

Thời gian lưu tương đối so với ethanol (thời gian lưu khoảng 5,3 min): methanol khoảng 0,8, propanol khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6), độ phân giải giữa pic methanol và pic ethanol ít nhất là 5.

Lập đường chuẩn với trục hoành là nồng độ ethanol trong các dung dịch đối chiếu (2), (3), (4) và (6) và trục tung là tỷ lệ trung bình giữa diện tích pic ethanol với diện tích pic chuẩn nội trong sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng.

Tính hàm lượng phần trăm của ethanol trong chế phẩm cần kiểm tra dựa vào đường chuẩn lập được.

Phương pháp C

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml *propanol* (TT₁) thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp mẫu thử có chứa 1 g ethanol thành 50,0 ml bằng *nước*. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml *ethanol* (TT) thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml *methanol* (TT₂) thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn đều 1,0 ml dung dịch chuẩn nội, 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh *cyanopropyl(3)phenyl(3)methyl(94)polysiloxan* (độ dày phim 3 μm).

Khí mang: *Heli* dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 50.

Tốc độ dòng: 3 ml/min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1,6	40
	1,6 - 9,9	40 → 65
	9,9 - 13,6	65 → 175
	13,6 - 20	175
Buồng tiêm		200
Detector		200

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 μl dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), mỗi dung dịch ít nhất 3 lần.

Thứ tự rửa giải: methanol, ethanol, propanol.

Thời gian lưu tương đối so với ethanol (thời gian lưu khoảng 5,3 min): methanol khoảng 0,8, propanol khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic methanol và pic ethanol ít nhất là 5.

Tính hàm lượng phần trăm ethanol (tt/tt) có trong chế phẩm thử theo công thức sau:

$$\frac{A_1 \times I_2 \times 100}{A_2 \times I_1 \times V_1}$$

Trong đó:

A₁, A₂ lần lượt là diện tích pic ethanol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3);

I₁, I₂ lần lượt là diện tích pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3);

V₁ là thể tích của mẫu thử trong dung dịch thử (ml).

10.13 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG METHANOL VÀ PROPAN-2-OL

Phương pháp A

Phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (head-space) (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml *propanol* (TT₁) thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Trộn đều 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và 4,0 ml mẫu thử và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*. Chuyển 2,0 ml dung dịch thu được vào lọ tiêm mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Trộn đều 1,0 ml *methanol* (TT₂) và 1,0 ml *propan-2-ol* (TT₂) và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml *ethanol* (TT) thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 25,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn đều 1,0 ml dung dịch chuẩn nội, 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*. Chuyển 2,0 ml dung dịch thu được vào lọ tiêm mẫu.

(*chú ý:* Đậy ngay các lọ tiêm mẫu bằng nút cao su phủ *polytetrafluoroetylen* và cố định bằng nắp nhôm)

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh *cyanopropyl(3)phenyl(3)methyl(94) polysiloxan* (độ dày phim 3 μm).

Khí mang: *Heli* dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 50.

Tốc độ dòng: 3 ml/min.

Điều kiện tiêm pha hơi tĩnh như sau: nhiệt độ cân bằng 85 °C, thời gian cân bằng 20 min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1,6	40
	1,6 - 9,9	40 → 65
	9,9 - 13,6	65 → 175
	13,6 - 20	175
Buồng tiêm		200
Detector		200

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 ml pha hơi của các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), mỗi dung dịch ít nhất 3 lần.

Thứ tự rửa giải: Methanol, ethanol, propan-2-ol, propanol. Thời gian lưu tương đối so với ethanol (thời gian lưu khoảng 5,3 min): methanol khoảng 0,8; propan-2-ol khoảng 1,2; propanol khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic methanol và pic ethanol ít nhất là 5.

Tính phần trăm thể tích/thể tích của methanol (hoặc propan-2-ol) có trong chế phẩm thử theo công thức sau:

$$\frac{A_1 \times I_2}{A_2 \times I_1 \times 40}$$

Trong đó:

A_1, A_2 lần lượt là diện tích pic methanol (hoặc propan-2-ol) thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3);

I_1, I_2 lần lượt là diện tích pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).

Phương pháp B

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml propanol (TT_1) thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Trộn đều 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và 4,0 ml mẫu thử và pha loãng thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Trộn đều 1,0 ml methanol (TT_2) và 1,0 ml propan-2-ol (TT_2) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml ethanol (TT) thành 50,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn đều 1,0 ml dung dịch chuẩn nội, 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 20,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tinh cyanopropyl(3)phenyl(3)methyl(94) polysiloxan (độ dày phim 3 μm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 50.

Tốc độ dòng: 3 ml/min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1,6	40
	1,6 - 9,9	40 → 65
	9,9 - 13,6	65 → 175
	13,6 - 20	175
Buồng tiêm		200
Detector		200

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 μl dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), mỗi dung dịch ít nhất 3 lần.

Thứ tự rửa giải: Methanol, ethanol, propan-2-ol, propanol. Thời gian lưu tương đối so với ethanol (thời gian lưu khoảng 5,3 min): methanol khoảng 0,8; propan-2-ol khoảng 1,2; propanol khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic methanol và pic ethanol ít nhất là 5.

Tính phần trăm thể tích/thể tích của methanol (hoặc propan-2-ol) có trong chế phẩm thử theo công thức sau:

$$\frac{A_1 \times I_2}{A_2 \times I_1 \times 40}$$

Trong đó:

A_1, A_2 lần lượt là diện tích pic methanol (hoặc propan-2-ol) thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3);

I_1, I_2 lần lượt là diện tích pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).

10.14 XÁC ĐỊNH DUNG MÔI TỒN DƯ

Quy trình mô tả trong phụ lục này được áp dụng để xác định dung môi tồn dư trong các trường hợp:

1. Định tính dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 tồn dư trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
2. Xác định giới hạn dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 khi chúng tồn tại trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
3. Định lượng dung môi nhóm 2 khi lượng tồn dư lớn hơn 1000 ppm (0,1 %) hoặc định lượng dung môi nhóm 3 tồn dư khi có yêu cầu.

Các dung môi tồn dư nhóm 1, nhóm 2, nhóm 3 được liệt kê tại các bảng trong Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Chuyên luận này giới thiệu 3 cách pha mẫu thử và các điều kiện kỹ thuật tiêm pha hơi các mẫu thử hóa hơi lên hệ thống sắc ký khí. Sử dụng hai hệ sắc ký, hệ sắc ký A thường được chọn trước, còn hệ sắc ký B thường được dùng để củng cố kết quả phát hiện. Việc chọn cách pha mẫu thử tùy thuộc vào độ tan của mẫu thử. Trong một số ít trường hợp cách pha mẫu tùy thuộc dung môi tồn dư cần kiểm tra.