差 (mg)

C<sub>f</sub> - C<sub>i</sub> : 2 個の対照容器の最終時と開始時の質量の平均 (mg)

表 55-1 ねじ付容器に適切なトルク

栓の径 (mm)	トルク (N・cm)
8	59
10	60
13	88
15	59 ~ 98
18	78 ~ 118
20	88 ~ 137
22	98 ~ 157
24	118 ~ 206
28	137 ~ 235
30	147 ~ 265
33	167 ~ 284
38	196 ~ 294
43	196 ~ 304
48	216 ~ 343
53	235 ~ 402
58	265 ~ 451
63	284 ~ 490
66	294 ~ 510
70	314 ~ 569
83	363 ~ 735
86	451 ~ 735
89	451 ~ 794
100	510 ~ 794
110	510 ~ 794
120	618 ~ 1069
132	677 ~ 1069

#### 6. 漏れ試験

容器にフルオレセインナトリウム溶液 (1 → 1000) をほとんど満たすまで加えて密封した後、容器の上下にろ紙をしき、20 °C において、単位面積 (cm<sup>2</sup>) 当たり 6.9 N (0.7 kg) の圧力を 10 分間加え、ろ紙の色をみて漏れを判定する。

#### 7. 細胞毒性試験

細胞毒性試験は、プラスチック製医薬品容器材料の培地抽出液の細胞毒性を評価することによって、プラスチック中の毒性物質を検出するためのものである。本法以外にも、適切な標準試験方法を用いることができる。ただし、試験結果に疑義が生じた場合には、結果の判定は本法によるものとする。

## 細胞株

細胞株は L929 細胞 (ATCC. CCL1) 又は V79 (JCRB 0603) とする。ただし、あらかじめコロニー形成性や結果の再現性を検定し、それらが記載した細胞株とほぼ同等であれば、他の細胞株を用いることができる。

## 培地

イーグルの最小必須培地を用いる。以下に示す物質を水 1000 mL に溶かし、高圧蒸気滅菌器で 121 °C で 20 分間加熱して滅菌し、室温まで冷却した後、別に滅菌しておいた炭酸水素ナトリウム試液 22 mL 及びグルタミン試液 10 mL を加える。これに牛胎児血清を 10 vol% の割合になるように加える。

塩化ナトリウム	6.80 g
塩化カリウム	400 mg
リン酸二水素ナトリウム（無水）	115 mg
硫酸マグネシウム（無水）	93.5 mg
塩化カルシウム（無水）	200 mg
ブドウ糖	1.00 g
塩酸 L-アルギニン	126 mg
塩酸 L-リジン	73.0 mg
L-시스ティン塩酸塩一水和物	31.4 mg
L-チロシン	36.0 mg
L-ヒスチジン塩酸塩一水和物	42.0 mg
L-イソロイシン	52.0 mg
L-ロイシン	52.0 mg
メチオニン	15.0 mg
フェニルアラニン	32.0 mg
L-トレオニン	48.0 mg
L-トリプトファン	10.0 mg
L-バリン	46.0 mg
コハク酸	75.0 mg
コハク酸ナトリウム（六水塩）	100 mg
重酒石酸コリン	1.8 mg
葉酸	1.0 mg
ミオイノシトール	2.0 mg
ニコチン酸アミド	1.0 mg
D-パントテン酸カルシウム	1.0 mg
塩酸ピリドキサール	1.0 mg
リボフラビン	0.1 mg
塩酸チアミン	1.0 mg
ビオチン	0.02 mg
フェノールレッド	6.0 mg

## 試薬

- (i) 炭酸水素ナトリウム試液 炭酸水素ナトリウム 10 g を水に溶かして 100 mL とし、気密状態で 121 °C で 20 分間高圧蒸気滅菌するか、孔径 0.22 μm 以下のメンブランフィルターでろ過して滅菌する。
- (ii) グルタミン試液 L-グルタミン 2.92 g を水に溶かして 100 mL とし、孔径 0.22 μm 以下のメンブランフ

ィルターでろ過して滅菌する。

(iii) リン酸緩衝液 塩化カリウム 0.20 g, リン酸二水素カリウム 0.20 g, 塩化ナトリウム 8.00 g 及び無水リン酸水素二ナトリウム 1.15 g を水に溶かして 1000 mL とし、高圧蒸気滅菌器を用いて 121 °C で 20 分間加熱する。

(iv) トリプシン試液 トリプシン 0.5 g 及びエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 0.2 g をリン酸緩衝液に溶かして 1000 mL とし、孔径 0.22 μm 以下のメンブランフィルターでろ過して滅菌する。

(v) 希ホルムアルデヒド試液 ホルムアルデヒド液を水で 10 倍に薄める。

(vi) 希ギムザ試液 ギムザ試液を希釈液で約 50 倍に薄め、ろ紙でろ過して不溶物を除く。用時製する。

(vii) 希釈液 リン酸二水素カリウム 4.54 g 及び無水リン酸水素二ナトリウム 4.75 g を水に溶かして 1000 mL とする。

## 器具及び装置

(i) ピペット パストールピペット、駒込ピペット、メスピペット、チップ式微量ピペット

(ii) スクリューキャップ式ガラス瓶 50 ~ 1000 mL

(iii) プラスチック製滅菌遠心管 15 mL 及び 50 mL

(iv) プラスチック製滅菌培養フラスコ 25 cm<sup>2</sup> 又は 75 cm<sup>2</sup>

(v) プラスチック製滅菌培養プレート (24 穴)

(vi) 顕微鏡 倒立顕微鏡及び実体顕微鏡

(vii) 炭酸ガス培養器 炭酸ガス濃度を 5 % に、温度を 37 °C に維持する。

## 対照材料及び対照物質

(i) 隆性対照材料 ポリエチレンフィルム

(ii) 阳性対照材料 A ジエチルジチオカルバミン酸亜鉛を 0.1 % 含有するポリウレタンフィルム

(iii) 阳性対照材料 B ジブチルジチオカルバミン酸亜鉛を 0.25 % 含有するポリウレタンフィルム

(iv) 対照物質 ジエチルジチオカルバミン酸亜鉛及びジブチルジチオカルバミン酸亜鉛 (試薬 1 級)

## 操作

(i) 試験試料 容器材料が均一な場合は、試料容器を 2 × 15 mm 角程度に細切して試験試料とする。多層の材料の場合は、片面の面積が 2.5 cm<sup>2</sup> の試料を容器から切り出し、細切せずに試験試料とする。

(ii) 試験溶液の調製 試験試料をスクリューキャップ式ガラス瓶又はプラスチック製滅菌遠心沈殿管にとり、軽く栓をし、清浄なアルミニウム箔で覆い、121 °C で 20 分間高圧蒸気滅菌する。試験試料が高圧蒸気滅菌に耐えない場合は、適切な条件で酸化エチレン (EO) ガス滅菌を行い、残留 EO の影響のないようにじゅうぶんにエアレーションを行う。試験試料の片面 2.5 cm<sup>2</sup> に対して 1 mL、又は 1 g に対して 10 mL の培地を加えて軽く栓をした後、炭酸ガス培養器に移し、24 時間静置して抽出する。抽出液をあらかじめ高圧蒸気滅菌しておいたガラス瓶又はプラスチック製滅菌遠心沈殿管に移し、これを 100 % 試験溶液とする。この試験溶液を新鮮な培地を用いて 2 倍ずつの系列希釈を行い、50 %, 25 %, 12.5 %, 6.25 %, 3.13 % などの試験溶液とする。

(iii) 細胞浮遊液の調製 細胞を培養しておいたプラスチック製滅菌培養フラスコから培地を除き、リン酸緩衝液適量を静かに加えて、フラスコをゆっくり 2、3 回傾けて細胞層を洗った後、リン酸緩衝液を捨てる。トリプシン試液を細胞層が露出しない程度に加え、フラスコの栓をして、炭酸ガス培養器に入れ、1～2 分間放置する。フラスコを培養器から取り出し、顕微鏡ではがれ具合を観察する。培地適量を加え、パストールピペットで静かにピッティングして、細胞をフラスコ壁面から完全にはがす。この液をプラスチック製滅菌遠心沈殿管に移し、1 分間 800～1000 回転で 2～5 分間遠心分離する。上清を捨て、新しいリン酸緩衝液を適量加えて、パストールピペットでピッティングした後、再度遠心分離する。上清を捨て、新しい培地を一定量加えた後、パストールピペットで静かにピッティングして、均一な細胞浮遊液をつくる。細胞濃度を血球計算盤を用いて測る。

(iv) 細胞毒性試験 細胞浮遊液を培地で薄めて、細胞濃度を 100 個/mL にする。この 0.5 mL ずつをプラスチック製滅菌培養プレートの各穴に分注する。培養プレートを炭酸ガス培養器中で 4～6 時間静置して、細胞をプレートの底面に接着させる。培養プレートの各穴の培地を捨て、先に調製した種々の濃度の試験溶液又は新しい培地 0.5 mL をそれぞれ別の穴に加える。それぞれの濃度の試験溶液あるいは新しい培地について、それぞれ 4 穴を使用する。培養プレートは直ちに炭酸ガス培養器に戻し所定の期間培養する。培養期間は L929 細胞では 7～9 日間、V79 細胞では 6～7 日間とする。培養終了後、培養プレートから試験溶液などを捨て、希ホルムアルデヒド試液を適量加えて、約 30 分間放置して細胞を固定する。各穴から希ホルムアルデヒド試液を捨て、希ギムザ試液を適量加える。コロニーがよく染色されたのを確認した後、希ギムザ試液を捨て、各穴のコロニー数を数える。各濃度の試験溶液でのコロニー数を平均し、その値を培地のみのときのコロニー数の平均値で除して、当該試験液濃度のコロニー形成率(%)を算出する。片対数グラフ用紙の対数軸に試験溶液濃度(%)を、もう片方の軸にコロニー形成率をとり、得られた結果をプロットし、増殖阻害曲線を得る。この曲線から、コロニー形成率が 50% となる試験溶液濃度( $IC_{50}$ (%))を読みとる。

なお、必要に応じて対照材料又は対照物質を試験して、試験の感度や再現性を確かめることが望ましい。

#### プラスチック製水性注射剤容器

水性注射剤に使用するプラスチック製容器をいう。容器は、内容医薬品と作用してその有効性、安全性、安定性に影響を与える、また、内容剤が微生物汚染しないものであり、次の規格に適合する。

##### 1. ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器

容器は、接着剤を使用していないもので、ポリエチレン製又はポリプロピレン製のものをいう。

(1) 透明性 容器は、透明性試験・第 1 法で試験した時、透過率は 55% 以上でなければならない。第 1 法で試験できない場合は、透明性試験・第 2 法、ii) 無対照法によつて試験を行う。その場合、容器に水を入れた試料を“濁っている”と判断した率は 20% 未満であり、容器に参照乳濁

液を入れた試料を“濁っている”と判断した率は 80% 以上でなければならない。

(2) 外観 使用上差し支えを生じるようないし、きず、泡、またはその他の欠点のないものである。

(3) 水蒸気透過性 第 1 法に従つて試験したとき、減量は 0.20% 以下である。

(4) 重金属 檢液の色は比較液より濃くない。ただし、容器切片採取量は 1.0 g とする。

(5) 鉛 第 1 法によって操作し、標準溶液と比較したとき、試料溶液の吸光度は標準溶液の吸光度以下である。

(6) カドミウム 第 1 法によって操作し、標準溶液と比較したとき、試料溶液の吸光度は標準溶液の吸光度以下である。

(7) 強熱残分 残分は 0.10% 以下である。

##### (8) 溶出物

(i) 泡立ち 生じた泡は 3 分以内にほとんど消失する。

(ii) pH 試験液と空試験液の差は 1.5 以下である。

(iii) 過マンガン酸カリウム還元性物質 0.002 mol/L 過マンガン酸カリウム液の消費量の差は 1.0 mL 以下である。

(iv) 紫外吸収スペクトル 波長 220 nm 以上 241 nm 未満における吸光度は 0.08 以下、波長 241 nm 以上 350 nm 未満における吸光度は 0.05 以下である。

(v) 蒸発残留物 1.0 mg 以下である。

(9) 細胞毒性  $IC_{50}$ (%) は 90% 以上である。その他標準試験方法を用いたときは、結果は陰性である。

#### 2. ポリ塩化ビニル製水性注射剤容器

容器は、接着剤を使用していないもので、ポリ塩化ビニルの單一重合体よりなり、可塑剤としてフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)のみを使用しているものとする。また、容器は、水蒸気の透過を防ぐため容易に取り除けるもので包装することができる。この場合、水蒸気透過性試験はこの包装をほどこしたものについて行う。

(1) 厚さ 容器の袋の部分の厚さを異なった 5 箇所について測定するとき、その最大値と最小値の差は 0.05 mm 以内である。

(2) 透明性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器(1)を準用する。

(3) 外観 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器(2)を準用する。

(4) 漏れ 漏れ試験に従つて試験したとき、漏れない。

(5) 柔軟性 漏れ試験を行つた容器のゴム栓に針をさすとき、液は容器内を空気で置換することなくほとんど排出する。

(6) 水蒸気透過性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器(3)を準用する。

(7) 重金属 檢液の色は比較液より濃くない。ただし、容器切片採取量は 1.0 g とする。

(8) 鉛 第 2 法によって操作し、標準溶液と比較したとき、試験溶液の吸光度は標準溶液の吸光度以下である。

(9) カドミウム 第 2 法によって操作し、標準溶液と比較したとき、試験溶液の吸光度は標準溶液の吸光度以下である。

(10) スズ 試料溶液の吸光度は標準溶液の吸光度より大きくない。

(11) 塩化ビニル 容器の切片を水で洗い、ろ紙で水をじゅうぶんにふきとった後、5 mm 角以下に細断し、その 1.0 g をとり、20 mL のメスフラスコに入れる。これにガスクロマトグラフ用テトラヒドロフラン約 10 mL を加え、冷所で時々振り混ぜて溶かした後、メタノール・ドライアイス浴で冷却しながら、あらかじめメタノール・ドライアイス浴で冷却したガスクロマトグラフ用テトラヒドロフランを加えて 20 mL とし、試料溶液とする。

試料溶液及び塩化ビニル標準液 10 μL につき、次の操作条件 1 及び 2 でガスクロマトグラフ法により試験を行うとき、いずれの操作条件においても、試料溶液の塩化ビニルのピーク高さは、標準液のピーク高さより大きくない。

#### 操作条件 1

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：内径約 3 mm、長さ 2 ~ 3 m の管に、ガスクロマトグラフ用ポリアルキレングリコールモノエーテルを 150 ~ 180 μm のガスクロマトグラフ用ケイソウ土に 15 ~ 20 % の割合で被覆したものを充てんする。

カラム温度：60 ~ 70 °C の一定温度

キャリヤーガス：窒素

流量：塩化ビニルの保持時間が約 1.5 分になるように調整する。

カラムの選定：塩化ビニル標準液 10 μL につき、上記の条件で操作するととき、塩化ビニル、エタノールの順に流出し、それぞれのピークが完全に分離するものを使う。

検出感度：塩化ビニル標準液 10 μL から得た塩化ビニルのピーク高さが 5 ~ 7 mm になるように調整する。

#### 操作条件 2

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：内径約 3 mm、長さ約 1.5 m の管に 150 ~ 180 μm のガスクロマトグラフ用多孔性アクリロニトリルジビニルベンゼン共重合体（孔径 0.06 ~ 0.08 μm、100 ~ 200 m<sup>2</sup>/g）を充てんする。

カラム温度：120 °C 付近の一定温度

キャリヤーガス：窒素

流量：塩化ビニルの保持時間が約 3 分になるように調整する。

カラムの選定：塩化ビニル標準液 10 μL につき、上記の条件で操作するととき、塩化ビニル、エタノールの順に流出し、それぞれのピークが完全に分離するものを使う。

検出感度：塩化ビニル標準液 10 μL から得た塩化ビニルのピーク高さが 5 ~ 7 mm になるように調整する。

(12) 微粒子 微粒子の数は、試験液 1.0 mL につき、5 ~ 10 μm 100 個以下、10 ~ 25 μm 10 個以下及び 25 μm 以上 1 個以下である。

(13) 強熱残分 残分は 0.10 % 以下である。

(14) 溶出物 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注

射剤容器（8）を準用する。

(15) 細胞毒性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器（9）を準用する。

#### 3. その他の水性注射剤容器

以下の規格に適合するほかに、重金属、強熱残分、溶出物などに関する当該容器の材質に固有の規格を満足する。

(1) 透明性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器（1）を準用する。

(2) 外観 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器（2）を準用する。

(3) 水蒸気透過性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器（3）を準用する。

(4) 細胞毒性 ポリエチレン製又はポリプロピレン製水性注射剤容器（9）を準用する。

## 56. 粉体粒度測定法

粉体粒度測定法は、粉末状の医薬品原薬及び添加剤の粉体特性を確認するために、外観、形状、大きさ及びその分布を直接又は間接に測定する方法であり、測定の目的と試料の性状により、光学顕微鏡法又はふるい分け法を用いる。ここで、粉体とは、きわめて多数の固体粒子が集合したものという。

#### 第1法 光学顕微鏡法

光学顕微鏡法は、光学顕微鏡を用いて肉眼又は顕微鏡写真によって直接に個々の粒子の外観及び形状を観察し、その大きさを測定する方法である。また、これにより粒度分布を求めることもできる。結晶性を確認する場合には、光学顕微鏡に偏光装置を取り付けるか、又は偏光顕微鏡を用いる。

本法は、通例、0.5 ~ 100 μm の範囲にある粒子に適用でき、また、複数の異なる種類の固体粒子が混在する粉体であっても、光学的に識別が可能であれば、それぞれの固体粒子の粒度測定が可能である。

#### 装 置

基本的な顕微鏡の構造は、対物レンズと接眼レンズからなる光学系を組み込んだ鏡筒と、照明系を支える鏡台と鏡柱、試料をのせるステージ、更にこれを支持する鏡脚からなる。鏡柱には鏡筒を上下し、焦点を合わせるための粗動及び微動ハンドルが付属している。これらの他に、通常、対物レンズと接眼レンズにより試料の拡大像を結ばせるための光学系装置（光源、反射鏡、絞り、集光器）を内蔵する。

顕微鏡の倍率（対物倍率×接眼倍率）は、試料中の最も小さい粒子をじゅうぶんに観察できるだけの大きさでなければならない。

なお、粒度分布を求める場合、画像解析等によるデータ処理も有用である。また、偏光装置及び透過スペクトル領域の比較的狭いカラーフィルターは、背景とのコントラストを調整するために有用である。

#### 鏡検試料の調製

試料の均一化をはかるため、粉体は適当な縮分法による前処理を行い、もとの粒度分布をじゅうぶんに代表する状態にしておくことが必要である。前処理を行った後、次の方法で鏡検試料を作成する。なお、一視野中の粒子個数は個々の粒子がじゅうぶんに識別できる程度にしておく必要がある。