

cho tan và pha loãng bằng nước tới 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này tới 250,0 ml bằng nước. Cho 1,0 ml dung dịch thu được vào ống thủy tinh có nút mài, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín, lắc mạnh trong 1 min, ly tâm nếu cần và dùng lớp trên.

Điều kiện sắc ký: Cột thủy tinh dài 2 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi bằng diatomit silan hóa tẩm 3 % (kl/kl) polymethylphenylsiloxan.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, với lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ detector và buồng tiêm ở 150 °C.

Thể tích tiêm: 1 µl.

10.17 ĐỊNH LƯỢNG ACID 2-ETHYLHEXANOIC

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 100 mg acid 3-cyclohexyl propionic (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng vừa đủ 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Thêm 4,0 ml dung dịch acid hydrochloric 33 % (tt/tt) vào 0,300 g mẫu thử. Lắc mạnh 2 lần, mỗi lần trong 1 min với 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg acid 2-ethylhexanoic (TT) trong dung dịch chuẩn nội và pha loãng vừa đủ 50,0 ml với dung dịch chuẩn nội. Thêm 4,0 ml dung dịch acid hydrochloric 33 % (tt/tt) vào 1,0 ml dung dịch vừa pha. Lắc mạnh trong 1 min. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn). Gạn lấy lớp dịch chiết ở trên. Tiếp tục thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội vào lớp dịch còn lại ở dưới và lắc mạnh trong 1 min. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy có nòng rộng, chiều dài 10 m, đường kính trong 0,53 mm, phủ lớp pha tĩnh macrogol 20.000 2-nitroterephthalat (có bề dày 1,0 µm);

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký, với tốc độ dòng 10 ml/min;

Detector ion hóa ngọn lửa.

Chương trình nhiệt độ như sau:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ (°C/min)	Ghi chú
Cột	0 - 2	40	-	Đẳng nhiệt
	2 - 7,3	40 → 200	30	Nhiệt độ tăng đều
	7,3 - 10,3	200	-	Đẳng nhiệt
Buồng tiêm		200		
Detector		300		

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic (pic đầu tiên) và pic dung dịch chuẩn nội ít nhất là 2,0.

Hàm lượng phần trăm của acid 2-ethylhexanoic được tính theo công thức sau:

$$\frac{A_T \times I_C \times m_C \times 2}{A_C \times I_T \times m_T}$$

Trong đó:

A_T là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

A_C là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;

I_T là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

I_C là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;

m_T là lượng cân mẫu thử tính bằng gam;

m_C là lượng cân acid 2-ethylhexanoic trong dung dịch đối chiếu, tính bằng gam.

10.18 XÁC ĐỊNH ACID ACETIC TRONG PEPTID TỔNG HỢP

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Hòa tan 0,7 ml acid orthophosphoric (TT) trong vừa đủ 1000 ml nước; điều chỉnh pH tới 3,0 với dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT).

Pha động B: Methanol dùng cho sắc ký lỏng (TT).

Dung dịch thử: Chuẩn bị như mô tả ở chuyên luận riêng.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch acid acetic 0,10 g/l từ acid acetic băng (TT), sử dụng hỗn hợp 5 thể tích pha động B và 95 thể tích pha động A làm dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

Trong các sắc ký đồ thu được, pic tương ứng với acid acetic có thời gian lưu khoảng 3 min đến 4 min. Đường nền có thể cao dần do hiện tượng rửa giải peptid. Xác định hàm lượng acid acetic trong peptid dựa vào diện tích pic acid acetic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

10.19 ĐỐT TRONG OXYGEN

Thiết bị

Nếu không có những quy định khác trong chuyên luận riêng, bình đốt là một bình nón bằng thủy tinh borosilicat dung tích ít nhất là 500 ml, nút thủy tinh mài có gắn một bộ phận mang mẫu thích hợp bằng platin hoặc bằng platin - iridi.

Phương pháp

Nghiền nhỏ mẫu thử. Đặt một lượng mẫu theo quy định vào giữa một mảnh giấy lọc không tro, kích thước 40 mm x 30 mm, có một dải nhỏ kích thước 10 mm x 30 mm. Nếu giấy lọc được quy định tẩm bằng lithi carbonat thì làm ẩm vùng giữa giấy lọc bằng dung dịch bão hòa lithi carbonat (TT) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trước khi dùng. Gói mẫu thử vào trong giấy và cài vào bộ phận mang mẫu.

Thêm nước hoặc dung dịch hấp thụ như chỉ dẫn vào trong bình. Bơm khí oxygen vào bình qua một ống mà đầu cuối của nó đặt ở phía trên với khoảng cách vừa đủ so với mặt thoáng của chất lỏng hấp thụ. Làm ẩm cổ bình bằng nước. Nạp đầy khí oxygen vào bình. Đốt đầu tự do của dải giấy lọc hẹp bằng một dụng cụ thích hợp và cẩn thận đẩy ngay nút bình lại. Giữ chắc nút. Khi bắt đầu cháy mạnh, lật ngược bình để tạo ra một lớp ngăn cách bằng nước nhưng cần chú ý ngăn không cho những sản phẩm cháy chưa hoàn toàn rơi xuống chất lỏng. Ngay sau khi đốt cháy xong, lắc bình thật mạnh để hòa tan hoàn toàn những sản phẩm đốt. Làm lạnh. Nếu không có những chỉ dẫn khác, sau khoảng 5 min, cẩn thận tháo nút ra. Rửa nút, dây, lưới platin và thành bình bằng nước rồi tiến hành tiếp như quy định trong chuyên luận riêng.

Đối với mẫu thử là chất lỏng, cho một lượng mẫu thử vào nang làm bằng methylcellulose có cỡ thích hợp đã có chứa sẵn khoảng 15 mg bột giấy lọc không tro. Đậy nắp nang, kẹp đầu cuối của dải giấy lọc hẹp vào giữa 2 phần thân và nắp. Buộc nang vào lưới platin.

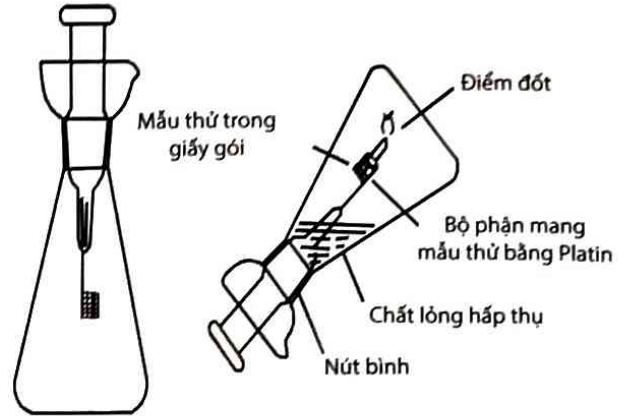
Đối với mẫu thử là thuốc mỡ, cần phải bọc trong tờ giấy không thấm mỡ trước khi bọc trong giấy lọc.

Áp dụng cho những chế phẩm chứa iod

Đốt một lượng quy định mẫu thử bằng phương pháp đã mô tả ở trên, sử dụng chất lỏng hấp thụ là hỗn hợp 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Khi quá trình đốt đã hoàn thành, thêm vào bình một lượng thừa dung dịch brom trong acid acetic (TT) (khoảng 5 ml đến 10 ml) và để yên trong 2 min. Loại brom thừa bằng cách thêm acid formic (TT) (0,5 ml đến 1 ml). Rửa thành bình với nước cất. Đuổi hơi brom ở trên lớp chất lỏng bằng

một luồng khí động. Thêm 1 g kali iodid (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CD), dùng chỉ thị là dung dịch hồ tinh bột (TT) thêm vào lúc cuối của quá trình chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CD) tương đương với 0,4230 mg iod.



Hình 10.19 - Dụng cụ đốt trong oxygen

10.20 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT BẢO QUẢN KHÁNG KHUẨN

Một thành phần quan trọng của các chế phẩm thuốc tiêm đa liều là các chất làm giảm nguy cơ xâm nhập của vi khuẩn vào phần còn lại sau khi đã dùng một phần chế phẩm. Các chất này thuộc nhóm chất bảo quản kháng khuẩn. Tên và hàm lượng các chất bảo quản kháng khuẩn phải ghi trên nhãn thuốc. Các phương pháp phân tích sau đây áp dụng cho một số chất bảo quản kháng khuẩn thông dụng nhất, nhằm xác định sự có mặt của chất bảo quản với hàm lượng không vượt quá 20 % lượng ghi trên nhãn.

Nồng độ chất bảo quản kháng khuẩn được thêm vào thuốc tiêm đa liều hay đơn liều, thuốc nhỏ tai, nhỏ mũi hay nhỏ mắt có thể bị giảm đi trong thời hạn dùng của sản phẩm. Vì thế, nhà sản xuất cần xác định nồng độ tối thiểu còn tác dụng và công thức sản xuất phải được nghiên cứu sao cho nồng độ chất bảo quản kháng khuẩn luôn cao hơn mức nồng độ tối thiểu trong suốt thời hạn sử dụng. Tại thời điểm sản xuất, sản phẩm chứa lượng chất bảo quản kháng khuẩn được công bố (trong phạm vi ± 20 % dao động cho phép trong sản xuất và kiểm nghiệm). Lượng chất bảo quản kháng khuẩn được công bố trên nhãn không có nghĩa là lượng này được giữ nguyên trong thời hạn sử dụng, mà chỉ là sự khẳng định về hàm lượng được thêm vào nằm trong giới hạn của quy trình sản xuất và không vượt quá 20 %. Cách ghi hàm lượng chất bảo quản sẽ là một trị số tiếp theo là đơn vị đo, ví dụ 0,015 mg/ml hay 0,1 %.

Các chất kháng khuẩn thông dụng nhất là benzyl alcol, clorobutanol, phenol; 4 ester đồng đẳng của acid p-hydroxybenzoic (methyl, ethyl, propyl và butyl parabens); 2 hợp chất cơ kim thủy ngân (phenylmercuric nitrat và thimerosal). Xác định phenylmercuric nitrat dùng phương pháp cực phổ, xác định thimerosal và 4 ester đồng đẳng