

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

Sử dụng dung dịch *imidazol* (TT) 10 % trong *methanol khan* (TT) làm dung môi hòa tan.

Tro sulfat

Không quá 0,2 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), hệ số đối xứng của pic erythromycin A không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic erythromycin A thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm của erythromycin A trong chế phẩm sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của erythromycin B và erythromycin C trong chế phẩm sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, viên bao, thuốc tiêm, thuốc mỡ tra mắt, dung dịch bôi ngoài, kem bôi ngoài.

VIÊN NÉN ERYTHROMYCIN

Là viên nén bao tan trong ruột chứa erythromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) mục "Viên bao tan trong ruột" và các yêu cầu sau:

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g erythromycin với 5 ml *cloroform* (TT) (nếu bột viên có màu, lắc thêm cùng than hoạt), lọc lấy dịch lọc và bốc hơi đến khô. Phổ hồng ngoại của sản phẩm phù hợp với phổ hồng ngoại của erythromycin chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 3 mg erythromycin, thêm 2 ml *aceton* (TT), lắc kỹ và thêm 2 ml *acid hydrochloric đậm đặc* (TT). Xuất hiện màu vàng cam, rồi chuyển sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml *cloroform* (TT) và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp *cloroform* có màu tím.

Độ rã

Chế phẩm phải đáp ứng phép thử độ rã của viên bao tan

ERYTHROMYCIN ETHYL SUCCINAT

trong ruột (Phụ lục 11.7), nhưng thời gian thử trong môi trường acid là 60 min.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Định lượng

Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg erythromycin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 50 ml *methanol* (TT), lắc kỹ và thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch.

Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong viên. 1000 IU tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

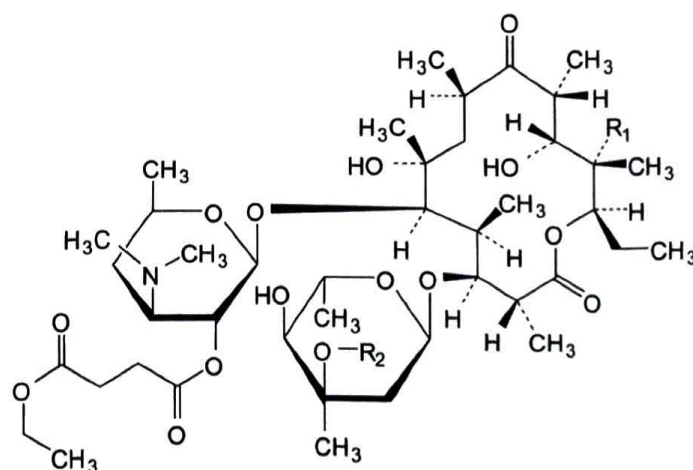
Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

ERYTHROMYCIN ETHYL SUCCINAT



Thành phần	Công thức phân tử	R ₁	R ₂	P.t.l
Erythromycin A ethylsuccinat	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	OH	CH ₃	862
Erythromycin B ethylsuccinat	$C_{43}H_{75}NO_{15}$	H	CH ₃	846
Erythromycin C ethylsuccinat	$C_{42}H_{73}NO_{16}$	OH	H	848

Erythromycin ethyl succinat là một hỗn hợp của các ester ethylsuccinat của erythromycin, thành phần chính là (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-α-L-ribo-hexopy-ranosyl)oxy]

ERYTHROMYCIN ETHYL SUCCINAT

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-2-O-(4-ethoxy-4-oxo-butanoyl)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A 2''-(ethylsuccinat)).

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men được tạo thành từ chủng *Streptomyces erythreus*.

Hàm lượng

Tổng hàm lượng erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C dưới dạng ethylsuccinat: Từ 93,0 % đến 102 %, tính theo chế phẩm khan.

Erythromycin B ethylsuccinat: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.

Erythromycin C ethylsuccinat: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong acetone, trong ethanol và methanol.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của erythromycin ethyl succinat chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 50 ml dung dịch *dikali hydrophosphat* (TT) 3,5 % đã được điều chỉnh đến pH 8,0 bằng dung dịch *acid phosphoric* 10 % (TT), thêm 400 ml nước dùng cho sắc ký (TT), 165 ml 2-methyl-2-propanol (TT) và 30 ml acetonitril (TT), pha loãng thành 1000 ml bằng nước dùng cho sắc ký (TT).

Dung dịch thủy phân: Dung dịch *dikali hydrophosphat* (TT) 2,0 % được điều chỉnh đến pH 8,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,115 g chế phẩm trong 25 ml methanol (TT), thêm 20 ml dung dịch thủy phân, trộn đều và để yên ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 12 h. Pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 10 ml methanol (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 50 ml methanol (TT). Thêm 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2 mg N-demethyl-erythromycin A chuẩn (tạp chất B) trong 20 ml dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích của methanol (TT) và dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 40 mg erythromycin A

chuẩn đã được sấy ở 130 °C trong 3 h trong 10 ml methanol (TT), pha loãng thành 20 ml với dung dịch thủy phân.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *styren-divinylbenzen copolymer* (8 μm, kích thước lỗ xốp 100 nm), duy trì nhiệt độ cột ở 70 °C (đặt cột và ít nhất một phần ba dây dẫn trước cột trong cách thủy).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 200 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu (1), (3), (4) và (5).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của erythromycin A, lấy tích phân sau khi xuất hiện pic của dung dịch thủy phân.

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của các tạp chất E và F.

Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (thời gian lưu khoảng 15 min): pic dung dịch thủy phân nhỏ hơn 0,3; tạp chất B khoảng 0,45; erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất G khoảng 1,3; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; erythromycin B khoảng 1,8 và tạp chất E khoảng 4,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic erythromycin C ít nhất là 0,8; giữa pic tạp chất B và pic erythromycin A ít nhất là 5,5.

Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất E là 0,09; tạp chất F là 0,15; tạp chất G là 0,14.

Giới hạn:

Các tạp đơn: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (3,0 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 1,67 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (5,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,02 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-5,7,9,11,13-pentamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin F).

Tạp chất B: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(methylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (3''-N-demethylerythromycin A).

Tạp chất C: (2S,4aR,4'R,5'S,6'S,7R,8S,9R,10R,12R,14R,15R,16S,16aS)-7-ethyl-5',8,9,14-tetrahydroxy-4'-methoxy-4',6',8,10,12,14,16-heptamethyl-15-[[3,4,6-trideoxy-3-

(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]hexadecahydrospiro[5H,11H-1,3-dioxino[5,4-c]oxacyclotetradecin-2,2'-pyran]-5,11-dion (erythromycin E).

Tạp chất D: (1S,2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R,14R)-9-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3-hydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-6,15,16-trioxatricyclo[10.2.1.1^{1,4}]hexadecan-7-on (anhydroerythromycin A).

Tạp chất E: (2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R)-9-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3,4-dihydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-6,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadec-1(14)-en-7-on (erythromycin A enol ether).

Tạp chất F: (2R,3R,6R,7S,8S,9R,10R)-7-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-3-[(1R,2R)-1,2-dihydroxy-1-methylbutyl]-2,6,8,10,12-pentamethyl-9-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-4,13-dioxabicyclo[8.2.1]tridec-1(12)-en-5-on (pseudoerythromycin A enol ether).

Tạp chất G: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-[(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)methylamino]- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (3"-N-demethyl-3"-N-(ethoxysuccinyl)erythromycin A).

Erythromycin tự do

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Trộn 35 thể tích *acetonitril* (TT₁) với 65 thể tích dung dịch có chứa 0,34 % kali dihydrophosphat (TT) và 0,20 % triethylamin (TT) đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch acid phosphoric 10 % (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *acetonitril* (TT₁) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg erythromycin A chuẩn trong *acetonitril* (TT₁) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *acetonitril* (TT₁).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μ m).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 195 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin A (thời gian lưu khoảng 8 min). Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin ethyl succinat (thời gian lưu khoảng 24 min).

Giới hạn: Diện tích pic của erythromycin tự do trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6,0 %).

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm và dung dịch có chứa 10,0 % imidazol (TT) trong *methanol* khan (TT) làm dung môi.

Tro sulfat

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng, trừ dung dịch thử.

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₁) - *acetonitril* (TT₁) - nước dùng cho sắc ký (5 : 35 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₁) - *acetonitril* (TT₁) - nước dùng cho sắc ký (5 : 50 : 45).

Dung dịch A (Dung dịch thủy phân): Hòa tan 11,5 g dikali hydrophosphat (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh đến pH 8,0 bằng dung dịch acid phosphoric 10 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 11,5 mg chế phẩm trong 2,5 ml *methanol* (TT), thêm 2 ml dung dịch A, trộn đều và để yên ở nhiệt độ phòng ít nhất 12 h. Pha loãng thành 5,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 10,0 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 50,0 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh end-capped polar-embedded octadecylsilyl amorphous organosilica polymer (3,5 μ m).

Nhiệt độ cột: 65 °C, có thể phải làm nóng pha động trước khi vào cột, ví dụ đưa thêm khoảng 30 cm đường dẫn vào trong buồng điều nhiệt.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu: 4 °C.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 200 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - t _R	100	0
t _R - (t _R + 2)	100 $\rightarrow$ 0	0 $\rightarrow$ 100
(t _R + 2) - (t _R + 15)	0	100

t_R là thời gian lưu của erythromycin B, xác định bằng cách tiêm 20 μ l dung dịch đối chiếu (2) và tiến hành sắc ký bằng pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), hệ số đối xứng của pic erythromycin A

ERYTHROMYCIN STEARAT

DUỐC ĐIỀN VIỆT NAM VI

không quá 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic erythromycin A thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được quá 1,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm của erythromycin A ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của erythromycin B ($C_{37}H_{67}NO_{12}$) và erythromycin C ($C_{36}H_{65}NO_{13}$) dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Tính kết quả erythromycin A ethylsuccinat, erythromycin B ethylsuccinat, erythromycin C ethylsuccinat bằng cách nhân hàm lượng phần trăm của erythromycin A với 1,1744; của erythromycin B với 1,1783; của erythromycin C với 1,1777.

Tính tổng hàm lượng của các erythromycin ethylsuccinat bằng tổng các erythromycin A, B và C dưới dạng ethylsuccinat đã tính ở trên.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

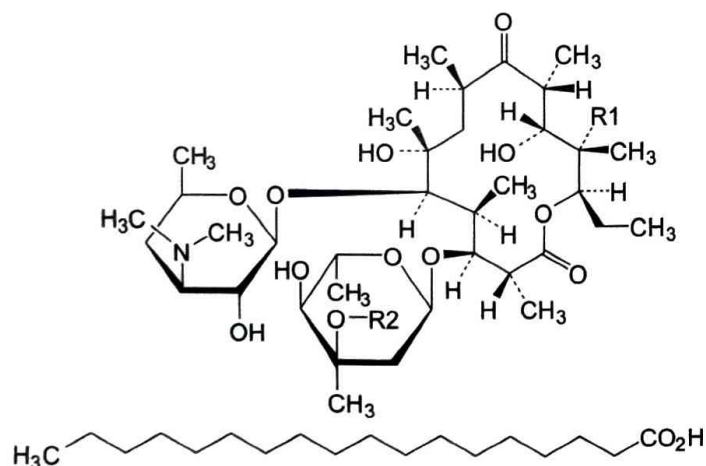
Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Hỗn dịch uống, viên nén.

ERYTHROMYCIN STEARAT



Erythromycin (Stearat)	Công thức	R1	R2	P.t.l
A	$C_{55}H_{103}NO_{15}$	OH	CH ₃	1018
B	$C_{55}H_{103}NO_{14}$	H	CH ₃	1002
C	$C_{54}H_{101}NO_{15}$	OH	H	1004

Erythromycin stearat là hỗn hợp các muối stearat của erythromycin và acid stearic. Thành phần chính là octadecanoat của (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion

(erythromycin A stearat). Chế phẩm được sản xuất bằng phương pháp lên men.

Hàm lượng

Tổng hàm lượng erythromycin A stearat, erythromycin B stearat và erythromycin C stearat phải từ 79,0 % đến 102,0 % (tính theo chế phẩm khan).

Erythromycin B stearat: Không được quá 5,0 % (tính theo chế phẩm khan).

Erythromycin C stearat: Không được quá 5,0 % (tính theo chế phẩm khan).

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và trong methanol. Dung dịch có thể vẩn đục.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của erythromycin stearat chuẩn.

Acid stearic tự do

Không được quá 14,0 % $C_{18}H_{36}O_2$, tính theo chế phẩm khan.

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml methanol (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) cần dùng cho 1 g chế phẩm (n_1 ml).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 30 ml methylen clorid (TT). Nếu dung dịch bị đục, lọc lấy dịch lọc. Lắc phần cần 3 lần, mỗi lần với 25 ml methylen clorid (TT), lọc, tráng phễu lọc với methylen clorid (TT). Gộp các dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi trên cách thủy còn 30 ml. Thêm 50 ml acid acetic băng (TT), chuẩn độ bằng dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ) cần dùng cho 1 g chế phẩm (n_2 ml).

Tính hàm lượng (%) của $C_{18}H_{36}O_2$ theo công thức sau:

$$2,845(n_1 - n_2) \times \frac{100}{100 - h}$$

Trong đó: h là hàm lượng nước của chế phẩm (%).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch thử và dung dịch đối chiếu ngay trước khi dùng.

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₇) - acetonitril (TT₁) - nước (5 : 35 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₇) - nước - acetonitril (TT₁) (5 : 45 : 50).

Dung dịch A: Hòa tan 11,5 g dikali hydrophosphat (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh đến pH 8,0 bằng dung dịch acid phosphoric 10 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.