

BỘ Y TẾ

KIỂM NGHIỆM THUỐC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SĨ TRUNG CẤP)

TRẦN TÍCH (Chủ biên)



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

BỘ Y TẾ

KIỂM NGHIỆM THUỐC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SĨ TRUNG CẤP)

Mã số: T.60.Z.05

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC
HÀ NỘI – 2007

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Chủ biên:

TRẦN TÍCH

Những người biên soạn:

NGUYỄN THỊ KIỀU ANH

TRẦN TÍCH

VÕ THỊ THU THUY

Tham gia tổ chức bản thảo:

ThS. PHÍ VĂN THÂM

TS. NGUYỄN MẠNH PHA

Lời giới thiệu

Thực hiện một số điều của Luật Giáo dục, Bộ Y tế đã ban hành chương trình khung đào tạo trung cấp ngành Y tế. Bộ Y tế tổ chức biên soạn tài liệu dạy – học các môn cơ sở và chuyên môn theo chương trình trên nhằm từng bước xây dựng bộ sách chuẩn trong công tác đào tạo trung cấp y tế.

Sách KIỂM NGHIỆM THUỐC được biên soạn dựa trên chương trình giáo dục nghề nghiệp của Bộ Y tế biên soạn trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được các tác giả Nguyễn Thị Kiều Anh, Trần Tích, Võ Thị Thu Thủy biên soạn theo phương châm: Kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học; cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn ở Việt Nam. Sách được cấu trúc gồm 22 bài bám sát theo chương trình giáo dục với những nội dung theo hướng dẫn chuẩn quốc gia. Tài liệu là tiền đề để các giáo viên và học sinh các trường có thể áp dụng phương pháp dạy – học tích cực.

Sách KIỂM NGHIỆM THUỐC được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học trung cấp và dạy nghề của Bộ Y tế thẩm định vào năm 2007. Bộ Y tế quyết định ban hành làm tài liệu dạy – học chính thức của ngành Y tế giai đoạn 2006 – 2010. Trong quá trình sử dụng, sách phải được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế xin chân thành cảm ơn các tác giả và Hội đồng chuyên môn thẩm định đã đầu tư công sức hoàn thành cuốn sách; Cảm ơn PGS. TS. Trịnh Văn Lầu, TS. Phùng Thị Vinh đã đọc và phản biện, để cuốn sách sớm hoàn thành kịp thời phục vụ cho công tác đào tạo nhân lực y tế.

Lần đầu xuất bản, chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của đồng nghiệp, các bạn sinh viên và các độc giả để lần xuất bản sau được hoàn thiện hơn.

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

MỤC LỤC

Trang

LỜI GIỚI THIỆU	3
Bài 1 ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC, MỸ PHẨM	9
1. Chất lượng và kiểm tra chất lượng	9
2. Hệ thống tổ chức quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc	14
Tự lượng giá và bài tập	16
Bài 2 CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HOÁ VÀ KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN	18
1. Công tác tiêu chuẩn hoá	18
2. Kiểm nghiệm thuốc theo tiêu chuẩn	25
Tự lượng giá và bài tập	30
Bài 3 PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU, TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM	32
1. Sai số trong kiểm nghiệm	32
2. Tính toán và trả lời kết quả kiểm nghiệm	37
Tự lượng giá và bài tập	42
Bài 4 DUNG DỊCH CHUẨN, DUNG DỊCH ION MẪU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM	43
1. Dung dịch chuẩn	43
2. Dung dịch ion mẫu	47
3. Hoá chất, thuốc thử – chỉ thị	49
Tự lượng giá và bài tập	54
Bài 5 MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HOÁ LÝ DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM	56
1. Các phương pháp tách	56
2. Phương pháp sắc ký	58
3. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến	65
4. Phương pháp đo thể	78
Tự lượng giá và bài tập	86
Bài 6 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU	88
1. Thử giới hạn các tạp chất trong thuốc	88
2. Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu	95
3. Cách xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu	95
4. Xác định tro toàn phần của dược liệu	96
5. Xác định tro sulfat	96
6. Xác định tro tan trong nước	96
Tự lượng giá và bài tập	96

Bài 7	PHƯƠNG PHÁP CHUNG XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ SỐ VẬT LÝ	97
	1. Khối lượng riêng và tỷ trọng	97
	2. Xác định chỉ số khúc xạ	100
	3. Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng	101
	4. Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy	103
	5. Phép thử độ rã của viên nén và viên nang	105
	6. Phép thử độ hoà tan của viên nén và viên nang	109
	Tự lượng giá và bài tập	114
Bài 8	Kiểm nghiệm thuốc bột, thuốc cốm	116
	1. Kiểm nghiệm thuốc bột	116
	2. Kiểm nghiệm thuốc cốm	121
	Tự lượng giá và bài tập	123
Bài 9	Kiểm nghiệm thuốc viên nang, viên nén	125
	1. Kiểm nghiệm thuốc viên nang	125
	2. Kiểm nghiệm thuốc viên nén	131
	Tự lượng giá và bài tập	137
Bài 10	Kiểm nghiệm các dạng thuốc lỏng	139
	1. Kiểm nghiệm thuốc tiêm	139
	2. Kiểm nghiệm thuốc nhỏ mắt	146
	3. Kiểm nghiệm xirô thuốc	149
	Tự lượng giá và bài tập	151
Bài 11	Kiểm nghiệm thuốc mỡ, thuốc kem	153
	1. Kiểm nghiệm thuốc mỡ	153
	2. Kiểm nghiệm thuốc kem	157
	Tự lượng giá và bài tập	158
Bài 12	Kiểm nghiệm thuốc đông dược	159
	1. Kiểm nghiệm thuốc hoàn	159
	2. Kiểm nghiệm cao thuốc	164
	3. Kiểm nghiệm rượu thuốc	167
	Tự lượng giá và bài tập	169
Bài 13	Một số phương pháp sinh học trong kiểm nghiệm thuốc	171
	1. Yêu cầu cơ bản của phòng kiểm nghiệm vi sinh vật	171
	2. Thử giới hạn nhiễm khuẩn	176
	3. Thử vô trùng	179
	4. Thử chất gây sốt	183
	Tự lượng giá và bài tập	185
ĐÁP ÁN		186
THỰC TẬP KIỂM NGHIỆM THUỐC		
Bài 1	PHA DUNG DỊCH MẪU, DUNG DỊCH CHUẨN, THUỐC THỬ	189
	1. Dụng cụ	189
	2. Pha dung dịch mẫu	189

	3. Pha dung dịch chuẩn	191
	4. Pha một số thuốc thử	192
	Tự lượng giá và bài tập	193
Bài 2	XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT TRONG THUỐC	194
	1. Dụng cụ	194
	2. Thử tạp chất bằng phương pháp hoá học	195
	3. Thử tạp chất bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng	198
	Tự lượng giá và bài tập	199
Bài 3	XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ SỐ VẬT LÝ CỦA THUỐC	201
	1. Dụng cụ	201
	2. Đo góc quay cực riêng của cloramphenicol	201
	3. Đo chỉ số khúc xạ của diethyl phthalat	202
	4. Đo tỷ trọng của ethanol 96°	203
	5. Đo nhiệt độ nóng chảy của acid benzoic	204
	Tự lượng giá và bài tập	204
Bài 4	KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT OREZOL (OREZOL LOẠI HYDROCARBONAT) ...	205
	1. Dụng cụ	205
	2. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm	205
	3. Thuốc thử (theo ĐĐVN III)	206
	4. Phương pháp thử	207
	Tự lượng giá và bài tập	208
Bài 5	KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN VITAMIN C 100mg	209
	1. Dụng cụ	209
	2. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm	210
	3. Thuốc thử (theo ĐĐVN III)	210
	4. Phương pháp thử	211
	Tự lượng giá và bài tập	212
Bài 6	KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM THIAMIN HYDROCLORID 2,5% KIỂM NGHIỆM THUỐC NHỎ MẮT CLORAMPHENICOL 0,4%	214
	1. Dụng cụ	214
	2. Kiểm nghiệm thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5%	215
	3. Kiểm nghiệm thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4%	217
	Tự lượng giá và bài tập	220
Bài 7	KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ TRA MẮT TETRACYCLIN 1%	221
	1. Dụng cụ	221
	2. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm	222
	3. Thuốc thử (theo ĐĐVN III)	222
	4. Phương pháp thử	223
	Tự lượng giá và bài tập	225
Bài 8	KIỂM NGHIỆM THUỐC HOÀN NHI TRẦN	226
	1. Dụng cụ	226
	2. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm	226

3. Thuốc thử (theo ĐVN III)	227
4. Phương pháp thử	227
Tự lượng giá và bài tập	229
Bài 9 KIỂM NGHIỆM BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI SINH VẬT	230
1. Dụng cụ – hoá chất.....	230
2. Thử vô khuẩn thuốc tiêm vitamin B ₁	230
3. Xác định số lượng vi khuẩn hiếu khí, vi nấm trong xirô Bổ phế chỉ khái lộ	232
Tự lượng giá và bài tập	234
ĐÁP ÁN	235
Phụ lục 1 BẢNG NGUYÊN TỬ LƯỢNG CÁC NGUYÊN TỐ	236
Phụ lục 2 CÁC PHẢN ỨNG ĐỊNH TÍNH MỘT SỐ ION.....	239
Phụ lục 3 PHẢN ỨNG MÀU CỦA CÁC PENICILIN VÀ CEPHALOSPORIN	246
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	247

Bài 1

ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC, MỸ PHẨM

MỤC TIÊU

- Trình bày được sự cần thiết phải kiểm tra chất lượng thuốc.
- Biết được nội dung, hệ thống tổ chức kiểm tra chất lượng thuốc của Việt Nam.

1. CHẤT LƯỢNG VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

1.1. Thuốc và yêu cầu chất lượng

1.1.1. Khái niệm về thuốc

Trong "Điều lệ thuốc phòng bệnh, chữa bệnh" ban hành ngày 24/1/1991 quy định: *Thuốc là những sản phẩm có nguồn gốc từ động vật, thực vật, khoáng vật, hay sinh học được sản xuất để dùng cho người nhằm:*

- Phòng bệnh, chữa bệnh.
- Phục hồi, điều chỉnh chức năng cơ thể.
- Làm giảm triệu chứng bệnh.
- Chẩn đoán bệnh.
- Phục hồi hoặc nâng cao sức khỏe.
- Làm mất cảm giác một bộ phận hay toàn thân.
- Làm ảnh hưởng quá trình sinh sản.
- Làm thay đổi hình dáng cơ thể.

Thuốc lưu hành trên thị trường đa phần là các tân dược và thuốc y học dân tộc (là các thuốc được sản xuất theo phương pháp y học cổ truyền). Trong đó có

nhieu thuốc dưới dạng biệt dược (biệt dược là những thuốc mang tên riêng, còn gọi là tên thương mại riêng của một cơ sở sản xuất hay một hãng sản xuất lần đầu đặt cho nó và đã được phép đưa ra thị trường đang được bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp).

1.1.2. Chất lượng thuốc và yêu cầu chất lượng

Chất lượng của một thuốc là tổng hợp các tính chất đặc trưng của thuốc đó (ví dụ; có chứa đúng các thành phần theo tỷ lệ quy định, có độ tinh khiết theo yêu cầu, đóng gói có nhãn quy định,...) được thể hiện ở một mức độ phù hợp với những yêu cầu kỹ thuật đã định trước tùy theo điều kiện xác định về kinh tế, kỹ thuật, xã hội,... nhằm đảm bảo cho thuốc đó đạt các mục tiêu sau:

- Có hiệu lực phòng bệnh và chữa bệnh.
- Không có hoặc ít có tác dụng có hại.
- Ổn định về chất lượng trong thời hạn đã xác định.
- Tiện dụng và dễ bảo quản.

Thuốc là sản phẩm hàng hoá đặc biệt, có quan hệ trực tiếp đến sức khoẻ cộng đồng, đến chất lượng và hiệu quả của việc phòng bệnh, chữa bệnh. Vì thế thuốc phải được bảo đảm chất lượng trong toàn bộ quá trình sản xuất (từ nguyên liệu cho đến thành phẩm), trong quá trình bảo quản, lưu thông phân phối đến người sử dụng.

Mục tiêu của đảm bảo chất lượng trên chỉ được coi là đạt khi nào thuốc đáp ứng được các yêu cầu cơ bản sau:

- Thuốc có chứa đúng các thành phần theo tỷ lệ quy định của công thức đã được đăng ký và được cấp phép (định tính, định lượng).
- Thuốc được phép sản xuất và sản xuất theo đúng các quy trình đã đăng ký và được phép.
- Có độ tinh khiết đạt yêu cầu quy định.
- Thuốc được đóng gói trong các đồ đựng và đồ bao gói với nhãn thích hợp và đúng quy cách đã đăng ký.
- Thuốc được bảo quản, phân phối, quản lý theo quy định để chất lượng của thuốc được duy trì trong suốt tuổi thọ đã đăng ký hay thời hạn bảo hành.

Để đạt các mục tiêu trên, cần phải có nhiều yếu tố, trong đó 3 yếu tố cơ bản phải có là:

a) Thực hành sản xuất thuốc tốt (GMP – Good Manufacture Practice)

Nhằm để sản xuất ra được thuốc theo dự kiến và đạt tiêu chuẩn kỹ thuật đã đặt ra. Muốn vậy, phải tuân thủ những quy định chặt chẽ và chi tiết về mọi mặt của quá trình sản xuất, bao gồm:

- 1) Tổ chức và nhân sự.
- 2) Cơ sở nhà xưởng.
- 3) Thiết bị.
- 4) Vệ sinh.
- 5) Nguyên liệu ban đầu.
- 6) Thao tác sản xuất.
- 7) Dán nhãn và đóng gói.
- 8) Hệ thống kiểm tra chất lượng.
- 9) Tự thanh tra.
- 10) Hồ sơ phân phối.
- 11) Các khiếu nại và báo cáo tai biến dùng thuốc.

b) Thực hành kiểm nghiệm thuốc tốt (GLP – Good Laboratory Practice)

Mục đích cơ bản của GLP là nhằm xây dựng được một đơn vị làm công tác kiểm nghiệm đáp ứng đầy đủ mọi yêu cầu của công tác kiểm tra chất lượng thuốc đề ra, để đảm bảo rằng kết quả các phép phân tích thu được là có tính chọn lọc cao, chính xác và đúng đắn, có tính pháp lý. Đồng thời giúp cho việc tra cứu và tìm ra được nhanh chóng nguồn gốc các sai sót xảy ra khi gặp phải. Do vậy, phải tuân thủ những quy định chặt chẽ và được chuẩn hoá cho một cơ sở kiểm nghiệm về các mặt:

- 1) Tổ chức và nhân sự.
- 2) Hệ thống chất lượng.
- 3) Cơ sở vật chất.
- 4) Thiết bị phân tích và hiệu chỉnh thiết bị phân tích.
- 5) Thuốc thử và chất đối chiếu.
- 6) Tiêu chuẩn chất lượng và phương pháp phân tích.
- 7) Mẫu thử.

- 8) Thử nghiệm và đánh giá kết quả.
- 9) Hồ sơ tài liệu.
- 10) An toàn trong phòng thí nghiệm.

c) Thực hành bảo quản thuốc tốt (GSP – Good Storage Practice)

Nhằm giám sát, kiểm tra chặt chẽ để thuốc đảm bảo chất lượng đến người sử dụng. Vì vậy, phải tuân thủ những quy định chặt chẽ và nghiêm ngặt trong quá trình bảo quản, bao gồm:

- 1) Tổ chức và nhân sự.
- 2) Nhà kho và trang thiết bị.
- 3) Vệ sinh.
- 4) Các quy trình bảo quản.
- 5) Thuốc trả về.
- 6) Gửi hàng (vận chuyển bằng cách gửi hàng).
- 7) Hồ sơ tài liệu.

1.2. Kiểm tra chất lượng thuốc (Drug quality control)

1.2.1. Khái niệm

Kiểm tra chất lượng thuốc là quá trình đo, xem xét, thử nghiệm một hay nhiều đặc tính của thuốc (thành phẩm hoặc nguyên liệu) và so sánh kết quả với yêu cầu đã đặt ra nhằm xác định sự phù hợp của mỗi đặc tính đó.

Từ khái niệm trên ta thấy kiểm tra chất lượng thuốc hay kiểm nghiệm thuốc là việc sử dụng các phương pháp phân tích: lý học, hoá học, hoá lý, sinh vật, vi sinh vật,... đã quy định để xác nhận một thuốc hay một nguyên liệu làm thuốc có đạt tiêu chuẩn quy định hay không. Nói một cách cụ thể, kiểm tra chất lượng thuốc nhằm trả lời các câu hỏi:

- Đây có phải là thuốc cần kiểm tra không?
- Có đảm bảo hoạt lực hay hàm lượng đã đăng ký không?
- Có đạt độ tinh khiết theo yêu cầu không?
- Có bị phân huỷ hay biến chất không?
- Đồ bao gói, nhãn có đúng quy cách không?

Như vậy, mục tiêu cơ bản của công tác kiểm tra chất lượng thuốc là:

- Để người sử dụng được dùng thuốc đảm bảo chất lượng, đạt hiệu quả sử dụng cao.

- Phát hiện thuốc không đạt tiêu chuẩn, thuốc giả, thuốc kém phẩm chất,... để xử lý và không cho phép lưu hành trên thị trường.

Trong ngành Y tế đã quy định: Tất cả các thuốc và nguyên liệu làm thuốc đều phải được kiểm nghiệm và xác định chất lượng, nếu đạt tiêu chuẩn quy định mới được đưa vào sử dụng. Bởi vậy thuốc phải được kiểm tra chất lượng một cách nghiêm ngặt, chặt chẽ, bảo đảm cho thuốc đạt chất lượng trong mọi hoạt động sản xuất, lưu thông phân phối, xuất nhập khẩu, quản lý và sử dụng thuốc.

1.2.2. Khái niệm về thuốc đạt và không đạt tiêu chuẩn, thuốc giả mạo, thuốc kém phẩm chất

a) Thuốc đạt tiêu chuẩn (thuốc đạt chất lượng)

Là thuốc đáp ứng đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật tiêu chuẩn đã đề ra (hay thuốc đáp ứng đầy đủ các chỉ tiêu chất lượng trong tiêu chuẩn chất lượng đã đăng ký).

b) Thuốc không đạt tiêu chuẩn

Là thuốc không đáp ứng ít nhất một chỉ tiêu chất lượng bất kỳ trong tiêu chuẩn đã đăng ký. Thuốc không đạt tiêu chuẩn là thuốc kém chất lượng.

c) Thuốc giả

Theo quy định của Tổ chức Y tế thế giới, thuốc giả là chế phẩm được sản xuất không đúng với nhãn ở khía cạnh nhận dạng hay nguồn gốc thuốc, với sự cố ý và mang tính chất lừa đảo của nhà sản xuất. Sản xuất sai thành phần công thức đã đăng ký, không có hoặc không đủ hàm lượng hoạt chất, hoặc được đóng gói trong các bao bì giả mạo. Như vậy, có thể nói thuốc giả là những sản phẩm của người sản xuất mang ý đồ lừa đảo, gian lận. Có thể dựa vào một số biểu hiện để phát hiện:

- Thuốc không có hoặc có ít dược chất.
- Thuốc có chứa dược chất khác với tên dược chất ghi trên nhãn.
- Nhãn, bao gói giống hay gần giống với nhãn, bao gói của một thuốc khác,...

d) Thuốc kém phẩm chất

Là thuốc không đạt tiêu chuẩn kỹ thuật mà trước đó nó đã đạt. Mức độ không đạt tiêu chuẩn có nhiều hình thái khác nhau. Tất cả các nguyên nhân gây ra có thể xác minh được bằng các phương pháp khoa học, kỹ thuật cho phép. Các nguyên nhân đó có thể là:

- Do kỹ thuật sản xuất, bảo quản không đúng, nên thuốc tự biến chất.
- Do đồ bao gói không đạt tiêu chuẩn, nên đã đưa tạp chất vào thuốc.
- Do tuổi thọ (hạn dùng) đã hết.
- Do nguyên, phụ liệu không đạt tiêu chuẩn.
- Do tác động của môi trường: nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm,...

2. HỆ THỐNG TỔ CHỨC QUẢN LÝ, KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC

Nhà nước giao cho Bộ Y tế chịu trách nhiệm quản lý toàn diện chất lượng thuốc. Vì vậy, hệ thống tổ chức, quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc của ngành Y tế được chia làm 3 phần: Hệ thống quản lý chất lượng thuốc; Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc; Hệ thống thanh tra dược.

2.1. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc

2.1.1. Cục quản lý Dược Việt Nam

Là cơ quan được Bộ Y tế uỷ quyền thực hiện các nhiệm vụ trong lĩnh vực quản lý nhà nước về chất lượng thuốc:

- Xây dựng quy hoạch, kế hoạch về quản lý chất lượng thuốc và tổ chức kế hoạch đã được phê duyệt.
- Xây dựng các văn bản pháp quy về tiêu chuẩn và chất lượng thuốc để Bộ ban hành, hướng dẫn kiểm tra việc thực hiện các văn bản trên.
- Quản lý việc đăng ký tiêu chuẩn cơ sở. Cung cấp thông tin khoa học, kỹ thuật liên quan đến đảm bảo chất lượng thuốc.
- Chỉ đạo, giám sát hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc trên toàn quốc.
- Kiểm tra và cấp giấy chứng nhận cơ sở sản xuất đạt tiêu chuẩn "Thực hành tốt sản xuất thuốc" và phòng kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn "Thực hành tốt kiểm nghiệm thuốc".

– Tổ chức hướng dẫn nghiệp vụ cho cán bộ quản lý chất lượng thuốc của ngành Y tế, tổ chức đào tạo và bồi dưỡng nghiệp vụ về tiêu chuẩn – đo lường – chất lượng thuốc.

– Phối hợp với thanh tra Bộ Y tế thực hiện chức năng kiểm tra, thanh tra nhà nước về chất lượng thuốc và xử lý vi phạm pháp luật về chất lượng thuốc theo thẩm quyền.

2.1.2. Cơ quan quản lý nhà nước về chất lượng thuốc ở địa phương

Sở Y tế chỉ đạo quản lý toàn diện về chất lượng của thuốc ở địa phương (thường uỷ quyền cho phòng nghiệp vụ Dược) có nhiệm vụ:

– Phổ biến, hướng dẫn và tổ chức thực hiện các văn bản pháp luật về quản lý chất lượng thuốc tại địa phương.

– Thực hiện chức năng kiểm tra, thanh tra nhà nước về chất lượng thuốc và xử lý vi phạm về chất lượng thuốc trong phạm vi địa phương.

2.2. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc

2.2.1. Cơ quan kiểm tra chất lượng của Nhà nước về thuốc

– Ở Trung ương là Viện Kiểm nghiệm trung ương (ở Hà Nội) và Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh.

Giúp Bộ Y tế quản lý chỉ đạo công tác kiểm tra chất lượng thuốc trong toàn quốc về mặt kỹ thuật. Có nhiệm vụ:

+ Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn Việt Nam về thuốc.

+ Kiểm tra xác định chất lượng thuốc lưu hành trên thị trường.

+ Thẩm tra kỹ thuật, giúp Bộ xét duyệt các tiêu chuẩn kiểm nghiệm để xét cấp đăng ký sản xuất và lưu hành thuốc ở Việt Nam.

+ Phát hành các chất chuẩn và chất đối chiếu dùng trong kiểm nghiệm.

+ Làm trọng tài về chất lượng khi có tranh chấp khiếu nại về chất lượng thuốc.

+ Tham gia đào tạo cán bộ làm công tác kiểm nghiệm.

+ Tư vấn về chính sách chất lượng thuốc quốc gia.

+ Xây dựng tiêu chuẩn phòng kiểm nghiệm thuốc đạt tiêu chuẩn và giúp đỡ, kiểm tra công nhận các phòng kiểm nghiệm thuốc trong cả nước.

+ Kiểm tra việc kiểm nghiệm thuốc theo tiêu chuẩn trong phạm vi toàn quốc.

– Ở tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương là trung tâm kiểm nghiệm dược phẩm, mỹ phẩm. Đó là cơ quan trực thuộc Sở Y tế, có nhiệm vụ như Viện Kiểm nghiệm trung ương và Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh nhưng giới hạn trong phạm vi tỉnh, thành phố.

2.2.2. Hệ thống tự kiểm tra chất lượng ở các cơ sở (phòng kiểm nghiệm, phòng KCS)

Công tác kiểm tra chất lượng thuốc được thực hiện ở tất cả các cơ sở có liên quan tới thuốc. Tùy theo quy mô của cơ sở sản xuất (xí nghiệp, công ty trung ương hoặc địa phương, các cơ sở nhỏ,...), kinh doanh (công ty, cửa hàng,...), bệnh viện (trung ương, địa phương) mà lập phòng kiểm nghiệm, phòng KCS hay tổ kiểm nghiệm để tự kiểm tra chất lượng thuốc.

Với các cơ sở sản xuất, bắt buộc phải có bộ phận tự kiểm tra chất lượng. Bộ phận này phải có khả năng kiểm nghiệm xác định chất lượng thuốc được sản xuất ở cơ sở mình theo tiêu chuẩn đã duyệt. Phải kiểm nghiệm, theo dõi được chất lượng của thuốc trong suốt quá trình sản xuất từ nguyên liệu, bán thành phẩm, thành phẩm. Phải lập hồ sơ theo dõi từng lô sản phẩm. Cơ sở sản xuất phải chịu trách nhiệm về thuốc do cơ sở sản xuất ra.

Các cơ sở bảo quản, phân phối thuốc phải có bộ phận tự kiểm nghiệm (với các công ty lớn) hoặc kiểm tra, kiểm soát để quản lý, đánh giá chất lượng thuốc, theo dõi chất lượng trong quá trình bảo quản, cung cấp hồ sơ chất lượng cho đơn vị sử dụng thuốc.

Các bệnh viện, tùy theo quy mô lớn, nhỏ cũng phải có bộ phận kiểm nghiệm các thuốc tự pha chế, kiểm tra, kiểm soát chất lượng thuốc trước khi phân phối đến người sử dụng.

2.3. Hệ thống thanh tra dược

Cùng các cơ quan quản lý nhà nước về chất lượng thuốc, thực hiện chức năng kiểm tra, thanh tra nhà nước về chất lượng thuốc được tổ chức từ trung ương đến địa phương.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Mục tiêu của công tác kiểm tra chất lượng thuốc. Các yêu cầu cơ bản để đạt mục tiêu trên.

2. Nội dung chính của công tác kiểm tra chất lượng thuốc. Điều kiện để thuốc được đưa vào lưu thông, phân phối, sử dụng.
3. Thế nào là thuốc đạt và không đạt tiêu chuẩn? Thuốc giả mạo? Thuốc kém phẩm chất?
4. Trình bày hệ thống tổ chức kiểm tra chất lượng thuốc của Việt Nam.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi 5 và 6 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

5. Theo phân cấp:

a) Hệ thống quản lý chất lượng thuốc ở Việt Nam gồm:

- A. Cục Quản lý dược Việt Nam.
- B. Viện Kiểm nghiệm trung ương.
- C. Trung tâm kiểm nghiệm dược phẩm, mỹ phẩm của tỉnh.
- D. Phòng nghiệp vụ dược – Sở Y tế.

b) Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc ở Việt Nam gồm:

- A. Phòng Thanh tra dược – Sở Y tế.
- B. Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh.
- C. Trung tâm kiểm nghiệm dược phẩm, mỹ phẩm của tỉnh.
- D. Phòng nghiệp vụ dược – Sở Y tế.

6. Theo quy định:

a) Một thuốc ghi trên nhãn là viên nén paracetamol 500mg nhưng khi kiểm nghiệm thì chứa hoạt chất là aspirin, thì chế phẩm đó là:

- A. Thuốc đạt tiêu chuẩn.
- B. Thuốc không đạt tiêu chuẩn.
- C. Thuốc giả.
- D. Thuốc kém phẩm chất.

b) Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4% có 7 chỉ tiêu yêu cầu về chất lượng, trong đó có chỉ tiêu về “thể tích” không đạt, thì chế phẩm đó là:

- A. Thuốc đạt tiêu chuẩn.
- B. Thuốc không đạt tiêu chuẩn.
- C. Thuốc giả.
- D. Thuốc kém phẩm chất.

Bài 2

CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HOÁ VÀ KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN

MỤC TIÊU

- Trình bày được nội dung của công tác tiêu chuẩn hoá.
- Trình bày được 3 nội dung chính của công tác kiểm nghiệm thuốc theo tiêu chuẩn (lấy mẫu, tiến hành kiểm nghiệm, đánh giá kết quả và viết phiếu trả lời).

1. CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HOÁ

1.1. Khái niệm

1.1.1. Một số định nghĩa

- *Tiêu chuẩn hoá* là một lĩnh vực hoạt động bao gồm hai nội dung: Xây dựng các tiêu chuẩn và áp dụng các tiêu chuẩn đó trong thực tế nhằm đưa các hoạt động của xã hội (đặc biệt trong lĩnh vực sản xuất và kinh doanh) đi vào nề nếp để đạt được hiệu quả chung có lợi nhất cho mọi người và cho xã hội.

- *Tiêu chuẩn* là những quy định thống nhất và hợp lý được trình bày dưới dạng một văn bản hoặc một thể thức nhất định do một cơ quan có thẩm quyền ban hành để bắt buộc áp dụng cho những nơi có liên quan.

- *Đối với thuốc, tiêu chuẩn* là một văn bản khoa học kỹ thuật mang tính pháp chế trong đó quy định: quy cách, chỉ tiêu, yêu cầu kỹ thuật, phương pháp thử, đóng gói, ghi nhãn, bảo quản và các vấn đề khác liên quan đến việc đánh giá chất lượng của một thuốc (trong đó xây dựng tiêu chuẩn về yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử là quan trọng nhất). Đây là cơ sở để các cơ quan kiểm nghiệm (hoặc người kiểm nghiệm) tiến hành thực nghiệm, đánh giá kết quả, công bố kết quả (bằng phiếu kiểm nghiệm) đánh giá chất lượng thuốc là đạt hay không đạt và có được phép lưu hành (hoặc sử dụng) hay không.

– Về mặt lịch sử, *công tác tiêu chuẩn hoá* gắn liền với lịch sử sản xuất của loài người, của các phương thức sản xuất của từng chế độ xã hội khác nhau. Những hình thức sơ khai của tiêu chuẩn hoá đã có từ thời cổ đại, nhưng phát triển có tính tổ chức rộng rãi trên phạm vi quốc tế thì chỉ có từ đầu thế kỷ XX.

1.1.2. Đối tượng của công tác tiêu chuẩn hoá

Bao gồm rất rộng, hầu như trên tất cả mọi lĩnh vực, *Ví dụ:*

- Các máy móc, dụng cụ, trang thiết bị công nghệ.
- Nguyên, nhiên vật liệu.
- Nông, lâm, hải sản, hàng tiêu dùng.
- Các nguyên tắc, phương pháp, thủ tục, các vấn đề tổ chức, quản lý,...
- Thuật ngữ, ký hiệu, đo lường,...
- Sản phẩm và bán sản phẩm.

Trong ngành Dược, mọi hoạt động sản xuất, kinh doanh, sử dụng thuốc, mọi vấn đề có liên quan đến các đối tượng nêu trên đều phải tiêu chuẩn hoá.

1.1.3. Các cấp tiêu chuẩn về thuốc

Trước đây, có 3 cấp tiêu chuẩn là Tiêu chuẩn Việt Nam, Tiêu chuẩn ngành và Tiêu chuẩn cơ sở.

Hiện nay, chỉ áp dụng 2 cấp tiêu chuẩn là Tiêu chuẩn Việt Nam và Tiêu chuẩn cơ sở.

– Tiêu chuẩn Việt Nam (Tiêu chuẩn quốc gia, Dược điển Việt Nam) (TCVN).

– Tiêu chuẩn cơ sở (TC hoặc TCZ) do các cơ sở sản xuất biên soạn, có hiệu lực trong phạm vi quy định của các cấp quản lý. Có hai loại Tiêu chuẩn cơ sở: đối với những sản phẩm lưu hành ngoài thị trường thì tiêu chuẩn phải được đăng ký với cơ quan có thẩm quyền; với các sản phẩm không lưu hành trên thị trường mà chỉ dùng trong đơn vị (bệnh viện) thì tiêu chuẩn do thủ trưởng đơn vị xét duyệt và ban hành.

Với các thuốc đã có trong chuyên luận của Dược điển Việt Nam thì tiêu chuẩn cơ sở phải có mức chất lượng không được thấp hơn các mức quy định trong tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam.

1.2. Công tác xây dựng tiêu chuẩn

Tiêu chuẩn Việt Nam về thuốc được nhà nước uỷ quyền cho Bộ Y tế tổ chức biên soạn, xét duyệt và ban hành sau khi đăng ký tại Cục Tiêu chuẩn đo lường chất lượng Nhà nước Việt Nam, các tiêu chuẩn này được tập hợp trong một bộ sách gọi là Dược điển Việt Nam (Hội đồng Dược điển được Bộ Y tế giao trách nhiệm này). Giúp việc cho Hội đồng Dược điển Việt Nam là Văn phòng Hội đồng Dược điển.

Một số thuốc chưa có TCVN sẽ sử dụng TC do các cơ sở sản xuất biên soạn và được cấp có thẩm quyền duyệt.

1.2.1. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn về yêu cầu kỹ thuật

Khi xây dựng tiêu chuẩn về yêu cầu kỹ thuật cần chú ý tới việc kết hợp giữa các loại chỉ tiêu để phản ánh hết được chất lượng của thuốc phù hợp với điều kiện kỹ thuật, kinh tế và thực tế: các chỉ tiêu phản ánh về công dụng của thuốc (thể hiện ở độ tinh khiết và hàm lượng). Chỉ tiêu phản ánh về mức độ tin cậy và an toàn (độ độc, độ bền, hạn dùng,...). Tiêu chuẩn về tâm, sinh lý (dạng thuốc qua các đường vào cơ thể). Chỉ tiêu về thẩm mỹ (hình thức đóng gói, trình bày đẹp, bảo quản,...).

Dựa trên các nội dung chính của yêu cầu kỹ thuật, căn cứ vào thực tế, điều kiện kỹ thuật, lựa chọn ra các chỉ tiêu thích hợp, không quá nhiều hoặc quá ít nhưng nói lên đủ đặc trưng chất lượng thuốc, phù hợp với điều kiện cụ thể. Sau đó phải xây dựng được mức cho các chỉ tiêu trên. Mức chỉ tiêu là giá trị cụ thể hay là khoảng giá trị mà thuốc phải đạt được.

1.2.2. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn về phương pháp thử

a) Các loại quy trình về phương pháp thử

Mục đích chính của việc tiêu chuẩn hoá một phương pháp thử là chọn cho được một quy trình thử hay quy trình phân tích sao cho khi áp dụng sẽ cho một kết quả gần với giá trị thực nhất. Trong kiểm nghiệm thuốc, các loại quy trình thử thường được chia thành 3 loại:

- Các phép thử định tính: là các phép thử nhằm chứng minh rằng chất cần phân tích có mặt trong mẫu đem thử.
- Các phép thử về độ tinh khiết: là các phép thử nhằm chứng minh rằng mẫu đem thử đạt (hay không đạt) về mức độ tinh khiết.

– Các phép thử định lượng: là những phép thử nhằm xác định hàm lượng của mẫu thử (hoặc thành phần chính của mẫu) hay hàm lượng của các hoạt chất có trong mẫu đem thử. Các phép thử này được tiến hành bằng các phương pháp định lượng hoá học, hoá lý, vật lý, sinh học,...

b) Các yêu cầu chất lượng đối với một phương pháp thử:

Được thể hiện ở một số điểm chính sau:

– Có tính tiên tiến: thể hiện ở độ chính xác (độ đúng, độ chụm), tính đặc hiệu.

+ Độ đúng: Phương pháp khi áp dụng sẽ cho kết quả gần với giá trị thực nhất

+ Độ lặp lại: Cho biết sự phù hợp giữa các kết quả (hay độ chụm) của các phép xác định song song.

+ Tính đặc hiệu: Phương pháp cho phép xác định đúng chất cần phân tích và ít chịu ảnh hưởng bởi sự có mặt của các chất khác trong mẫu thử.

+ Có giới hạn phát hiện cao: Được biểu thị bằng trị số tuyệt đối, tức lượng tối thiểu để có thể phát hiện được (thường tính bằng $\mu\text{g} = 10^{-6}\text{g}$); hoặc trị số tương đối, tức nồng độ giới hạn có thể phát hiện được (thường tính theo nồng độ $\mu\text{g/ml}$).

– Có tính thực tế: Phương pháp thử đưa ra phải phù hợp với điều kiện thực tế, có tính khả thi cao (phù hợp với trang thiết bị, máy, kỹ thuật, hoá chất, thuốc thử, trình độ con người,...).

– Có tính kinh tế: Phương pháp thử đưa ra ít tốn kém mà vẫn đáp ứng các yêu cầu nêu trên.

– Có tính an toàn cao: An toàn lao động và bảo vệ sức khỏe (ít dùng hoá chất độc hại, tránh được các thao tác kỹ thuật phức tạp, nguy hiểm,...).

1.3. Công tác áp dụng tiêu chuẩn trong thực tế

1.3.1. Mục đích ý nghĩa

Áp dụng tiêu chuẩn là một mặt công tác của toàn bộ công tác tiêu chuẩn hoá. Qua áp dụng để:

– Kiểm chứng lại các kết quả nghiên cứu khi xây dựng tiêu chuẩn (mức chỉ tiêu có phù hợp không? Phương pháp thử đúng hay sai?...).

– Xác định hiệu quả kinh tế của tiêu chuẩn (tiêu chuẩn có kích thích cho sản xuất, kích thích tiêu thụ). Trên cơ sở đó tiếp tục sửa đổi, hoàn thiện nâng cao chất lượng của tiêu chuẩn.

Ngăn chặn việc đưa các thuốc không đạt tiêu chuẩn ra lưu hành, sử dụng. Phát hiện thuốc giả, thuốc kém chất lượng, phát hiện nguyên nhân vi phạm và tìm các biện pháp khắc phục.

1.3.2. Các hình thức áp dụng tiêu chuẩn trong thực tế

a) Áp dụng tiêu chuẩn trong sản xuất

Nghĩa là phải thực hiện đúng các tiêu chuẩn (kỹ thuật, thủ tục, nguyên tắc và các quy định có liên quan) để sản xuất ra thuốc đạt tiêu chuẩn. Ví dụ: Phải kiểm tra xử lý nguyên, vật liệu đạt tiêu chuẩn mới đưa vào sản xuất; trong quá trình sản xuất phải kiểm tra; tất cả các công đoạn, 100% lô sản xuất tại cơ sở; kiểm tra thu nhận sản phẩm,...

b) Áp dụng tiêu chuẩn trong kiểm tra chất lượng

Nghĩa là tiến hành thực nghiệm tất cả các chỉ tiêu yêu cầu kỹ thuật theo đúng phương pháp thử đã nêu để đánh giá xem thuốc có đạt tiêu chuẩn hay không đạt tiêu chuẩn.

c) Kiểm tra áp dụng tiêu chuẩn

Công việc này được tiến hành thường xuyên ở các cơ sở hoặc ở hệ thống kiểm tra nhà nước: Viện Kiểm nghiệm trung ương, Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh, trung tâm kiểm nghiệm, thanh tra dược,... Nội dung kiểm tra bao gồm:

– Kiểm tra cơ sở vật chất của công tác kiểm nghiệm: Tài liệu, trang thiết bị, phòng thí nghiệm, hoá chất, thuốc thử,...

– Kiểm tra nguyên liệu, bán thành phẩm, thành phẩm và tất cả các thuốc đang lưu hành trên thị trường.

1.3.3. Sửa đổi, soát xét lại tiêu chuẩn

Được tiến hành khi thấy tiêu chuẩn không còn phù hợp.

1.4. Giới thiệu Dược điển Việt Nam

1.4.1. Một số nét chung về Dược điển Việt Nam

a) Dược điển Việt Nam là một tài liệu bao gồm

– Tập hợp các tiêu chuẩn nhà nước (TCVN) về thuốc (hoá dược và các chế phẩm, huyết thanh và vaccin, dược liệu, chế phẩm đông dược). Mỗi tiêu chuẩn còn được gọi là một chuyên luận.

– Những quy định chung trong công tác kiểm nghiệm, giới thiệu các phương pháp kiểm nghiệm chung, các hoá chất, thuốc thử, thuốc chuẩn, chỉ thị,... dùng để phân tích và đánh giá chất lượng thuốc.

– Một số phụ lục, các bảng tra cứu,...

b) Dược điển Việt Nam được gọi tên theo lần xuất bản (giống các nước khác), tuân theo quy tắc lần sau phủ định lần trước đó

– Dược điển Việt Nam I gồm 638 chuyên luận tân dược và 284 chuyên luận đông dược, được xuất bản vào các năm 1972, 1977.

– Dược điển Việt nam II gồm 357 chuyên luận tân dược, 64 chuyên luận đông dược, và 32 chuyên luận về vaccin, được xuất bản vào các năm 1983, 1990, 1991, 1994.

– Dược điển Việt nam III gồm 342 chuyên luận hoá dược, 276 chuyên luận về dược liệu, 37 chuyên luận về chế phẩm đông dược, 47 chuyên luận chế phẩm sinh học và 500 chuyên luận về hoá chất thuốc thử, được xuất bản vào năm 2002.

1.4.2. Một số quy định chung khi sử dụng Dược điển Việt Nam (hay dùng trong công tác kiểm nghiệm thuốc)

Có nhiều quy định, dưới đây nêu tóm tắt nội dung chính của 7 quy định:

1) Khái niệm "*cân chính xác*" nghĩa là cân trên cân phân tích có độ nhạy đến 0,1mg (0,0001g). Khái niệm "*lấy khoảng*" có ý nghĩa là lấy một lượng với độ chênh không quá $\pm 10\%$ so với yêu cầu. Khái niệm "*Đến khối lượng không đổi*" nghĩa là xử lý chế phẩm đến khi nào chênh lệch giữa 2 lần kế tiếp nhau $< 0,5\text{mg}$.

2) Nồng độ phần trăm không có chỉ dẫn gì, coi là cách biểu diễn theo % Kl/TT. Còn các trường hợp khác sẽ ghi cụ thể.

3) Khái niệm "alcol" không có chỉ dẫn gì, có nghĩa là alcol chứa khoảng 96% (TT/TT) ethanol (C_2H_6O). Ethanol không có chỉ dẫn gì khác nghĩa là ethanol tuyệt đối.

4) Về nhiệt độ: Dùng thang độ bách phân, ký hiệu $^{\circ}C$. Khi không ghi cụ thể, quy ước:

Nhiệt độ chuẩn	$20^{\circ}C$
Nhiệt độ thường	$20 - 30^{\circ}C$
Nước ấm	$40 - 50^{\circ}C$
Nước nóng	$70 - 80^{\circ}C$
Nước cách thủy	$98 - 100^{\circ}C$

Nhiệt độ trong thử "*về mặt khối lượng do làm khô*" cho phép hiểu là: $100^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$.

Nhiệt độ nơi bảo quản:

Rất lạnh	$< -10^{\circ}C$
Lạnh	$2 - 10^{\circ}C$
Mát	$10 - 20^{\circ}C$
Nhiệt độ phòng	$20 - 35^{\circ}C$
Nhiệt độ phòng có điều nhiệt	$20 - 25^{\circ}C$
Nóng	$35 - 40^{\circ}C$
Rất nóng	$> 40^{\circ}C$
Nung đỏ	$\sim 400^{\circ}C$
Đỏ thẫm	$\sim 600^{\circ}C$
Đỏ trắng	$\geq 900^{\circ}C$

5) Về phương pháp: Có thể dùng phương pháp hay phương tiện khác với quy định trong Dược điển hoặc TC nhưng với điều kiện các kết quả có độ chính xác tương đương nhau. Nếu các kết quả khác nhau thì coi phương pháp hoặc phương tiện quy định trong Dược điển hay TC là chính thức.

6) Về hàm lượng: Nếu trong chuyên luận không ghi giới hạn trên thì có nghĩa là không được quá 101,0%.

7) Khi thử độ tinh khiết, nếu phát hiện thấy tạp chất lạ không ghi trong chuyên luận thì vẫn phải ghi vào kết quả thử.

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN

Như trên đã nêu, kiểm nghiệm thuốc là việc tiến hành phân tích một mẫu thuốc đại diện cho lô thuốc đó bằng các phương pháp hoá học, lý học, hoá lý, sinh học,... đã được quy định để xem thuốc đó đạt hay không đạt tiêu chuẩn, từ đó quyết định xem có được phép lưu hành hoặc sử dụng hay không. Để sự đánh giá này chính xác, đòi hỏi phải làm tốt 3 việc sau: lấy mẫu kiểm nghiệm, thực hành phân tích, đánh giá kết quả và viết phiếu trả lời (phiếu kiểm nghiệm, phiếu phân tích).

2.1. Lấy mẫu kiểm nghiệm

2.1.1. Quy định về lấy mẫu

Lấy mẫu là một tập hợp các thao tác nhằm lấy ra một lượng mẫu thuốc đại diện để kiểm tra chất lượng. Do vậy, để kết luận về mẫu thuốc mang tính pháp lý, cần phải tuân thủ một cách nghiêm ngặt các quy định về thủ tục lấy mẫu như sau:

a) Đối tượng để lấy mẫu

- Với hệ thống tự kiểm tra: Là các nguyên liệu dùng làm thuốc, bao bì đóng gói, sản phẩm trung gian, sản phẩm chưa đóng gói, thành phẩm.
- Với hệ thống quản lý nhà nước: Thuốc và các nguyên liệu làm thuốc đang trong quá trình lưu thông hoặc tồn trữ trong kho.

b) Các trường hợp lấy mẫu

- Trường hợp tự kiểm tra chất lượng: Phải lấy mẫu kiểm tra toàn bộ các lô thuốc tại các cơ sở sản xuất, lưu trữ, phân phối. Với các cơ sở sản xuất thuốc, yêu cầu 100% số lô phải được kiểm tra. Việc lấy mẫu do cán bộ chuyên môn của phòng kiểm tra chất lượng sản phẩm (KCS) tiến hành, có sự chứng kiến của cán bộ ở đơn vị lấy mẫu. Thủ trưởng đơn vị căn cứ vào quy định chung có thể có những quy định cụ thể hơn cho phù hợp với tình hình của cơ sở.
- Trường hợp kiểm tra giám sát chất lượng hoặc thanh tra: Ưu tiên lấy mẫu kiểm tra và giám sát là các thuốc chữa bệnh, có giá trị kinh tế cao, có chất lượng không ổn định và đặc biệt là có nghi ngờ về hàm lượng hoặc hiệu lực tác dụng.

Lấy mẫu để kiểm tra giám sát chất lượng của các cơ sở sản xuất (lấy 10% số lô sản xuất trong năm) hoặc lấy theo quy định của Bộ Y tế, Sở Y tế.

Lấy mẫu để thanh tra đột xuất trong những trường hợp có thông tin về chất lượng thuốc xấu, thuốc không an toàn, ít hiệu lực và đặc biệt là thuốc giả hay thuốc kém phẩm chất.

Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các thanh tra viên hoặc các cán bộ có giấy uỷ nhiệm của cơ quan kiểm tra, thanh tra và có sự chứng kiến của cán bộ cơ sở.

c) Các điều kiện cần lưu ý khi lấy mẫu

– Nơi lấy mẫu: Tại nơi chứa sản phẩm, môi trường xung quanh không được gây nhiễm bẩn hoặc tác động làm thay đổi tính chất của mẫu và ngược lại không để mẫu tác động xấu đến môi trường.

– Người lấy mẫu: Phải là người có chuyên môn nhất định và đáp ứng được yêu cầu của quá trình lấy mẫu.

– Phải quan sát kiểm tra sơ bộ lô hàng (phân loại nếu cần), nhận xét và phải ghi vào biên bản lấy mẫu.

– Dụng cụ lấy mẫu: Sạch, khô, đáp ứng yêu cầu cần lấy mẫu.

– Đồ đựng mẫu: Đáp ứng yêu cầu lấy mẫu (sạch, không làm hỏng mẫu, khô, có nhãn ghi chép đầy đủ,...).

– Thao tác lấy mẫu: phải thận trọng, tỷ mỉ, quan sát cẩn thận,...

– Phương thức lấy mẫu: Người lấy mẫu phải tự tay lấy mẫu, ghi nhãn, làm biên bản, đóng gói, niêm phong bảo đảm và bảo quản mẫu. Đặc biệt lưu ý phải lấy chữ ký xác nhận của đơn vị được lấy mẫu.

2.1.2. Tiến hành lấy mẫu

a) Sơ đồ lấy mẫu

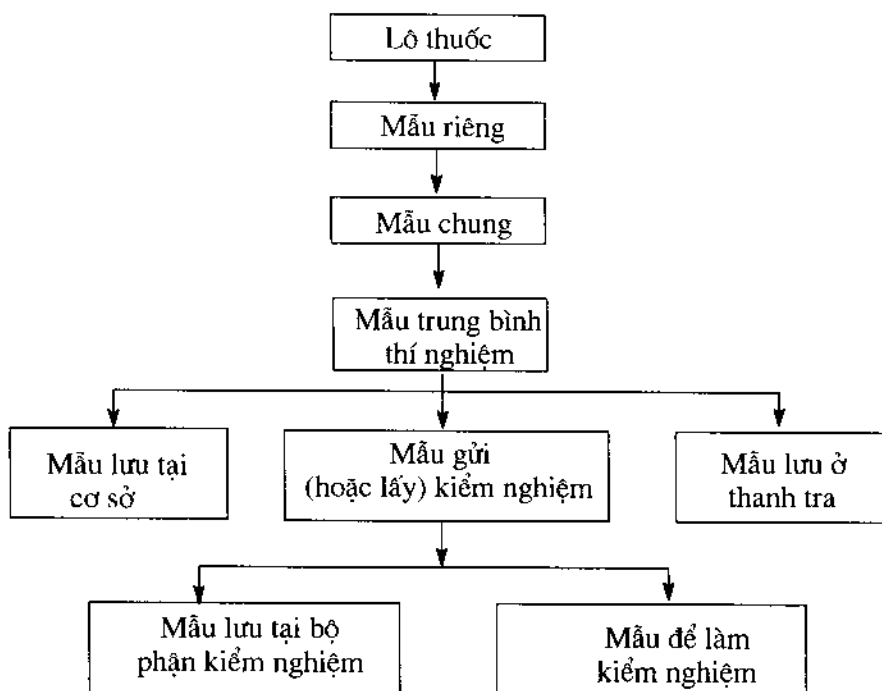
Việc lấy mẫu phải bảo đảm cho được tính khách quan, đại diện cho được chất lượng của thuốc cần lấy kiểm tra. Vì vậy, phải lưu ý lấy theo hướng dẫn sau (quy trình được tóm tắt theo sơ đồ hình 1).

– Từ lô sản xuất lấy ra các đơn vị bao gói một cách ngẫu nhiên, cỡ mẫu ban đầu lấy theo đúng chỉ dẫn.

– Trộn đều thuốc của các mẫu ban đầu và gộp thành những mẫu riêng của từng đơn vị bao gói.

– Trộn đều các mẫu riêng thành các mẫu chung.

- Từ mẫu chung lấy ra một lượng mẫu trung bình thí nghiệm.
- Từ mẫu trung bình thí nghiệm lấy ra thành các mẫu lưu và mẫu thử để kiểm nghiệm.



Hình 1. Sơ đồ lấy mẫu thuốc

Sau khi lấy mẫu xong, người lấy mẫu tự tay dán nhãn niêm phong, bao gói (phải có chữ ký xác nhận của người lấy mẫu và cơ sở được lấy mẫu) và biên bản lấy mẫu (cũng phải có đủ chữ ký xác nhận).

b) Lấy mẫu cụ thể

Căn cứ vào lô thuốc phải lấy mẫu, xem xét phân loại tiến hành lấy như sau:

- Lấy mẫu thuốc có phân liều (lô sản phẩm thuốc dạng thuốc có phân liều):

Từ lô sản phẩm lấy ra các đơn vị bao gói một cách ngẫu nhiên bất kỳ: Các gói được lấy ra phải độc lập với dự kiến của người lấy mẫu (không nên lựa chọn theo cảm quan lấy mẫu xấu hay mẫu tốt). Lô thuốc phải đồng nhất, hợp lý về số lượng hay khối lượng (Ví dụ không quá 500.000 viên với thuốc viên, không quá 50.000 ống với dạng ống,...). Số bao gói trong lô lấy ra để tạo mẫu ban đầu tính theo công thức:

$$n = 0,4 \times \sqrt{N}$$

Trong đó: n là số bao gói lấy ra; N : số đơn vị bao gói cuối cùng trong lô (ví dụ với thuốc tiêm: các ống đóng trong hộp giấy, các hộp giấy đóng trong hòm thì đơn vị bao gói cuối cùng là hòm).

Chú ý:

+ Khi tính theo công thức trên, nếu phần thập phân nhỏ hơn 0,5 bỏ qua, nếu lớn hơn 0,5 thì tăng thêm một đơn vị.

+ Khi $N > 100$ lưu ý $n_{\max} \leq 30$.

+ Khi $N < 100$ có thể dùng bảng:

Bảng 1. Hướng dẫn số lượng đơn vị trong lấy mẫu

N	n
1 – 10	1
11 – 40	2
41 – 80	3
81 – 100	4

– Lấy mẫu sản phẩm là chất rắn (hạt, bột, viên):

+ Trường hợp một bao gói:

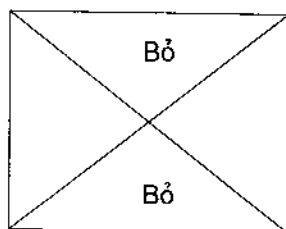
* Trước khi lấy, xem xét sản phẩm có đồng nhất không, nếu không đồng nhất phải chọn riêng ra từng loại và lấy theo các loại đó.

* Trường hợp sản phẩm là hạt, cục, trừ trường hợp phải xác định cỡ hạt, còn tất cả phải được nghiền nhỏ thành bột (không được làm ảnh hưởng tới tính chất của sản phẩm).

* Lấy mẫu ban đầu ở 3 vị trí khác nhau: trên, giữa, dưới, sau đó trộn thành mẫu chung.

* Dàn đều lượng mẫu chung thành lớp phẳng hình vuông, dày không quá 2cm, chia mẫu thành 2 đường chéo, bỏ 2 phần đối diện (hình 2), trộn đều 2 phần còn lại và chia tiếp cho đến khi lượng mẫu còn lại tương ứng với 2 – 4 lần mẫu thử cần lấy. Đó là mẫu trung bình thí nghiệm.

* Chia mẫu trung bình thí nghiệm thành các mẫu lưu và mẫu kiểm nghiệm.



Hình 2. Sơ đồ lấy mẫu chế phẩm là chất rắn

* Đối với thuốc viên chỉ đóng trong một bao gói: cũng lấy mẫu ở ba vị trí khác nhau trong bao gói, chai, lọ, sau đó trộn thành mẫu chung, mẫu trung bình thí nghiệm,... như trên.

– Trường hợp sản phẩm đóng thành nhiều bao gói: lấy mẫu ban đầu theo công thức: $n = 0,4 \times \sqrt{N}$ nêu trên.

– Lấy mẫu là sản phẩm lỏng:

+ Trường hợp một bao gói: Nếu sản phẩm là đồng nhất thì lấy mẫu ở bất kỳ vị trí nào cũng được. Nếu không đồng nhất, trước khi lấy mẫu phải khuấy đều, sau đó mới lấy mẫu.

+ Trường hợp nhiều bao gói: lấy theo công thức: $n = 0,4 \times \sqrt{N}$

Nếu là những chai lọ nhỏ thì có thể lấy hết thể tích.

– Lấy mẫu là các sản phẩm thuốc mỡ, bột nhào:

Tiến hành lấy mẫu như các sản phẩm lỏng nhưng chú ý khuấy kỹ, trộn đều để được hỗn hợp đồng nhất, sau đó mới lấy mẫu.

– Đóng gói và dán nhãn:

Sau khi lấy mẫu và cho vào đồ đựng, người lấy mẫu đóng gói, dán nhãn và niêm phong mẫu, làm biên bản lấy mẫu. Lưu ý phải có chữ ký xác nhận của cơ sở được lấy mẫu ở nhãn niêm phong và biên bản lấy mẫu.

2.2. Tiến hành kiểm nghiệm

2.2.1. Nhận mẫu

Bộ phận nhận mẫu của cơ quan kiểm nghiệm phải kiểm tra xem mẫu có đáp ứng đủ các yêu cầu không (còn niêm phong không, có đủ thông tin không,...).

2.2.2. Kiểm nghiệm, xử lý kết quả

Công việc này do bộ phận kỹ thuật thực hiện. Thông thường gồm các nội dung sau:

- Chuẩn bị tài liệu: theo TCVN hoặc TC.
- Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy,... đáp ứng đủ yêu cầu mà tiêu chuẩn quy định. Bố trí thí nghiệm một cách hợp lý để có đủ mẫu làm và không làm nhiễm bản hoặc biến chất mẫu cần thử.
- Tiến hành các thí nghiệm phân tích theo tiêu chuẩn.
- Người làm kiểm nghiệm phải có cuốn sổ ghi chép đầy đủ các số liệu khi tiến hành thí nghiệm, sổ này gọi là sổ tay kiểm nghiệm viên. Sổ tay kiểm nghiệm viên được coi là chứng từ gốc của các số liệu sau này công bố trên phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm (gọi là phiếu kiểm nghiệm).
- Xử lý các số liệu thực nghiệm để quyết định xem các chỉ tiêu đã thử theo tiêu chuẩn đạt hay không đạt yêu cầu.

2.2.3. Viết phiếu trả lời kết quả

Kết quả kiểm nghiệm sẽ được trả lời bằng phiếu kiểm nghiệm hay phiếu phân tích.

(Cách trình bày Phiếu kiểm nghiệm được trình bày chi tiết ở mục 2.2 – bài 3).

2.2.4. Lưu mẫu kiểm nghiệm tại cơ quan kiểm nghiệm

Mẫu lưu phải được đánh số cùng với số đăng ký mẫu thử cùng loại, nhưng có nhãn riêng với chữ "mẫu lưu" và bảo quản trong điều kiện theo quy định chung, mẫu này được sử dụng đến trong trường hợp có tranh chấp về kết quả đã công bố (ở Phiếu kiểm nghiệm). Thông thường, mẫu lưu lấy từ một phần mẫu đã lấy để thử, do vậy số lượng lấy phải giống như mẫu lấy để thử.

Các mẫu lưu phải được giữ lại theo đúng thời gian quy định. Các mẫu có hạn dùng phải lưu tiếp 3 tháng kể từ khi hết hạn dùng. Khi hết thời gian lưu, cơ quan lập biên bản xử lý theo quy chế.

Sổ sách, phiếu kiểm nghiệm phải lưu giữ ít nhất là 3 năm. Khi hết hạn lưu, muốn huỷ phải được giám đốc cơ quan duyệt.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Nội dung chính của công tác tiêu chuẩn hoá.
2. Trình bày phương pháp xây dựng tiêu chuẩn về yêu cầu kỹ thuật. Về phương pháp thử. Yêu cầu chất lượng đối với một phương pháp thử.

3. Nội dung chính của công tác áp dụng tiêu chuẩn trong thực tế.
4. Trình bày một số quy định chung khi sử dụng Dược điển Việt Nam III (dùng trong công tác kiểm nghiệm thuốc).
5. Cách tiến hành lấy mẫu để kiểm nghiệm.
6. Trình bày các nhiệm vụ chủ yếu khi tiến hành kiểm nghiệm.
7. Điền cụm từ còn thiếu vào chỗ trống trong câu dưới đây:
 - a) Các thuốc đã có trong chuyên luận của Dược điển Việt Nam thì tiêu chuẩn cơ sở phải có mức chất lượng..... so với tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam.
 - b) Các yêu cầu chính về chất lượng đối với một phương pháp kiểm nghiệm gồm: Có tính tiên tiến,....., có tính kinh tế, có tính an toàn cao.
 - c) Tính tiên tiến của phương pháp kiểm nghiệm thể hiện ở....., tính đặc hiệu.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 8 đến 10 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

8. Theo quy định:
 - a) Số lượng đơn vị để lấy mẫu đối với lô thuốc có tổng số 8 đơn vị đóng gói là:

A. 1	B. 2	C. 3	D. 4
------	------	------	------
 - b) Số lượng đơn vị để lấy mẫu đối với lô thuốc có tổng số 850 đơn vị đóng gói là:

A. 1	B. 2	C. 3	D. 4
------	------	------	------
 - c) Số lượng đơn vị để lấy mẫu đối với lô thuốc có tổng số 25 đơn vị đóng gói là:

A. 1	B. 2	C. 3	D. 4
------	------	------	------
 - d) Số lượng đơn vị để lấy mẫu đối với lô thuốc có tổng số 103 đơn vị đóng gói là:

A. 1	B. 2	C. 3	D. 4
------	------	------	------
9. Dược điển Việt Nam III quy định về nhiệt độ:
 - a) Nhiệt độ thường là:

A. 20°C	B. 20 – 30°C	C. 70 – 80°C	D. 40 – 50°C
---------	--------------	--------------	--------------
 - b) Nước nóng có nhiệt độ là:

A. 60°C	B. 50 – 65°C	C. 70 – 80°C	D. 100°C
---------	--------------	--------------	----------

c) Nước cách thủy có nhiệt độ là:

- A. 98 – 100°C B. 65 – 75°C C. 80°C D. 105°C

10. Dược điển Việt Nam III quy định:

a) Giới hạn hàm lượng, nếu trong chuyên luận không ghi giới hạn trên thì có nghĩa là không được quá:

- A. 100,0% B. 100,5% C. 101,0% D. 102,0%

b) Dược điển Việt Nam III quy định về sấy hoặc nung đến khối lượng không đổi, nghĩa là sấy hoặc nung chế phẩm đến khi nào chênh lệch giữa 2 lần cân kế tiếp nhau nhỏ hơn:

- A. 0,5mg B. 0,4mg C. 0,3mg D. 0,6mg

Bài 3

PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU, TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

- Trình bày được ba loại sai số và cách hạn chế các sai số này trong kiểm nghiệm.
- Tính được sai số của kết quả thực nghiệm.
- Biết cách ghi chép, trình bày kết quả thực nghiệm và phiếu kiểm nghiệm.
- Trình bày được năm cách xử lý mẫu thường dùng trong kiểm nghiệm.

1. SAI SỐ TRONG KIỂM NGHIỆM

1.1. Một số khái niệm

– Trong kiểm nghiệm thuốc, ta thường phải tiến hành các phép thử nghiệm: đo lường hay phân tích định lượng theo một quy trình đã có một số lần trên mẫu thử và thu được các kết quả tương ứng $x_1, x_2, \dots, x_n$.

Giá trị trung bình $\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$ là đáng tin cậy hơn cả và được lấy làm kết quả của phép xác định.

Giá trị trung bình $\bar{x}$ thường khác với giá trị thực μ của đại lượng cần xác định, sự sai khác này chính là sai số của phép xác định.

Kết quả của phép xác định được đánh giá ở độ chính xác (độ đúng và độ chụm).

+ Độ đúng phản ánh sự phù hợp giữa kết quả thực nghiệm thu được ($\bar{x}$) với giá trị thực (μ) của đại lượng cần xác định.

+ Độ chụm (độ lặp lại) phản ánh sự phù hợp giữa các kết quả thu được ($x_1, x_2, \dots, x_n$) trong các thí nghiệm ở cùng điều kiện quy định của phép xác định (gọi là các phép xác định song song).

– Có thể biểu thị sai số dưới dạng sai số tuyệt đối và sai số tương đối.

+ Sai số tuyệt đối: $\varepsilon = \bar{x} - \mu$

+ Sai số tương đối là tỷ số giữa sai số tuyệt đối và giá trị trung bình $\frac{\bar{x} - \mu}{\bar{x}} \times 100\%$.

Khi tính toán, nếu thu được giá trị dương là sai số thừa, giá trị âm là sai số thiếu.

1.2. Các loại sai số

1.2.1. Sai số thô

Là sai số khi kết quả thu được khác xa với giá trị trung bình ($\bar{x}$) hay giá trị thực (μ) của mẫu thử. Nguyên nhân chủ yếu gây nên sai số này là do sự cẩu thả của người làm, hay yếu tố khách quan do sự thay đổi đột ngột nào đó của điều kiện thực nghiệm.

Để loại sai số thô cần làm nhiều lần và loại đi những giá trị không hợp lý theo những quy tắc nhất định.

1.2.2. Sai số hệ thống

– Là sai số có thể biết rõ nguyên nhân, nó làm cho kết quả biến đổi theo quy luật nhất định, ảnh hưởng đến độ chính xác của kết quả.

– Có thể phát hiện và loại trừ sai số hệ thống bằng cách hiệu chỉnh lại thiết bị đo, thay hoá chất, thuốc thử đạt tiêu chuẩn quy định, phân tích mẫu chuẩn, mẫu trắng, đặc biệt chú ý yếu tố kỹ năng và tay nghề của người làm.

1.2.3. Sai số ngẫu nhiên

– Là những sai số làm cho dữ liệu thu được dao động ngẫu nhiên quanh giá trị trung bình, làm ảnh hưởng tới độ lặp lại của kết quả, làm giảm độ chính xác của phép xác định.

– Không thể loại bỏ được sai số ngẫu nhiên, nhưng có thể hạn chế sai số này bằng cách tăng số thí nghiệm và xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê.

1.3. Tính sai số của kết quả thực nghiệm

1.3.1. Đối với các phép thử nghiệm thông thường

– Khi tiến hành các phép thử nghiệm thông thường trong kiểm nghiệm với các quy trình đã ổn định, đã được chuẩn hoá, sai số tương đối cho phép $\geq \pm 1\%$ chúng ta chỉ cần tiến hành thực hiện toàn bộ quy trình từ 2 – 3 lần và lấy kết quả là giá trị trung bình của 2 – 3 lần xác định đó.

– Từ kết quả thu được đối chiếu với giới hạn cho phép của tiêu chuẩn, có thể kết luận mẫu thử đem kiểm nghiệm đạt hay không đạt tiêu chuẩn.

1.3.2. Đối với các phép thử nghiệm mới nghiên cứu, áp dụng cho các đối tượng mẫu thử mới (hay để thẩm định đánh giá quy trình thử nghiệm)

– Đối với trường hợp này, phải tiến hành thử nghiệm toàn bộ quy trình thử ở cùng điều kiện nhiều lần hơn (ít nhất 5 – 6 lần) và sử dụng phương pháp thống kê để đánh giá kết quả thử nghiệm.

– Các bước chủ yếu xử lý kết quả như sau:

– Tính giá trị trung bình:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

– Tính độ lệch chuẩn S (đặc trưng cho độ lặp lại của phép xác định, cho biết mức độ sát gần của các giá trị xác định được x_i so với giá trị trung bình $\bar{x}$):

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Trong thống kê S^2 gọi là phương sai.

– Tính sai số ngẫu nhiên ε (còn gọi là biên giới tin cậy):

$$\varepsilon = \pm \frac{t_{\alpha} \times S}{\sqrt{n}}$$

Trong đó t_{α} là một trị số phụ thuộc vào n (hay bậc tự do $K = n - 1$) và độ hy vọng α được cho sẵn (bảng 2).

Bảng 2. Độ hy vọng t_{α} với $\alpha = 0,95$ và $\alpha = 0,99$

$K = n - 1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	Lớn
t_{α} với $\alpha = 0,95$	12,7	4,3	3,2	2,8	2,6	2,5	2,4	2,3	2,3	2,2	2,1	2,0
t_{α} với $\alpha = 0,99$	63,7	9,9	5,8	4,6	4,0	3,7	3,5	3,4	3,3	3,2	2,8	2,6

* Giá trị thực μ nằm trong khoảng $\mu = \bar{x} \pm \frac{t_{\alpha} \times S}{\sqrt{n}}$ hay $\mu = \bar{x} \pm \varepsilon$.

Như vậy biên giới tin cậy hay cận tin cậy, hoặc giới hạn tin cậy là giới hạn hai bên của $\bar{x}$ mà ta có thể hy vọng giá trị thực μ nằm trong đó.

* Sai số tương đối là $\pm \frac{\varepsilon}{\bar{x}} \times 100\%$.

Ví dụ:

Kết quả định lượng chất X_C (g/l) của 5 thí nghiệm ở cùng điều kiện của một mẫu thử là: 2,25; 2,19; 2,11; 2,38; 2,32.

– Hỏi kết quả thực của mẫu là bao nhiêu với $\alpha = 0,95$?

– Tính sai số tương đối của phép định lượng?

Giải:

– Tính giá trị trung bình:

$$\bar{x} = \frac{2,25 + 2,19 + 2,11 + 2,38 + 2,32}{5} = 2,25(\text{g/l})$$

– Tính độ lệch chuẩn:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = 0,11$$

– Tính giới hạn tin cậy:

$$\varepsilon = \pm \frac{t_{\alpha} \times S}{\sqrt{n}} = \pm \frac{2,8 \times 0,11}{\sqrt{5}} = \pm 0,14$$

– Kết quả xác định:

$$\mu = 2,25 \pm 0,14$$

– Sai số của phép xác định (Sai số tương đối):

$$\pm \frac{\varepsilon}{x} \times 100\% = \pm 6,2\%$$

1.4. Phương pháp xử lý mẫu thử

Xử lý mẫu thử là bước đầu tiên, quan trọng trong phân tích mẫu, nó thường là một trong những nguyên nhân quyết định dẫn đến sai số của phép thử nghiệm. Để hạn chế sai số, khi tiến hành kiểm nghiệm phải hết sức lưu ý giai đoạn này.

Mẫu thử thường ở trạng thái lỏng, rắn, khí với thành phần rất đa dạng: có thể là chất vô cơ, hữu cơ, khoáng vật, thực vật,... do vậy tùy thuộc vào đặc điểm cụ thể của mẫu thử và mục đích của phép xác định mà ta lựa chọn kỹ thuật xử lý mẫu cho thích hợp. Thông thường có một số cách sau đây:

1.4.1. Hoà tan mẫu

– Với nhiều trường hợp, chúng ta có thể dùng nước hoà tan để chuyển chất cần xác định có trong mẫu thử sang dung dịch nước.

– Đối với chất khó tan trong nước, có thể hoà tan bằng dung dịch acid, dung dịch kiềm, dung dịch của chất oxy hoá khử thích hợp, chuyển tửa khó tan thành tửa dễ hoà tan.

1.4.2. Phân huỷ bằng acid mạnh

Trong quá trình phân huỷ mẫu thử có thể diễn ra các phản ứng oxy hoá, thủy phân, phá huỷ các liên kết hoá học,... Các acid hay dùng trong xử lý mẫu là: acid hydrocloric đặc (HCl), acid nitric đặc (HNO₃), acid sulfuric đặc (H₂SO₄), acid percloric (HClO₄), hỗn hợp HCl + HNO₃, HNO₃ + HClO₄, HNO₃ + H₂SO₄, H₂SO₄ + H₂O₂,... Có thể thực hiện quá trình xử lý mẫu ở nhiệt độ thường hoặc nhiệt độ cao.

1.4.3. Phân huỷ mẫu bằng kỹ thuật vi sóng

Đây là phương pháp dùng nhiệt dựa trên năng lượng của sóng điện từ có bước sóng từ 1 – 1000mm. Quá trình tiến hành có thể thực hiện trong bình vi sóng, bom vi sóng, lò vi sóng.

1.4.4. Phân huỷ bằng nhiệt

Phương pháp này được dùng phổ biến để phân huỷ chất hữu cơ, chuyển chúng thành các chất bay hơi. Có thể thực hiện bằng cách đốt trên ngọn lửa, đốt trong ống kín, đốt mẫu trong bình kín có oxy hoặc nung trong lò nung.

1.4.5. Xử lý mẫu bằng kỹ thuật tách pha

Các chất cần xác định trong mẫu thử có thể tách bằng cách: kết tủa, chưng cất, chiết bằng dung môi (lỏng – lỏng, lỏng – rắn), các kỹ thuật sắc ký,...

Chú ý: Trong quá trình xử lý mẫu thử cần lưu ý bảo toàn được chất cần xác định (tách được hoàn toàn, không được mất mẫu) và không được đưa chất lạ vào làm ảnh hưởng tới kết quả thử nghiệm.

2. TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

2.1. Tính toán kết quả kiểm nghiệm

Kiểm nghiệm thuốc thường tiến hành theo tiêu chuẩn đã có sẵn (Tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam (ĐĐVN) hoặc TC). Kiểm nghiệm viên cần tuân thủ nghiêm ngặt các yêu cầu của phép thử, các kết quả và số liệu thu được phải khách quan và chính xác, được ghi chép lại vào hồ sơ gọi là Sổ tay kiểm nghiệm viên. Sổ tay kiểm nghiệm viên được coi là chứng từ gốc của các số liệu sau này công bố trên phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm (gọi là Phiếu kiểm nghiệm).

– Xử lý các số liệu thực nghiệm và so sánh với tiêu chuẩn để quyết định xem các chỉ tiêu đã thử theo tiêu chuẩn đạt hay không đạt yêu cầu.

2.2. Viết phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm

– Kết quả kiểm nghiệm được trả lời bằng phiếu kiểm nghiệm hay phiếu phân tích.

Phiếu kiểm nghiệm là văn bản pháp lý của các tổ chức kiểm tra chất lượng thuốc, xác nhận kết quả kiểm nghiệm theo tài liệu kỹ thuật hợp pháp của một mẫu thuốc.

Phiếu phân tích là văn bản pháp lý xác nhận kết quả phân tích của một hay nhiều tiêu chí trong tiêu chuẩn kỹ thuật của một mẫu thuốc.

Do vậy, sau khi hoàn thành các thí nghiệm và xử lý số liệu, đánh giá kết quả, kiểm nghiệm viên phải viết vào phiếu trả lời nội bộ (chưa phải phiếu chính thức), ký tên chịu trách nhiệm và đưa cho cán bộ phụ trách phòng duyệt lại, trước khi đưa phòng chức năng trình lãnh đạo duyệt lần cuối, sau đó trả lời chính thức bằng phiếu của cơ quan kiểm nghiệm (gọi là Phiếu kiểm nghiệm hay Phiếu phân tích). Câu chữ viết trong phiếu kiểm nghiệm phải rõ ràng, chính xác, gọn, đầy đủ và thống nhất.

– Nội dung chính của một phiếu kiểm nghiệm bao gồm:

- 1) Tên cơ quan kiểm nghiệm.
- 2) Số phiếu kiểm nghiệm.
- 3) Tên mẫu kiểm nghiệm.
- 4) Nơi sản xuất.
- 5) Số lô, hạn dùng.
- 6) Người và nơi gửi mẫu.
- 7) Yêu cầu kiểm nghiệm (*ghi rõ nội dung, số, ngày, tháng, năm của công văn hay giấy tờ kèm theo*).
- 8) Ngày tháng, năm nhận mẫu.
- 9) Số đăng ký kiểm nghiệm.
- 10) Người nhận mẫu.
- 11) Tiêu chuẩn thử nghiệm.
- 12) Tình trạng mẫu khi nhận và mở niêm phong để kiểm nghiệm.
- 13) Các chỉ tiêu kiểm nghiệm, các giới hạn cho phép và kết quả.
- 14) Kết luận.
- 15) Ngày tháng năm cấp phiếu kiểm nghiệm.
- 16) Thủ trưởng đơn vị kiểm nghiệm ký và đóng dấu.

2.3. Ví dụ

Trung tâm kiểm nghiệm Dược phẩm và mỹ phẩm tỉnh V nhận một mẫu kiểm nghiệm là viên nén vitamin C 100mg của Công ty Dược phẩm X. Sau khi tiến hành kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn, kết quả được ghi trong Sổ tay kiểm nghiệm viên như sau:

a) Tính chất

Bằng cảm quan (mắt quan sát dưới ánh sáng thường và ngửi) thấy chế phẩm là viên màu trắng hay trắng ngà, gần như không mùi.

Kết luận: Đạt yêu cầu.

b) Định tính

A. Nghiền mịn 5 viên. Lấy 0,15g bột viên, thêm 10ml nước. Lắc, lọc.

– Nhúng giấy quỳ vào dịch lọc: *giấy quỳ chuyển sang màu đỏ.*

– Nhỏ từng giọt dịch lọc vào 1ml dung dịch thuốc thử 2,6 diclorophenol indophenol: *mất màu xanh.*

– Nhỏ từng giọt dịch lọc vào 1ml dung dịch bạc nitrat 5% trong ống nghiệm: *tủa đen và lớp bạc trắng bám ở đáy ống nghiệm.*

B. Lấy 5ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm lần lượt 0,05ml dung dịch natri nitroprusiat 1%, 2ml dung dịch natri hydroxyd 2M và nhỏ từng giọt dung dịch acid hydrocloric 25%: *màu vàng chuyển thành màu lam.*

Kết luận: Đúng theo tiêu chuẩn.

c) Độ đồng đều khối lượng

Cân riêng biệt 20 viên:

164,0mg	149,6mg	156,2mg	160,1mg
158,0mg	147,8mg	156,9mg	162,3mg
154,5mg	160,3mg	159,4mg	149,2mg
157,2mg	152,6mg	151,9mg	155,3mg
160,8mg	158,3mg	153,9mg	156,1mg

Khối lượng trung bình:

$$m_{TB} = \sum_{i=1}^{20} m_i = 156,22\text{mg}$$

Viên có khối lượng cao nhất là 164,0mg, chênh lệch so với giá trị trung bình:

$$\% = \frac{(164,0 - 156,22) \times 100}{156,22} = 4,98\%$$

Viên có khối lượng thấp nhất là 147,8mg, chênh lệch so với giá trị trung bình:

$$\% = \frac{(147,8 - 156,22) \times 100}{156,22} = -5,39\%.$$

Kết luận: Đạt yêu cầu.

d) Độ rã

- Môi trường thử: nước.
- Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- Cho vào mỗi ống thử một viên nén, đập đĩa chất dẻo. Thử 6 viên.
- Quan sát bằng mắt: các viên rã hết ở thời điểm 5,45 phút.

Kết luận: Đạt yêu cầu.

e) Định lượng

- $m_{20 \text{ viên}} = 3,1244\text{g} \Rightarrow m_{\text{TB}} = 0,15622\text{g}$.
- Cân bột viên: m_{T} (g).
- Hoà tan m_{T} bằng hỗn hợp (bao gồm 100ml nước và 10ml dung dịch acid acetic 1M) trong bình định mức 100ml.
- Lọc.
- 50,0ml dịch lọc + 1ml dung dịch hồ tinh bột. Định lượng hết V (ml) dung dịch iod 0,1N có $K = 1,0033$.

Hàm lượng X (%) acid ascorbic trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức sau:

$$X\% = \frac{V \times K \times 8,806 \times m_{\text{TB}}}{m_{\text{T}} \times 100} \times \frac{100}{50} \times 100$$

Kết quả:

Lần	1	2	3
m_{T} (g)	0,3165	0,3123	0,3140
V (ml)	11,30	11,20	11,25
X (%)	98,56	99,00	98,90

Hàm lượng trung bình:

$$\bar{x} (\%) = \frac{98,56 + 99,00 + 98,90}{3} = 98,82\%$$

Kết luận: Đạt yêu cầu.

Từ kết quả kiểm nghiệm và tính toán, Trung tâm kiểm nghiệm đã viết phiếu và trả lời kết quả cho Công ty Dược phẩm X được trình bày như sau:

UBND TỈNH V
TT kiểm nghiệm Dược phẩm và Mỹ phẩm
Địa chỉ cơ quan

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số: 05/KN-- 2006

Mẫu kiểm nghiệm: Viên nén vitamin C 100mg

Nơi sản xuất: Công ty Dược phẩm X

Số lô, hạn dùng: Lô 010106

Hạn dùng: 01/2008

Người và nơi gửi mẫu: Bà T – Công ty Dược phẩm X

Yêu cầu kiểm nghiệm (ghi rõ nội dung, số, ngày, tháng, năm của công văn hay giấy tờ kèm theo):
Kiểm tra chất lượng

Ngày, tháng, năm nhận mẫu: 15/01/2006 Số đăng ký KN: 03 KN

Người nhận mẫu: Trần Thị Th

Tiêu chuẩn: Dược điển Việt Nam III

Tình trạng mẫu khi nhận và mở niêm phong để kiểm nghiệm: Thuốc được đóng trong lọ nhựa màu nâu, nút kín, ngoài có dán nhãn, in rõ ràng.

Yêu cầu	Kết quả
1. Tính chất: Viên nén màu trắng hay trắng ngà, gần như không mùi.	Đạt
2. Định tính: Phải cho phép thử định tính của acid ascorbic	Đúng
3. Độ đồng đều khối lượng: Khối lượng trung bình viên $\pm 7,5\%$	Đạt
4. Độ rã: Không quá 15 phút	Đạt ($\leq 5,45$ phút)
5. Định lượng: Hàm lượng acid ascorbic ($C_6H_8O_6$) từ 95,0 – 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Đạt (98,82%)

Kết luận: Mẫu thử đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III.

Ngày,... tháng,... năm,.....

Thủ trưởng cơ quan

(Ký và đóng dấu)

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các loại sai số và cách khắc phục.
2. Trình bày các bước đánh giá sai số của kết quả thử nghiệm.
3. Hãy nêu 5 kỹ thuật xử lý mẫu.
4. Kết quả xác định hàm lượng (g/l) chất X có trong mẫu thử tiến hành 5 lần thử nghiệm song song thu được như sau:

Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5
0,0271	0,0282	0,0279	0,0271	0,0275

Cho biết kết quả và sai số của phép xác định với mức ý nghĩa $\alpha = 0,95$.

5. Điền cụm từ còn thiếu vào chỗ trống trong câu dưới đây:

Phương pháp thông thường để xử lý mẫu gồm: Hoà tan mẫu,.....(A)....., phân huỷ mẫu bằng kỹ thuật vi sóng, phân huỷ bằng nhiệt, xử lý mẫu bằng kỹ thuật tách pha. Phương pháp phân huỷ bằng nhiệt dùng để phân huỷ.....(B)..... Phương pháp này có thể thực hiện bằng cách.....(C)..... trên ngọn lửa hoặc.....(D)..... trong lò nung.

6. Trình bày nội dung chính của một phiếu kiểm nghiệm.

Bài 4

DUNG DỊCH CHUẨN, DUNG DỊCH ION MẪU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

- Trình bày được cách pha các dung dịch chuẩn, dung dịch ion mẫu, thuốc thử, chỉ thị màu thường dùng trong kiểm nghiệm thuốc.
- Tính được hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ khi pha bằng các phương pháp khác nhau.

1. DUNG DỊCH CHUẨN

1.1. Chất đối chiếu

Các dung dịch chuẩn được pha từ hoá chất tinh khiết, đạt tiêu chuẩn của chất đối chiếu. Dược điển Việt Nam cho phép sử dụng các chất đối chiếu quốc gia Việt Nam được thiết lập, bảo quản và phân phối tại Viện Kiểm nghiệm theo sự phân công của Bộ Y tế. Những chất đối chiếu quốc tế, khu vực hay quốc gia khác được sử dụng sẽ do Bộ Y tế quy định.

Chất đối chiếu là chất đồng nhất đã được xác định là đúng để dùng trong các phép thử đã được quy định về hoá học, vật lý và sinh học. Trong các phép thử đó, các tính chất của chất đối chiếu được so sánh với các tính chất của chất cần thử. Chất đối chiếu phải có độ tinh khiết phù hợp với mục đích sử dụng (định tính, định lượng).

1.2. Cách sử dụng chất đối chiếu

Để đáp ứng mục đích sử dụng, chất đối chiếu phải được bảo quản, theo dõi và sử dụng đúng. Theo quy định thông thường, chất đối chiếu được đựng trong bao bì gốc, kín, có nhãn rõ ràng, bảo quản ở nhiệt độ thấp, tránh ánh sáng và ẩm; nếu cần điều kiện bảo quản đặc biệt khác thì có hướng dẫn ghi trên nhãn.

Trước khi mở bao gói để dùng, chất đối chiếu cần được để một thời gian để đạt tới nhiệt độ phòng thí nghiệm.

Các phép thử được tiến hành đồng thời trên mẫu thử và mẫu đối chiếu đã được chuẩn bị trong cùng điều kiện ghi trong chuyên luận.

Nếu trên nhãn của chất đối chiếu không có chỉ dẫn phải làm khô và trong phép thử riêng của chuyên luận không chỉ định phải làm khô thì có thể sử dụng ngay chất đối chiếu mà không phải làm khô. Trong trường hợp này, cần hiệu chỉnh lại lượng cân của chất đối chiếu do khối lượng bị giảm khi làm khô hoặc do hàm lượng nước. Mất khối lượng do làm khô hoặc hàm lượng nước được xác định theo hướng dẫn ở chuyên luận của chất thuốc tương ứng. Khi chất đối chiếu có nước kết tinh, có thể có hướng dẫn đặc biệt trong một phép thử riêng.

1.3. Các dung dịch chuẩn độ

Trong kiểm nghiệm thuốc bằng phương pháp hoá học, các dung dịch chuẩn độ được pha từ hoá chất đạt tiêu chuẩn chất gốc và dùng để xác định hàm lượng các chất cần định lượng.

1.3.1. Quy định chung

Những dung dịch chuẩn độ là những dung dịch có nồng độ được biết chính xác dùng trong phân tích định lượng theo thể tích.

Nồng độ của các dung dịch chuẩn độ thường được biểu thị bằng:

Nồng độ đương lượng gam N: Số đương lượng gam chất tan trong 1000ml dung dịch.

Nồng độ phân tử gam M: Số phân tử gam chất tan trong 1000ml dung dịch.

Nếu nồng độ thực của dung dịch không đúng với nồng độ lý thuyết thì cần tính thêm hệ số hiệu chỉnh K. Hệ số này là tỷ số của nồng độ thực $C_{\text{thực}}$ và nồng độ lý thuyết $C_{\text{lý thuyết}}$: $K = \frac{C_{\text{thực}}}{C_{\text{lý thuyết}}}$. Khi nhân hệ số K với thể tích của một

dung dịch chuẩn độ ta được thể tích đúng của dung dịch chuẩn độ đó với hệ số $K = 1,000$.

1.3.2. Phương pháp chung để pha chế các dung dịch chuẩn độ

Có 4 phương pháp thường được dùng để pha chế và chuẩn hoá các dung dịch chuẩn độ trong kiểm nghiệm thuốc:

a) Pha chế từ chất gốc

Cân chính xác một lượng chất gốc tương ứng với lượng chất lý thuyết được tính dựa vào nồng độ và thể tích dung dịch chuẩn độ cần pha, hoà tan trong dung môi vừa đủ thể tích đó (dung môi thường dùng là nước cất không có carbon dioxyd). Hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch này được tính bằng lượng cân thực tế chia cho lượng chất lý thuyết.

Ví dụ: Pha 100,0ml dung dịch $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,1000N từ chất gốc $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ có $a_{lt} = 0,6303\text{g}$. Khi tiến hành pha, lượng cân $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ thực tế là 0,6290g. Vậy:

$$K = \frac{0,6290}{0,6303} = 0,9979 \text{ và } N_{thực} = 0,1 \times 0,9979 = 0,09979 \text{ N.}$$

b) Pha gần đúng rồi chuẩn hoá bằng chất gốc hoặc một dung dịch chuẩn độ khác có hệ số K đã biết

– *Dùng chất gốc:* chuẩn bị dung dịch chuẩn từ hoá chất tinh khiết đạt tiêu chuẩn chất gốc, sau khi được làm khô ở điều kiện nhất định được quy định riêng đối với từng chất. Cân chính xác một lượng chất chuẩn độ gốc, cho vào bình nón, hoà tan bằng dung môi thích hợp, chuẩn độ bằng dung dịch chuẩn độ mới pha. Tính hệ số hiệu chỉnh theo công thức:

$$K = \frac{a}{T.V}$$

Trong đó:

a: lượng chất gốc đã cân, tính bằng g.

T: độ chuẩn lý thuyết của dung dịch mới pha tính theo chất gốc, tính bằng g/ml.

V: thể tích dung dịch chuẩn độ đã dùng, tính bằng ml.

Ví dụ: Pha và xác định nồng độ dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N từ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (không phải là chất gốc).

Vì $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dễ mất nước kết tinh nên không thoả mãn yêu cầu chất gốc, do đó pha dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ có nồng độ xấp xỉ 0,1N bằng cách: Cân trên cân kỹ thuật 24,82g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, hoà tan vào nước mới đun sôi để nguội, thêm một ít Na_2CO_3 , thêm nước cho đủ khoảng 1 lít trộn đều. Để vài ngày ổn định, sau đó xác định lại nồng độ.

Nồng độ dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ được xác định bằng chất gốc $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ có $T = 0,004904\text{g/ml}$ như sau: Cân chính xác $0,1506\text{g}$ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ hoà tan trong khoảng 50ml nước cất trong một bình nón nút mài, thêm 10ml dung dịch KI 20% , 5ml dung dịch HCl đặc. Đậy nút và để yên chỗ tối 10 phút. Thêm 200ml nước và chuẩn độ bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ điều chế ở trên đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng lục. Thêm 2ml dung dịch hồ tinh bột và tiếp tục chuẩn độ đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh lam sang lục nhạt hết $30,5\text{ml}$ dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ được tính theo công thức:

$$K_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = \frac{a}{T.V} = \frac{0,1506}{0,004904 \times 30,5} = 1,0069$$

– Dùng một lượng chính xác dung dịch chuẩn độ khác có hệ số K_0 đã biết:

Trong trường hợp này, hệ số hiệu chỉnh K được tính theo công thức:

$$K = \frac{V_0 \cdot K_0 \cdot C_0}{V \cdot C}$$

Trong đó:

C_0 là nồng độ đương lượng lý thuyết.

V_0 là thể tích (tính bằng ml) và K_0 là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hoá.

C : nồng độ đương lượng lý thuyết của dung dịch chuẩn độ cần pha.

V : thể tích dung dịch chuẩn độ cần xác định hệ số K , tính bằng ml .

Ví dụ: Pha và xác định nồng độ dung dịch chuẩn NaOH $0,1\text{N}$ từ NaOH .

Vì NaOH dễ hút ẩm và dễ bị carbonat hoá nên không thoả mãn yêu cầu chất gốc, do đó pha dung dịch chuẩn NaOH có nồng độ xấp xỉ $0,1\text{N}$ bằng cách: Hoà tan $4,50\text{g}$ NaOH trong 5ml nước. Đậy kín bình chứa bằng nút cao su, để yên 1 ngày rồi gạn lấy dung dịch trong phía trên và pha loãng với nước cất mới đun sôi để nguội đến vừa đủ 1 lít, trộn đều.

Sau đó xác định lại nồng độ dung dịch NaOH bằng dung dịch HCl $0,1\text{N}$ có $K = 0,9985$ như sau: Lấy chính xác $20,0\text{ml}$ dung dịch NaOH đã điều chế ở trên, thêm 2 giọt dung dịch da cam methyl và chuẩn độ bằng dung dịch HCl $0,1\text{N}$ đến khi dung dịch chuyển từ màu vàng sang hồng da cam hết $20,5\text{ml}$.

Hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch NaOH được tính theo công thức:

$$K_{\text{NaOH}} = \frac{V_0 \cdot K_0 \cdot C}{V \cdot C_0} = \frac{20,5 \times 0,9985 \times 0,1}{20,0 \times 0,1} = 1,0235$$

c) Pha loãng những dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao

Dùng dụng cụ đóng, đo thể tích chính xác để pha loãng các dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao thành dung dịch có nồng độ thấp hơn bằng dung môi tương ứng.

Hệ số hiệu chỉnh của dung dịch pha được chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đã dùng để pha loãng. Những dung dịch chuẩn độ có nồng độ nhỏ hơn 0,1N được chuẩn bị theo cách này ngay trước khi dùng.

Ví dụ: Để chuẩn bị dung dịch iod 0,01 N, người ta lấy chính xác 10,00ml dung dịch iod 0,1 N có $K = 1,005$ pha loãng trong vừa đủ 100,0ml bằng nước cất. Dung dịch iod mới pha được có nồng độ là 0,01 N với $K = 1,005$.

d) Dùng ống chuẩn

Những ống chuẩn có chứa một lượng chất gốc vừa đủ để pha thành một thể tích nhất định dung dịch chuẩn độ. Dùng dung môi pha chế theo đúng kỹ thuật ghi trên nhãn ống, ta sẽ được dung dịch chuẩn độ có nồng độ chính xác theo quy định.

Ví dụ: Pha dung dịch AgNO_3 0,1000 N từ ống chuẩn AgNO_3 0,1N có chỉ dẫn pha vừa đủ trong 1000ml nước.

Chuyển toàn bộ lượng hoá chất có trong ống chuẩn vào bình định mức 1000ml, dùng nước tráng rửa kỹ ống đựng chất chuẩn. Tập trung nước rửa vào bình định mức trên. Hoà tan và pha loãng trong nước tới vừa đủ 1000ml.

2. DUNG DỊCH ION MẪU

Các dung dịch ion mẫu thường được chuẩn bị để dùng làm mẫu so sánh trong thực hiện phép thử giới hạn tạp chất để kiểm nghiệm nguyên liệu làm thuốc. Các dung dịch ion mẫu được pha ở nồng độ cao và được pha loãng tới nồng độ thích hợp ngay trước khi dùng.

2.1. Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4

Cân chính xác 0,297g amoni clorid đã sấy khô ở $100 - 105^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi, hoà tan vào nước trong một bình định mức 1000ml. Thêm nước vừa đủ đến vạch.

2.2. Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As

Hoà tan 0,330g arsen trioxyd trong 5ml dung dịch natri hydroxyd 2 M và thêm nước vừa đủ 250ml.

2.3. Dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca

Cân chính xác 0,625g calci carbonat đã sấy khô ở 100 – 105°C đến khối lượng không đổi, cho vào bình định mức 250ml. Thêm 3ml dung dịch acid acetic 5 M. Lắc cho tan. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

2.4. Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl

Cân chính xác 0,0824g natri clorid đã sấy khô ở 100 – 105°C đến khối lượng không đổi, cho vào bình định mức 100ml, hoà tan với nước và thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

2.5. Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb

Hoà tan 0,400g chì (II) nitrat trong nước và thêm nước vừa đủ 250ml, lắc đều.

2.6. Dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K

Hoà tan 0,446g kali sulfat trong nước vừa đủ 100ml.

2.7. Dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg

Hoà tan 1,010g magnesi sulfat trong nước vừa đủ 100ml được dung dịch magnesi sulfat 1,010%.

Pha loãng 1 thể tích dung dịch magnesi sulfat 1,010% thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

2.8. Dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al

Hoà tan 0,352g nhôm kali sulfat (Phèn chua) trong dung dịch acid sulfuric 0,1 M vừa đủ 100ml.

2.9. Dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni

Hoà tan 0,478g nickel (II) sulfat trong nước vừa đủ 100ml.

2.10. Dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO₃

Hoà tan 0,163g kali nitrat với nước vừa đủ 100ml.

2.11. Dung dịch nitrit mẫu 20 phần triệu NO₂

Hoà tan 0,600g natri nitrit với nước vừa đủ 100ml. Pha loãng 1ml dung dịch này thành 200ml với nước.

2.12. Dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4

Hoà tan 0,0716g kali dihydrophosphat trong nước vừa đủ thành 100ml.

2.13. Dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe

Hoà tan 0,863g sắt amoni sulfat (phèn sắt amoni) trong nước có chứa 25ml dung dịch acid sulfuric 1 M và thêm nước vừa đủ 500ml.

2.14. Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4

Hoà tan 0,181g kali sulfat trong nước vừa đủ 100ml.

2.15. Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 trong ethanol

Hoà tan 0,181g kali sulfat trong ethanol 30% vừa đủ 100ml.

3. HOÁ CHẤT, THUỐC THỬ – CHỈ THỊ

– Trong Dược điển Việt Nam III, Phụ lục 2.8 trình bày những hoá chất – thuốc thử và Phụ lục 2.10 trình bày các chỉ thị dùng trong kiểm nghiệm thuốc. Tài liệu này trình bày một số thuốc thử và chỉ thị hay dùng trong thực tập kiểm nghiệm thuốc của chương trình.

3.1. Hoá chất

3.1.1. Acid acetic băng

Acid acetic kết tinh được.

Công thức hoá học: CH_3COOH . Phân tử lượng 60,1.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Acid acetic băng là chất lỏng không màu, mùi hăng cay. Khối lượng riêng: Khoảng 1,05g/ml. Điểm đông đặc: Khoảng 16°C. Hàm lượng CH_3COOH : Không được nhỏ hơn 98,0% (KL/KL).

* *Acid acetic loãng (Dung dịch acid acetic 12% – Dung dịch acid acetic 2 M):* Pha loãng 11,43ml acid acetic băng với nước vừa đủ 100ml. Hàm lượng CH_3COOH khoảng 11,5 – 12,5%.

* *Acid acetic xM:* Pha loãng 57x (ml) (60x (g)) acid acetic băng với nước vừa đủ 1000ml.

3.1.2. Acid hydrochloric

Acid hydrochloric đậm đặc.

Công thức hoá học: HCl. Phân tử lượng 36,46.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Acid hydrochloric đậm đặc là chất lỏng trong, không màu, bốc khói. Tỷ trọng ở 20°C: Khoảng 1,18. Hàm lượng HCl: 35 – 38% (KL/KL), khoảng 11,5 M. Bảo quản ở nhiệt độ không quá 30°C, trong bao bì bằng polyethylen hoặc vật liệu không phản ứng với acid hydrochloric.

* *Dung dịch acid hydrochloric 10%*: Pha loãng 24ml acid hydrochloric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.

* *Dung dịch acid hydrochloric loãng*: Pha loãng 17ml acid hydrochloric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.

* *Dung dịch acid hydrochloric xM (xN)*: Pha loãng 85x (ml) acid hydrochloric đậm đặc với nước vừa đủ 1000ml.

3.1.3. Acid nitric

Acid nitric đậm đặc.

Công thức hoá học: HNO₃. Phân tử lượng 63,01.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

HNO₃ là chất lỏng bốc khói, ăn mòn, có nồng độ mol khoảng 16 M. Khối lượng riêng: Khoảng 1,42g/ml. Hàm lượng HNO₃: Khoảng 70% (KL/KL). Bảo quản tránh ánh sáng.

* *Dung dịch acid nitric loãng*: Pha loãng 14,09ml (20g) acid nitric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.

* *Dung dịch acid nitric xM*: Pha loãng 63x (ml) acid nitric đậm đặc với nước vừa đủ 1000ml.

3.1.4. Natri hydroxyd

Công thức hoá học: NaOH. Phân tử lượng 40,00.

Dùng loại tinh khiết phân tích có chứa hàm lượng kiềm toàn phần không nhỏ hơn 97% tính theo NaOH và không được có quá 2,0% Na₂CO₃. Natri hydroxyd có dạng cục trắng hay thối hình trụ, dễ hút ẩm. Bảo quản trong đồ đựng kín.

* *Dung dịch natri hydroxyd xM (xN)*: Hoà tan 40x (g) natri hydroxyd trong nước và thêm nước vừa đủ 1000ml.

* *Dung dịch natri hydroxyd loãng*: Hoà tan 8,5g natri hydroxyd trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

3.2. Thuốc thử

3.2.1. Thuốc thử Nessler

Hoà tan 10g kali iodid trong 10ml nước và thêm từng ít một, vừa cho vừa khuấy đều, dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid cho tới khi xuất hiện tủa đỏ bên. Thêm 30g kali hydroxyd, sau khi tan hết lại thêm 1ml dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid. Pha loãng với nước vừa đủ 200ml. Để yên và gạn lấy phần nước trong.

Thử độ nhạy: Cho 3 giọt thuốc thử Nessler vào 10ml dung dịch amoni mầu 2 phần triệu NH_4 , mầu vàng cam phải xuất hiện ngay lập tức.

Bảo quản ở trong lọ thuỷ tinh mầu da cam, có nút mài, tránh ánh sáng.

3.2.2. Giấy tẩm chì acetat

Nhúng giấy lọc trắng vào hỗn hợp gồm 10 thể tích dung dịch chì acetat 9,5%* và 1 thể tích dung dịch acid acetic 2M, để ráo rồi hong khô, tránh ánh sáng. Để ở nơi không có acid hay kiềm. Cắt thành từng băng dài khoảng 5cm, rộng 6mm.

Bảo quản ở trong lọ thuỷ tinh nút mài, tránh ánh sáng.

Dung dịch chì acetat 9,5%*: Hoà tan 9,5g chì acetat trong nước vừa đủ 100ml không có carbon dioxyd.

3.2.3. Dung dịch thiếc (II) clorid AsT

Đun nóng 20g thiếc với 85ml dung dịch acid hydrocloric đặc đến khi không còn khí hydro bay ra. Pha loãng gấp đôi dung dịch này bằng acid hydrocloric đặc. Bốc hơi dung dịch trên đến khi thu được thể tích ban đầu và lọc qua giấy mịn.

3.2.4. Dung dịch kali iodid 10% (Dung dịch kali iodid loãng)

Hoà tan 10g kali iodid trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100ml. Dung dịch không được có mầu.

Bảo quản ở trong lọ thuỷ tinh mầu, nút mài, tránh ánh sáng.

3.2.5. Dung dịch bạc nitrat 2%

Hoà tan 2g bạc nitrat trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

3.2.6. Dung dịch thioacetamid

Hoà tan 4g thioacetamid trong nước vừa đủ 100ml. Thêm 1ml hỗn hợp của 15ml dung dịch natri hydroxyd 1N, 5ml nước và 20ml glycerin 85% vào 0,2ml dung dịch trên. Đun nóng trong cách thuỷ 20 giây, làm lạnh và dùng ngay.

3.2.7. Dung dịch bari clorid 25%

Hoà tan 25g bari clorid trong nước và cho thêm nước vừa đủ 100ml.

3.2.8. Thuốc thử Streng (magnesi uranyl acetat)

Đun nóng cách thuỷ 3,2g uranyl acetat, 10g magnesi acetat, 2ml acid acetic băng và khoảng 30ml nước. Sau khi tan hết để nguội. Thêm 50ml ethanol và nước vừa đủ 100ml. Để yên 24 giờ rồi lọc.

3.2.9. Dung dịch natri sulfid 2%

Hoà tan 2g natri sulfid trong nước, thêm 2 – 3 giọt glycerin và pha loãng với nước vừa đủ 100ml.

Bảo quản ở trong lọ nhỏ, đậy đầy, nút kín, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

3.2.10. Dung dịch sắt (III) clorid 5%

Hoà tan 5g sắt (III) clorid trong nước vừa đủ 100ml.

3.3. Một số chỉ thị màu

3.3.1. Da cam methyl

Bột kết tinh màu da cam, đôi khi có ánh nâu. Khó tan trong nước, dễ tan trong nước nóng, không tan trong ethanol.

Vùng chuyển màu: pH 3,0 (đỏ) đến pH 4,4 (vàng).

Dung dịch chỉ thị da cam methyl: Hoà tan 0,1g da cam methyl trong 80ml nước và thêm ethanol 96% vừa đủ 100ml.

3.3.2. Đen eriocrom T

Bột màu đen hơi nâu có óng ánh kim loại, ít tan trong nước lạnh. Tan trong ethanol và methanol. Trong môi trường kiềm (pH 9,5 – 10,0), dung dịch đen eriocrom T có màu xanh, còn phức chất của chỉ thị với ion calci, magnesi, kẽm trong điều kiện thích hợp có màu tím đỏ. Khi chuẩn độ những cation trên bằng Trilon B với chỉ thị này, màu chuyển từ tím đỏ sang xanh.

Chỉ thị đen eriocrom T hay được chuẩn bị ở dạng rắn: trộn đều 1 phần đen eriocrom T với 200 phần natri clorid đã được làm mịn trước.

3.3.3. Đỏ methyl

Tinh thể óng ánh hay bột kết tinh màu đỏ nâu. Gần như không tan trong nước, khó tan trong ethanol, tan trong các dung dịch kiềm và carbonat kiềm.

Vùng chuyển màu: pH 4,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng).

Dung dịch chỉ thị đỏ methyl: Hoà tan 50mg đỏ methyl trong một hỗn hợp của 1,86ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N và 50ml ethanol 96%. Sau khi tan hết, thêm nước vừa đủ 100ml.

3.3.4. Đỏ phenol

Bột màu đỏ. Khó tan trong nước, ethanol và aceton, dễ tan trong kiềm và carbonat kiềm.

Vùng chuyển màu: pH 6,8 (vàng) đến pH 8,4 (đỏ).

Dung dịch chỉ thị đỏ phenol: Hoà tan 0,1g đỏ phenol với 2,82ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N và 20ml ethanol 96%. Sau khi tan hết, thêm nước vừa đủ 100ml.

3.3.5. Kali cromat

Tinh thể màu vàng, dễ tan trong nước, không tan trong ethanol. Trong môi trường trung tính, tác dụng với bạc nitrat cho tủa đỏ.

Dung dịch chỉ thị kali cromat: Hoà tan 5g kali cromat trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

Khi dùng, cứ 100ml dung dịch lúc cuối chuẩn độ, cho 1 – 2ml dung dịch chỉ thị.

3.3.6. Phenolphthalein

Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt, không tan trong nước, tan trong ethanol. Vùng chuyển màu: pH 8,2 (không màu) đến pH 10,0 (đỏ).

Dung dịch chỉ thị phenolphthalein: Hoà tan 0,1g phenolphthalein trong 80ml ethanol 96% và thêm nước vừa đủ 100ml.

3.3.7. Tinh bột

Bột rất mịn, không mùi, không vị.

Chỉ thị hồ tinh bột: Nghiền 1g hồ tinh bột trong cối với 5ml nước cho tới khi thành một hỗn hợp đồng nhất rồi vừa đổ vừa khuấy vào 100ml nước sôi. Đun sôi tiếp 2 – 3 phút cho tới khi thu được một chất lỏng chỉ hơi đục.

Dung dịch chỉ pha để dùng trong 2 – 3 ngày. Muốn dùng được lâu hơn phải thêm 10mg thủy ngân (II) iodid.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Chất đối chiếu được dùng để làm gì và trong các phép thử nào?
2. Trình bày cách pha dung dịch chuẩn độ từ chất gốc. Cho ví dụ.
3. Trình bày cách pha dung dịch chuẩn độ gần đúng rồi chuẩn hoá bằng chất gốc. Cho ví dụ.
4. Trình bày cách pha dung dịch chuẩn độ bằng cách pha loãng những dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao. Cách pha này thường dùng trong trường hợp nào? Cho ví dụ.
5. Trình bày cách pha dung dịch ion mẫu:
 - a) Amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 .
 - b) Arsen mẫu 1000 phần triệu As.
 - c) Clorid mẫu 500 phần triệu Cl.
 - d) Chì mẫu 1000 phần triệu Pb.
 - e) Sắt mẫu 200 phần triệu Fe.
 - f) Sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 .
6. Trình bày cách chuẩn bị các chỉ thị:
 - a) Da cam methyl.
 - b) Đen eriocrom T.
 - c) Đỏ phenol.
 - d) Kali cromat.
 - e) Phenolphthalein.
 - f) Hồ tinh bột.
7. Tính hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N khi chuẩn độ bằng chất chuẩn gốc $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ có $T = 0,004904\text{g/ml}$ được tiến hành như sau: Cân chính xác 0,1518g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ hoà tan trong khoảng 50ml nước cất trong một bình nón nút mài, thêm 10ml dung dịch KI 20%, 5ml dung dịch HCl đặc. Đậy nút và để yên chỗ tối 10 phút. Thêm 200ml nước và chuẩn độ bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N với chỉ thị là dung dịch hồ tinh bột hết 29,15ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
8. Tính hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch iod 0,1 N khi chuẩn độ bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N có $K = 1,0082$. Biết rằng chuẩn độ 10,00ml dung dịch iod trên với chỉ thị hồ tinh bột hết 10,76ml dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
9. Trình bày cách pha dung dịch acid hydrocloric 10%.
10. Trình bày cách pha và xác định nồng độ của dung dịch natri hydroxyd 0,1N.

11. Trình bày cách pha dung dịch acid acetic loãng.
12. Trình bày cách pha dung dịch acid nitric 2M.
13. Điền từ hoặc cụm từ còn thiếu vào chỗ trống trong câu sau:
 - a) Chỉ thị da cam methyl trong dung dịch có pH < 3 có màu.....A..... và trong dung dịch có pH > 4,4 có màu.....B.....
 - b) Chỉ thị đỏ methyl trong dung dịch có pH < 4,4 có màu.....A..... và trong dung dịch có pH > 6,0 có màu.....B.....
 - c) Chỉ thị đỏ phenol trong dung dịch có pH < 6,8 có màu.....A..... và trong dung dịch có pH > 8,4 có màu.....B.....
 - d) Chỉ thị phenolphthalein trong dung dịch có pH < 8,2 có màu.....A..... và trong dung dịch có pH > 10 có màu.....B.....

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 14 và 15 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

14. Vùng chuyển màu của chỉ thị:
 - a) Da cam methyl trong khoảng pH từ:

A. 3,0 – 4,4	B. 3,5 – 4,5	C. 2,8 – 3,5	D. 5,0 – 6,1
--------------	--------------	--------------	--------------
 - b) Đỏ methyl trong khoảng pH từ:

A. 3,0 – 4,4	B. 4,4 – 6,0	C. 4,8 – 5,5	D. 5,6 – 6,3
--------------	--------------	--------------	--------------
 - c) Phenolphthalein trong khoảng pH từ:

A. 4,0 – 5,4	B. 3,5 – 4,5	C. 6,5 – 7,8	D. 8,2 – 10,0
--------------	--------------	--------------	---------------
15. Để pha dung dịch:
 - a) Acid acetic 1M người ta:
 - A. Pha loãng 5,7ml dung dịch acid acetid bằng với nước vừa đủ 100ml.
 - B. Pha loãng 6,0ml dung dịch acid acetid bằng với nước vừa đủ 100ml.
 - C. Pha loãng 12,5ml dung dịch acid acetid bằng với nước vừa đủ 200ml.
 - D. Pha loãng 6,2ml dung dịch acid acetid bằng với nước vừa đủ 100ml.
 - b) Để pha dung dịch acid hydrocloric 10% người ta:
 - A. Pha loãng 28ml acid hydrocloric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.
 - B. Pha loãng 20ml acid hydrocloric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.
 - C. Pha loãng 60ml acid hydrocloric đậm đặc với nước vừa đủ 200ml.
 - D. Pha loãng 24ml acid hydrocloric đậm đặc với nước vừa đủ 100ml.
16. Trình bày cách pha dung dịch thuốc thử Nessler, dung dịch thiếc (II) clorid AsT, dung dịch kali iodid 10%, dung dịch thioacetamid; thuốc thử Streng và dung dịch natri sulfid 2%.

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HOÁ LÝ DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

- Trình bày được khái niệm chung về phương pháp tách và sắc ký, ứng dụng sắc ký lớp mỏng trong kiểm nghiệm.
- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp đo thể, ứng dụng đo pH và chuẩn độ đo thể.
- Trình bày được nguyên lý cơ bản của phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV-VIS và ứng dụng để định tính, định lượng.

1. CÁC PHƯƠNG PHÁP TÁCH

1.1. Khái niệm

- Các phương pháp tách (các phương pháp phân chia) là nhóm các phương pháp vật lý, hoá học, hoá lý nhằm đưa một hỗn hợp phức tạp gồm nhiều chất thành các hỗn hợp đơn giản hơn và từ đó tách riêng ra từng chất (hoặc nhóm chất).

- Hỗn hợp cần tách có thể là đồng nhất (một pha), ví dụ có nhiều chất cùng có trong một dung dịch (pha lỏng). Hỗn hợp cần tách có thể là không đồng nhất (ít nhất có hai pha không trộn lẫn với nhau: nếu hỗn hợp gồm hai pha lỏng gọi là nhũ dịch, nếu hỗn hợp gồm pha lỏng và rắn gọi là hỗn dịch).

Tùy theo hỗn hợp cần tách là đồng nhất hay không đồng nhất mà lựa chọn các phương pháp tách thích hợp.

1.2. Các phương pháp tách thường dùng

1.2.1. Phương pháp lọc

- Là phương pháp dùng để tách pha lỏng khỏi pha rắn. Là phương pháp đơn giản, nhưng hiệu quả.

- Kỹ thuật lọc: Có thể lọc ở áp suất thường hoặc lọc ở áp suất giảm (lọc chân không). Vật liệu thường dùng là giấy, bông thuỷ tinh, phễu lọc thuỷ tinh xốp,...

1.2.2. Phương pháp lực ly tâm

Là phương pháp dùng lực ly tâm để làm lắng kết tủa xuống. Tốc độ lắng phụ thuộc vào lực ly tâm.

1.2.3. Phương pháp chia cắt pha

- Là những phương pháp nhằm biến một pha thành 2 pha.
- Có thể thực hiện bằng cách: chọn lọc cơ học (dựa vào hình dáng, kích thước, màu sắc,... để tách các chất), lắng đãi (dùng dòng chất lỏng chảy qua lõi đi các hạt nhẹ), loại bột dung môi bằng cách cô đặc hay bay hơi,...

1.2.4. Phương pháp chiết

– Là phương pháp dùng một dung môi (đơn hoặc hỗn hợp) B để tách lấy một chất (hay một nhóm chất) từ một hỗn hợp nghiên cứu trong dung môi A. Cơ sở của phương pháp là dựa trên sự phân bố của chất tan giữa 2 pha A và B không hoà lẫn vào nhau. Đại lượng đặc trưng là hệ số phân bố K_p .

$$K_p = \frac{C_B}{C_A}$$

Trong đó: C_B : là nồng độ chất tan trong dung môi B; C_A : là nồng độ chất tan trong dung môi A.

– Với chất tan cụ thể, cặp dung môi A, B xác định, nhiệt độ xác định thì K_p là hằng số.

– Tùy theo pha A là chất rắn hay lỏng, ta chia ra làm 2 loại: chiết lỏng – lỏng hoặc chiết lỏng – rắn.

a) Chiết lỏng – lỏng

Có 3 cách:

– Chiết đơn: Chiết một lần, trong phòng thí nghiệm chiết bằng bình gạn, lắc tay hoặc máy. Hiệu suất chiết thấp.

– Chiết lặp (chiết nhiều lần): Sau lần chiết 1, trong dung dịch còn chất tan, thêm dung môi mới chiết tiếp. Nếu cùng một lượng dung môi ta chiết nhiều lần tốt hơn chiết ít lần.

Chiết nhiều lần tốn thời gian, thường chọn tối ưu 3 lần.

Trong phòng thí nghiệm có thể chiết gián đoạn hoặc liên tục. Trong cách chiết liên tục, dịch chiết được đun sôi liên tục để dung môi bay hơi, ta thu hồi cho chảy liên tục vào bình đựng dung dịch cần chiết (như vậy tiết kiệm được

dung môi nhưng có nhược điểm do liên tục đun sôi dễ làm phân huỷ chất cần tách).

– Chiết ngược dòng: Cho dung môi và dung dịch cần chiết đi ngược chiều nhau, hai pha tiếp xúc chặt chẽ, pha trộn và di chuyển ngược chiều nhau. Đây là một quá trình liên tục.

Trong kiểm nghiệm chiết lỏng – lỏng được ứng dụng rất nhiều và thường dùng một pha là nước và một pha là dung môi hữu cơ.

b) Chiết lỏng – rắn

Thường có 2 cách:

– Dùng pha rắn (như Al_2O_3 , nhôm silicat, than,...) để chiết lấy các chất từ một pha lỏng, chủ yếu nhờ sự hấp phụ.

– Dùng pha lỏng (dung môi hoặc các hệ dung môi) để chiết lấy các chất từ mẫu phân tích là chất rắn (như bột, dược liệu, cặn khô của mẫu thử,...). Ví dụ chiết hoạt chất từ bột dược liệu bằng dụng cụ chiết Soxhlet.

2. PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ

2.1. Khái niệm về phương pháp sắc ký

Năm 1903, nhà thực học người Nga M.S.Tsvet khi cho dịch chiết chlorophyll từ lá cây qua cột CaCO_3 , sau đó cho ether dầu hoả chảy qua thấy các sắc tố của chlorophyll được tách riêng thành những lớp màu khác nhau trên cột (không màu, vàng, lục vàng, lục lam, vàng, xám). Cột với hệ thống các lớp màu đã tách, ông đặt tên là sắc đồ (hay sắc ký đồ) và kỹ thuật tách này ông gọi là phương pháp sắc ký.

Ngày nay có thể nói sắc ký là phương pháp tách các chất dựa vào sự phân bố khác nhau của chúng ở 2 pha không hoà lẫn vào nhau và luôn tiếp xúc với nhau, một pha đứng yên gọi là pha tĩnh (Stationnary phase: SP) và một pha di chuyển gọi là pha động (Mobile phase: MP). Trong quá trình pha động chuyển động dọc theo hệ sắc ký hết lớp pha tĩnh này đến lớp pha tĩnh khác sẽ lặp đi lặp lại quá trình hấp phụ và phản hấp phụ. Hệ quả là các chất bị hấp phụ nhiều (có ái lực lớn) với pha tĩnh sẽ di chuyển chậm hơn các chất bị hấp phụ ít (có ái lực yếu) và chúng có thể tách ra khỏi nhau.

2.2. Phân loại các phương pháp sắc ký

– Trong phương pháp sắc ký, pha động có thể là lỏng hoặc khí, pha tĩnh có thể là lỏng hoặc rắn. Dựa vào trạng thái tập hợp của pha động người ta chia

sắc ký thành 2 nhóm lớn: sắc ký khí và sắc ký lỏng. Dựa vào cơ chế trao đổi của các chất giữa pha động và pha tĩnh, hoặc cách bố trí pha tĩnh người ta lại chia các phương pháp sắc ký thành nhóm nhỏ hơn. Các dạng sắc ký cơ bản được minh họa ở bảng 3.

Bảng 3. Các dạng sắc ký cơ bản

<i>Dạng sắc ký</i>	<i>Pha động</i>	<i>Pha tĩnh</i>	<i>Cách bố trí pha tĩnh</i>	<i>Cơ chế tách của các chất</i>
Khí – Hấp phụ	Khí	Rắn	Cột	Hấp phụ
Khí – lỏng	Khí	Lỏng	Cột	Phân bố
Lỏng – Rắn	Lỏng	Rắn	Cột	Hấp phụ
Lỏng – Lỏng	Lỏng	Lỏng	Cột	Phân bố
Lỏng – Nhựa trao đổi	Lỏng	Rắn	Cột	Trao đổi ion
Lớp mỏng	Lỏng	Rắn	Lớp mỏng	Hấp phụ
Giấy	Lỏng	Rắn	Giấy sắc ký	Phân bố
Rây (sắc ký Gel)	Lỏng	Lỏng	Cột	Theo kích thước phân tử

– Quá trình sắc ký thường gồm 3 giai đoạn chính: Đưa mẫu thử lên pha tĩnh, cho pha động chạy qua pha tĩnh, phát hiện các chất và xử lý kết quả.

2.3. Một số phương pháp sắc ký

2.3.1. Sắc ký lớp mỏng

a) Khái niệm

– Về bản chất đây là hệ sắc ký lỏng – rắn, trong đó pha tĩnh rắn (là chất hấp phụ được chọn phù hợp theo yêu cầu phân tích) được trải thành lớp mỏng đồng đều trên bản kính, nhựa hay kim loại. Sau đó đưa hỗn hợp chất cần tách lên pha tĩnh bằng cách chấm dung dịch mẫu nghiên cứu lên bản mỏng (cách rìa bản mỏng 2 – 3cm). Pha động là một hệ dung môi đơn hoặc đa thành phần được trộn với nhau theo một tỷ lệ nhất định (cho dung môi pha động chạy bằng cách đặt bản mỏng vào hệ dung môi này theo hướng phân có vết chấm ở dưới). Dưới tác dụng của lực mao quản, dung môi sẽ chuyển động qua lớp hấp phụ, các cấu tử sẽ di chuyển theo hướng pha động nhưng với vận tốc khác nhau đưa đến việc tách các cấu tử ra khỏi nhau, ta thu được một sắc ký đồ trên lớp mỏng.

– Phương pháp sắc ký lớp mỏng được ứng dụng để định tính, thử độ tinh khiết, cũng có thể để định lượng. Ưu điểm cơ bản là thiết bị đơn giản, thời gian phân tích nhanh, khá chọn lọc.

b) Đại lượng đặc trưng

– Đại lượng đặc trưng cho mức độ di chuyển của chất phân tích là hệ số lưu giữ R_f (Retard factor)

$$R_f = \frac{a}{b} = \frac{\text{Khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết sắc ký}}{\text{Khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi cuối cùng}}$$

– Thực nghiệm cho thấy giá trị R_f không đủ lặp lại do phụ thuộc nhiều yếu tố khó kiểm soát như: chất lượng và hoạt tính của chất hấp phụ, độ ẩm của chất hấp phụ, chất lượng của dung môi,... Do đó người ta thường dùng hệ số lưu giữ tương đối R_{td} .

$$R_{td} = \frac{a}{c}$$

Trong đó c là *khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết sắc ký* chất được chọn làm chuẩn đối chiếu được sắc ký trong cùng điều kiện và trên cùng bản mỏng với mẫu thử.

– Ngoài ra, còn sử dụng đại lượng độ phân giải R_s (để đánh giá khả năng tách các chất):

$$R_s = \frac{2(d_B - d_A)}{D_B + D_A}$$

Trong đó:

d_A, d_B : là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết sắc ký của chất A và chất B trên sắc đồ (A và B là 2 chất trong cùng hỗn hợp, $d_B > d_A$).

D_A, D_B là đường kính của vết sắc ký của chất A và B trên sắc đồ.

Yêu cầu: $R_s > 1$, giá trị tối ưu $R_s = 1,5$.

c) Thiết bị, hoá chất chính

– Các loại chất hấp phụ sử dụng: Silicagel, nhôm oxyd, cellulose, bột polyamid, sephadex,... Chất hấp phụ có thể được trải dưới dạng nhão có chất kết dính thành bản mỏng dính chắc, hoặc dạng bột mịn không có chất kết dính thành bản mỏng không dính chắc. Hiện nay, trong thực tế có bản mỏng tráng sẵn như Silicagel G, Silicagel GF₂₅₄, Silicagel HF₂₅₄.

– Dung môi: Việc chọn dung môi động phụ thuộc vào bản chất của chất nghiên cứu. Dung môi có thể là đơn hoặc hỗn hợp. Các dung môi phải đạt độ tinh khiết cao.

- Bình sắc ký: Thường là bình thủy tinh trong suốt, có kích thước phù hợp và có nắp đậy kín.

- Dụng cụ chấm sắc ký: Có thể dùng máy chấm sắc ký, hoặc dùng micropipet hay ống mao quản thường, ống mao quản định mức chính xác.

- Dụng cụ phát hiện: Có thể dùng bình phun thuốc thử, đèn huỳnh quang tử ngoại, máy đo mật độ vết.

d) Các bước tiến hành

- Chuẩn bị bản mỏng: Lựa chọn bản mỏng, lựa chọn chất hấp phụ phù hợp với yêu cầu phân tích, điều chế vữa của chất hấp phụ, trải bản mỏng, làm khô tự nhiên, hoạt hoá bản mỏng ở $105^{\circ}\text{C} - 110^{\circ}\text{C}$.

- Chuẩn bị bình khai triển sắc ký: Bảo hoà hơi dung môi vào không khí trong bình bằng cách lót giấy lọc xung quanh thành trong của bình, pha dung môi (lượng dung môi sử dụng sao cho sau khi thấm đều vào giấy lọc, còn lại 1 lớp dày 5 – 10mm ở đáy bình). Đậy nắp bình và để yên 1 giờ.

- Chấm chất phân tích lên bản mỏng: Là khâu rất quan trọng, lượng mẫu không quá nhỏ và không quá lớn (thông thường 0,1 – 50 μg ứng thể tích 0,001 – 0,005ml). Điểm chấm xuất phát phải cách mép dưới bản mỏng 1,5 – 2,5cm và cách bề mặt dung môi 0,8 – 1,0cm. Vết chấm phải nhỏ gọn (đường kính 2 – 6mm), các vết chấm cách nhau 15mm, vết chấm cách bờ bên của bản mỏng ít nhất 1cm.

- Triển khai sắc ký: Đặt bản mỏng gần như thẳng đứng vào bình sắc ký (các vết chấm phải ở trên bề mặt của lớp dung môi). Đậy kín bình và để yên ở nhiệt độ cố định. Thường khi đường đi của dung môi được 10 – 12cm thì kết thúc giai đoạn triển khai sắc ký.

- Phát hiện: Lấy bản mỏng ra đánh dấu đường đi của dung môi. Làm bay hơi dung môi còn đọng lại trên bản mỏng. Phát hiện vết sắc ký bằng phương pháp hoá học hoặc hoá lý (hiện màu bằng phun thuốc thử hoặc dùng đèn UV 254nm và 366nm). Quan sát màu vết, đo và tính R_f (hoặc R_{td} , R_s).

Từ kết quả trên rút ra kết luận về định tính, thử tinh khiết theo yêu cầu của phép phân tích. Để định lượng có thể dựa trên diện tích, độ đậm màu của các vết hoặc xử lý bằng các biện pháp hoá học thích hợp để lấy chất nghiên cứu ra khỏi bản mỏng.

Ví dụ: Tách hỗn hợp Morphin, papaverin (hoặc codein) bằng sắc ký lớp mỏng.

– *Dụng cụ, hoá chất:*

+ Phiến kính làm lớp mỏng $9 \times 18\text{cm}$.

+ Bình chạy sắc ký.

+ Ống đồng, cối chày sứ, thìa sứ.

+ Ống mao quản.

+ Bình đựng iod để làm hiện màu.

+ Dung dịch chuẩn morphin 0,5%.

+ Dung dịch chuẩn papaverin 0,5%.

+ Dung dịch hỗn hợp morphin và papaverin (dung dịch bài tập).

+ Cloroform, aceton, methanol, amoniac đặc, iod tinh thể, silicagen, thạch cao.

– *Cách tiến hành:*

+ Làm lớp mỏng dính chắc: cân 2,5g silicagen và 0,3g thạch cao, cho vào cối sứ nghiền mịn (cho thạch cao trước, sau thêm dần silicagen). Sau đó, cho dần dần 7ml nước cất trộn đều, tránh có bọt khí (tất cả quá trình cho nước và trộn phải làm nhanh trong vòng 1 – 2 phút). Đặt 2 phiến kính nhỏ lên một phiến kính to hơn (đã bôi ướt nước cho dính chặt vào đó). Tay trái cầm kính to, dùng một que nhỏ quăn bông tẩm hỗn hợp bột nhào quét nhẹ lên xung quanh mép các phiến kính nhỏ, sau đó dùng thìa đổ hỗn hợp bột nhào lên, nghiêng kính cho lớp bột dàn đều. Để yên các phiến kính đã trải bột nhào trong không khí hoặc trên mặt bếp nóng chừng 15 phút rồi cho vào tủ sấy (sấy ở 105°C trong 1 giờ).

+ Pha dung môi: Pha hỗn hợp dung môi: cloroform–aceton–methanol–amoniac 25% theo tỷ lệ 10: 10: 1,5: 1. Sau đó cho vào bình sắc ký (đã lót một khoanh giấy lọc ở xung quanh để dung môi chóng bão hoà và lót ở đáy bằng một miếng giấy lọc tròn), đập nắp, để yên một lát.

+ Chạy sắc ký: Lấy phiến kính ở tủ sấy ra, để nguội, gạt bột ở hai bên mép, chấm dung dịch chuẩn morphin, papaverin, dung dịch hỗn hợp lên phiến kính (chú ý không làm thủng lớp bột và chấm giọt nhỏ nhiều lần). Dùng phiến kính đã chấm dung dịch vào bình chạy sắc ký, cho dung môi chạy một đoạn khoảng 12 – 15cm lấy phiến kính ra, sấy đến hết mùi amoniac.

+ Phát hiện: Đặt bản mỏng vào bình có chứa sẵn một ít tinh thể iod khoảng 5 phút. Lấy ra, các vết alcaloid sẽ có màu vàng nâu. Đo, tính, xác định R_f và cho biết trong hỗn hợp có morphin và papaverin không.

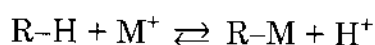
+ Yêu cầu sắc đồ thu được rõ, đo và tính được R_f , định tính đúng.

2.3.2. Sắc ký trao đổi ion

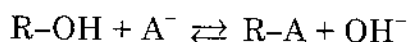
– Sắc ký trao đổi ion là một dạng sắc ký lỏng – rắn. Ở đây pha tĩnh là một chất có khả năng trao đổi ion (cation và anion). Quá trình sắc ký xảy ra dựa vào phản ứng trao đổi ion giữa các thành phần trong pha động và chất trao đổi ion nạp sẵn trong cột sắc ký. Chất trao đổi ion thường dùng là các chất tổng hợp được gọi là nhựa trao đổi ion hay ionid (ionid có khả năng trao đổi cation gọi là cationid, ionid có khả năng trao đổi anion gọi là anionid).

– Phương trình trao đổi giữa ion ở ionid và ion trong pha động có thể biểu thị như sau:

+ Với cationid:



+ Với anionid:



Như vậy sau quá trình sắc ký, chúng ta có thể tái sinh nhựa trở về trạng thái ban đầu (bằng cách cho cationid tiếp xúc với dung dịch acid có nồng độ thích hợp, anionid tiếp xúc với dung dịch base có nồng độ thích hợp).

– Kỹ thuật sắc ký: Thường được thực hiện trên cột sắc ký trong phòng thí nghiệm, cột trao đổi ion thường là cột thuỷ tinh hình trụ, đáy có lắp khoá để thoát dung dịch, dưới đáy thường lót bông thuỷ tinh để ngăn không cho các hạt nhựa lọt vào làm tắc khoá. Trong cột tùy theo phép phân tích mà nhồi cationit hoặc anionit. Sau đó, cho dung dịch cần phân tích chảy qua (pha động) phản ứng trao đổi giữa ion trong ionid và ion cần xác định sẽ xảy ra.

– Sắc ký trao đổi ion được ứng dụng để tách các ion, định lượng các chất, làm sạch các ion trong nước,...

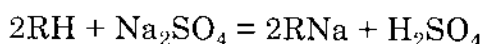
– Tùy theo ion cần nghiên cứu, tùy điều kiện mà chọn nhựa ionid thích hợp, nhưng thường chú ý chọn loại nhựa có dung lượng trao đổi lớn, bền vững hoá học, có độ trương nước xác định, có kích thước đồng nhất,... Khi tiến hành sắc ký không bao giờ được để nhựa khô hoặc có bọt khí.

Ví dụ: Định lượng Na_2SO_4 bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion

– Nguyên tắc:

Dựa trên phản ứng trao đổi thuận nghịch giữa các ion trong dung dịch chất nghiên cứu với các ion ở trong một chất gọi là ionid. Quá trình trao đổi tuân theo định luật tác dụng khối lượng.

Đối với Na_2SO_4 , khi cho dung dịch chạy qua cột trao đổi ion (chứa cationid ở dạng H^+) trong cột sẽ xảy ra phản ứng:



Dung dịch chạy từ cột ra là H_2SO_4 , đem định lượng dung dịch H_2SO_4 này bằng dung dịch NaOH đã biết nồng độ, suy ra được hàm lượng Na_2SO_4 có trong mẫu phân tích.

– *Dụng cụ, hoá chất:*

- + Cột trao đổi ion (dùng Buret).
- + Ống nghiệm nhỏ.
- + Cationid (loại trao đổi acid mạnh).
- + Dung dịch HCl 0,1N.
- + Chỉ thị da cam methyl.
- + Dung dịch chuẩn độ NaOH 0,1N.

– *Cách tiến hành:*

+ Chuẩn bị cột trao đổi ion: Lấy khoảng 10 – 15g cationid (loại acid mạnh) ngâm trong HCl 0,1N trong 2 ngày (để cationid ở dạng RH). Sau đó cho vào cột trao đổi ion (dùng buret có lót ở dưới một ít bông thuỷ tinh). Chú ý không để bọt khí lẫn vào, phải luôn luôn cho dung dịch ngập trên cationid ít nhất 0,5cm trong quá trình chạy sắc ký cũng như không chạy. Cho chảy thêm từ từ 20ml HCl 0,1N nữa để cationid hoàn toàn ở dạng acid RH . Rửa cột bằng nước cất cho đến khi nước chảy ra không còn acid tự do (thử bằng chỉ thị da cam methyl).

+ Cho chạy sắc ký: Cân chính xác (hoặc lấy thể tích chính xác) mẫu cần phân tích (sao cho lượng Na_2SO_4 chứa trong mẫu khoảng 0,1g) cho vào cốc, pha loãng hoặc hoà tan với khoảng 20ml nước, khuấy cho tan, cho chảy qua cột trao đổi ion với tốc độ 5 – 10 giọt trong 1 phút. Rửa cốc bằng nước cất và cho chảy qua cột tiếp. Rửa cột tiếp bằng nước cất đến khi nước chảy ra không có acid (thử với chỉ thị da cam methyl). Hứng tất cả dung dịch đã trao đổi và nước rửa vào bình nón to.

+ Chuẩn độ: Thêm vài giọt chỉ thị da cam methyl vào bình nón rồi đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH (có nồng độ chính xác khoảng 0,1N) đến khi màu chuyển từ đỏ sang vàng. Ghi thể tích dung dịch NaOH . Tính% Na_2SO_4 trong mẫu. Biết Na_2SO_4 có $M = 142$.

+ Hồi phục lại ionid: Sau khi làm xong, cho dung dịch HCl 0,1N chảy qua ionid và ngâm cationid.

3. PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ TỬ NGOẠI – KHẢ KIẾN

Là phương pháp phân tích xác định các chất dựa trên cơ sở sự hấp thụ các bức xạ điện từ vùng tử ngoại (UV) và khả kiến (VIS) của các phân tử chất nghiên cứu.

3.1. Ánh sáng và màu sắc

– Các bức xạ điện từ bao gồm: Tia X, tia UV, ánh sáng nhìn thấy (khả kiến), hồng ngoại (IR),... có đặc điểm vừa mang tính chất sóng và vừa mang tính chất hạt.

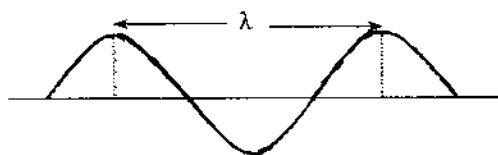
– Các đại lượng đặc trưng cho ánh sáng:

+ Năng lượng bức xạ (năng lượng photon) $E = h\nu$ trong đó h là hằng số planck, ν là tần số của ánh sáng, đơn vị đo là electron-von (ký hiệu là eV) hoặc kC/mol ($1\text{eV} = 23 \text{ kCal/mol}$).

– Tần số ánh sáng là số dao động hoàn chỉnh mà sóng thực hiện được trong 1 giây.

$$\nu = \frac{C}{\lambda}$$

C là vận tốc của ánh sáng (trong chân không $C = 3.10^{10}\text{cm/s}$).



Hình 3. Sơ đồ một dao động sóng hoàn chỉnh

Bước sóng λ (độ dài sóng): đơn vị đo thông dụng là nanomet ($1\text{nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

– Tùy theo bước sóng, ánh sáng được chia thành từng vùng, trong phân tích miền sáng quang học (hay được ứng dụng) gồm 3 vùng:

Vùng tử ngoại: 185 – 400nm

Vùng khả kiến: 400 – 760nm

Vùng hồng ngoại: 700 – 300.000nm (hay 300μm)

– Riêng trong vùng VIS có nhiều màu, mỗi màu ứng với một chùm tia có bước sóng gần nhau:

Đỏ:	760 – 630nm.
Cam:	630 – 600nm.
Vàng:	600 – 570nm.
Lục:	570 – 500nm.
Lam:	500 – 450nm.
Chàm:	450 – 430nm.
Tím:	430 – 400nm.

Như vậy, ánh sáng tự nhiên là ánh sáng đa sắc. Trong thực tế, ánh sáng tự nhiên là ánh sáng trắng (không màu) vì các tia sáng phụ nhau từng đôi một (nghĩa là mỗi bước sóng đều có một bước sóng phụ hoạ để hoà thành ánh sáng trắng) gọi là các cặp màu phụ nhau (hay bổ sung nhau).

Ví dụ: Cặp màu phụ nhau:

Đỏ – xanh lục.

Da cam – lục xanh.

Vàng – xanh (lam).

Lục vàng – tím.

Lục – đỏ tía.

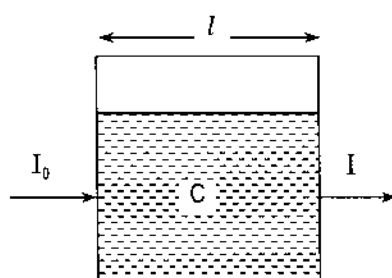
– Khi chiếu ánh sáng vào vật, vật sẽ hấp thụ ánh sáng nhưng sự hấp thụ có chọn lọc nghĩa là có tia bị hấp thụ nhiều, có tia bị hấp thụ ít, do đó phần ánh sáng phản xạ đập vào mắt người quan sát là tia phụ với tia đã bị hấp thụ và cho ta cảm thấy màu của tia đó. Ví dụ nếu vật hấp thụ tia sáng màu vàng ta thấy vật có màu xanh lam. Vì vậy ta nói màu của vật và màu mà vật hấp thụ là hai màu phụ nhau.

– Chùm tia sáng đơn sắc là chùm tia sáng có bước sóng bằng nhau (có một bước sóng duy nhất).

3.2. Định luật cơ bản về sự hấp thụ ánh sáng (Định luật Lambert–Beer)

3.2.1. Định luật

Chiếu một chùm tia sáng đơn sắc có cường độ là I_0 qua một dung dịch có chiều dày l (cm), nồng độ C . Sau khi bị hấp thụ, cường độ chùm tia còn lại là I .



Hình 4. Sơ đồ ánh sáng truyền qua dung dịch

– Độ truyền qua (độ thấu quang):

$$T = \frac{I}{I_0} \times 100\%$$

– Mật độ quang D (độ hấp thụ A , độ tắt E)

$$D = A = E = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I} = K.l.C$$

với K là hệ số hấp thụ.

+ Nếu C tính bằng mol/l, ta có: $D = \epsilon_\lambda.C.l$ và ϵ_λ được gọi là hệ số hấp thụ phân tử ($\epsilon_\lambda = D$ khi $C = 1\text{mol/l}$ và $l = 1\text{cm}$) đặc trưng cho bản chất của chất nghiên cứu trong dung dịch chỉ phụ thuộc vào bước sóng ánh sáng đơn sắc.

+ Nếu C tính theo % (KL/TT) ta có: $D = E_{1\text{cm}}^{1\%}.C.l$ và $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ là hệ số hấp thụ riêng (hệ số tắt riêng).

– Nếu dung dịch hấp thụ ánh sáng càng nhiều (màu đậm) thì độ truyền qua thấp, mật độ quang cao và ngược lại.

3.2.2. Điều kiện áp dụng định luật

- Ánh sáng phải đơn sắc.
- Khoảng nồng độ thích hợp và dung dịch phải trong suốt.
- Các yếu tố hoá học khác: pH, các chất lạ,... không được ảnh hưởng đến sự hấp thụ của chất nghiên cứu.

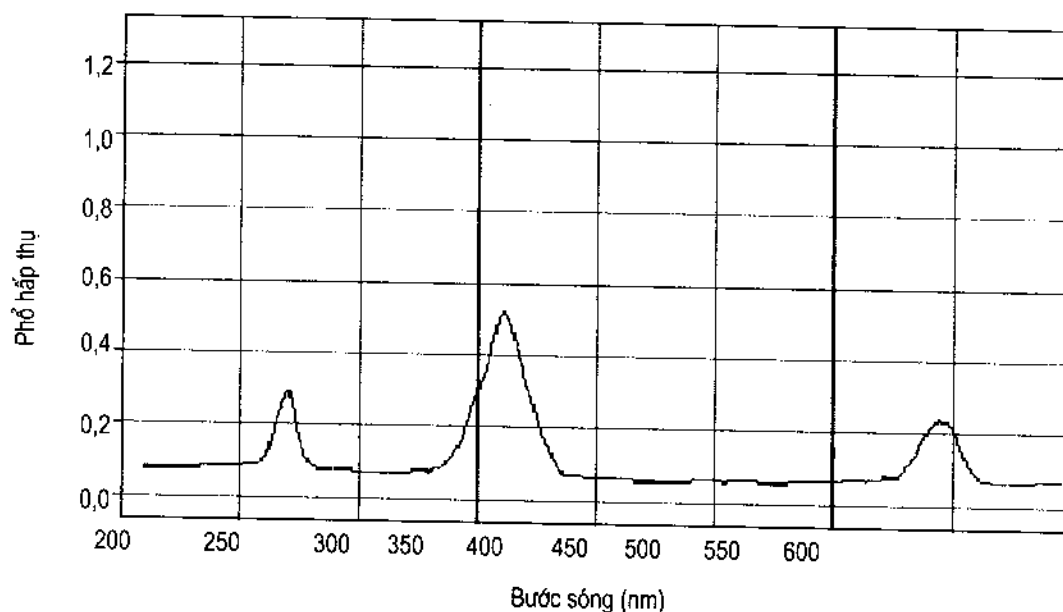
3.3. Quang phổ hấp thụ và ứng dụng

3.3.1. Quang phổ hấp thụ UV-VIS

– Là đường biểu diễn sự phụ thuộc của mật độ quang D (hoặc hệ số hấp thụ ϵ) của chất nghiên cứu vào bước sóng ánh sáng.

Ví dụ, một phổ hấp thụ có dạng như ở hình 5.

– Nhìn vào quang phổ hấp thụ, chúng ta có thể biết được khả năng hấp thụ ánh sáng ở các bước sóng khác nhau của chất nghiên cứu. Trên quang phổ hấp thụ tùy từng chất nó có thể có một hoặc nhiều cực đại ứng với các giá trị $\lambda_{\max}$ khác nhau.



Hình 5. Phổ hấp thụ UV – VIS của vitamin B₁₂

3.3.2. Ứng dụng

– Hình dạng và đặc biệt những cực đại trên quang phổ hấp thụ UV-VIS là những thông tin về cấu trúc của chất phân tích do đó có thể dùng định tính nhận biết các chất. Ví dụ dung dịch vitamin B₂ (Riboflavin) có 4 cực đại hấp thụ là 223nm, 267nm, 373nm và 444nm.

– Sử dụng các cực đại, kết hợp dạng phổ ta có thể kiểm tra mức độ tinh khiết hoặc sự phân huỷ của chất phân tích. Ví dụ với B₂ ta luôn có:

$$\frac{D_{373}}{D_{267}} \approx 0,31 - 0,33 \quad \text{và} \quad \frac{D_{444}}{D_{267}} \approx 0,36 - 0,39$$

– Độ hấp thụ cao hay thấp phụ thuộc vào nồng độ, do đó dựa vào định luật Lambert – Beer để định lượng các chất.

Ví dụ: Định tính, định lượng vitamin B₁₂ bằng phương pháp quang phổ hấp thụ UV-VIS.

- Nguyên tắc:

Dựa trên việc đo phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến của chất đó. Phổ hấp thụ là đồ thị biểu diễn giữa mật độ quang (độ hấp thụ) của dung dịch chất nghiên cứu vào bước sóng của tia sáng đơn sắc. Thiết lập phổ hấp thụ bằng cách đo mật độ quang của một dung dịch có nồng độ xác định với các bức xạ có độ dài sóng giảm hoặc tăng dần, sau đó vẽ đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của $D - \lambda$ ta sẽ có một phổ hấp thụ của dung dịch chất nghiên cứu. Trên phổ hấp thụ sẽ nhận thấy các cực đại hấp thụ (ứng với bước sóng, ở đó sự hấp thụ là cực đại) và các cực tiểu nếu có. Các chất khác nhau thường có phổ hấp thụ khác nhau. Do vậy thường dùng phổ hấp thụ để định tính các chất hoặc để thử tinh khiết các chất căn cứ vào dạng phổ, các cực đại và các cực tiểu hấp thụ, tỷ lệ cường độ hấp thụ của các cực đại hoặc của các cực tiểu hấp thụ.

Với vitamin B₁₂ dung dịch 0,0025% trong nước có 3 cực đại hấp thụ: ở $361 \pm 1\text{nm}$ và $550 \pm 2\text{nm}$, $278\text{nm} \pm 1\text{nm}$; tỷ số độ hấp thụ ở 361nm với độ hấp thụ ở 278nm là 1,70 đến 1,90; tỷ số độ hấp thụ ở 361nm với độ hấp thụ ở 550nm là 3,15 đến 3,45.

- Dụng cụ, hoá chất:

- + Máy quang phổ UV-VIS.
- + Bình định mức dung tích 10, 25, 50, 100ml.
- + Các pipet chính xác.
- + Cốc có mỏ.
- + Dung dịch tiêm B₁₂: 200, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$.

- Tiến hành:

Pha loãng dung dịch tiêm vitamin B₁₂ để có nồng độ khoảng 0,0025% (25 $\mu\text{g/ml}$). Quét phổ hấp thụ của dung dịch ở các bước sóng từ 200nm đến 650nm, dùng cuvet thạch anh có bề dày 1cm, mẫu trắng là nước cất.

- Đánh giá kết quả:

- + Tìm các cực đại hấp thụ. Đối chiếu với lý thuyết để kết luận.
- + Có thể làm song song một phép đo với dung dịch vitamin B₁₂ chuẩn (0,0025%) ta được phổ chuẩn. Khi đó hai phổ phải có cùng hình dáng và các cực đại ở các bước sóng trùng nhau.

3.3.3. Một số điều kiện khi áp dụng

– Vùng bức xạ sử dụng: Dùng chùm tia sáng đơn sắc (ứng với $\lambda_{\max}$ trên quang phổ là tốt nhất vì khi đó là cực đại hấp thụ $D_{\max}$, phép đo nhạy mắc sai số đo nhỏ hơn so với ở các bước sóng khác.

– Vùng đo mật độ quang: Đo D từ 0,20 – 0,80; tốt nhất $D = 0,43$.

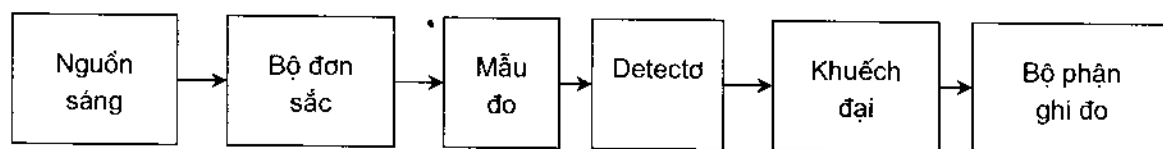
– Vùng nồng độ tuân theo định luật Lambert – Beer.

– Chọn các điều kiện làm việc khác: pH môi trường, loại chất trở ngại, cho phản ứng phụ,... (Ví dụ, ampicilin hấp thụ rất yếu ở vùng UV, nhưng nếu cho phản ứng thuỷ phân sau đó tác dụng với Cu^{2+} sẽ được sản phẩm hấp thụ mạnh ở 320nm).

Hiện nay với kỹ thuật mới hiện đại hơn, vùng đo tối ưu của mật độ quang được mở rộng hơn và thường ghi trong catalog của máy của từng nhà sản xuất.

3.4. Các bộ phận cơ bản của máy đo quang phổ UV-VIS

Các máy có nhiều loại và cấu tạo khác nhau, song đều có một sơ đồ chung:



Hình 6. Sơ đồ cấu tạo của máy quang phổ UV-VIS

3.4.1. Nguồn sáng

– Trong vùng VIS: dùng đèn Wolfram phát xạ liên tục từ 320 – 760nm, nếu dùng đèn halogen (có chứa hơi I_2 , Br_2 bên trong) có thể kéo dài thang sóng phát xạ tới 1000nm.

– Trong vùng UV: dùng đèn H_2 hay đèn D_2 (deuterium).

3.4.2. Bộ đơn sắc hoá

Nhiệm vụ chủ yếu là tạo ra tia đơn sắc.

– Nếu máy dùng kính lọc màu, kính tốt nhất cũng chỉ có thể đạt được mức độ đơn sắc $\pm 10\text{nm}$.

– Nếu máy dùng lăng kính hoặc cách tử có khả năng tạo ra ánh sáng gần như đơn sắc ($\pm 1\text{nm}$).

3.4.3. Mẫu đo

Dùng dung dịch đo bằng cuvet. Có nhiều loại cuvet chiều dày khác nhau. Nếu đo ở vùng UV phải dùng cuvet thạch anh, nếu đo ở vùng VIS có thể dùng cuvet thạch anh, thủy tinh, nhựa. Khi dùng cuvet lưu ý không được cầm tay hoặc làm trầy xước vào phần trong suốt của cuvet.

3.4.4. Detector

Là tên gọi chung của một loại thiết bị tiếp nhận thông tin dưới dạng một tín hiệu nào đó (như quang, nhiệt,...) rồi chuyển hoá thành một tín hiệu tương ứng giúp người sử dụng nhận ra.

Trong máy đo quang phổ UV-VIS, detector chủ yếu là tế bào quang điện để chuyển cường độ ánh sáng thành dòng quang điện. Tế bào quang điện có nhiều loại, có thể là tế bào chân không, bán dẫn hoặc ống nhân quang.

Tế bào quang điện có hiện tượng mệt mỏi, độ nhạy giảm khi phải làm việc liên tục nên lưu ý không được chiếu ánh sáng liên tục vào tế bào quang điện.

3.4.5. Bộ khuếch đại

Nhiệm vụ chính là khuếch đại tín hiệu cho mạnh lên trước khi đưa vào bộ phận ghi đo. Có thể dùng khuếch đại một chiều hoặc khuếch đại xoay chiều.

3.4.6. Bộ phận ghi đo

Tùy theo các hãng sản xuất, có thể là máy đọc, máy ghi, máy hiện số, kèm máy tính,... nhờ kỹ thuật điện tử phát triển, bộ phận này ngày càng được hoàn thiện.

3.5. Các cách xác định nồng độ dung dịch trong phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV-VIS

3.5.1. Phương pháp trực tiếp

– Đo mật độ quang của dung dịch cần xác định, từ công thức tính ra kết quả nồng độ C_X .

$$D = \epsilon_{\lambda} \cdot C_X \cdot l \Rightarrow C_X = \frac{D}{\epsilon_{\lambda}} \text{ mol/l (với } l = 1\text{cm)}$$

$$D = E^{1\%}_{1\text{cm}} \cdot C_X \cdot l \Rightarrow C_X = \frac{D}{E^{1\%}_{1\text{cm}}} \% \text{ (KL/TT) (với } l = 1\text{cm)}$$

Các giá trị ϵ_λ , $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ có thể có trong bảng tra cứu (hoặc tự xác định từ chất chuẩn gốc).

– Phương pháp chỉ cho kết quả tốt khi máy đã được chuẩn hoá (được kiểm tra kỹ về thang bước sóng và về độ hấp thụ).

Ví dụ: Định lượng vitamin B₁₂ trong dung dịch thuốc tiêm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ UV-VIS.

Chuẩn bị dung dịch thử từ mẫu chế phẩm như ở ví dụ phân định tính vitamin B₁₂ ở trên và đo mật độ quang của dung dịch này ở bước sóng 361nm.

Hàm lượng vitamin B₁₂ (mg/ml) được tính theo công thức:

$$\frac{D.n.10}{207}$$

Trong đó:

D: Giá trị mật độ quang đo được của dung dịch thử vitamin B₁₂ 207: độ hấp thụ riêng ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) của vitamin B₁₂ ở bước sóng 361nm.

n: Hệ số pha loãng của dung dịch cần xác định.

3.5.2. Phương pháp đường chuẩn

– Pha một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ biết trước C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ đem đo mật độ quang tương ứng D₁, D₂, D₃, D₄, D₅. Vẽ đồ thị D – C.

– Đo mật độ quang của dung dịch cần xác định C_X được D_X.

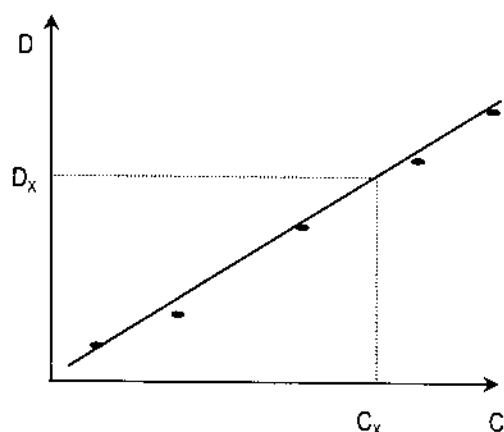
– Từ D_X dựa vào đường chuẩn xác định C_X.

– Yêu cầu:

+ Đường chuẩn phải thẳng.

+ C_X phải nằm trong khoảng C₁ → C₅ (tức khi đo D_X phải nằm trong khoảng D₁ → D₅).

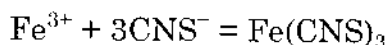
Ví dụ: Định lượng Fe³⁺ bằng phương pháp đo quang.



Hình 7. Đồ thị biểu diễn mối quan hệ của mật độ quang vào nồng độ

– Nguyên tắc:

Dựa vào phản ứng tạo phức màu đỏ giữa Fe^{3+} và CNS^- trong môi trường acid:



Phức này có khả năng hấp thụ ánh sáng ở vùng khả kiến, do đó có thể dùng phương pháp đo độ hấp thụ ở vùng khả kiến để định lượng Fe^{3+} .

– Dụng cụ và hoá chất:

+ Máy quang phổ UV–VIS (có thể dùng một máy đo quang kèm bộ kính lọc màu).

+ Pipet chính xác.

+ Bình định mức 25ml.

+ Cốc thuỷ tinh.

+ Ống so màu.

+ Dung dịch FeCl_3 0,01M (hoặc $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 0,01M).

+ Dung dịch KCNS 0,1M.

+ Dung dịch HCl 10%.

+ Dung dịch Fe^{3+} cần định lượng: dung dịch X (bình 7) để tiến hành theo phương pháp nhìn mắt, so sánh; dung dịch Y (bình 8) để tiến hành theo phương pháp đường chuẩn.

– Tiến hành:

+ Chuẩn bị dãy dung dịch theo bảng sau:

Bảng 4. Bố trí dung dịch chuẩn bị định lượng Fe^{3+}

<i>Thuốc thử</i> \ <i>Bình</i>	1	2	3	4	5	6	7	8
Dung dịch chuẩn Fe^{3+} 0,01M (ml)	0	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00		
Dung dịch thử $\text{Fe}^{3+} \approx 0,01\text{M}$ (ml)							0,60	0,40
Dung dịch KCNS 0,1M (ml)	10	10	10	10	10	10	10	10
Dung dịch HCl 10% (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1
Nước cất vừa đủ (ml)	25	25	25	25	25	25	25	25

+ Phương pháp so màu bằng mắt:

Lấy 6 ống so màu (ống giống nhau), đánh số từ 1 đến 6. Đổ dung dịch từ các bình 2, 3, 4, 5, 6 vào các ống từ 1 đến 5 tương ứng. Ống 6 đổ dung dịch cần xác định ở bình thứ 7 vào. So sánh cường độ màu của ống số 6 xem gần bằng (hoặc bằng) màu ống nào (hay ở giữa hai ống nào). Từ đó tính được nồng độ của dung dịch Fe^{3+} .

+ Phương pháp so sánh mật độ quang:

* Chọn bước sóng (hoặc chọn kính lọc màu):

Dựa trên nguyên tắc các cặp tia sáng phụ nhau, cho nên với dung dịch đo có màu đỏ (ứng với bước sóng 630 – 760nm) sẽ đo mật độ quang D ở màu vàng lục cam (ứng với bước sóng 450 – 570nm). Để chọn được bước sóng (hoặc kính lọc màu) thích hợp, ta làm như sau:

- Đối với máy quang phổ: Lấy bình 3, quét phổ hấp thụ của dung dịch này trong khoảng từ 450 – 670nm và xác định cực đại hấp thụ (λ_{max}). Đo độ hấp thụ của các dung dịch định lượng ở bước sóng này.

- Đối với máy so màu: Lấy hai bình (bình 2 và bình 3 chẳng hạn), đem đo mật độ quang của hai dung dịch này (mẫu trắng là dung dịch ở bình 1) ở các bước sóng từ 450nm – 570nm bằng các kính lọc. Ứng với mỗi kính lọc, với hai dung dịch ta được hai giá trị mật độ quang tương ứng D_1 và D_2 . Tính $\Delta D = D_2 - D_1$ ở các điểm đo đó. Kính lọc nào cho ΔD_{max} thì chính là kính lọc màu thích hợp dùng cho định lượng.

- * Đo mật độ quang của dung dịch từ bình 2 đến bình 6 ở bước sóng hoặc kính lọc đã xác định được ở trên với mẫu trắng là dung dịch ở bình 1.

- * Lập đường chuẩn biểu diễn mối quan hệ giữa mật độ quang D_1, D_2, D_3, D_4, D_5 của 5 bình 2, 3, 4, 5, 6 ở trên. Vẽ đồ thị sự phụ thuộc của D và nồng độ Fe^{3+} .

- * Đo mật độ quang D_y của dung dịch Y (bình số 8), dựa vào đường chuẩn đã vẽ suy ra nồng độ C_y của Fe^{3+} trong dung dịch Y.

3.5.3. Phương pháp so sánh

– Đo mật độ quang của dung dịch chuẩn đã biết nồng độ C_0 :

$$D_0 = \epsilon_{\lambda} \cdot C_0 \cdot l$$

– Đo mật độ quang của dung dịch C_x cần xác định (cùng điều kiện đo như với dung dịch chuẩn):

$$D_x = \varepsilon_{\lambda} \cdot C_x \cdot l$$

Từ đó tính được

$$C_x = C_0 \cdot \frac{D_x}{D_0}$$

– Yêu cầu:

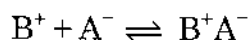
+ Dung dịch phải tuân theo định luật Lambert – Beer.

+ C_0 và C_x khác nhau không nhiều (thường $\pm 10\%$).

Ví dụ: Định lượng novocain bằng phương pháp chiết đo quang

– Nguyên tắc:

Novocain là một bazơ tổng hợp, có khả năng tạo cặp ion màu với một số chất acid (ví dụ màu azoin như da cam methyl, tropeolin OO,...). Trong môi trường dung dịch đệm acetat (có pH = 4 – 5) novocain ở dưới dạng cation (B^+) và acid màu như da cam methyl ở dưới dạng anion (A^-) tạo thành cặp ion B^+A^- có màu chiết được vào cloroform:



B^+ : dạng cation của ancaloid, base tổng hợp.

A^- : dạng anion của acid màu.

B^+A^- : có màu, chiết vào cloroform.

Để định lượng, lấy lớp cloroform đem đo mật độ quang ở bước sóng 420nm.

– Dụng cụ, hoá chất:

+ Buret.

+ Pipet chính xác các loại.

+ Bình gạn 50ml.

+ Bình định mức 25ml.

+ Cốc thuỷ tinh.

+ Phễu lọc, giấy lọc.

+ Ống nghiệm to.

+ Dung dịch novocain chuẩn 1mg/ml (0,1%).

+ Dung dịch tiêm novocain để định lượng (khi dùng phải tính pha loãng để có nồng độ gần chuẩn).

+ Dung dịch đệm acetat (pH = 4,20).

+ Dung dịch da cam methyl 0,1%.

+ Cloroform.

+ Máy quang phổ UV-VIS.

- *Tiến hành:*

Cho vào 5 bình gạn các chất theo bảng sau:

Bảng 5. Bố trí dung dịch chiết định lượng novocain

<i>Bình gạn</i> <i>Dung dịch</i>	S_0	S_1	S_2	X_1	X_2
Đệm acetat (ml)	3	3	3	3	3
Da cam methyl 0,1% (ml)	2	2	2	2	2
Novocain chuẩn 1mg/ml (ml)	0	0,5	0,5	0	0
Dung dịch novocain định lượng đã pha loãng (ml)	0	0	0	0,5	0,5
Nước cất	5	4,5	4,5	4,5	4,5

Chiết các bình với CHCl_3 bằng cách lắc nhẹ 5 phút (làm 3 lần, mỗi lần 6ml CHCl_3). Gộp dịch chiết CHCl_3 (3 lần) của từng bình gạn vào từng bình định mức 25ml tương ứng, thêm CHCl_3 vào từng bình cho đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc khô vào các ống nghiệm to tương ứng (sạch và khô).

Đo mật độ quang D của các dịch lọc (trong ống nghiệm) ở bước sóng 420nm với mẫu trắng là dịch chiết của bình S_0 .

Tính kết quả theo phương pháp so sánh:

$$C_x = C_{ch} \frac{\overline{D_x}}{\overline{D_s}}$$

Trong đó:

C_x : nồng độ dung dịch novocain cần định lượng (mg/ml).

C_{ch} : nồng độ dung dịch novocain chuẩn (mg/ml).

$\overline{D_x}$: mật độ quang trung bình của bình X_1 và X_2 .

$\overline{D_s}$: mật độ quang trung bình của bình S_1 và S_2 .

Chú ý: Khi đo mật độ quang của dịch chiết không được sử dụng cuvet nhựa.

3.5.4. Phương pháp thêm

– Đo mật độ quang của dung dịch C_x cần xác định được $D_x = \epsilon_{\lambda} \cdot C_x \cdot l$

– Thêm một lượng chất chuẩn C_t vào dung dịch cần xác định và đo mật độ quang $D_{x+t} = \epsilon_{\lambda} \cdot (C_x + C_t) \cdot l$.

Từ đó tính được $C_x = C_t \cdot \frac{D_x}{D_{x+t} - D_x}$

– Phương pháp đòi hỏi điều kiện như phương pháp so sánh (dung dịch tuân theo định luật Lambert – Beer và $C_t \approx \pm 10\% C_x$). Phương pháp này có ưu điểm loại trừ được một số yếu tố ảnh hưởng có cùng trong dung dịch (hoặc trong mẫu phân tích) mà ta chưa biết.

Ví dụ: Định lượng Berberin trong viên nén Berberin theo phương pháp thêm.

– *Nguyên tắc:*

Dung dịch Berberin trong nước có cực đại hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 263nm và 345nm, vì thế có thể áp dụng phương pháp đo quang để định lượng berberin. Nhưng vì trong viên nén, thành phần phức tạp, ngoài berberin còn có tá dược, do đó có thể dùng phương pháp thêm để khắc phục được một số yếu tố ảnh hưởng.

– *Dụng cụ, hoá chất:*

+ Máy quang phổ UV–VIS.

+ Cân phân tích.

+ Cối, chày sứ.

+ Bình định mức.

+ Cốc thuỷ tinh.

+ Giấy lọc băng xanh.

+ Phễu lọc.

+ Pipet chính xác.

+ Berberin hydroclorid dùng làm chuẩn.

+ Mẫu viên nén berberin.

– *Tiến hành:*

+ Pha dung dịch berberin 0,1% (dùng làm chuẩn): Cân chính xác trên cân phân tích một lượng cần thiết để pha (qua tính toán), hoà tan bằng nước nóng.

+ Cân chính xác 20 viên nén berberin cần định lượng. Tính khối lượng trung bình của một viên. Nghiền trong cối sứ thành bột mịn.

+ Cân chính xác m gam một lượng bột viên (tương ứng với khoảng 0,05g berberin) cho vào cốc có mỏ loại 100ml, tắm ướt bột bằng 10ml nước cất. Thêm 60ml nước nóng, khuấy kỹ. Để lắng nguội 15 phút, gạn chuyển dung dịch vào bình định mức 100,0ml. Phần cặn lại thêm tiếp nước nóng, khuấy kỹ, sau đó tập trung hết vào bình định mức 100,0ml trên, thêm nước đến vạch, lắc kỹ. Lọc qua giấy lọc khô, bỏ 20ml nước lọc đầu. Lấy chính xác 1,00ml dịch lọc cho vào bình định mức 100,0ml khác, thêm nước đến vạch. Lắc kỹ. Đo mật độ quang ở bước sóng 345nm với dung dịch so sánh là nước cất được D_x .

+ Song song tiến hành một thí nghiệm như trên nhưng sau khi cân chính xác m gam bột viên, cho thêm một lượng chính xác dung dịch chuẩn berberin 0,1% (10,00ml dung dịch berberin chuẩn 0,1% tương ứng 0,01g berberin) vào trước khi hoà tan, các giai đoạn sau tiến hành tương tự. Kết quả đo mật độ quang được D'_x .

– *Tính kết quả:*

Từ D_x , D'_x và lượng berberin chuẩn đã biết thêm vào, tính hàm lượng berberin trong một viên.

4. PHƯƠNG PHÁP ĐO THỂ

4.1. Khái niệm

– Phương pháp phân tích đo thể là phương pháp xác định nồng độ các ion của chất nghiên cứu dựa vào sự đo điện thế của dung dịch chứa các ion đó.

– Thực chất của phương pháp đo thể là đo suất điện động của một pin tạo bởi một điện cực có thể thay đổi phụ thuộc vào nồng độ ion của chất nghiên cứu trong dung dịch (gọi là điện cực chỉ thị) và một điện cực có thể không thay đổi (gọi là điện cực so sánh).

Cả hai điện cực được nhúng vào dung dịch phân tích. Khi đó ta có:

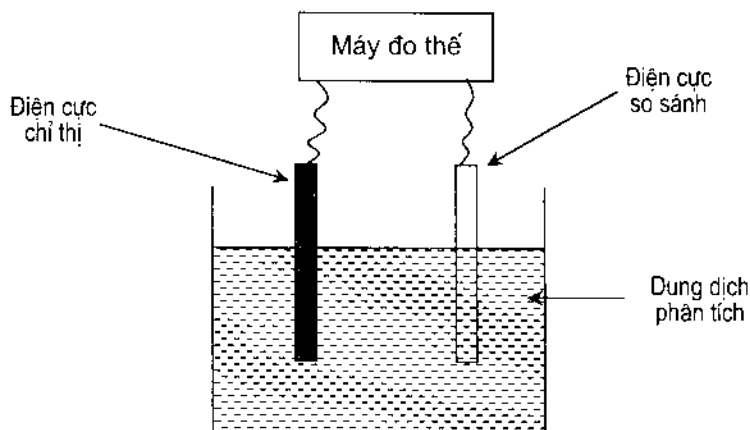
$$E_x = E_{ss} - E_{ct}$$

Trong đó:

E_x là điện thế của dung dịch thử.

E_{ss} là thế điện cực so sánh.

E_{ct} là thế điện cực chỉ thị.



Hình 8. Sơ đồ mạch đo thế

– Từ công thức tính điện thế của dung dịch thử có thể xác định được bất cứ ion nào nếu tìm được điện cực chỉ thị tương ứng cho ion đó.

– Để xác định nồng độ các ion của chất trong mẫu thử, tùy theo kỹ thuật thực hiện ta có 2 cách:

+ Đo thế trực tiếp của dung dịch chứa ion chất cần xác định bằng cách nhúng điện cực chỉ thị cho ion đó và điện cực so sánh vào dung dịch phân tích, từ đó theo phương trình Nernst tính ra kết quả (hoặc đo theo cách so sánh: Đo thế của dung dịch đã biết nồng độ và đo thế của dung dịch cần xác định, từ đó tính ra nồng độ của ion chất cần xác định). Trong phân tích, phương pháp này thường được áp dụng để đo pH (nồng độ của ion H^+).

+ Đo thế của dung dịch trong quá trình chuẩn độ, từ đó xác định được điểm tương đương để tính ra nồng độ của chất cần phân tích. Trong phân tích gọi là phương pháp chuẩn độ đo thế.

– Cách viết một mạch điện hoá:

Theo các nhà hoá học quy ước:

+ Catod (ở đó xảy ra quá trình khử, tức là xảy ra sự nhận e) và các thông tin liên quan viết ở bên trái.

+ Anod (ở đó xảy ra quá trình oxy hoá, tức là xảy ra sự cho e) và các thông tin liên quan viết ở bên phải.

+ Ranh giới giữa các pha ghi bằng vạch thẳng |.

+ Nếu mạch có cầu muối thì được ghi bằng 2 vạch thẳng song song ||.

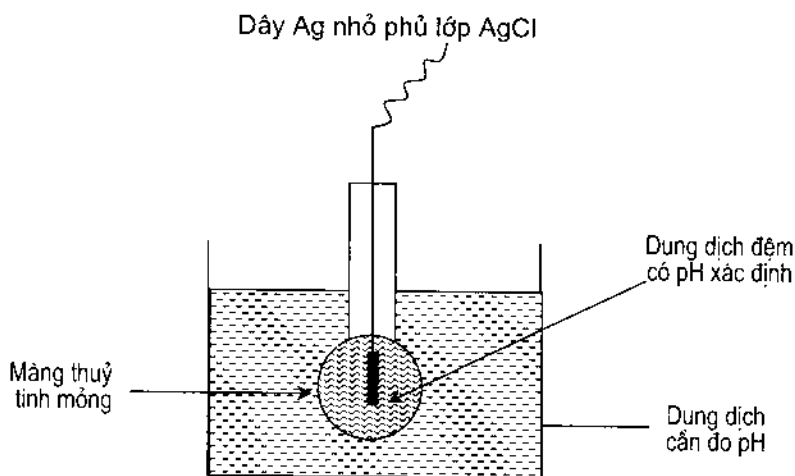
4.2. Một số điện cực thường dùng trong phương pháp đo thế

4.2.1. Các điện cực chỉ thị

Là các điện cực có điện thế phụ thuộc vào nồng độ của ion chất nghiên cứu.
Ví dụ:

– Điện cực thuỷ tinh (chỉ thị cho ion H^+ dùng để đo pH):

Là một bình cầu nhỏ bằng thuỷ tinh có thành mỏng, trong bình chứa dung dịch đệm có pH xác định (hoặc dung dịch HCl). Bên trong bình có cắm sợi dây Ag có phủ lớp AgCl ở bên ngoài. Toàn bộ được đặt trong một ống bảo vệ, hình 9.



Hình 9. Sơ đồ điện cực thuỷ tinh

Mạch đo:

$Ag|AgCl| \text{dung dịch đệm} | \text{màng thuỷ tinh} | \text{dung dịch cần đo} | H^+ |$

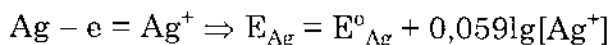
Khi nhúng điện cực vào dung dịch cần đo H^+ , các ion H^+ ở dung dịch đo sẽ trao đổi với ion H^+ ở trên bề mặt màng thuỷ tinh, xuất hiện thế điện cực.

$$E = E^{\circ}_{tt} + 0,059 \lg[H^+] = f([H^+]) \Rightarrow \text{chỉ thị cho ion } H^+$$

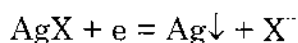
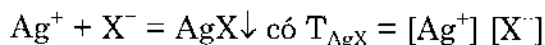
(E°_{tt} gọi là điện thế không đối xứng, chính là hiệu số điện thế giữa 2 phía của màng thuỷ tinh, nó là hằng số phụ thuộc nhiệt độ và bản chất của mỗi điện cực cụ thể).

– Điện cực kim loại nhúng vào dung dịch muối của nó:

+ Dây Ag nhúng vào dung dịch AgNO_3 : là cực chỉ thị cho ion Ag^+



+ Dây Ag nhúng vào dung dịch X^- : là cực chỉ thị cho X



$$E = E^\circ_{\text{Ag}} + 0,059 \lg \frac{T_{\text{AgX}}}{[\text{X}^-]} \Rightarrow \text{chỉ thị cho } \text{X}^-$$

4.2.2. Các điện cực so sánh

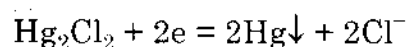
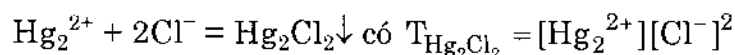
Là các điện cực có thể không đổi trong suốt quá trình đo. Ví dụ:

– Điện cực AgCl: là sợi dây Ag có phủ 1 lớp AgCl và đặt vào trong dung dịch KCl có nồng độ cố định (Ag/AgCl/KCl/màng xốp/dung dịch đo)

$$E = E^\circ_{\text{Ag}} + 0,059 \lg \frac{T_{\text{AgX}}}{[\text{Cl}^-]} = \text{const}$$

– Điện cực calomel: là sợi dây dẫn trơ cắm vào lớp Hg, Hg_2Cl_2 (calomel), KCl có nồng độ cố định.

(Dây dẫn trơ | Hg | Hg_2Cl_2 | KCl | màng xốp | dung dịch đo)



$$E = E^\circ_{\text{Hg}} + \frac{0,059}{2} \lg \frac{T_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2}}{[\text{Cl}^-]^2} = \text{const}$$

4.2.3. Các điện cực tổ hợp

Để cho gọn và thuận tiện cho người sử dụng, hiện nay các hãng sản xuất các điện cực tổ hợp là một điện cực kép gồm một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh:

– Thủy tinh – Calomel.

– Thủy tinh – Ag/AgCl.

– Kim loại quý, trơ – Calomel.

Các điện cực này thường có cấu tạo đồng trục, điện cực so sánh bao quanh điện cực chỉ thị.

4.3. Sử dụng máy đo thế để đo pH và chuẩn độ đo thế

4.3.1. Đo pH

- Dùng hệ điện cực: Điện cực chỉ là thuỷ tinh, điện cực so sánh là calomel.
- Máy đo thường có độ nhạy $\pm 0,05$ pH (hoặc $\pm 0,003$ V).
- Vận hành máy tùy theo sự chỉ dẫn của hãng sản xuất.
- Các bước đo:
 - + Thử sơ bộ xem dung dịch cần đo có pH khoảng bao nhiêu.
 - + Hiệu chuẩn máy bằng ít nhất hai dung dịch đệm (thường dùng dung dịch đệm có pH 4,00 và pH 7,00 đối với đo dung dịch thử ở vùng acid; và dung dịch đệm có pH 9,00 và pH 7,00 đối với đo dung dịch thử ở vùng kiềm).
 - + Đo pH của dung dịch cần thử.

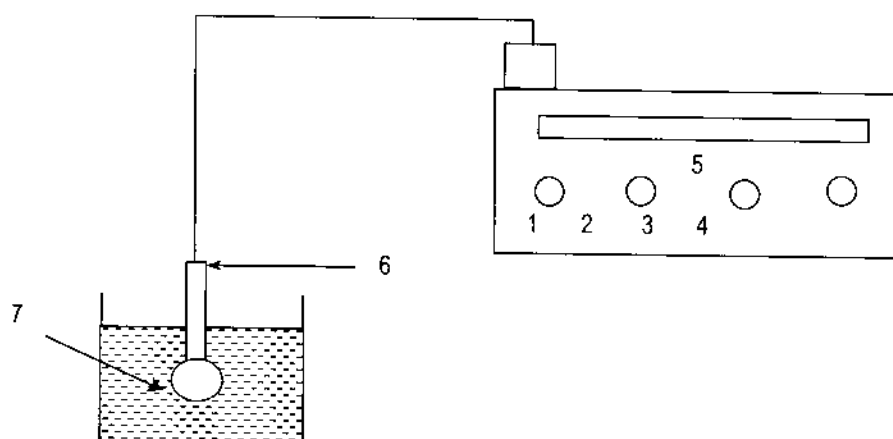
Lưu ý tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng $20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$.

Ví dụ: Đo pH của dung dịch bài tập.

- *Nguyên tắc:*

Sử dụng máy đo thế với điện cực chỉ thị là thuỷ tinh và điện cực so sánh là calomel (hay Ag/AgCl) hoặc điện cực tổ hợp.

Những núm điều chỉnh chính của máy đo thế (pH metre):



Hình 10. Sơ đồ máy đo pH Jenway (Anh)

- 1: Núm chọn chức năng: off, mV, pH; 2: Điều chỉnh nhiệt độ;
3: Điều chỉnh độ dốc (slope); 4: Điều chỉnh thế bất đối xứng (Buffer hoặc AP);
5: Màn hình hiện số; 6: Điện cực tổ hợp; 7: Dung dịch cần đo.

– *Dụng cụ, hoá chất:*

+ Máy đo pH.

+ Điện cực thuỷ tinh, calomel (hoặc điện cực tổ hợp).

+ Cốc để dung dịch.

+ Dung dịch đệm chuẩn pH = 7,00; pH = 4,00, pH = 9,00.

+ Chỉ thị màu vạn năng.

– *Tiến hành:*

+ Điều chỉnh núm 1 để máy ở chế độ đo pH, điều chỉnh núm 2 đến nhiệt độ phù hợp.

+ Dùng giấy chỉ thị thử dung dịch cần đo xem pH ở khoảng nào. Giả sử dung dịch bài tập có pH khoảng 5.

+ Chuẩn máy: chọn hai dung dịch đệm chuẩn pH = 7,00; pH = 4,00. Rửa điện cực bằng nước cất, thấm khô điện cực bằng khăn mềm. Cho điện cực ngập vào dung dịch đệm 7,00. Điều chỉnh núm 4 về đúng giá trị 7,00. Rửa điện cực bằng nước cất, thấm khô điện cực bằng khăn mềm. Cho điện cực ngập vào dung dịch đệm 4,00. Điều chỉnh núm 3 về đúng giá trị 4,00.

+ Thay dung dịch đệm bằng dung dịch cần đo, màn hình sẽ chỉ trị số pH của dung dịch.

Chú ý: Mỗi khi thay dung dịch đo, phải dùng bình phun nước cất rửa sạch cực, lau khô bằng giấy sạch mịn và mềm.

4.3.2. Chuẩn độ đo thế

– Để chuẩn độ đo thế ta cho vào dung dịch cần chuẩn độ một điện cực chỉ thị thích hợp và một điện cực so sánh. Tiến hành chuẩn độ và ghi sự biến đổi của điện thế theo thể tích dung dịch chuẩn cho vào.

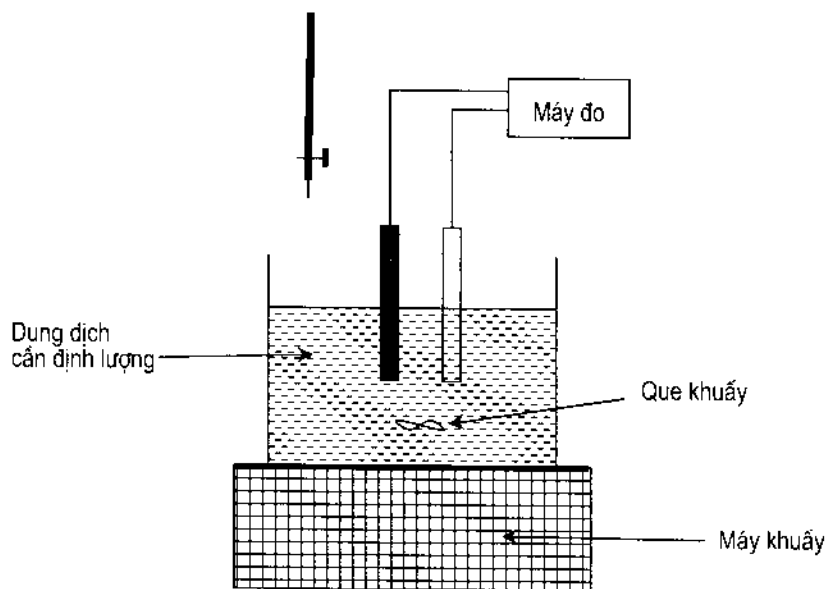
– Bố trí dụng cụ như hình 11.

– Cách xác định điểm tương đương:

Dùng phương pháp đồ thị, thiết lập quan hệ giữa điện thế E và thể tích dung dịch chuẩn thêm vào.

Điểm tương đương (V_{td}) là ứng với điểm uốn của đường biểu diễn. Từ V_{td} tính ra kết quả.

– Phương pháp có ưu điểm: nhạy, khách quan, có thể chuẩn độ với những dung dịch đục, có màu. Có khả năng tự động hoá.

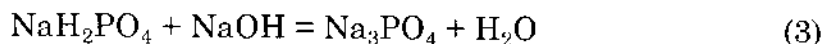
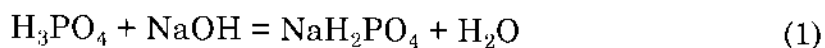


Hình 11. Bố trí thí nghiệm định lượng bằng phương pháp chuẩn độ đo thế

Ví dụ: Chuẩn độ H_3PO_4 bằng dung dịch NaOH theo phương pháp đo thế.

Cặp điện cực hay dùng là: Thuỷ tinh + calomel (hay Ag/AgCl) hoặc điện cực tổ hợp thuỷ tinh – calomel, Thuỷ tinh – Ag/AgCl .

Phương trình của phản ứng định lượng là:



Như vậy trong quá trình định lượng, pH của dung dịch liên tục thay đổi và tại các điểm tương đương (1), (2) có sự thay đổi đột ngột của pH (điểm tương đương (3) không rõ). Nếu ta ghi chép quan hệ giữa thể tích dung dịch (Vml) chuẩn NaOH cho vào dung dịch cần định lượng H_3PO_4 với điện thế E của dung dịch (hoặc pH) sau mỗi lần cho NaOH , rồi vẽ đồ thị ta sẽ được đường cong chuẩn độ. Từ đồ thị hoặc bảng theo dõi ta xác định được thể tích dung dịch chuẩn NaOH ở điểm tương đương. Từ đó tính được nồng độ của dung dịch H_3PO_4 .

– *Dụng cụ, hoá chất:*

- + Máy đo thế.
- + Máy khuấy từ.
- + Que khuấy.
- + Buret.
- + Cốc đựng dung dịch.
- + Điện cực: thuỷ tinh + calomel (hay cực tổng hợp).

+ Dung dịch NaOH 0,1N.

+ Dung dịch cân định lượng $\text{H}_3\text{PO}_4 \approx 0,1\text{M}$.

– *Tiến hành:*

+ Lấy chính xác 10,00ml H_3PO_4 cân định lượng cho vào cốc 250ml đặt trên máy khuấy từ. Thêm que khuấy lắp điện cực và nối với máy (chú ý để điện cực cách đáy cốc khoảng 2cm để tránh que khuấy chạm vào điện cực). Thêm nước cất cho ngập điện cực. Đổ dung dịch NaOH 0,1N lên trên buret.

+ Bật máy đo ở chế độ đo thế E (mV) hoặc đo pH. Ghi giá trị thế E ban đầu.

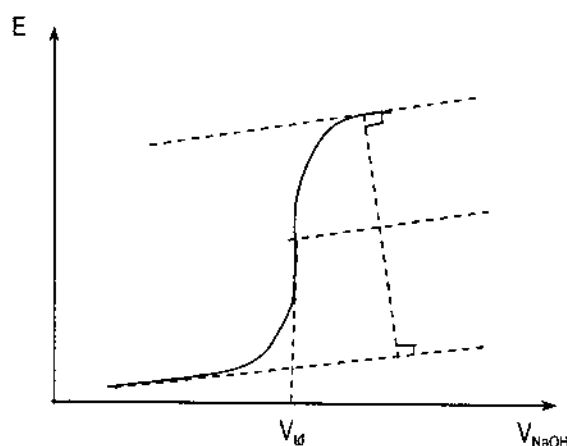
+ Bật máy khuấy từ, nhỏ NaOH 0,1N từ buret xuống, sau mỗi lần thêm 1ml NaOH 0,1N ($\Delta V = 1\text{ml}$) tắt máy khuấy, ghi thế E. Theo dõi cho đến khi thấy có hai bước nhảy thế, ghi nhớ thể tích NaOH 0,1N tương ứng với lần cận 2 điểm này (điểm tương đương).

+ Lập lại động tác chuẩn độ trên, nhưng ở lần cận 2 điểm tương đương thăm dò qua chuẩn độ trên, ta cho NaOH 0,1N (với $\Delta V = 0,05\text{ml}$), lại tắt máy khuấy và ghi giá trị thế của dung dịch. Kết quả ghi vào bảng như sau:

$V_{\text{NaOH}} \text{ (ml)}$	$E \text{ (mV)}$

– *Tính toán:*

Vẽ đường cong chuẩn độ $E = f(V_{\text{NaOH}})$. Đường cong có dạng:



Điểm uốn của đường cong ứng với điểm kết thúc (điểm tương đương) được xác định bằng phương pháp hình học.

Từ thể tích V_{ld} tính nồng độ C_M của H_3PO_4 .

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Hãy nêu các phương pháp tách các chất bằng phương pháp-chiết.
2. Trình bày nguyên tắc, đại lượng đặc trưng, cách tiến hành của sắc ký lớp mỏng.
3. Nêu nguyên tắc, cách tiến hành của sắc ký trao đổi ion.
4. Điền từ hoặc cụm từ còn thiếu vào chỗ trống trong câu sau:
 - a) Phương pháp lọc là phương pháp dùng để tách..... khỏi pha rắn.
 - b) Phương pháp ly tâm là phương pháp dùng..... để làm lắng kết tủa xuống.
 - c) Phương pháp chiết là phương pháp dùng..... để tách lấy một chất (hay một nhóm chất) từ một hỗn hợp nghiên cứu trong dung dịch.
5. Trình bày định luật cơ bản về sự hấp thụ ánh sáng: định luật Lambert-Beer.
6. Trình bày khái niệm và ứng dụng của quang phổ hấp thụ UV-VIS.
7. Các bộ phận chính của máy đo quang phổ UV-VIS.
8. Hãy nêu các kỹ thuật xác định nồng độ dung dịch trong phương pháp đo quang.
9. Trình bày khái niệm điện cực chỉ thị. Hãy nêu một số điện cực chỉ thị thường dùng.
10. Trình bày khái niệm điện cực so sánh. Hãy nêu một số điện cực so sánh thường dùng.
11. Hãy trình bày cách đo pH bằng máy đo thế.
12. Nêu nguyên tắc của chuẩn độ đo thế và cách xác định điểm tương đương.
13. Tính thế oxy hoá khử của hệ gồm cực Ag nhúng trong dung dịch AgNO_3 0,1mol/l; 0,001mol/l. Biết $E^\circ = 0,80\text{V}$.
14. Tính thế oxy hoá khử của hệ gồm cực Ag phủ lớp AgCl nhúng trong dung dịch KCl có nồng độ 1mol/l. Biết $E^\circ = 0,80\text{V}$ và $T_{\text{AgCl}} = 1,6 \cdot 10^{-10}$.
15. Pha loãng 100 lần dung dịch cloramphenicol rồi đem đo mật độ quang ở bước sóng 279nm với bề dày cuvet là 1cm được 0,820. Tính nồng độ % của dung dịch cloramphenicol đem định lượng. Biết $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ của cloramphenicol ở bước sóng 279nm là 297.

16. Lấy chính xác 10,00ml dung dịch tiêm vitamin B₁₂ pha cho đủ thành 100,0ml. Đo mật độ quang của dung dịch thu được ở bước sóng 361nm, bề dày cuvet là 0,5cm được 0,470. Tính số $\mu\text{g/ml}$ của dung dịch vitamin B₁₂ đem định lượng. Biết $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ của vitamin B₁₂ ở bước sóng 361nm là 207.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 17 đến 19 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

17. Theo quy ước:

a) Vùng tử ngoại nằm trong khoảng:

- A. 185 – 400nm B. 220 – 350nm
C. 200 – 400nm D. Lớn hơn 200nm

b) Vùng khả kiến nằm trong khoảng:

- A. 350 – 600nm B. 400 – 760nm
C. 300 – 800nm D. Lớn hơn 400nm

18. Trong vùng quang phổ khả kiến:

a) Tia màu đỏ ứng với một chùm tia có bước sóng:

- A. 570 – 500nm B. 760 – 630nm
C. 500 – 450nm D. 450 – 430nm

b) Tia màu tím ứng với một chùm tia có bước sóng:

- A. 600 – 570nm B. 760 – 630nm
C. 430 – 400nm D. 450 – 430nm

c) Tia màu chàm ứng với một chùm tia có bước sóng:

- A. 600 – 570nm B. 760 – 630nm
C. 430 – 400nm D. 450 – 430nm

19. Trong vùng quang phổ khả kiến:

a) Màu đỏ phụ với màu:

- A. Xanh lục B. Da cam C. Lục xanh D. Vàng

b) Màu lục vàng phụ với màu:

- A. Đỏ B. Da cam C. Tím D. Vàng

c) Màu vàng phụ với màu:

- A. Đỏ B. Xanh lam C. Tím D. Đỏ tía

Bài 6

XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU

MỤC TIÊU

- Trình bày được phương pháp xác định giới hạn tạp chất trong thuốc.
- Trình bày được cách xác định giới hạn tạp chất, tỷ lệ vụn nát trong dược liệu.

1. THỬ GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC

1.1. Mục đích

Xác định giới hạn tạp chất trong thuốc thực chất là thử độ tinh khiết của thuốc nhằm xác định phẩm chất của thuốc. Nếu thuốc càng tinh khiết thì hiệu quả tác dụng càng cao, ổn định.

Các tạp chất trong thuốc mặc dù rất nhỏ nhưng nó có thể:

- Gây tác hại cho sức khỏe (ví dụ tạp chất bari tan, arsen, chì,...).
- Gây hiện tượng tương kỵ hoá học, ảnh hưởng đến phẩm chất hay độ bền vững của thuốc.
- Một số tạp chất có thể không có tác dụng có hại nhưng lại là những chất xúc tác đẩy nhanh quá trình phân huỷ thuốc (Ví dụ: các vết kim loại, độ ẩm,...).
- Một số tạp chất không gây hại, không gây tương kỵ hoá học, không làm phân huỷ thuốc, không gây phản ứng hoá học,... nhưng nó biểu thị cho mức độ sạch (hay mức độ tinh chế chưa đủ) của thuốc.
- Khi biết mức độ tinh khiết của thuốc (đặc biệt trong trường hợp không đạt yêu cầu) cho phép xem xét các nguồn gốc gây ra các tạp chất này và tìm biện pháp khắc phục. Các nguyên nhân có thể là:
 - Nguyên liệu, phụ liệu hoặc bán thành phẩm dùng để sản xuất thuốc chưa đủ độ tinh khiết.
 - Quy trình sản xuất đã quy định không được thực hiện nghiêm chỉnh.

- Ảnh hưởng của các dụng cụ sử dụng.
- Phương pháp sản xuất chưa tốt.
- Trong quá trình bảo quản, các phản ứng phụ do nhiều yếu tố như: môi trường, vấn đề vệ sinh, chất bảo quản,... làm phát sinh các tạp chất.
- Do dụng ý gian lận của người sản xuất,...

Bởi vậy, TCVN (Dược điển) và TC thường quy định cho phép mỗi thuốc chỉ được có những lượng rất nhỏ các tạp chất nhất định để bảo đảm cho thuốc đó có độ sạch nhất định, tức là thuốc có chất lượng, đạt hiệu quả tác dụng cao nhất.

1.2. Phương pháp xác định giới hạn tạp chất trong thuốc

1.2.1. Phương pháp xác định

Tạp chất trong thuốc có thể là chất vô cơ, chất hữu cơ, chất phân huỷ hoặc tạp chất liên quan.

Xác định giới hạn tạp chất trong thuốc tức là xác định xem các tạp chất có vượt quá giới hạn cho phép hay không, các phản ứng thử tạp chất có tính chất bán định lượng và được thực hiện bằng phương pháp so sánh.

Các tạp chất chất hữu cơ, chất phân huỷ hoặc tạp chất liên quan thường được xác định bằng phương pháp sắc ký. Tạp chất vô cơ được xác định bằng phản ứng hoá học. Trong nội dung của bài này, chúng tôi chỉ trình bày cách xác định tạp chất vô cơ trong thuốc. Quá trình xác định được tiến hành như sau:

- Lấy hai bình (thường là 2 ống nghiệm) để thực hiện phản ứng.

Bình 1: Lấy một thể tích dung dịch thuốc đem thử.

Bình 2: Lấy một thể tích dung dịch mẫu. (Dung dịch mẫu là dung dịch có chứa tạp chất cần thử với lượng cho phép).

- Sau đó tiến hành song song phản ứng thử tạp chất với cùng một thuốc thử. So sánh kết quả phản ứng ở hai bình (thường là so màu hoặc so độ đục) từ đó xác định được giới hạn tạp chất cần thử có trong mẫu thuốc đem thử.

- Trong quá trình thực hành cần phải theo các quy định sau:

- + Nước và những hoá chất, thuốc thử sử dụng không được có tạp chất đang cần thử.

- + Khi pha dung dịch mẫu phải sử dụng cân phân tích và dụng cụ đo thể tích chính xác.

- + Hai bình phản ứng để so sánh phải giống nhau: bằng thuỷ tinh không màu, có đường kính bằng nhau, độ dày như nhau,...

+ Khi so sánh, quan sát độ đục thì nhìn từ trên xuống, quan sát màu thì nhìn ngang trên nền trắng.

+ Phải cho các thuốc thử vào hai bình phản ứng giống nhau về: thời gian, số lượng và thể tích cuối.

– Khi phân tích, nếu phát hiện được một tạp chất lạ thì phải ghi lại và báo cáo.

1.2.2. Pha các dung dịch mẫu

Để pha dung dịch mẫu của một tạp nào đó, chỉ cần cân lượng chính xác chất tinh khiết của tạp đó (chất gốc) pha vào một thể tích xác định theo tính toán ta sẽ được mẫu tạp chuẩn có nồng độ xác định thường biểu thị theo mg/ml; % hoặc phần triệu (như đã trình bày ở mục 2, bài 4).

Ví dụ: Pha dung dịch mẫu Cl^- như sau:

– Dung dịch A: cân chính xác 0,8238g NaCl tinh khiết hoà tan trong nước và thêm nước cho đủ 1 lít (dùng bình định mức). Được dung dịch có chứa:

$$\frac{35,5 \times 0,8238}{58,5 \times 1000} = 0,0005 \text{ g Cl}^-/\text{ml}$$

– Dung dịch B (dung dịch mẫu chuẩn đem thử): lấy chính xác 1,00ml dung dịch A pha loãng bằng nước cho đủ 100,0ml. Dung dịch này có chứa $\frac{0,0005}{100} = 0,000005 \text{ g Cl}^-/\text{ml}$ (tương đương $0,005 \text{ mg Cl}^-/\text{ml}$ hay dung dịch 0,0005% hoặc 5 phần triệu).

1.2.3. Pha dung dịch để thử

Để pha, giả thiết mẫu đem kiểm tra có chứa một lượng tạp chất cho phép tối đa, từ đó tính hệ số pha loãng thích hợp, sau đó tiến hành pha theo tính toán này.

Ví dụ: Pha dung dịch để thử tạp Cl^- trong paracetamol (theo tiêu chuẩn Cl^- không được quá 0,01%):

Vì dung dịch mẫu Cl^- khi đem thử là dung dịch có chứa 0,0005% (hay 5 phần triệu). Do đó hệ số pha loãng dung dịch thử sẽ là $\frac{0,01}{0,0005} = 20 \Rightarrow$ Ta có

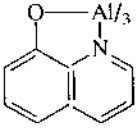
cách pha như sau: Cân 1,000g paracetamol hoà tan trong nước cho đủ 20,00ml lọc. Lấy 10,00ml dịch lọc đem thử và so sánh với 10,00ml dung dịch mẫu chuẩn Cl^- 0,0005%.

Trong Dược điển hoặc TC có ghi rõ cách pha dung dịch để thử là dựa trên cơ sở cách tính này, người làm kiểm nghiệm làm theo chỉ dẫn không cần phải tính toán.

1.3. Một số thuốc thử trong các phản ứng hoá học để xác định giới hạn tạp chất

Một số thuốc thử để xác định giới hạn tạp chất thu được sản phẩm phản ứng và hiện tượng quan sát để phát hiện được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Kết quả xác định giới hạn của một số tạp chất

Ion cần thử (tạp chất)	Thuốc thử	Sản phẩm	Hiện tượng quan sát
Cl^-	AgNO_3	$\text{AgCl} \downarrow$	Tủa trắng
SO_4^{2-}	BaCl_2	$\text{BaSO}_4 \downarrow$	Tủa trắng
NH_4^+	Nessler	$\left[\begin{array}{c} \text{Hg} \\ \text{O} \diagup \quad \diagdown \text{NH}_2 \\ \text{Hg} \end{array} \right] \text{I}$	Màu vàng (nếu nhiều có màu nâu đỏ)
Ca^{2+}	$(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \downarrow$	Tủa trắng
Arsen	$\text{Zn} + \text{HCl}$	$\text{AsH}_3 \uparrow$	Giấy tẩm HgCl_2 chuyển từ vàng sang nâu
Kim loại nặng	– Na_2S (H_2S) – Thioacetamid	$\text{PbS} \downarrow$	Đen hoặc nâu
Sắt	Acid mercapto-acetic	Feri mercaptoacetat	Màu hồng
	Acid sunfosalicilic	Ferisulfisalicylat	Đỏ nâu hay vàng
Nhôm	8-hydroxyquinolin (ở pH ~6)	 (oxiquinolát nhôm)	Màu vàng rơm (tan trong CHCl_3)
Magnesi	8-hydroxyquinolin (ở pH ~10)	Oxiquinolát Mg	Màu vàng (tan trong CHCl_3)
Phosphat	Sulphomolybdic	$(\text{NH}_4)_3\text{H}_4[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$	Màu vàng
Kẽm	$\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	$\text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$	Tủa trắng

1.4. Một số ví dụ áp dụng

1.4.1. Thử giới hạn tạp chất amoni

Có 2 phương pháp thử giới hạn tạp chất amoni, chúng tôi chỉ trình bày phương pháp A là phương pháp hay được sử dụng trong phép thử này.

Tiến hành đồng thời phản ứng ở hai bình như sau:

– Bình 1: Lấy chính xác 10ml dung dịch ion amoni (NH_4^+) mẫu có nồng độ 1 phần triệu, thêm nước thành 15ml, thêm tiếp 0,3ml thuốc thử Nessler, lắc đều rồi để yên 5 phút.

– Bình 2: Hoà tan một lượng chế phẩm cần thử theo chỉ dẫn trong tiêu chuẩn (chuyên luận) với nước (kiểm hoá nếu cần bằng dung dịch NaOH 2M), thêm nước thành 15ml, thêm tiếp 0,3ml thuốc thử Nessler, lắc đều rồi để yên 5 phút.

So sánh màu của 2 bình: *Màu của bình 2 không được đậm hơn màu của bình 1.*

1.4.2. Thử giới hạn tạp chất arsen

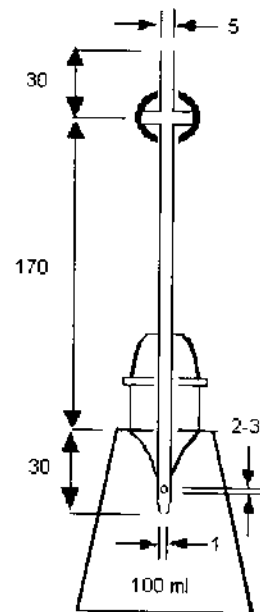
Có 2 phương pháp thử giới hạn tạp chất arsen, chúng tôi chỉ trình bày phương pháp A là phương pháp hay được sử dụng trong phép thử này.

– Bộ dụng cụ thử:

Gồm một bình nón nút mài cỡ 100ml xuyên qua nút có ống thuỷ tinh đường kính trong 5mm (phần dưới của ống được kéo bé lại để có đường kính trong là 1mm), dài 200mm.

Cách đầu ống 15mm, có một lỗ trên thành ống (với đường kính 2 – 3mm), khi gắn ống vào nút thì lỗ này phải ở cách mặt dưới của nút ít nhất 3mm. Đầu trên của ống có một đĩa tròn phẳng vuông góc với trục ống.

Một ống thuỷ tinh thứ hai dài 30mm (cùng đường kính và cũng có đĩa tròn phẳng tương tự).



Hình 12. Dụng cụ thử Arsen

– Cho vào đầu trên của ống thủy tinh thứ nhất khoảng 60mg bông tẩm chì acetat (TT), đặt một miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT) hình tròn hay vuông có kích thước phủ kín lỗ tròn giữa 2 ống thủy tinh, giữ chặt 2 ống thủy tinh với nhau bằng 2 dây lò xo.

– Cho vào bình nón một lượng chế phẩm cần thử theo chỉ dẫn của chuyên luận, hoà tan hoặc pha loãng với nước thành 25ml, thêm 15ml acid hydroclorid (TT), 0,1ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT), 5ml dung dịch kali iodid 20% (TT). Để yên 15 phút, thêm 5g kẽm hạt không có As (TT). Đậy ngay bình nón bằng nút đã lắp sẵn giấy thử ở trên. Ngâm bình nón trong nước ở nhiệt độ sao cho khí giải phóng ra đều đặn.

Song song tiến hành một mẫu so sánh trong cùng điều kiện (dùng 1ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu, thêm nước thành 25ml thay cho chế phẩm cần thử).

Sau ít nhất 2 giờ, lấy các miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid ra so sánh các vết màu. *Vết màu của miếng giấy trên bình chứa chế phẩm cần thử nhạt hơn màu miếng giấy trên bình chứa dung dịch arsen mẫu.*

Chú ý: Dung dịch thiếc (II) clorid AsT là dung dịch thiếc (II) clorid dùng cho phép thử Arsen.

1.4.3. Thử giới hạn tạp chất clorid

– Bình 1: 15ml dung dịch chế phẩm cần thử (đã pha theo chỉ dẫn), thêm 1ml dung dịch acid nitric 2M và 1ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT).

– Bình 2: 10ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu và 5ml nước. Thêm 1ml dung dịch acid nitric 2M và 1ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT).

Để yên 5 phút, tránh ánh sáng. So độ đục của 2 bình: *Độ đục bình 1 phải không bằng độ đục bình 2.*

1.4.4. Thử giới hạn tạp chất kim loại nặng

Có 5 phương pháp thử giới hạn tạp chất kim loại nặng, chúng tôi chỉ trình bày phương pháp 1 là phương pháp hay được sử dụng trong phép thử này.

Tiến hành đồng thời phản ứng ở hai bình như sau:

– Bình 1: Lấy 12ml dung dịch chế phẩm cần thử (được pha chế theo chỉ dẫn của chuyên luận), thêm 2ml dung dịch đệm acetat pH = 3,5, lắc đều, thêm 1 – 2ml dung dịch thioacetamid (TT), lắc ngay rồi để yên 2 phút.

– Bình 2: Lấy 10ml dung dịch ion chì mẫu 1 phần triệu (hoặc 2 phần triệu tùy theo chỉ dẫn), thêm 2ml dung dịch chế phẩm cần thử, thêm 2ml dung dịch đệm acetat pH = 3,5; lắc đều, thêm 1 – 2ml dung dịch thioacetamid (TT), lắc ngay rồi để yên 2 phút.

So sánh màu của 2 bình: *Màu của bình 1 không được đậm hơn màu của bình 2.*

1.4.5. Thử giới hạn tạp chất sắt

– Bình 1: Lấy 10ml dung dịch chế phẩm cần thử (được pha theo chỉ dẫn của chuyên luận), thêm 2ml dung dịch acid citric 20% (TT), thêm 0,1ml acid mecaptoacetic (TT), lắc đều, kiểm hoá bằng dung dịch amoniac 10M (TT), thêm nước thành 20ml.

– Bình 2: Lấy 10ml dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu, sau đó thêm 2ml dung dịch acid citric 20% (TT), thêm 0,1ml acid mecaptoacetic (TT), lắc đều, kiểm hoá bằng dung dịch amoniac 10M (TT), thêm nước thành 20ml.

Sau 5 phút, so sánh màu hồng của 2 bình: *Màu của bình 1 không được đậm hơn màu của bình 2.*

1.4.6. Thử giới hạn tạp chất sulfat

– Bình 1: 1ml dung dịch bari clorid 25% (TT), thêm 1,5ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu, lắc đều, để yên 1 phút. Thêm tiếp 15ml dung dịch chế phẩm cần thử (đã pha theo chỉ dẫn), thêm 0,5ml acid acetic 5M (TT).

– Bình 2: 1ml dung dịch bari clorid 25%, thêm 1,5ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu, lắc để yên 1 phút. Thêm tiếp 15ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu, thêm 0,5ml acid acetic 5M (TT).

Để yên 5 phút. So độ đục của 2 bình: *Độ đục bình 1 phải không bằng độ đục bình 2.*

1.4.7. Thử giới hạn tạp chất phosphat

– Bình 1: Lấy 100ml dung dịch chế phẩm cần thử (đã pha theo chỉ dẫn), thêm 4ml thuốc thử sulphomolybdic. Lắc, thêm 0,1ml dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu.

– Bình 2: Lấy 2ml dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu, thêm 98ml nước cất. Thêm 4ml thuốc thử sulphomolybdic. Lắc, thêm 0,1ml dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu.

Sau 10 phút, lấy mỗi bình 10ml dung dịch, đem so sánh màu vàng: *Màu của bình 1 không được đậm hơn màu của bình 2.*

2. XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT LẤN TRONG DƯỢC LIỆU

Tạp chất lẫn trong dược liệu bao gồm tất cả các chất ngoài quy định của dược liệu đó: đất, đá, rơm rạ, cây cỏ khác, các bộ phận khác của cây không quy định làm dược liệu, xác súc vật, xác côn trùng,...

2.1. Cách xác định

– Cân một lượng mẫu theo chỉ dẫn của chuyên luận, dàn mỏng mẫu trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp (khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp và dược liệu) và tách riêng tạp ra khỏi dược liệu.

– Cân khối lượng tạp. Từ đó tính ra % tạp lẫn trong dược liệu:

$$\% \text{ tạp} = \frac{m}{a} \times 100$$

Trong đó: m: khối lượng tạp (g).

a: khối lượng mẫu ban đầu (g).

2.2. Chú ý

– Trong một số trường hợp, có một số tạp bằng cách quan sát như trên chưa phân biệt được, khi đó có thể phải làm các phản ứng hoá học, dùng kính hiển vi, dùng các phương pháp vật lý, hoá lý khác,... để phát hiện ra tạp chất vì vậy khi tính phải tính cả các tạp chất loại này.

– Khối lượng a gam mẫu ban đầu thường lấy như sau:

+ Với dược liệu dạng hạt và quả rất nhỏ khoảng 10g.

+ Hạt và quả nhỏ vừa khoảng 20g.

+ Dược liệu thái thành lát khoảng 50g.

3. CÁCH XÁC ĐỊNH TỶ LỆ VỤN NÁT CỦA DƯỢC LIỆU

Cân a gam (thường từ 100 – 200g) dược liệu đã được loại bỏ tạp chất, rây qua rây có số theo quy định của chuyên luận. Cân toàn bộ phần đã lọt qua rây (giả sử được m gam). Từ đó tính tỷ lệ % vụn nát của dược liệu:

$$\% \text{ vụn nát} = \frac{m}{a} \times 100$$

Chú ý: Đối với các dược liệu ở dạng lát mỏng, khi rây chỉ lắc nhẹ, tránh làm nát vụn thêm dược liệu. Phân bột vụn và bụi không phân biệt được bằng mắt, thường được tính vào phần tạp chất.

4. XÁC ĐỊNH TRO TOÀN PHẦN CỦA DƯỢC LIỆU

Cân chính xác khoảng 1 – 3g mẫu, nung ở nhiệt độ không quá 450°C (dùng chén sứ hoặc chén Pt) đến khối lượng không đổi. Xác định cân tro và tính% tro toàn phần theo dược liệu đã làm khô trong không khí (chén nung đã được xác định khối lượng trước).

Chú ý: Cẩn tro thu được phải trắng hoặc gần như trắng. Nếu cẩn tro còn đen chứng tỏ carbon chưa cháy hết, khi đó phải thêm một ít nước nóng, khuấy đều, lọc qua giấy lọc không tro (giữ lấy cả nước lọc và cả cẩn trên giấy lọc). Trước tiên cho giấy lọc có cẩn vào chén nung và đem nung đến khi cẩn thu được gần như trắng. Sau cho tiếp phần nước lọc vào chén, làm bốc hơi đến khô, nung tiếp ở 450°C đến khối lượng không đổi. Cân khối lượng và tính% tro toàn phần.

5. XÁC ĐỊNH TRO SULFAT

Cân chính xác khoảng 1g mẫu cho vào chén nung (chén sứ hoặc Pt) đã biết khối lượng, làm ẩm mẫu với acid sulfuric (TT), đốt cẩn thận, rồi lại làm ẩm với acid sulfuric và nung khô ở 800°C đến khối lượng không đổi. Cân. Từ đó tính% cẩn tro.

Chú ý: Nếu cẩn tro dễ thử kim loại nặng thì nhiệt độ khi nung chỉ 500°C – 600°C.

6. XÁC ĐỊNH TRO TAN TRONG NƯỚC

Dun sôi tro toàn phần (ở phần 4) với 25ml nước trong 5 phút. Lọc qua phễu xóp hoặc dùng giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng. Đem nung cẩn 15 phút (ở nhiệt độ không quá 450°C). Xác định khối lượng cẩn không tan trong nước. Khi đó:

Khối lượng tro tan trong nước = Khối lượng tro toàn phần – Khối lượng cẩn không tan trong nước. Tính % tro tan trong nước so với dược liệu đã làm khô trong không khí.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Cho biết mục đích của việc xác định giới hạn tạp chất trong thuốc.
2. Trình bày phương pháp xác định giới hạn tạp chất trong thuốc.

3. Trình bày cách xác định một số tạp chất thông dụng:
- Arsen.
 - Amoni.
 - Phosphat.
 - Sắt.
 - Sulfat.
 - Kim loại nặng.
4. Cách xác định tạp chất lẫn trong dược liệu?
5. Cách xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu?
6. Trình bày cách xác định tro toàn phần và tro tan trong nước của dược liệu.
7. Cách xác định khối lượng của chén nung trước khi dùng để xác định cặn tro của mẫu thử.

Bài 7

PHƯƠNG PHÁP CHUNG XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ SỐ VẬT LÝ

MỤC TIÊU

- Trình bày được phương pháp xác định: khối lượng riêng, tỷ trọng, chỉ số khúc xạ, góc quay cực và góc quay cực riêng, nhiệt độ nóng chảy.
- Biết cách thử độ rã và độ hoà tan của viên nén, viên nang.

1. KHỐI LƯỢNG RIÊNG VÀ TỶ TRỌNG

1.1. Định nghĩa

- *Khối lượng riêng* là khối lượng của một đơn vị thể tích chất xác định ở nhiệt độ t:

$$D_t = \frac{m}{V}$$

Trong đó: m: là khối lượng (gam) của chất xác định ở nhiệt độ t.

V: là thể tích (ml) của chất xác định ở nhiệt độ t.

Trong ngành Dược thường xác định D_t ở 20°C (viết D_{20}).

– *Tỷ trọng* (tỷ trọng tương đối) của một chất là tỷ số giữa khối lượng của một thể tích cho trước của chất đó và khối lượng của cùng một thể tích nước cất ở cùng điều kiện nhiệt độ (ngành Dược xác định ở 20°C).

$$d_{20} = \frac{m}{m_0}$$

Trong đó: m , m_0 là khối lượng (gam) của chất xác định và của nước cất ở 20°C .

– Thường ta không xác định trực tiếp khối lượng riêng của một chất mà suy ra từ biểu thức tính:

$$d_{20} = \frac{m}{m_0} = \frac{m/V}{m_0/V} = \frac{D_{20}}{D_{020}} \Rightarrow D_{20} = D_{020} \cdot d_{20}$$

(D_{020} là khối lượng cân (gam) trong không khí của 1ml nước ở 20°C).

1.2. Phương pháp xác định tỷ trọng d_{20} của một chất lỏng

1.2.1. Phương pháp dùng picnomet

- Cân chính xác picnomet rỗng, khô, sạch: m_1 .
- Cân chính xác picnomet đầy chất thử ở 20°C : m_2 .
- Đổ chất thử, rửa sạch, làm khô.
- Cân chính xác picnomet đầy nước ở 20°C : m_3 .
- Tính:

$$d_{20} = \frac{m}{m_0} = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1}$$

1.2.2. Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr – Westphal

– Đặt cân trên mặt phẳng nằm ngang. Mắc phao vào đòn cân, đặt phao chìm trong nước cất ở 20°C và chỉnh thăng bằng bằng các con mã đặt ở các vị trí thích hợp.

Ví dụ:

$$\left. \begin{array}{l} + \text{ Con mã lớn nhất ở vị trí 8} \\ + \text{ Con mã lớn thứ hai ở vị trí 6} \\ + \text{ Con mã lớn thứ ba ở vị trí 4} \\ + \text{ Con mã nhỏ nhất ở vị trí 2} \end{array} \right\} \Rightarrow \text{Ta được giá trị } M = 0,8642$$

– Lấy phao ra, thấm khô, lại đặt phao chìm trong chất lỏng cần xác định (giống như điều kiện khi làm với nước cất) ở 20°C và cũng chỉnh thẳng bằng bằng các con mã đặt ở các vị trí thích hợp ta sẽ được giá trị M_1 .

– Tính $d_{20} = \frac{M_1}{M}$

1.2.3. Phương pháp dùng tỷ trọng kế

– Cách xác định:

+ Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether. Dùng đũa thủy tinh trộn đều chất lỏng cần xác định.

+ Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng (không được chạm vào thành hoặc đáy bình đựng). Điều chỉnh nhiệt độ về 20°C.

+ Đọc kết quả khi tỷ trọng kế ổn định.

– Một số tỷ trọng kế đặc biệt:

+ Tỷ trọng kế Baume: Việc chia vạch được tính theo độ Baume ($^{\circ}\text{Be}$). Sự chuyển đổi giữa độ $^{\circ}\text{Be}$ và tỷ trọng tính theo công thức sau:

* Với chất nặng hơn nước: $^{\circ}\text{Be} = 145 - \frac{145}{d} \Rightarrow d = \frac{145}{145 - ^{\circ}\text{Be}}$

* Với chất nhẹ hơn nước: $^{\circ}\text{Be} = \frac{140}{d} - 130 \Rightarrow d = \frac{140}{130 + ^{\circ}\text{Be}}$

+ Tỉu kế (alcoholmeter): Thông thường cho biết độ cồn tức là hàm lượng % (TT/TT) của cồn đem xác định.

1.3. Phương pháp xác định tỷ trọng d_{20} của mỡ, sáp, nhựa, nhựa thơm

– Dùng picnomet:

– Cách làm:

+ Cân chính xác picnomet khô, rỗng, sạch ở 20°C: được M_1 .

+ Cân picnomet đầy nước ở 20°C: được M_4 .

+ Đổ nước, làm khô picnomet, cho vào picnomet mẫu thử đã đun chảy (dùng ống hút hoặc phễu cuống nhỏ) khoảng 1/3 đến 1/2 thể tích của picnomet, làm nguội đến 20°C.

+ Cân picnomet có chất xác định ở 20°C : được M_2 .

+ Thêm nước cất đến đầy, cân ở 20°C : được M_3 .

+ Tính kết quả: $d_{20} = \frac{M_2 - M_1}{(M_4 + M_2) - (M_1 + M_3)}$

Chú ý: Khi lấy kết quả xác định:

- Phương pháp dùng picnomet cho kết quả với 4 số lẻ.
- Phương pháp dùng cân thủy tinh cho kết quả với 3 số lẻ.
- Phương pháp dùng tỷ trọng kế cho kết quả với 2 – 3 số lẻ.

2. XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ KHÚC XẠ

2.1. Khái niệm

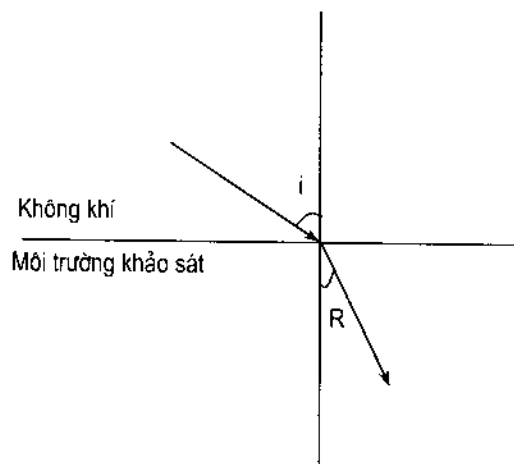
– *Chỉ số khúc xạ* (n_λ) của một chất so với không khí là tỷ số giữa sin của góc tới (i) và sin của góc khúc xạ (R) của chùm tia sáng chiếu từ không khí vào chất đó.

$$n_\lambda = \frac{\sin i}{\sin R}$$

Trong trường hợp hai môi trường có chỉ số khúc xạ là n_1 và n_2 ta sẽ có:

$$n_1 \cdot \sin i = n_2 \cdot \sin R.$$

– Chỉ số khúc xạ là đại lượng đặc trưng cho chất lỏng, chất rắn và chất khí tinh khiết, do vậy dùng giá trị chỉ số khúc xạ để định tính, xác định độ tinh khiết của chất.



2.2. Chỉ số khúc xạ – khúc xạ kế (Refractometer)

– Dựa trên nguyên tắc của hiện tượng khúc xạ: Khi chiếu chùm tia sáng từ môi trường kém chiết quang vào môi trường chiết quang, khi tăng góc tới (i), góc khúc xạ (R) cũng tăng theo:

Khi góc tới i tăng dần đến 90° , góc khúc xạ R tăng tới giá trị giới hạn R_1 .

Do vậy $\sin i = \sin 90^{\circ} = 1$ và $\sin R_1 = \frac{n}{N}$, trong đó n là chỉ số khúc xạ cần xác

định của môi trường (chất xác định), N là chỉ số khúc xạ của bản thủy tinh trên đó ta ép chất lỏng cần đo.

– Trong thực tế thường đo chỉ số khúc xạ ở $20^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ$ với chùm tia sáng có $\lambda = 589,3\text{nm}$ (ứng với vạch D của đèn natri).

– Khi sử dụng nguồn sáng trắng, khúc xạ kế được trang bị hệ thống bổ chính và được hiệu chuẩn lại để cho kết quả đọc tương ứng với vạch D của đèn natri.

– Thực tế có loại khúc xạ kế cầm tay và khúc xạ kế ABBE.

– Khúc xạ kế dùng để xác định góc tới hạn của môi trường (xác định R , biết N tính được $n = N \cdot \sin R_1$), nhưng trên máy thường ghi luôn giá trị n trực tiếp.

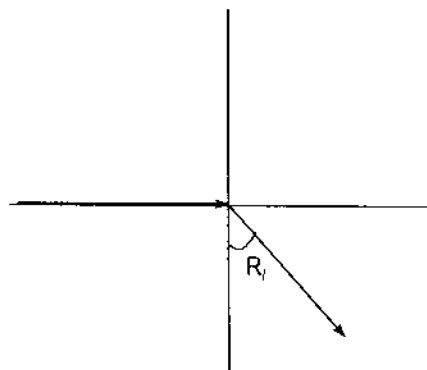
– Để đạt độ chính xác lý thuyết $\pm 0,0001$, cần phải thường xuyên hiệu chuẩn lại máy với các chất chuẩn của nhà sản xuất máy cung cấp, hoặc xác định chỉ số khúc xạ của nước cất ở 25°C là 1,3325 và ở 20°C là 1,3330, đồng thời phải thường xuyên kiểm tra nhiệt độ và độ sạch của khoang đo.

– Các khúc xạ kế ngoài thang đo chỉ số khúc xạ, còn có thể có thêm thang đo nồng độ của đường Saccharose nên thường gọi là Saccharimeter – Refractometer (đường kế), vì thế giúp ta định lượng được đường theo phương pháp đo khúc xạ kế.

Ứng với nước cất $n = 1,333$ thì $C_{\text{đường}}^{1\%} = 0\%$

$n = 1,381$ thì $C_{\text{đường}}^{1\%} = 30\%$

$n = 1,530$ thì $C_{\text{đường}}^{1\%} = 95\%$



3. XÁC ĐỊNH GÓC QUAY CỰC VÀ GÓC QUAY CỰC RIÊNG

3.1. Khái niệm

– *Ánh sáng tự nhiên* là các dao động sóng xảy ra theo mọi hướng trong mặt phẳng vuông góc với phương truyền sóng.

– *Ánh sáng phân cực* là ánh sáng trong đó các dao động sóng xảy ra theo một hướng nhất định trong mặt phẳng vuông góc với phương truyền sóng. Mặt phẳng chứa dao động sóng được gọi là mặt phẳng phân cực.

– Ánh sáng phân cực được tạo ra do sự phản xạ trên một mặt phẳng hay sự khúc xạ qua các môi trường (khi chiếu ánh sáng tự nhiên tới bề mặt của môi trường với góc tới mà tia tới và tia phản xạ tạo thành góc 90° thì lúc đó tia phản xạ trở thành phân cực, mặt phẳng tới là mặt phẳng phân cực).

– Chiếu ánh sáng phân cực vào một chất quang hoạt (ở dạng lỏng hoặc dung dịch), chất này có khả năng làm quay mặt phẳng của ánh sáng phân cực đi một góc nào đó gọi là *góc quay cực* α . Chất làm quay mặt phẳng phân cực theo cùng chiều kim đồng hồ gọi là chất hữu tuyến (ký hiệu +), chất làm quay mặt phẳng phân cực ngược chiều kim đồng hồ được gọi là chất tả tuyến (ký hiệu -).

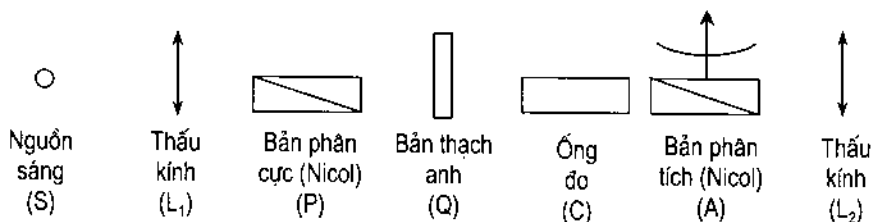
– Góc quay cực α được xác định ở nhiệt độ 20°C khi cho chùm tia sáng đơn sắc có bước sóng $\lambda = 589,3\text{nm}$ (ứng với vạch màu vàng D của đèn natri) qua lớp chất lỏng hay dung dịch của chất xác định có bề dày là 1dm .

– Góc quay cực riêng $[\alpha]^{20}_D$ của một chất rắn là góc quay cực đo được khi cho chùm tia sáng D truyền qua lớp dung dịch có nồng độ 1% (KL/TT) và có bề dày 1dm ở 20°C .

3.2. Máy đo góc quay cực (Phân cực kế)

– Sơ đồ tổng quát (hình 13).

– Nguyên tắc hoạt động: Ánh sáng từ nguồn S qua thấu kính L_1 tạo chùm sáng chiếu vào bản phân cực P tạo ra ánh sáng phân cực qua lăng kính thạch anh Q đi vào chất quang hoạt ở ống đo C làm quay mặt phẳng phân cực, chiếu tới bản phân tích A (A phải quay đi một góc đúng bằng góc ngược với góc mà chất quang hoạt ở C đã làm quay đi nhờ bộ phận làm quay R để thị trường quan sát lại giống như ban đầu khi chưa đặt chất quang hoạt vào). Góc mà A phải quay chính là góc quay cực của chất quang hoạt.



Hình 13. Sơ đồ máy đo góc quay cực

Có 2 loại phân cực kế là phân cực kế nhìn bằng mắt thường và phân cực kế điện tử. Nguồn sáng thường dùng là đèn hơi natri hay hơi thủy ngân.

- Cách tiến hành:
- + Chọn bước sóng thích hợp theo yêu cầu (thường dùng tia D).
- + Chọn nhiệt độ thích hợp (thường $19,5^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$).
- + Xác định điểm O của phân cực kế: với ống đo lỏng (khi xác định với chất lỏng), với ống đo chứa đầy dung môi (khi xác định với chất rắn).
- + Đặt mẫu đo vào và xác định góc quay cực α .
- + Tính góc quay cực riêng:

Với chất lỏng:
$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot d}$$

Với chất rắn:
$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot C} \times 100$$

Trong đó: α : góc quay cực đo được.

l : chiều dài ống đo (dm).

d : tỷ trọng của chất lỏng.

C : nồng độ phần trăm của chất thử rắn trong dung dịch.

Căn cứ vào góc quay cực đo được, có thể tính nồng độ phần trăm của chất thử trong dung dịch:

$$C\%_{(kl/tt)} = \frac{\alpha}{l \cdot [\alpha]_D^{20}} \times 100$$

$$C\%_{(kl/tt)} = \frac{\alpha}{l \cdot d_{20} \cdot [\alpha]_D^{20}} \times 100$$

Trong đó: d_{20} là tỷ trọng của dung dịch ở 20°C .

4. XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ NÓNG CHẢY, KHOẢNG NÓNG CHẢY

4.1. Khái niệm

- *Nhiệt độ nóng chảy* (gọi tắt là điểm chảy) của một chất là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó hạt chất rắn cuối cùng của chất thử nghiệm chuyển thành trạng thái lỏng, bắt đầu biến màu, hoá than hoặc sủi bọt.

- *Khoảng nóng chảy* (gọi tắt là khoảng chảy) của một chất là khoảng nhiệt độ đã hiệu chỉnh, kể từ khi chất rắn bắt đầu nóng chảy và xuất hiện những giọt chất lỏng đầu tiên, đến khi chất rắn chuyển hoàn toàn sang trạng thái lỏng.

- Khi xác định khoảng nóng chảy, nếu nhiệt độ bắt đầu, hoặc nhiệt độ kết thúc nóng chảy không xác định rõ ràng, ta có thể chỉ xác định nhiệt độ kết

thúc, hoặc nhiệt độ bắt đầu nóng chảy nếu nhiệt độ cùng nằm trong giới hạn quy định trong chuyên luận riêng của chế phẩm.

4.2. Phương pháp xác định

Dược điển Việt Nam III trình bày 3 phương pháp xác định nhiệt độ nóng chảy và khoảng nóng chảy áp dụng cho các đối tượng khác nhau. Trong chương trình này chỉ trình bày phương pháp hay áp dụng nhất trên đối tượng là các chất rắn dễ nghiền nhỏ.

4.2.1. Dụng cụ

– Một bình thủy tinh chịu nhiệt, trong bình chứa một chất lỏng thích hợp, thường dùng là dầu parafin hoặc dầu silicon, lượng chất lỏng đủ để nhấn chìm được nhiệt kế và mẫu thử sao cho bầu thủy ngân cách đáy bình 2cm.

– Một dụng cụ khuấy có khả năng duy trì sự đồng nhất về nhiệt độ trong chất lỏng.

– Một nhiệt kế đã được hiệu chuẩn và chia độ đến 0,5°C.

– Ống mao quản, hàn kín một đầu, dài 6 – 8cm, đường kính trong $1,0 \pm 0,1\text{mm}$, thành ống dày khoảng 0,10 – 0,15mm.

– Nguồn nhiệt có thể điều chỉnh được nhiệt độ.

4.2.2. Cách xác định

– Nghiền thành bột mịn, chất thử đã làm khô 24 giờ trong bình với chất hút ẩm thích hợp, hoặc sấy khô 2 giờ ở 100 – 105°C.

– Cho bột vào ống mao quản, lèn bột bằng cách gõ nhẹ ống mao quản xuống mặt phẳng cứng để có một lớp chế phẩm cao 4 – 6mm. Giữ ống mao quản trong bình hút ẩm trước khi tiến hành đo.

– Đun nóng bình đựng chất lỏng đến khi nhiệt độ thấp hơn điểm chảy dự kiến của chất thử khoảng 10°C, điều chỉnh nguồn nhiệt sao cho nhiệt độ chất lỏng tăng 1°C/phút, hoặc cho nhiệt độ chất lỏng tăng 3°C/phút khi các chất thử không bền với nhiệt.

– Khi nhiệt độ đạt thấp hơn điểm chảy dự kiến khoảng 5°C, lấy nhiệt kế ra, nhanh chóng buộc ống mao quản có chế phẩm vào nhiệt kế, sao cho lớp chế phẩm ngang với phân giữa bầu thủy ngân của nhiệt kế. Đặt lại nhiệt kế vào bình chất lỏng.

– Nhiệt độ mà tại đó nhìn thấy cột chất thử sụp xuống, so sánh với một điểm nào đó trên thành ống, được xác định là điểm bắt đầu nóng chảy và nhiệt

độ mà tại đó chất thử trở thành chất lỏng hoàn toàn, được xác định là điểm cuối của sự chảy hay điểm chảy. Tiến hành xác định ít nhất 3 lần. Các kết quả đo được phải chênh lệch không quá 1°C. Lấy kết quả trung bình của các lần xác định. Nếu kết quả đo được chênh lệch quá 1°C, làm thêm 2 lần nữa. Lấy kết quả trung bình của 5 lần xác định.

– Hiệu chỉnh nhiệt độ quan sát được nếu nhiệt kế đo có sai số với nhiệt kế chuẩn và sự khác biệt nếu có giữa nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng trong điều kiện thử nghiệm và của đoạn cột thủy ngân ngoài chất lỏng trong điều kiện hiệu chuẩn. Nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng được xác định bằng cách đặt bầu thủy ngân của nhiệt kế phụ ở điểm giữa của phần cột thủy ngân lộ ra ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính.

Tính nhiệt độ đã hiệu chỉnh theo công thức sau:

$$T_{\text{hiệu chỉnh}} = T + 0,00016N (T_s - t)$$

Trong đó:

T: Nhiệt độ đọc trên nhiệt kế chính.

T_s : Nhiệt độ trung bình của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính trong điều kiện chuẩn hoá.

t: Nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng của nhiệt kế phụ tại điểm chảy.

N: Số khoảng chia độ (°C) của đoạn cột thủy ngân của nhiệt kế chính ở ngoài chất lỏng.

5. PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA VIÊN NÉN VÀ VIÊN NANG

5.1. Khái niệm

Độ rã của viên nén, viên nang là khả năng tan rã của chúng trong môi trường thử theo quy định (thường là nước) đo bằng thiết bị thử độ rã đã được quy định (Máy thử độ rã Erweka hay một thiết bị tương đương) trong thời gian nhất định đã được quy định ở từng chuyên luận.

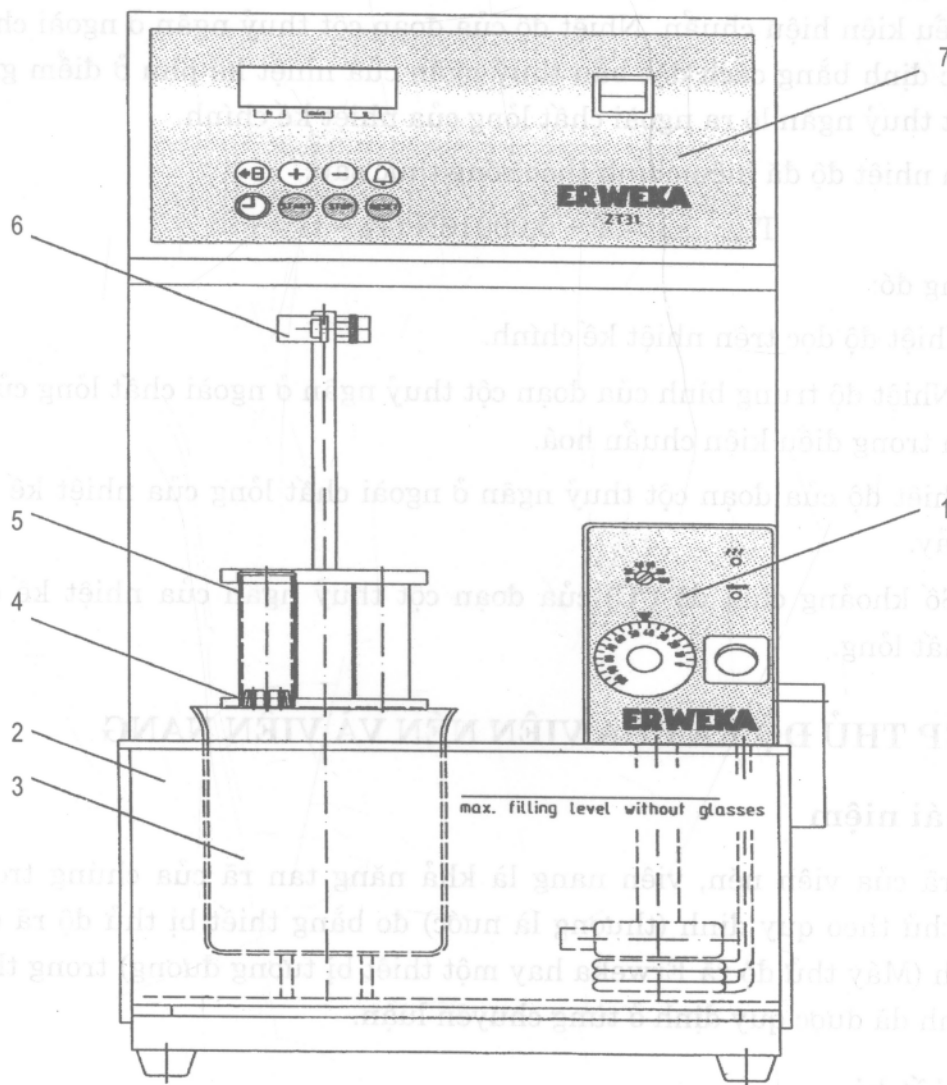
5.2. Thiết bị

Thiết bị thử độ rã (hình 14) bao gồm:

– Một giá đỡ ống thử thích hợp, đỡ 6 ống thủy tinh hình trụ có chiều dài 75,0 – 80,0mm, đường kính trong 21,5mm và chiều dày thành ống khoảng 2mm.

– Một đĩa hình trụ đặt trên mỗi ống, có đường kính 20,55 – 20,85mm và chiều dày 9,35 – 9,65mm, được làm bằng chất dẻo trong suốt. Đĩa có 5 lỗ hổng, đường kính mỗi lỗ là 2mm, 1 lỗ ở giữa còn 4 lỗ còn lại đặt cách đều nhau trên một vòng tròn có bán kính 6mm từ tâm đĩa.

– Các ống được giữ ở vị trí thẳng đứng trong 6 lỗ trống của 2 tấm nhựa cứng trong suốt có đường kính 90mm và chiều dày 6mm. Các lỗ cách đều nhau và cách đều tâm. Mặt dưới của tấm nhựa phía dưới được gắn 1 tấm lưới đan bằng các sợi thép không gỉ có đường kính 0,635mm và kích thước mắt lỗ là 2mm.



Hình 14. Thiết bị thử độ rã viên nén, viên nang

- | | |
|----------------------------|-----------------------|
| 1. Nguồn cung cấp nhiệt | 5. Ống hình trụ |
| 2. Bể điều nhiệt | 6. Giá đỡ |
| 3. Cốc đựng môi trường thử | 7. Bộ phận điều khiển |
| 4. Đĩa đặt | |

– Hai tấm nhựa được cố định và cách đều nhau 77,5mm bằng các thanh kim loại được chốt thẳng đứng ở phía ngoài và một thanh kim loại được gắn chặt vào tâm tấm nhựa phía trên, sao cho giá đỡ ống thử có thể lắp ráp với bộ phận cơ để vận hành thiết bị chuyển động lên xuống một khoảng từ 50 – 60mm với tần suất 28 – 32 lần/phút.

– Giá đỡ ống thử được nhúng chìm trong một bình thích hợp, thường là cốc thuỷ tinh có dung tích 1000ml chứa chất lỏng đã được quy định. Thể tích chất lỏng phải đủ để sao cho khi giá ống thử ở vị trí cao nhất thì lưới kim loại phải ở dưới bề mặt chất lỏng ít nhất 15mm và khi giá ống thử ở vị trí thấp nhất thì lưới kim loại cách đáy cốc thuỷ tinh ít nhất 25mm và miệng các ống thuỷ tinh phải ở trên bề mặt chất lỏng.

– Một thiết bị phù hợp để duy trì nhiệt độ của chất lỏng là $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

– Bộ phận điều khiển.

5.3. Cách thử

5.3.1. Chuẩn bị

– Cho một thể tích thích hợp môi trường thử (thường là nước) vào cốc.

– Vận hành máy điều nhiệt để nhiệt độ của môi trường thử đạt $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

– Cho vào mỗi ống thử một viên nén hoặc một viên nang rồi đặt đĩa chất dẻo vào từng ống.

5.3.2. Vận hành thiết bị

Nhúng giá đựng ống thử thiết bị vào trong cốc đựng chất lỏng và vận hành thiết bị theo thời gian quy định.

5.3.3. Đánh giá kết quả

– Sau thời gian quy định hoặc khi thấy các viên đã rã hết, lấy giá đỡ ống thử ra khỏi cốc chất lỏng.

– Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về độ rã khi không còn cặn, trừ những mảnh vỏ nang hoặc vỏ bao không tan của viên nén, còn lại trên mặt lưới của thiết bị thử hoặc dính vào bề mặt dưới của đĩa đặt. Nếu còn cặn thì nó chỉ là một khối mềm, không được có nhân khô rắn sờ thấy được.

– Kết quả:

+ Nếu cả 6 viên đều rã hết: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ rã.

+ Nếu còn dưới hai viên chưa rã hết: Thử lại trên 12 viên nữa.

Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong số 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

Đối với viên nén không bao thông thường thời gian rã yêu cầu không quá 15 phút.

Đối với viên nang thông thường thời gian rã yêu cầu không quá 30 phút.

5.3.4. Thử độ rã của viên nén và viên nang bao tan ở ruột

– Tiến hành theo các bước như trên. Riêng môi trường và thời gian như sau:

+ Giai đoạn 1: Môi trường thử là acid hydrocloric 0,1M; trong 120 phút. Tất cả các viên thử phải còn nguyên vẹn, không thể hiện sự giải phóng hoạt chất.

Trong giai đoạn này, thường không đẩy đĩa nhựa lên trên viên khi thử.

+ Giai đoạn 2: Môi trường thử là dung dịch đệm phosphat pH = 6,8; trong 60 phút.

Nếu có viên dính đĩa thì thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa.

– Đánh giá kết quả: Như đối với viên nén và viên nang thường.

Cách pha dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Trộn dung dịch acid hydrocloric 0,1N và dung dịch natri phosphat 0,2N theo tỷ lệ 3: 1. Điều chỉnh pH đến $6,8 \pm 0,05$ bằng dung dịch acid hydrocloric 2N, hoặc dung dịch natri hydroxyd 2N.

5.4. Ví dụ

5.4.1. Đánh giá độ rã của viên nang Cloxacilin 250mg

– Môi trường thử: nước.

– Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

– Cho vào mỗi ống thử một viên nang Cloxacilin rồi đẩy đĩa chất dẻo vào từng ống. Thử trên 6 viên.

– Thời gian tối đa: 30 phút.

– Quan sát bằng mắt nếu thấy các viên thử rã hết thì ghi thời gian.

– Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về độ rã khi không còn cặn trừ những mảnh vỏ nang. Nếu còn cặn thì nó chỉ là một khối mềm, không được có nhân khô rắn sờ thấy được.

– Kết quả:

+ Nếu cả 6 viên đều rã hết: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ rã.

+ Nếu còn dưới hai viên chưa rã hết: Thử lại trên 12 viên nữa. Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong số 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

5.4.2. Đánh giá độ rã của viên bao tan trong ruột Diclofenac 50mg

– Trong 120 phút đầu trong môi trường acid hydrocloric 0,1M: Cho vào mỗi ống thử một viên bao tan trong ruột Diclofenac, không đập đĩa chất dẻo. Sau thời gian quy định, bỏ dung dịch acid hydrocloric 0,1M và thay bằng dung dịch đệm phosphat pH = 6,8.

– Trong tối đa 60 phút tiếp theo trong dung dịch đệm phosphat pH = 6,8: có đập đĩa chất dẻo vào từng ống.

– Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

– Thử trên 6 viên.

– Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về độ rã khi không còn cặn, trừ những mảnh vỏ bao không tan của chế phẩm còn lại trên mặt lưới của thiết bị thử hoặc dính vào bề mặt dưới của đĩa đập. Nếu còn cặn thì nó chỉ là một khối mềm, không được có nhân khô rắn sờ thấy được.

– Kết quả:

+ Sau 120 phút trong môi trường acid hydrocloric 0,1M: Tất cả các viên thử phải còn nguyên vẹn, không thể hiện sự giải phóng hoạt chất.

+ Sau tối đa 60 phút trong môi trường đệm phosphat: Quan sát bằng mắt nếu thấy các viên thử rã hết thì ghi thời gian. Tất cả các viên thử phải rã hết.

+ Nếu còn dưới 2 viên không đạt yêu cầu: Thử lại trên 12 viên nữa. Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong số 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

6. PHÉP THỬ ĐỘ HOÀ TAN CỦA VIÊN NÉN VÀ VIÊN NANG

6.1. Khái niệm

Độ hoà tan của một chế phẩm là tỷ lệ hoạt chất được giải phóng ra khỏi dạng thuốc theo thời gian với các điều kiện quy định trong từng chuyên luận.

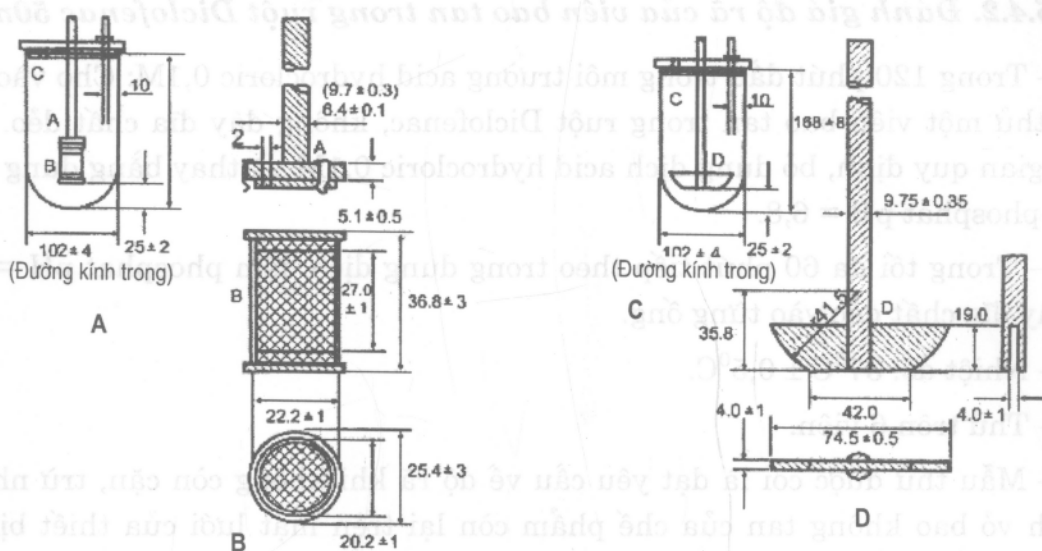
Với mỗi chế phẩm có các quy định cụ thể về thiết bị thử, môi trường hoà tan, thời gian thử nghiệm và phần trăm hoạt chất được giải phóng (Chỉ số Q).

6.2. Thiết bị

Tùy thiết bị có thể có một bình hoặc 6 – 8 bình thử.

6.2.1. Thiết bị kiểu giỏ quay

Thiết bị bao gồm: (hình 15).



Hình 15. Thiết bị đo độ hoà tan của viên nén, viên nang
(kích thước tính bằng mm)

– Một bình hình trụ C bằng thủy tinh borosilicat hoặc bằng chất liệu trong suốt thích hợp, có đáy hình bán cầu và có dung tích 1000ml (hình 15A). Miệng bình có viền rộng, được đậy bằng nắp có một số lỗ nhỏ, trong đó có một lỗ ở tâm của nắp.

– Một động cơ với bộ phận điều tốc có khả năng duy trì tốc độ quay của giỏ trong phạm vi $\pm 4\%$ tốc độ đặt. Động cơ này gắn với một bộ phận khuấy bao gồm trục quay A và giỏ hình ống trụ B (hình 15B). Trụ kim loại phải quay được một cách nhẹ nhàng, không bị tắc lư nhiều trong khi quay. Bộ phận giỏ gồm có 2 phần:

+ Phần nắp trên có một lỗ thoát nhỏ được gắn với trục. Nắp này được lắp 3 cái nhíp đàn hồi, hoặc bằng cách thích hợp để có thể giữ chắc chắn phần dưới của giỏ đồng trục với trục của bình trong khi quay và có thể tháo phần dưới ra dễ dàng khi cần cho chế phẩm thử vào giỏ.

+ Phần dưới tháo lắp được là một giỏ hình ống trụ được làm bằng vải rây kim loại, mép khâu được hàn liền, đường kính sợi dây là 0,254mm, có cạnh hình vuông của lỗ rây là 0,381mm; giỏ hình ống trụ này có vành kim loại bao quanh đáy trên và đáy dưới. Giỏ có thể được mạ một lớp vàng kim loại dày

2,5µm để không bị hỏng khi thử trong môi trường acid. Khoảng cách từ giỏ đến đáy trong của bình luôn được giữ trong khoảng 23 – 27mm trong quá trình thử.

– Một chậu cách thủy để duy trì môi trường hoà tan ở nhiệt độ $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

6.2.2. Thiết bị kiểu cánh khuấy

Thiết bị này giống như thiết bị giỏ quay mô tả ở trên, chỉ khác là giỏ được thay bằng cánh khuấy D (hình 15C và 15D). Cánh khuấy được lắp đặt sao cho đi qua tâm của trục và cạnh dưới của nó ngang bằng với mặt đáy của trục. Trục cánh khuấy được lắp đặt ở vị trí sao cho không lệch quá 2mm so với trục của bình và cạnh đáy của cánh khuấy cách mặt đáy trong của bình từ 23 – 27mm. Thiết bị được vận hành sao cho cánh khuấy quay tròn một cách nhẹ nhàng và không có rung động rõ rệt.

6.3. Cách thử

6.3.1. Chuẩn bị môi trường hoà tan

Môi trường hoà tan được chỉ dẫn trong từng chuyên luận riêng. Nếu là dung dịch đậm thì pH phải điều chỉnh để sai khác không quá 0,05 đơn vị. Môi trường hoà tan phải loại khí trước khi dùng.

Cho một thể tích quy định môi trường hoà tan đã đuổi khí vào bình (thể tích quy định $\pm 1\%$). Làm ấm môi trường hoà tan đến nhiệt độ $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

6.3.2. Cho viên vào thiết bị thử

Nếu không có chỉ dẫn gì khác thì thử đồng thời trên 6 viên, cho mỗi viên vào một bình trụ hoặc một giỏ quay.

– Khi dùng thiết bị giỏ quay: cho viên nén hay viên nang vào trong giỏ khô. Hạ thấp giỏ vào đúng vị trí rồi cho giỏ quay.

– Khi dùng thiết bị kiểu cánh khuấy: cho viên nén hay viên nang chìm xuống đáy bình trước khi cho cánh khuấy quay; có thể dùng một dây xoắn bằng kim loại hay thủy tinh để giữ cho viên thuốc nằm ngang dưới đáy bình. Cần loại trừ bọt không khí khỏi bề mặt viên.

6.3.3. Vận hành thiết bị

Vận hành thiết bị ngay ở tốc độ quay được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

6.3.4. Lấy mẫu – lọc mẫu

Tuỳ theo chỉ dẫn ở chuyên luận mà lấy mẫu ra để thử ở phút thứ 45 hoặc sau những khoảng thời gian quy định, hoặc lấy mẫu ra liên tục; cho phép

chênh lệch so với thời gian quy định là $\pm 2\%$. Vị trí hút mẫu ở khoảng giữa bề mặt môi trường hoà tan và mặt trên của giỏ quay hay cạnh trên của cánh khuấy, điểm này phải cách thành bình ít nhất 10mm. Trừ trường hợp phân tích mẫu liên tục, đo mẫu tự động khi đó mẫu lấy ra sau khi phân tích lại trở về bình hoà tan, cũng như trong trường hợp lấy mẫu phân tích một lần; còn các trường hợp khác phải thêm một thể tích môi trường hoà tan bằng thể tích mẫu thử đã lấy ở nhiệt độ $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, hoặc có thể dùng phép tính hiệu chỉnh. Lọc môi trường hoà tan qua giấy lọc có đường kính lỗ lọc thích hợp.

6.3.5. Xác định lượng hoạt chất

Xác định lượng hoạt chất chứa trong dịch lọc bằng phương pháp được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

6.3.6. Đánh giá kết quả

– Phần trăm được chất giải phóng so với hàm lượng ghi trên nhãn được đánh giá theo bảng 7.

– Nếu vỏ viên nang ảnh hưởng tới kết quả phân tích, lấy ít nhất 6 viên nang, loại bỏ toàn bộ thuốc trong nang, hoà tan vỏ nang rỗng trong một thể tích môi trường hoà tan được chỉ dẫn trong chuyên luận rồi tính hiệu chỉnh. Hệ số hiệu chỉnh không được lớn hơn 25% hàm lượng ghi trên nhãn.

Bảng 7. Giới hạn về phần trăm được chất giải phóng đối với viên nén, viên nang
(Theo USP 24)

Lần	Số viên thử	Yêu cầu kết quả (Phần trăm hoạt chất hoà tan)	Kết luận – Giải pháp
1	6	Mỗi viên phải $\geq Q + 5\%$	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ hoà tan. Dùng thử nghiệm. – Không đạt. Làm lần 2.
2	6	Trung bình của 12 viên phải $\geq Q$ và không có viên nào $< Q - 15\%$	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ hoà tan. Dùng thử nghiệm. – Không đạt. Làm lần 3.
3	12	Trung bình của 24 viên phải $\geq Q$ và có dưới hai viên $< Q - 15\%$ và không có viên nào $< Q - 25\%$	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ hoà tan. – Không đạt: Mẫu thử không đạt yêu cầu về độ hoà tan.

6.4. Thử tốc độ hoà tan của viên nén và viên nang bao tan ở ruột

– Tiến hành các bước như trên. Riêng môi trường và thời gian như sau:

- + Giai đoạn 1: dùng 1000ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M làm chất lỏng. Thử trong 2 giờ.
- + Giai đoạn 2: 1000ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8. Thử trong 45 phút.
- Đánh giá kết quả:
- + Trong môi trường acid hydrocloric 0,1 M: Theo bảng 8.
- + Trong môi trường đệm pH 6,8: Đánh giá như ở bảng 7.

Bảng 8. Giới hạn về phần trăm được chất giải phóng đối với viên bao, viên nang tan trong ruột (môi trường thử là HCl 0,1M) (Theo USP 24)

Lần	Số viên thử	Yêu cầu kết quả (Phần trăm hoạt chất hoà tan)	Kết luận – Giải pháp
1	6	Không có viên nào vượt 10% so với hàm lượng ghi trên nhãn.	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu. Dừng thử nghiệm. – Không đạt. Làm lần 2.
2	6	Trung bình của 12 viên phải nhỏ hơn 10% so với hàm lượng ghi trên nhãn.	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu. Dừng thử nghiệm. – Không đạt. Làm lần 3.
3	12	Trung bình của 24 viên phải nhỏ hơn 10% so với hàm lượng ghi trên nhãn.	– Đạt: Mẫu thử đạt yêu cầu. – Không đạt: Mẫu thử không đạt yêu cầu về độ hoà tan.

6.5. Ví dụ

6.5.1. Đánh giá độ hoà tan của viên nang Cephalexin (ĐDVN III)

- Thiết bị: Giỏ quay.
- Môi trường hoà tan: 1000ml nước.
- Tốc độ quay: 100 vòng/phút.
- Thời gian: 45 phút.
- Lấy mẫu và xử lý mẫu: Lọc dung dịch sau khi hoà tan. Pha loãng dịch lọc bằng nước để được dung dịch cephalexin có nồng độ khoảng 25µg/ml.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 262nm với mẫu trắng là nước.

Song song làm một mẫu chuẩn cephalexin có cùng nồng độ.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80% lượng cephalexin ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 phút.

6.5.2. Đánh giá độ hoà tan của viên bao Ibuprofen (ĐDVN III)

- Thiết bị: Cánh khuấy.

– Môi trường hoà tan: 900ml dung dịch đệm phosphat pH 7,2 (Phối hợp 250ml dung dịch KH_2PO_4 0,2 M với 175ml dung dịch NaOH 0,2 M, thêm nước vừa đủ 1000ml).

– Tốc độ khuấy: 50 vòng/phút.

– Thời gian: 60 phút.

– Lấy mẫu và xử lý mẫu: Lọc dung dịch sau khi hoà tan. Pha loãng dịch lọc với dung dịch đệm phosphat pH 7,2 để được dung dịch ibuprofen có nồng độ thích hợp.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 221nm trong cuvet thạch anh có chiều dày 1cm với mẫu trắng là dung dịch đệm phosphat pH 7,2.

Tính hàm lượng ibuprofen theo A (1%, 1cm) là 449 ở bước sóng 221nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 85% lượng ibuprofen ($\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$) ghi trên nhãn được hoà tan trong 60 phút.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Hãy nêu các phương pháp xác định tỷ trọng d_{20} của chất lỏng.
2. Trình bày khái niệm về chỉ số khúc xạ.
3. Trình bày sơ đồ tổng quát và nguyên tắc hoạt động của máy đo góc quay cực.
4. Trình bày cách tiến hành và tính kết quả đo năng suất quay cực của chất lỏng và chất rắn.
5. Trình bày khái niệm, cách xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy của chất rắn.
6. Phân biệt khái niệm độ rã và độ hoà tan của viên nén, viên nang.
7. Trình bày cách tiến hành và đánh giá kết quả thử độ rã của viên nang Cloxacilin 500mg?
8. Trình bày cách tiến hành và đánh giá kết quả thử độ rã của viên nang bao tan trong ruột omeprazol 20mg?
9. Người ta xác định tỷ trọng ở 20°C của xirô ho bằng picnomet, kết quả thu được như sau:
 - Khối lượng của picnomet 10,0625g.
 - Khối lượng của picnomet chứa đầy xirô: 21,4280g.
 - Khối lượng của picnomet chứa đầy nước: 20,0831g.Hãy tính tỷ trọng của chế phẩm.

10. Tính góc quay cực riêng của một tinh dầu, biết rằng góc quay cực là +1,23 độ trong ống đo có chiều dài 1dm và tinh dầu có tỷ trọng là 0,8437.
11. Tính góc quay cực riêng của cloramphenicol, biết rằng góc quay cực của dung dịch 6,032% được chuẩn bị từ chế phẩm là +2,64 độ trong ống đo có chiều dài 2,2dm.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 12 và 13 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

12. Theo quy định:

a) Thử độ rã phải thử trên số viên là:

- A. 4 B. 5 C. 6 D. 7

b) Yêu cầu về độ rã đối với viên nén không bao là không quá:

- A. 14 phút B. 15 phút
C. 16 phút D. 17 phút

c) Yêu cầu về độ rã đối với viên nang thường là không quá:

- A. 20 phút B. 30 phút
C. 35 phút D. 25 phút

13. Theo quy định:

a) Khi thử độ hoà tan của viên nén, viên nang, môi trường hoà tan là dung dịch đệm thì pH phải điều chỉnh để sai khác không quá:

- A. 0,02 đơn vị B. 0,10 đơn vị
C. 0,05 đơn vị D. 0,07 đơn vị

b) Khi thử độ hoà tan của viên nén, viên nang, thời gian lấy mẫu cho phép chênh lệch so với thời gian quy định là:

- A. $\pm 1\%$ B. $\pm 3\%$
C. $\pm 4\%$ D. $\pm 2\%$

14. Viết cụm từ còn thiếu vào chỗ trống trong câu sau:

- a) Độ hoà tan của viên nén, viên nang là tỷ lệ hoạt chất được ra khỏi dạng thuốc theo thời gian với các điều kiện quy định trong từng chuyên luận.
- b) Độ rã của viên nén, viên nang là khả năng..... của chúng trong môi trường thử theo quy định.

Bài 8

KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT, THUỐC CỐM

MỤC TIÊU

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc bột, thuốc cốm.
- Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
- Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc bột.

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT

1.1. Khái niệm

Thuốc bột là dạng thuốc rắn, khô toi, để uống, tiêm hoặc dùng ngoài, được bào chế từ một hay nhiều loại bột thuốc có kích thước xác định, bằng cách trộn đều thành hỗn hợp đồng nhất:

1.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

1.2.1. Cảm quan

- Bột phải khô toi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất. Mùi vị tùy theo từng loại chế phẩm của các nhà sản xuất.
- Cách thử: Trải một lượng bột vừa đủ thành một lớp mỏng trên một tờ giấy trắng mịn. Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên.
- Đánh giá: Chế phẩm đạt yêu cầu nếu đạt như mô tả.

1.2.2. Độ ẩm

- Các thuốc bột không được chứa hàm lượng nước quá 9,0%, trừ chỉ dẫn khác.

– Cách thử:

+ Tùy theo từng chế phẩm mà có yêu cầu sử dụng phương pháp xác định độ ẩm khác nhau như: Sấy trong tủ sấy ở áp suất thường, sấy ở áp suất giảm, làm khô trong bình hút ẩm với những chất hút nước mạnh như acid sulfuric đậm đặc,...

+ Để xác định độ ẩm của chế phẩm thuốc bột, người ta dùng hộp lồng thủy tinh hoặc chén cân có nắp mài làm bì đựng mẫu thử. Bì được làm khô trong 30 phút theo phương pháp và điều kiện quy định của chuyên luận, để nguội trong bình hút ẩm, sau đó cân xác định khối lượng. Cân ngay vào bì một khối lượng chính xác mẫu thử theo quy định trong chuyên luận. Mẫu thử được dàn thành lớp mỏng có độ dày không quá 5mm. Nếu mẫu thử có kích thước lớn thì nghiền nhanh trước khi cân. Tiến hành làm khô trong điều kiện quy định với cùng dụng cụ đã làm khô bì. Sau khoảng thời gian quy định, lấy chén cân ra, để nguội tới nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm, rồi cân ngay.

1.2.3. Độ mịn

– Thuốc bột phải đạt độ mịn quy định trong chuyên luận riêng tùy theo từng chế phẩm.

Phép thử này thường được dùng cho tất cả các thuốc bột kếp, các thuốc bột dùng để đắp, thuốc bột dùng để pha chế thuốc dùng cho mắt, tai.

Các cỡ bột được quy định dựa vào các số của rây.

– Cách thử: Chọn cỡ rây thích hợp theo quy định của tiêu chuẩn. Cân một lượng thuốc bột, đem rây qua rây có cỡ quy định.

+ Đối với bột thô hoặc nửa thô: lấy 25g – 100g bột. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 20 phút và rây tới khi xong. Cân chính xác số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

+ Đối với bột nửa mịn, mịn hay rất mịn: lấy không quá 25g bột, cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 30 phút rồi rây tới khi xong. Cân chính xác số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

+ Đối với chất có dầu hay bột có xu hướng bít mắt rây thì trong quá trình rây thỉnh thoảng chải cẩn thận mắt rây, tách rời những đồng tụ lại khi rây.

– Thuốc bột đạt tiêu chuẩn về độ mịn nếu:

+ Khi quy định dùng một rây để xác định cỡ bột thì không được có dưới 97% khối lượng thuốc bột qua được cỡ rây đó.

+ Khi quy định dùng 2 rây để xác định cỡ bột thì để rây có số rây cao hơn lên trên rây có số rây thấp hơn và tiến hành rây; không được có dưới 95% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây cao hơn và không được quá 40% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây thấp hơn.

Quy định sử dụng cỡ rây để xác định độ mịn của thuốc bột được trình bày ở bảng 9.

Bảng 9. Quy định cỡ rây để xác định độ mịn của thuốc bột

Cỡ bột	Dùng 1 rây	Dùng 2 rây
– Bột thô	1400	1400/355
– Bột nửa thô	710	710/250
– Bột nửa mịn	355	355/180
– Bột mịn	180	180/125
– Bột rất mịn	125	125/90

Ví dụ:

Để kiểm tra độ mịn của bột sắt trắng A có yêu cầu là bột mịn, dùng 2 rây số 180 và 125. Người ta làm như sau: để rây số 180 lên trên rây số 125, cho 10,0027g chế phẩm lên rây số 180 và tiến hành rây. Lượng bột qua rây số 180 là 9,6703g; toàn bộ bột qua rây số 180 được rây qua rây số 125 và lượng bột qua rây số 125 là 3,5935 g.

Lượng chế phẩm (%) qua rây số cao hơn là:

$$\frac{9,6703}{10,0027} \times 100 = 96,68\%$$

Lượng chế phẩm (%) qua rây số thấp hơn là:

$$\frac{3,5935}{10,0027} \times 100 = 35,93\%$$

Ta thấy, lượng chế phẩm qua rây có cỡ rây cao hơn là 96,68% > 95% và lượng chế phẩm qua rây có cỡ rây nhỏ hơn là 35,93% < 40%, do đó chế phẩm đạt yêu cầu về độ mịn.

1.2.4. Độ đồng đều khối lượng

– Những thuốc bột không quy định thử độ đồng đều hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng. Riêng thuốc bột để pha tiêm hoặc truyền tĩnh mạch, nếu khối lượng nhỏ hơn hoặc bằng 40mg thì không phải thử độ đồng đều khối lượng nhưng phải đạt yêu cầu độ đồng đều hàm lượng.

– Cách thử: Cân từng đơn vị trong số 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất được lấy bất kỳ. Khối lượng thuốc phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 10.

Tất cả các đơn vị phải đạt quy định trong bảng.

Nếu có một đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài quy định này thì thử lại với 5 đơn vị khác, nếu lần thử lại có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

Bảng 10. Giới hạn cho phép chênh lệch khối lượng đối với thuốc bột

<i>Khối lượng ghi trên nhãn</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Dưới hoặc bằng 0,50g	± 10
Trên 0,50 – 1,50g	± 7
Trên 1,50 – 6,00g	± 5
Trên 6,00g	± 3

Đối với các chế phẩm đóng gói trong hộp, lọ thì sau khi cân cả vỏ phải bỏ hết thuốc ra, dùng bông lau sạch thuốc, cân vỏ rồi tính theo lượng thuốc trong từng hộp hoặc lọ.

Độ chênh lệch được tính theo tỷ lệ phần trăm so với khối lượng trung bình bột thuốc trong một đơn vị đóng gói.

1.2.5. Độ đồng đều hàm lượng

Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho các thuốc bột để uống, để tiêm được trình bày trong các đơn vị đóng gói một liều có chứa một hoặc nhiều hoạt chất, trong đó có các hoạt chất có hàm lượng dưới 2mg hoặc dưới 2% (KL/KL) so với khối lượng thuốc một liều.

Phép thử đồng đều hàm lượng được tiến hành sau phép thử định lượng và hàm lượng hoạt chất đã ở trong giới hạn quy định.

– Cách thử: lấy 10 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, xác định hàm lượng hoạt chất từng gói theo phương pháp định lượng chỉ dẫn trong chuyên luận.

– Cách đánh giá:

+ Chế phẩm đem kiểm tra đạt yêu cầu phép thử nếu không quá một đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình và không có đơn vị nào nằm ngoài giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình.

+ Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử nếu quá 3 đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình, hoặc 1 đơn vị trở lên nằm ngoài giới hạn 75 – 125% của hàm lượng.

+ Nếu hai hoặc ba đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% nhưng ở trong giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình thì thử lại trên 20 đơn vị khác, lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu, nếu không quá 3 đơn vị trong tổng số 30 đơn vị đem thử có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình và không có đơn vị nào có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình.

1.2.6. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc bột phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.7. Định lượng

Lấy thuốc của 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, trộn đều. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 11.

Bảng 11. Giới hạn cho phép về hàm lượng hoạt chất đối với thuốc bột, thuốc cốm

<i>Lượng ghi trên nhãn</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Tối 100mg	± 15
Trên 100mg tới 1g	± 10
Trên 1g đến 5g	± 5
Trên 5g	± 1

1.2.8. Giới hạn nhiễm khuẩn

– Thuốc bột có nguồn gốc dược liệu phải đạt yêu cầu "Giới hạn nhiễm khuẩn".

– Cách thử: Tiến hành thử và đánh giá theo "Thử giới hạn nhiễm khuẩn" – mục 2, bài 13.

1.3. Các loại thuốc bột

1.3.1. Thuốc bột để uống

– Thuốc bột để uống phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột.

Thuốc bột sủi bọt phải đạt thêm yêu cầu về độ tan.

– Cách thử: Thả một lượng thuốc bột tương ứng với một liều vào một cốc thủy tinh có chứa 200ml nước ở nhiệt độ 15 – 20°C, xuất hiện nhiều bọt khí bay ra. Khi hết bọt khí bay ra, thuốc phải tan hoàn toàn. Thử như vậy với 6 liều đơn. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu mỗi liều thử đều tan trong vòng 5 phút, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

1.3.2. Thuốc bột dùng ngoài

Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột. Ngoài ra, phải đạt các yêu cầu riêng sau:

– Độ vô khuẩn: Thuốc bột để đắp, dùng cho vết thương rộng hoặc trên da bị tổn thương nặng, thuốc bột dùng cho mắt phải vô khuẩn.

– Cách thử: Thường tiến hành thử và đánh giá theo "Thủ vô trùng" – mục 3, bài 13.

1.3.3. Thuốc bột pha tiêm

– Thuốc bột pha tiêm đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột và yêu cầu đối với thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền dạng bột như: độ vô khuẩn, chất gây sốt,...

– Cách thử: theo cách thử ở chuyên luận thuốc tiêm.

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC CỐM

2.1. Khái niệm

Thuốc cốm là chế phẩm có dạng hạt nhỏ xộp hay sợi ngắn xộp, thường dùng để uống, nhai, hay pha vào nước hay một chất lỏng thích hợp hoặc pha thành dung dịch, hỗn dịch hay xirô.

2.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

2.2.1. Cảm quan

– Có dạng hạt nhỏ xộp hay sợi ngắn xộp, khô, đồng đều về hình dạng và màu sắc, không có hiện tượng hút ẩm, bị mềm và biến màu.

– Cách thử: Trãi một lượng bột vừa đủ thành một lớp mỏng trên một tờ giấy trắng mịn. Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên.

Đánh giá: Chế phẩm đạt yêu cầu nếu đạt như mô tả.

2.2.2. Độ ẩm

– Các thuốc cốm không được chứa hàm lượng nước quá 5,0%, trừ chỉ dẫn khác.

– Cách thử:

+ Đa số các thuốc cốm: sử dụng phương pháp làm khô (Dược điển Việt Nam III – Phụ lục 5.16).

+ Đối với thuốc cốm chứa tinh dầu: thử bằng phương pháp cất với dung môi (Dược điển Việt Nam III – Phụ lục 9.6).

2.2.3. Kích thước hạt - tỷ lệ vụn nát

Nếu không có chỉ dẫn riêng trong chuyên luận, cân thuốc của 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ. Rây qua rây số 2000 và rây số 250. Toàn bộ cốm phải qua rây số 2000. Tỷ lệ vụn nát qua rây số 250 không quá 8% khối lượng toàn phần.

2.2.4. Độ đồng đều khối lượng

– Cân từng đơn vị trong số 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất được lấy bất kỳ. Khối lượng thuốc phải nằm trong giới hạn $\pm 5\%$ so với khối lượng ghi trên nhãn.

– Nếu có một đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài quy định này thì thử lại với 5 đơn vị khác, nếu lần thử lại có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

2.2.5. Độ đồng đều hàm lượng

– Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho các thuốc cốm đóng gói một liều, có chứa một hoặc nhiều hoạt chất, trong đó có các hoạt chất có hàm lượng dưới 2mg hoặc dưới 2% (KL/KL) so với khối lượng thuốc cốm trong một liều.

– Đối với chế phẩm có hàm lượng hoạt chất ở trong giới hạn quy định trong phép thử định lượng. Tùy theo yêu cầu cụ thể của chế phẩm dạng đơn liều mà quy định thử độ đồng đều hàm lượng trong chuyên luận riêng.

– Cách thử: lấy 10 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, xác định hàm lượng hoạt chất từng gói theo phương pháp định lượng chỉ dẫn trong chuyên luận.

– Cách đánh giá: Giống như đối với thuốc bột.

2.2.6. Xác định tính hoà tan

Thêm 20 phần nước nóng vào 1 phần thuốc cốm, khuấy trong 5 phút. Đối với loại thuốc cốm tan, phải hoàn toàn tan hết. Đối với dạng thuốc cốm dạng treo phải lơ lửng đều trong nước, không được có những chất lạ của những mảnh bị cháy.

2.2.7. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc cốm phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

2.2.8. Định lượng

Lấy thuốc của 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, trộn đều. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 11.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc bột.
2. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc cốm.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 3 đến 6 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

3. Hãy lựa chọn rây khi tiến hành xác định độ mịn trong trường hợp dùng 1 rây của bột có yêu cầu về độ mịn như sau:
a) Bột thô
A. 2000 B. 355 C. 710 D. 1400
b) Bột nửa thô
A. 180 B. 355 C. 710 D. 1400
c) Bột nửa mịn
A. 1400 B. 125 C. 710 D. 355
4. Hãy lựa chọn rây khi tiến hành xác định độ mịn trong trường hợp dùng 2 rây của bột có yêu cầu về độ mịn như sau:
a) Bột mịn
A. 125/90 B. 710/250 C. 180/125 D. 355/180

- b) Bột rất mịn
 A. 125/90 B. 710/250 C. 180/125 D. 355/180
5. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của chế phẩm thuốc bột được đóng gói như sau:
- a) Bột cam cóc 15g
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 3\%$ C. $\pm 7\%$ D. $\pm 5\%$
- b) Biosubtin 1g
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 7\%$ C. $\pm 3\%$ D. $\pm 5\%$
- c) Augmentin 0,5g
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 8\%$ D. $\pm 5\%$
- d) Magnesi sulfat 5g
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 6\%$ C. $\pm 8\%$ D. $\pm 5\%$
6. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm thuốc cốm so với hàm lượng ghi trên nhãn như sau:
- a) Thuốc cốm có chứa hoạt chất paracetamol 325mg trong 1 gói:
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 8\%$ D. $\pm 15\%$
- b) Thuốc cốm có chứa hoạt chất acid clavulanic 62,5mg trong 1 gói:
 A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 8\%$ D. $\pm 15\%$
7. Thuốc cốm hạ sốt trẻ em đóng gói 5g có đạt tiêu chuẩn về độ đồng đều khối lượng không? Biết rằng khi cân 5 gói riêng biệt được kết quả:
 5,2030g; 4,9674g; 5,0923g; 4,7645g;
 4,8845 g.

Bài 9

KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG, VIÊN NÉN

MỤC TIÊU

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc viên nang, viên nén.
- Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
- Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc viên nang, viên nén.

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG

1.1. Khái niệm

Viên nang là dạng thuốc uống chứa một hay nhiều hoạt chất trong vỏ nang cứng hay mềm với nhiều kiểu dáng và kích thước khác nhau. Vỏ nang được làm từ gelatin và có thể được thêm các phụ gia không gây độc hại cho cơ thể. Thuốc chứa trong nang có thể là dạng rắn, lỏng hay dạng kem.

1.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

1.2.1. Tính chất

- Nang cứng hoặc nang mềm chứa bột, hoặc cốm, hoặc chất lỏng.
- Cách thử: Thử bằng cảm quan.

1.2.2. Độ đồng đều khối lượng

Cân khối lượng của một nang, với viên nang cứng thì tháo rời hai nửa vỏ nang thuốc đó ra, dùng bông lau sạch vỏ rồi cân khối lượng của vỏ; với viên nang mềm, cắt mở nang, bóp thuốc ra hết rồi dùng ether hoặc dung môi hữu cơ

thích hợp rửa sạch vỏ nang, để khô tự nhiên tới khi hết mùi dung môi, cân khối lượng vỏ. Khối lượng thuốc trong nang là hiệu giữa khối lượng nang thuốc và vỏ nang. Làm như vậy với 19 nang khác được lấy bất kỳ. Độ chênh lệch khối lượng của từng viên với khối lượng trung bình phải đạt theo quy định ở bảng 12.

Bảng 12. Giới hạn cho phép chênh lệch khối lượng đối với viên nang

<i>Khối lượng trung bình nang</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Nhỏ hơn 300mg	± 10
Lớn hơn hoặc bằng 300mg	$\pm 7,5$

Nếu có yêu cầu thử độ đồng đều hàm lượng thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

1.2.3. Độ đồng đều hàm lượng

Dùng toàn bộ bột thuốc của riêng từng viên nang, tiến hành thử và đánh giá như đối với thuốc bột – phần 1.2.5, mục 1.2, bài 8 (Độ đồng đều hàm lượng).

1.2.4. Độ rã

Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Phép thử độ rã viên nén và viên nang" – mục 5, bài 7.

Viên không cần thử độ rã khi phép thử độ hoà tan được thực hiện.

1.2.5. Độ hoà tan

– Trong DDVN III, nhiều chế phẩm thuốc viên đã yêu cầu đánh giá độ hoà tan. Khi có yêu cầu sẽ chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

– Cách thử: Tiến hành theo "Phép thử độ hoà tan của viên nén và viên nang" – mục 6, bài 8.

1.2.6. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, viên nang phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.7. Định lượng

Xác định khối lượng trung bình viên, dùng 20 viên (cân cả viên, bỏ thuốc ra và lau sạch vỏ nang, cân vỏ nang), làm đồng nhất bằng cách nghiền đối với viên nang chứa bột; cốm hoặc trộn đều đối với nang chứa chất lỏng. Tiến hành

định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 13.

1.2.8. Tạp chất (nếu có)

Khi có yêu cầu sẽ chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Bảng 13. Giới hạn cho phép về hàm lượng đối với thuốc viên nang, viên nén

<i>Lượng ghi trên nhãn</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Tới 50mg	±10
Trên 50mg tới 100mg	±7,5
Trên 100mg	±5

1.3. Các loại viên nang

Tiêu chuẩn chất lượng của các loại viên nang phải tuân theo yêu cầu chung của thuốc viên nang và yêu cầu riêng đối với từng loại.

1.3.1. Thuốc nang cứng

Thuốc nang cứng có vỏ nang gồm hai phần hình trụ lồng khít vào nhau, mỗi phần có một đầu kín, đầu kia hở. Thuốc đóng trong nang thường ở dạng rắn như bột hoặc cốm.

Ví dụ: Viên nang ampicilin 500mg.

Viên nang cephalixin 250mg.

1.3.2. Thuốc nang mềm

Thuốc nang mềm có vỏ nang là một khối mềm với các hình dạng khác nhau. Thuốc đóng trong nang thường ở dạng dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương.

Ví dụ: Viên nang mềm vitamin A 1000UI.

Viên nang mềm vitamin E 100UI.

1.3.3. Thuốc nang tan trong ruột

Thuốc nang tan trong ruột là các nang cứng hoặc nang mềm có vỏ nang bền vững với dịch dạ dày, chỉ tan trong dịch ruột; hoặc các nang có đóng cốm được bao lớp chỉ tan trong dịch ruột.

Ví dụ: Viên nang omeprazol 20mg.

1.4. Ví dụ

Kiểm nghiệm viên nang amoxicilin 500mg:

Viên nang amoxicilin là nang cứng có chứa amoxicilin trihydrat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với "Thuốc viên nang" và các yêu cầu riêng của chế phẩm:

Hàm lượng amoxicilin $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ từ 92,5 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn (tính theo loại khan).

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà, không mùi hay gần như không mùi.	Cảm quan.
2. Định tính	Amoxicilin.	Theo chuyên luận riêng.
3. Độ đồng đều khối lượng	Khối lượng trung bình $\pm 7,5\%$.	Theo chuyên luận chung.
4. Nước	Không quá 14,5%.	Phương pháp Karl Fisher.
5. Độ hoà tan	Không được ít hơn 70,0% amoxicilin $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan sau 60 phút.	Theo chuyên luận riêng.
6. Định lượng	Hàm lượng amoxicilin $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ phải từ 92,5 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn (tính theo loại khan).	Theo chuyên luận riêng.

b) Thuốc thử (theo ĐVN III)

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần thuốc thử.

- Dung dịch natri hydroxyd 1N.
- Dung dịch acid hydrocloric 1N.
- Dung dịch ninhydrin 0,3% trong ethanol: Hoà tan 0,3g ninhydrin trong ethanol và thêm ethanol vừa đủ 100ml.
- Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric: Hoà tan 0,2g formaldehyd trong 10ml acid sulfuric đậm đặc.

– Dung dịch iod 0,01N: Hoà tan 13g iod tinh thể vào một dung dịch chứa 20g kali iodid trong 50ml nước. Pha loãng với nước vừa đủ 1 lít. Pha loãng 10ml dung dịch này thành 100ml bằng nước.

– Dung dịch natri thiosulfat 0,01N: Hoà tan 26g natri thiosulfat và 0,1g natri carbonat trong nước không có carbon dioxyd vừa đủ 1 lít. Pha loãng với nước vừa đủ 1 lít. Pha loãng 10ml dung dịch này thành 100ml bằng nước.

– Dung dịch amoxicilin chuẩn 1mg/ml (C_0): Cân chính xác một lượng amoxicilin trihydrat chuẩn tương ứng khoảng 100mg amoxicilin và cho vào bình định mức 100ml. Hoà tan và thêm nước vừa đủ 100ml.

c) Phương pháp thử

Định tính:

– Sắc ký lớp mỏng:

+ Bản mỏng Silicagelg dày khoảng 0,25mm, hoạt hoá ở 100°C trong 1 giờ.

+ Hệ dung môi khai triển: Aceton – nước – toluen – acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)

+ Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 100mg amoxicilin trong 20ml hỗn hợp gồm aceton – acid hydrocloric 0,1N (4 : 1). Lọc.

+ Dung dịch chuẩn: Hoà tan 50mg amoxicilin (chất đối chiếu) trong 10ml hỗn hợp gồm aceton – acid hydrocloric 0,1N (4 : 1).

+ Tiến hành: Chấm riêng biệt 2µl mỗi dung dịch chuẩn và thử lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch ninhydrin 0,3% trong ethanol, rồi sấy ở 90°C trong 15 phút.

Trên sắc ký đồ, vết của dung dịch thử và của dung dịch chuẩn phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f .

– Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng 0,2g amoxicilin với 2ml nước trong 5 phút, lọc. Rửa cặn lúc đầu với ethanol, sau đó với ether. Lấy khoảng 2mg cặn thu được vào một ống nghiệm, làm ẩm bằng 0,05ml nước và thêm 2ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric. Lắc đều. Dung dịch thu được không màu. Đun trong cách thủy một phút, xuất hiện màu vàng sẫm.

Nước:

Không quá 14,5%. Phương pháp Karl Fisher, dùng khoảng 0,100g bột thuốc – Phụ lục 6.6 – ĐĐVN III.

Độ hoà tan (Phụ lục 8.4 – ĐĐVN III):

- Thiết bị kiểu giỏ quay.
- Tốc độ quay: 75 vòng/phút.
- Môi trường hoà tan: 900ml nước.
- Thời gian: 60 phút.

– Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch, lọc, bỏ vài ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 272nm (Phụ lục 3.1 – ĐĐVN), trong cốc đo dày 1cm, so với mẫu trắng là nước. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong nước có nồng độ tương đương.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70,0% amoxicilin $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan sau 60 phút.

Định lượng:

Amoxicilin trong chế phẩm được định lượng bằng phương pháp đo iod, ở nhiệt độ $25 \pm 2^\circ C$. Cách tiến hành như sau:

– Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình thuốc trong nang m_{TB} (mg), nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc m_T (mg) tương ứng với khoảng 100mg amoxicilin, hoà tan trong nước vừa đủ 100ml. Lắc kỹ, lọc, bỏ khoảng 20ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 2,00ml dung dịch thử cho vào bình nón nút mài có dung tích 100ml, thêm 2,0ml dung dịch natri hydroxyd 1N, lắc đều, để yên 15 phút. Thêm 2,4ml dung dịch acid hydrocloric 1N và 10,0ml dung dịch iod 0,01 N, đậy ngay nút bình. Để yên 15 phút, chuẩn độ iod thừa bằng dung dịch natri thiosulfat 0,01N đến khi dung dịch có màu vàng. Thêm 2 giọt chỉ thị hồ tinh bột và chuẩn độ tiếp đến khi mất màu. Ghi v_T ml.

Lấy chính xác 2,00ml dung dịch thử cho vào bình nón nút mài khác có dung tích 100ml, thêm 0,12ml dung dịch acid hydrocloric 1N và 10,0ml dung dịch iod 0,01 N. Chuẩn độ ngay bằng dung dịch natri thiosulfat 0,01N đến khi dung dịch có màu vàng. Thêm 2 giọt chỉ thị hồ tinh bột và chuẩn độ tiếp đến khi mất màu. Ghi V_T ml.

– Dung dịch chuẩn: Cân chính xác Ag amoxicilin trihydrat chuẩn tương ứng khoảng 100mg amoxicilin hoà tan trong nước vừa đủ 100ml.

Song song tiến hành như dung dịch thử, bắt đầu từ "Lấy chính xác 2,00ml,...". Thể tích dung dịch natri thiosulfat 0,01N dùng cho mẫu chuẩn là v_C ml và mẫu trắng là V_C ml.

Hàm lượng amoxicilin (%) so với lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức:

$$\frac{(V_T - v_T) \times A \times C \times (100 - B) \times m_{TB} \times 100}{(V_C - v_C) \times m_T \times 10000 \times D}$$

Trong đó: C là lượng (g) amoxicilin có trong 100g amoxicilin chuẩn.

B là lượng (g) nước có trong 100g amoxicilin trihydrat chuẩn.

D là lượng (g) amoxicilin trong một nang theo nhãn.

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NÉN

2.1. Khái niệm

Viên nén là chế phẩm rắn dùng để uống, nuốt hoặc nhai, có thể hoà với nước trước khi uống hoặc ngậm trong miệng. Mỗi viên chứa một liều của một hay nhiều hoạt chất, được điều chế bằng cách nén nhiều khối hạt nhỏ đồng đều của các chất.

2.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

2.2.1. Tính chất

Viên nén thường có dạng hình trụ dẹt, hai đáy phẳng hoặc cong, có thể khắc chữ, ký hiệu hoặc rãnh. Cạnh và thành viên lành lặn. Màu sắc đồng nhất.

Cách thử: Bằng cảm quan.

2.2.2. Độ rã

Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Phép thử độ rã viên nén và viên nang" – mục 5, bài 7.

Viên không cần thử độ rã khi phép thử độ hoà tan được thực hiện.

2.2.3. Độ đồng đều khối lượng

Cân chính xác 20 viên bất kỳ và xác định khối lượng trung bình của viên. Cân riêng khối lượng từng viên và so sánh với khối lượng trung bình, tính độ lệch theo tỷ lệ phần trăm của khối lượng trung bình, từ đó tính ra khoảng giới hạn của giá trị trung bình. Không được quá 2 viên có khối lượng chênh lệch

quá khoảng giới hạn của khối lượng trung bình và không được có viên nào có chênh lệch quá gấp đôi độ lệch tính theo tỷ lệ phần trăm, theo bảng 14.

Bảng 14. Giới hạn cho phép chênh lệch khối lượng đối với viên nén

<i>Khối lượng trung bình viên</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Tới 80mg	± 10
Trên 80mg đến 250mg	± 7,5
Trên 250mg	± 5

Nếu có yêu cầu thử độ đồng đều hàm lượng thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Ví dụ: Thử độ đồng đều khối lượng của viên nén vitamin C 100mg. Kết quả thu được như sau:

124,0mg	109,6mg	116,2mg	120,1mg	118,0mg
107,8mg	116,9mg	122,3mg	114,5mg	120,3mg
119,4mg	109,2mg	117,2mg	112,6mg	111,9mg
115,3mg	120,8mg	118,3mg	113,9mg	116,1mg

$$\text{Khối lượng trung bình } m_{TB} = \sum_{i=1}^{20} m_i = 116,22\text{mg}$$

Giới hạn cho phép $m_{TB} \pm 7,5\%$ tức là khối lượng viên nằm trong khoảng: 107,5 – 124,9mg.

Từ kết quả thu được ở trên ta thấy chế phẩm đạt yêu cầu về chỉ tiêu độ đồng đều khối lượng.

2.2.4. Độ đồng đều hàm lượng

Tiến hành thử trên 10 viên, riêng từng viên và đánh giá như đối với thuốc bột – phần 1.2.5, mục 1.2, bài 8 (Độ đồng đều hàm lượng).

2.2.5. Độ hoà tan

Chỉ thực hiện khi có yêu cầu được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Phép thử độ hoà tan của viên nén và viên nang" (mục 6, bài 7).

2.2.6. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, viên nén phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

2.2.7. Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên. Nghiền mịn. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép, theo bảng 12.

2.2.8. Tạp chất (nếu có)

Khi có yêu cầu sẽ chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

2.3. Các loại viên nén

Tiêu chuẩn chất lượng của các loại viên nén phải tuân theo yêu cầu chung của thuốc viên nén và yêu cầu riêng đối với từng loại.

2.3.1. Viên nén không bao

Gồm các viên nén được bào chế bằng cách nén các hạt gồm dược chất, tá dược. Viên nén loại này không chứa một thành phần nào để thay đổi sự giải phóng hoạt chất trong đường tiêu hoá. Khi bẻ gãy viên nén một lớp và quan sát bằng kính lúp thì thấy đồng nhất, không có lớp bao ngoài.

Ví dụ: Viên nén Acid ascorbic 100mg.

Viên nén Paracetamol 500mg.

2.3.2. Viên bao

Viên bao có bề mặt nhẵn, thường có màu, được đánh bóng. Lấy một phần viên đã bẻ gãy, quan sát dưới kính lúp, thấy rõ nhân được bao bằng một lớp hay nhiều lớp.

Ví dụ: Viên nén Ospan 500mg.

Viên nén Cimetidin 400mg.

2.3.3. Viên bao bền với dịch vị dạ dày

Viên được bao bằng lớp bao bền với dịch vị dạ dày nhưng lại tan được trong dịch ruột do sử dụng các chất bao là cellacephate (cellulose acetat phtalate) và các polymer.

Ví dụ: Viên nén Aspirin pH 8.500mg.

Viên nén Diclofenac 50mg.

2.3.4. Viên nén sủi bọt

Là viên nén không bao có chứa các acid và carbonat hoặc hydrocarbonat, chúng phản ứng với nhau rất nhanh khi có mặt của nước và giải phóng CO₂, đồng thời hoà tan hay phân tán hoạt chất trong nước trước khi dùng.

Ví dụ: Viên nén Effergal vitamin C.

Viên nén Plusssz multivitamin.

2.3.5. Viên ngậm

Viên ngậm thường là viên nén không bao được điều chế để các thành phần và hoạt chất giải phóng dần và tác dụng tại chỗ, giải phóng và hấp thụ ở dưới lưỡi hoặc ở các phần khác trong miệng.

Ví dụ: Viên nén Adalat 5mg.

Viên nén α – Chymotrypsin.

2.3.6. Viên nén tan trong nước

Viên nén tan trong nước là viên nén không bao, hoà tan trong nước. Dung dịch tạo thành có thể hơi đục nhẹ.

Ví dụ: Viên nén hydrite.

2.3.7. Viên nén thay đổi giải phóng hoạt chất

Thường là viên bao hoặc không bao, được điều chế bằng cách thêm các tá dược đặc biệt hoặc điều chế theo phương pháp đặc biệt nhằm thay đổi tốc độ giải phóng hoặc vị trí giải phóng của thuốc.

Viên nén thay đổi giải phóng hoạt chất thường không yêu cầu thử độ rã mà phải thử độ hoà tan.

Ví dụ: Viên nén Profenid LP 200mg.

Viên nén Diamicron MR 30mg.

2.4. Ví dụ

Kiểm nghiệm viên nén Aspirin 500mg – DĐVN III

Là viên nén chứa acid acetylsalicylic

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với "Thuốc viên nén" và các yêu cầu riêng của chế phẩm.

Hàm lượng của acid acetylsalicylic ($C_9H_8O_4$) từ 95,0 đến 105,0% so với lượng ghi trên nhãn.

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Viên màu trắng.	Cảm quan.
2. Định tính	Acid acetylsalicylic.	Theo chuyên luận riêng.
3. Độ đồng đều khối lượng	Khối lượng trung bình $\pm 5\%$.	Theo chuyên luận chung.
4. Độ hoà tan	Không được ít hơn 70% lượng acid acetylsalicylic $C_9H_8O_4$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 phút.	Theo chuyên luận riêng.
5. Giới hạn acid salicylic tự do	Không được quá 0,3%.	Theo chuyên luận riêng.
6. Định lượng	Hàm lượng của acid acetylsalicylic ($C_9H_8O_4$) từ 95,0 đến 105,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.

b) Thuốc thử (theo ĐBVN III)

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần thuốc thử – bài 4 và Phụ lục 2.8 – ĐBVN III.

- Dung dịch natri hydroxyd 10%.
- Dung dịch acid sulfuric 10%.
- Dung dịch sắt (III) clorid 0,5%.
- Natri acetat.
- Acid acetic băng.
- Ethanol 96%.
- Dung dịch phen sắt amoni 0,2%.
- Dung dịch chuẩn độ natri hydroxyd 0,5 N.
- Dung dịch chuẩn độ acid hydrocloric 0,5 N.
- Dung dịch chỉ thị đỏ phenol.

c) Phương pháp thử

Định tính:

Đun sôi 0,3g bột viên trong 2 đến 3 phút với 10ml dung dịch natri hydroxyd 10% (TT). Để nguội, thêm dung dịch acid sulfuric 10% (TT) cho đến khi thừa acid, sẽ có tủa kết tinh và có mùi acid acetic. Thêm 1ml dung dịch sắt (III) clorid 0,5% (TT) sẽ có màu tím.

Độ hoà tan (Phụ lục 8.4 – DDVN III):

- Thiết bị kiểu cánh khuấy.
- Môi trường hoà tan: 500ml dung dịch đệm pH 4,5 được pha bằng cách hoà tan 29,9g natri acetat trong nước, thêm 16,6ml acid acetic băng và thêm nước vừa đủ 10.000ml.
- Tốc độ quay: 50 vòng/phút.
- Thời gian: 45 phút.
- Cách tiến hành: Hút 20ml dung dịch mẫu thử, lọc. Đo ngay lập tức độ hấp thụ ánh sáng của dịch lọc (nếu cần, pha loãng với môi trường hoà tan) ở bước sóng 265nm (Phụ lục 3.1 – DDVN III), trong cốc đo dày 1cm, so với mẫu trắng là môi trường hoà tan.

Song song đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn có nồng độ tương đương được pha trong môi trường hoà tan.

Từ hàm lượng $C_9H_8O_4$ trong acid acetylsalicylic chuẩn, tính hàm lượng $C_9H_8O_4$ có trong dung dịch mẫu thử.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70% lượng acid acetylsalicylic $C_9H_8O_4$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 phút.

Giới hạn acid salicylic tự do:

- Không được quá 0,3%.
- Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,2g acid acetylsalicylic, lắc với 4ml ethanol 96% (TT) và pha loãng với nước đến 100ml ở nhiệt độ không quá 10°C. Lọc ngay bằng giấy lọc và lấy 50ml dịch lọc, thêm 1ml dung dịch phen sắt amoni 0,2% (TT) mới pha, trộn đều và để yên trong 1 phút. Dung dịch này không được có màu tím thâm hơn màu của dung dịch mẫu (gồm 1ml dung dịch phen sắt amoni 0,2% mới pha và hỗn hợp của 3ml dung dịch acid salicylic 0,010% (KL/TT) mới pha, 2ml ethanol 96% (TT) và nước vừa đủ 50ml). Tiến

hành thử trong 2 ống nghiệm Nessler hoặc cho vào hai ống nghiệm giống nhau để so sánh màu của chúng.

Định lượng:

Cân chính xác 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,5g acid acetylsalicylic. Thêm 30ml dung dịch natri hydroxyd 0,5 N đun sôi nhẹ trong 10 phút, rồi chuẩn độ lượng natri hydroxyd 0,5 N thừa bằng dung dịch acid hydrocloric 0,5 N, dùng dung dịch đỏ phenol làm chỉ thị (CT). Thử một mẫu trắng như trên nhưng không có chế phẩm. Hiệu số giữa 2 lần chuẩn độ biểu thị lượng dung dịch natri hydroxyd đã dùng để định lượng.

1ml dung dịch natri hydroxyd 0,5 N, tương đương với 45,04mg $C_9H_8O_4$.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của viên nang?
2. Trình bày cách thử độ đồng đều khối lượng của viên nang cephalexin 250mg?

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 3 đến 5 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

3. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của viên nén, viên nang như sau:
 - a) Viên nén vitamin C có khối lượng trung bình viên là 0,1532g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 6\%$ C. $\pm 5\%$ D. $\pm 7,5\%$
 - b) Viên nén paracetamol có khối lượng trung bình viên là 0,6953g
A. $\pm 8\%$ B. $\pm 7,5\%$ C. $\pm 5\%$ D. $\pm 6\%$
 - c) Viên nang cloramphenicol có khối lượng trung bình viên là 0,2896g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 5\%$ D. $\pm 8\%$
 - d) Viên nang ampicilin có khối lượng trung bình viên là 0,6385g
A. $\pm 12\%$ B. $\pm 5\%$ C. $\pm 7,5\%$ D. $\pm 10\%$
4. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm viên nén, viên nang so với hàm lượng ghi trên nhãn như sau:
 - a) Viên nang nifedipin 5mg
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 11\%$ D. $\pm 8\%$

b) Viên nang omeprazol 20mg

A. $\pm 12\%$

B. $\pm 10\%$

C. $\pm 7,5\%$

D. $\pm 5\%$

c) Viên nang cloramphenicol 250mg

A. $\pm 10\%$

B. $\pm 6\%$

C. $\pm 7,5\%$

D. $\pm 5\%$

5. Các chế phẩm sau đây, chế phẩm nào cần xác định độ đồng đều hàm lượng:

A. Viên nén gacdenal 5mg.

B. Viên nang amoxicilin 250mg.

C. Viên nang ciprofloxacin 250mg.

D. Viên nén diazepam 1,5mg.

E. Viên nén dopegit 0,5mg.

6. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc viên nén.

7. Người ta đánh giá độ đồng đều hàm lượng haloperidol của viên nén haloperidol 1,5mg. Kết quả (mg/viên) thu được sau khi định lượng 10 viên riêng biệt như sau: 1,537 – 1,480 – 1,245 – 1,632 – 1,571 – 1,602 – 1,516 – 1,493 – 1,618 – 1,587. Hỏi chế phẩm có đạt về độ đồng đều hàm lượng không (tính theo 10 viên)?

8. Bằng tính toán hãy cho biết viên nang cloramphenicol 100mg có đạt về hàm lượng không?

Biết rằng người ta hoà tan 0,1506g bột viên (viên có khối lượng trung bình là 0,1583g) trong nước vừa đủ 500ml nước, lọc. Pha loãng 10,00ml dịch lọc tới vừa đủ 100ml với nước. Đo mật độ quang của dung dịch này trong cuvet có chiều dày 1cm, mẫu trắng là nước ở bước sóng 278nm được kết quả là 0,562. Cloramphenicol ở bước sóng 278nm có $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 297$.

Bài 10

KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LỎNG

MỤC TIÊU

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, xirô thuốc.
- Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
- Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, xirô thuốc.

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM

Chế phẩm dùng để tiêm truyền (parenteral preparations) có 5 loại là:

- Thuốc tiêm (injections).
- Dịch truyền (infusions).
- Dung dịch đậm đặc dùng tiêm hoặc truyền (concentrates for injections and infusions).
- Thuốc bột dùng tiêm hoặc truyền (powders for injections and infusions).
- Thuốc cấy (implants).

Trong phạm vi của chương trình chỉ đề cập tới yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm nghiệm thuốc tiêm.

1.1. Khái niệm thuốc tiêm

Thuốc tiêm là các dung dịch, hỗn dịch, hoặc nhũ tương, vô khuẩn được điều chế bằng cách hoà tan hoặc nhũ hoá, phân tán các chất và các chất phụ trong nước để pha thuốc tiêm hoặc trong các dung môi vô khuẩn thích hợp.

1.2. Yêu cầu chất lượng và phương pháp thử

1.2.1. Tính chất

Dạng dung dịch nước hoặc dầu, nhũ dịch hoặc dịch treo, bột,... tùy theo từng chế phẩm, được đựng trong ống, lọ, chai thích hợp đảm bảo vô khuẩn.

– Cách thử: Bằng cảm quan.

1.2.2. Độ trong

– Dung dịch để tiêm khi kiểm tra bằng mắt thường ở điều kiện quy định phải trong và hầu như không có tạp cơ học.

– Tiến hành:

+ Cách xác định độ trong của thuốc tiêm bằng mắt thường được tiến hành trong ống nghiệm giống nhau, bằng thủy tinh trung tính, trong, không màu, đáy bằng, có đường kính trong từ 15 – 25mm. Chiều dày lớp dung dịch khoảng 40mm. Dùng 2 ống, 1 ống đựng dung dịch cần thử, 1 ống đựng nước hoặc dung môi pha chế thuốc tiêm. Quan sát dung dịch trong 2 ống từ trên xuống trên nền đen dưới ánh sáng khuếch tán ban ngày.

+ Tạp cơ học (tiểu phân lạ) được xác định bằng dụng cụ soi tiểu phân gồm 1 bảng màu đen không bóng, 1 bảng màu trắng không loá gắn thẳng đứng, gần nhau và được chiếu sáng bằng nguồn sáng trắng với độ chiếu sáng cần thiết. Tiến hành thử bằng cách quay tròn nhẹ nhàng hoặc dốc ngược chai hay ống thuốc sao cho không tạo thành bọt khí trong dung dịch, quan sát khoảng 5 giây phía trước bảng màu trắng và lặp lại phép thử này phía trước bảng màu đen.

– Đánh giá kết quả thu được như sau:

+ Thuốc tiêm thể tích không quá 5ml: soi 20 ống, không được có quá 2 ống có nhiều hơn 1 vật thể lạ.

+ Thuốc tiêm thể tích lớn hơn 5ml và dưới 100ml: soi 10 ống, không được có quá 1 ống có nhiều hơn 1 vật thể lạ.

+ Thuốc tiêm và truyền tĩnh mạch thể tích từ 100ml trở lên: soi 3 ống hoặc chai, không được có vật thể lạ.

+ Nhũ tương phải không thấy dấu hiệu của sự tách lớp.

+ Hỗn dịch để tiêm có thể lắng cặn nhưng phải phân tán ngay khi lắc đều và giữ được sự đồng đều khi lấy đủ liều ra khỏi ống thuốc tiêm.

1.2.3. Màu sắc

Không màu hoặc có màu do hoạt chất tùy theo từng chuyên luận. Tiến hành so với màu mẫu – Phụ lục 5.17, DĐVN III.

1.2.4. pH

pH phải nằm trong giới hạn quy định.

Tiến hành đo pH bằng máy đo pH.

1.2.5. Độ vô khuẩn

– Thuốc tiêm phải vô khuẩn.

– Cách thử: Tiến hành thử và đánh giá theo "Thử vô trùng" – mục 3, bài 13.

1.2.6. Nội độc tố vi khuẩn

– Phép thử nội độc tố vi khuẩn thực hiện khi có yêu cầu được quy định trong chuyên luận riêng. Thử theo Phụ lục 10.3 – DĐVN III.

– Khi đã thử nội độc tố vi khuẩn thì không phải thử chất gây sốt, trừ khi có quy định khác.

1.2.7. Chất gây sốt

– Thuốc tiêm phải không có chất gây sốt.

– Phép thử này được tiến hành đối với:

+ Thuốc tiêm đóng liều đơn lẻ có thể tích từ 15ml trở lên và không có quy định phép thử nội độc tố.

+ Thuốc tiêm đóng liều đơn lẻ có thể tích nhỏ hơn 15ml nhưng trên nhãn có ghi "không có chất gây sốt" và không có quy định phép thử nội độc tố.

– Tiến hành thử và đánh giá theo "Thử chất gây sốt" – mục 4, bài 13.

1.2.8. Thể tích (Đối với thuốc tiêm dạng lỏng)

Cách thử: Thuốc tiêm được để thẳng bằng tới nhiệt độ phòng và phải được phân tán đồng đều trước khi thử.

a) Đối với thuốc tiêm đơn liều

– Đối với thuốc tiêm có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 5ml:

+ Lấy 6 ống thuốc, tráng bơm tiêm bằng 1 ống, thử trên 5 ống.

+ Kiểm tra bằng cảm quan 5 ống thuốc, thấy các ống thử chứa thể tích ngang nhau.

+ Dùng bơm tiêm khô sạch có dung tích không lớn hơn 2,5 lần so với thể tích cần đo, có gắn kim tiêm thích hợp. Lấy thuốc sao cho trong bơm tiêm không có bọt khí và trong kim tiêm vẫn chứa đầy thuốc tiêm. Lần lượt lấy thuốc của từng ống tiêm theo cách đó.

– Đối với thuốc tiêm có thể tích lớn hơn 5ml:

+ Lấy 4 ống thuốc, tráng bơm tiêm bằng 1 ống, thử trên 3 ống.

+ Cách tiến hành như đối với thuốc tiêm có thể tích không lớn hơn 5ml.

b) Đối với thuốc tiêm nhiều liều trong 1 lọ và thuốc tiêm truyền tĩnh mạch thì thể tích phải lớn hơn so với số liều quy định được lấy ra.

– Lấy 5 đơn vị đóng gói bất kỳ. Xác định thể tích của từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp (Thể tích không lớn hơn 2,5 lần thể tích cần xác định).

– Thể tích của mỗi đơn vị chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 15.

Bảng 15. Giới hạn cho phép về thể tích đối với thuốc tiêm

Thể tích ghi trên nhãn (ml)	Phần trăm chênh lệch
Tới 50ml	+ 10
Trên 50ml	+ 5

– Nếu có một đơn vị không đạt thì phải kiểm tra lại lần thứ hai giống như lần đầu. Nếu lần thứ hai có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

1.2.9. Độ đồng đều khối lượng (Đối với chế phẩm dạng bột)

Loại bỏ hết nhãn, rửa sạch và làm khô bên ngoài, loại bỏ hết các nút và cân ngay khối lượng cả thuốc và vỏ; lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch, nếu cần thì rửa bằng nước, sau đó rửa bằng ethanol 96% rồi sấy ở 100 – 105⁰C trong 1 giờ; nếu vỏ đựng không chịu được nhiệt độ thì làm khô ở điều kiện thích hợp và cân. Hiệu số khối lượng hai lần cân là khối lượng của thuốc. Làm như vậy với 9 đơn vị khác lấy bất kỳ.

Cho phép không quá một đơn vị có khối lượng chênh lệch khỏi bảng 10 (Bảng 8).

1.2.10. Độ đồng đều hàm lượng

– Trừ khi có chỉ dẫn khác, chế phẩm có hàm lượng hoạt chất dưới 2mg hoặc dưới 2% (KL/KL) so với khối lượng thuốc của toàn bộ. Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền dạng bột đóng gói có khối lượng nhỏ hơn hoặc bằng 40mg.

– Phép thử đồng đều hàm lượng được tiến hành sau phép thử định lượng và hàm lượng hoạt chất đã ở trong giới hạn quy định.

– Cách thử: Lấy 10 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, xác định hàm lượng hoạt chất từng ống theo phương pháp chỉ dẫn trong chuyên luận.

– Cách đánh giá: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu hàm lượng đều nằm trong giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình.

+ Chế phẩm không đạt yêu cầu nếu có quá 1 đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình, hoặc có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình.

+ Nếu một đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% nhưng ở trong giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình thì thử lại trên 20 đơn vị khác, lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu, nếu không quá 1 đơn vị trong tổng số 30 đơn vị đem thử có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 – 115% của hàm lượng trung bình và không có đơn vị nào có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 – 125% của hàm lượng trung bình.

1.2.11. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm theo từng chuyên luận.

1.2.12. Định lượng

Lấy thuốc trong số lọ thuốc như đối với phép thử "thể tích" (chế phẩm dạng lỏng) hoặc như đối với phép thử "độ đồng đều khối lượng" (chế phẩm dạng bột), trộn đồng nhất. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 16.

Bảng 16. Giới hạn cho phép về hàm lượng đối với thuốc tiêm

<i>Lượng ghi trên nhãn</i>	<i>Phần trăm chênh lệch</i>
Dạng dung dịch	± 5
Dạng bột	± 10

1.3. Ví dụ

Kiểm nghiệm thuốc tiêm Pyridoxin hydroclorid (Thuốc tiêm vitamin B₆), đóng ống 1ml theo ĐĐVN III:

- Là dung dịch vô khuẩn của Pyridoxin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
- Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với "Thuốc tiêm" và các yêu cầu riêng của chế phẩm.
- Hàm lượng của Pyridoxin hydroclorid $C_8H_{11}NO_3.HCl$ từ 95,0 đến 115,0% so với lượng ghi trên nhãn.

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Dung dịch trong, không màu.	Cảm quan.
2. pH	2,5 – 3,5.	Đo bằng máy đo pH.
3. Độ vô khuẩn	Chế phẩm phải vô khuẩn.	Theo chuyên luận chung.
4. Thể tích	1,00 – 1,10ml.	Theo chuyên luận chung.
5. Định tính	Pyridoxin. Clorid.	Theo chuyên luận riêng.
6. Định lượng	Hàm lượng pyridoxin hydroclorid $C_8H_{11}NO_3.HCl$ từ 95,0 đến 115,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.

b) Thuốc thử (theo ĐĐVN III)

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần thuốc thử – bài 4 và Phụ lục 2.8 – ĐĐVN III:

- Dung dịch đệm amoniac.
- Dung dịch 2,6 dicloroquinon clorimid.
- Butanol.
- Dung dịch sắt (III) clorid 5%.
- Dung dịch acid sulfuric 10%.
- Dung dịch acid nitric 16%.
- Dung dịch bạc nitrat 5%.
- Dung dịch amoniac.
- Dung dịch chuẩn độ acid hydrocloric 0,1 N.

c) Phương pháp thử

Tính chất:

Dung dịch trong, không màu.

Định tính:

- Dung dịch A: Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1g pyridoxin hydroclorid, hoà với nước vừa đủ 10ml.

- Lấy 0,1ml dung dịch A, thêm 1ml nước cất, 2ml dung dịch đệm amoniac (TT), 1ml dung dịch 2,6 dicloroquinon clorimid (TT) và 2ml butanol (TT), lắc 1 phút, để yên, lớp butanol sẽ hiện màu xanh.

- Lấy 0,1ml dung dịch A, thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5% (TT) sẽ hiện màu đỏ. Thêm vài giọt dung dịch acid sulfuric 10% (TT) màu đỏ sẽ phai dần.

- Lấy 2ml dung dịch A, thêm 2ml nước cất, 5 giọt dung dịch acid nitric 16% (TT) và 0,5ml dung dịch bạc nitrat 5% (TT) sẽ tạo thành tủa trắng lớn nhỏ, tủa này tan trong dung dịch amoniac (TT).

pH:

2,5 đến 3,5 (Phụ lục 5.9 – ĐĐVN III).

Định lượng:

Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 0,100g pyridoxin hydroclorid cho vào bình định mức 500ml, hoà loãng với dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ) vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lấy chính xác 5,0ml dung dịch trên pha loãng với dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ) thành 100ml, trộn đều. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 291nm (Phụ lục 3.1 – ĐĐVN III), dùng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ theo A (1%, 1cm), lấy 427 là giá trị A (1%, 1cm) ở bước sóng 291nm.

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC NHỎ MẮT

2.1. Khái niệm

Thuốc nhỏ mắt là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch vô khuẩn của một hay nhiều hoạt chất để nhỏ vào mắt. Khi có yêu cầu, chế phẩm được pha chế ở dạng khô, vô khuẩn để có thể hoà tan hoặc làm thành huyền phù trong một chất lỏng vô khuẩn thích hợp trước khi dùng.

Thuốc nhỏ mắt có thể chứa các chất phụ để điều chỉnh tính đẳng trương hoặc độ nhớt, điều chỉnh hoặc ổn định pH, tăng độ hoà tan của hoạt chất hoặc để ổn định chế phẩm.

2.2. Yêu cầu chất lượng và phương pháp thử

2.2.1. Tính chất

- Thể chất, màu sắc tùy theo từng chuyên luận.
- Cách thử: Bằng cảm quan.

2.2.2. Độ trong

-.Thuốc nhỏ mắt dạng dung dịch phải trong, không có các tiểu phân khi quan sát bằng mắt thường và đạt yêu cầu về độ trong theo từng chuyên luận.

- Thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch có thể lắng đọng, nhưng khi lắc phải phân tán dễ dàng và đồng nhất trong toàn khối.

- Cách xác định: Độ trong được xác định bằng cách so sánh các dung dịch đó với các hỗn dịch mẫu đối chiếu. Thử theo Phụ lục 5.12 – ĐĐVN III.

2.2.3. Thể tích

- Thể tích thuốc nhỏ mắt phải nằm trong giới hạn 100 – 110% so với thể tích ghi trên nhãn đối với mọi thể tích đóng gói.

- Cách thử: Lấy 5 đơn vị đóng gói bất kỳ. Xác định thể tích của từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp (Thể tích không lớn hơn 2,5 lần thể tích cần xác định).

Thể tích mỗi đơn vị phải nằm trong giới hạn cho phép.

Nếu có một đơn vị không đạt thì phải kiểm tra lại lần thứ hai giống như lần đầu. Nếu lần thứ hai có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

2.2.4. pH

- pH phải nằm trong giới hạn quy định.
- Đo bằng máy đo pH.

2.2.5. Độ vô khuẩn

- Thuốc nhỏ mắt phải vô khuẩn.
- Cách thử: Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Thử vô trùng" – mục 3, bài 13.

2.2.6. Giới hạn các tiểu phân

- Thử nghiệm này chỉ yêu cầu đối với thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch.
- Cho một thể tích chế phẩm thích hợp vào cốc đo hay vật kính của kính hiển vi. Quan sát bằng kính hiển vi một diện tích tương ứng 10 μ m pha rắn.
- Kết quả:
 - + Không được có quá 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn 25 μ m.
 - + Không được có quá 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 50 μ m.
 - + Không được có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn 90 μ m.

2.2.7. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc nhỏ mắt phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

2.2.8. Định lượng

Lấy thuốc của 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ, trộn đều. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép quy định trong chuyên luận.

2.3. Ví dụ

Kiểm nghiệm thuốc nhỏ mắt kẽm sulfat đóng lọ 10ml – ĐDVN III:

- Là dung dịch vô khuẩn của kẽm sulfat trong nước cất đã được làm đẳng trương bằng cách cho thêm các muối thích hợp.

– Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với “Thuốc nhỏ mắt” và các yêu cầu của chuyên luận riêng.

– Hàm lượng của kẽm sulfat $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ từ 95,0 đến 105,0% so với lượng ghi trên nhãn.

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Dung dịch trong suốt, không màu.	Cảm quan.
2. pH	4,5 – 5,5.	Đo bằng máy đo pH.
3. Độ vô khuẩn	Chế phẩm phải vô khuẩn.	Theo chuyên luận chung.
4. Thể tích	10 – 11ml.	Theo chuyên luận chung.
5. Định tính	Ion kẽm và sulfat.	Theo chuyên luận riêng.
6. Định lượng	Hàm lượng của kẽm sulfat $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ từ 95,0 đến 105,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.

b) Thuốc thử (theo ĐĐVN III)

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần Thuốc thử – bài 4 và Phụ lục 2.8 – ĐĐVN III:

- Dung dịch acid hydrocloric 2M.
- Dung dịch bari clorid 5%.
- Dung dịch amoniac 6M.
- Dung dịch amoni clorid.
- Dung dịch dinatri hydrophosphat.
- Dung dịch đệm amoniac pH 10.
- Dung dịch dinatri dihydro ethylendiamin tetraacetat 0,01 M.
- Hỗn hợp chỉ thị đen eriocrom T.

c) Phương pháp thử

Tính chất:

Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính:

Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của các ion kẽm và sulfat (Phụ lục 7.1–DDVN III).

– Lấy 5ml dung dịch chế phẩm cho vào ống nghiệm, thêm 1ml dung dịch acid hydrocloric 2M (TT) và 1ml dung dịch bari clorid 5% (TT), sẽ có tủa trắng được tạo thành.

– Lấy 2ml dung dịch chế phẩm cho vào ống nghiệm, thêm 1ml dung dịch amoniac 6M (TT) tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi thêm 1ml dung dịch amoni clorid (TT). Thêm 1ml dung dịch dinatri hydrophosphat (TT) sẽ có tủa kết tinh màu trắng.

pH:

Từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 5.9 – DDVN III).

Độ vô khuẩn:

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 10.8 – DDVN III).

Định lượng:

Lấy chính xác một thể tích thuốc nhỏ mắt tương ứng với khoảng 25mg kẽm sulfat, thêm 50ml nước và 10ml dung dịch đậm amoniac pH 10,0. Chuẩn độ bằng dung dịch dinatri dihydro ethylendiamin tetraacetat 0,01 M, dùng hỗn hợp đen eriocrom T làm chỉ thị (CT).

(1ml dung dịch dinatri dihydro ethylendiamin tetraacetat 0,01 M tương đương với 2,875mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

3. KIỂM NGHIỆM XIRÔ THUỐC

3.1. Khái niệm

Xirô là dung dịch đậm đặc của đường trắng trong nước, có chứa các dược chất hoặc các dịch chiết từ dược liệu và các chất thơm.

3.2. Yêu cầu chất lượng và phương pháp thử

3.2.1. Tính chất

– Chế phẩm phải trong, không được có mùi lạ, bọt khí hoặc biến chất trong quá trình bảo quản.

– Cách thử: Thử bằng cảm quan.

3.2.2. Độ trong

- Xirô thuốc phải đạt yêu cầu về độ trong theo từng chuyên luận.
- Cách xác định: Độ trong được xác định bằng cách so sánh các dung dịch đó với các hỗn dịch mẫu đối chiếu. Thử theo Phụ lục 5.12 – ĐĐVN III.

3.2.3. pH

- pH phải nằm trong giới hạn quy định.
- Tiến hành đo pH bằng máy đo pH.

3.2.4. Tỷ trọng

- Tỷ trọng phải nằm trong giới hạn quy định.
- Tiến hành đo tỷ trọng bằng tỷ trọng kế, picnomet, cân thủy tĩnh Morh – Westphal như chỉ dẫn ở mục 1, bài 7.

3.2.5. Thể tích

Cách thử: Chế phẩm được để thăng bằng tới nhiệt độ phòng và phải được phân tán đồng đều trước khi thử.

- Lấy 5 lọ bất kỳ. Xác định thể tích từng lọ bằng ống đong có thể tích và độ chính xác phù hợp (Thể tích ống đong không được lớn hơn 2,5 lần thể tích thuốc).
- Thể tích mỗi lọ phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 17.

Bảng 17. Giới hạn cho phép về thể tích của xirô

<i>Thể tích ghi trên nhãn (ml)</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Tối 100ml	+ 10
Trên 100ml tới 250ml	+ 8
Trên 250ml	+ 6

- Nếu có 1 lọ không đạt thì kiểm tra lần thứ hai giống như lần 1. Nếu lần hai có quá 1 lọ không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu về thể tích.

3.2.6. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, xirô phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm theo từng chuyên luận.

3.2.7. Định lượng

Lấy thuốc trong 5 lọ thuốc, trộn đồng nhất. Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo bảng 18.

Bảng 18. Giới hạn cho phép về hàm lượng đối với xirô thuốc

Xirô chứa dược chất	Giới hạn chênh lệch (%)
Thuốc độc A, B	± 5
Thuốc thường	± 10

3.2.8. Độ nhiễm khuẩn

- Chế phẩm phải đạt độ nhiễm khuẩn theo quy định.
- Cách thử: Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Thử giới hạn nhiễm khuẩn" – mục 2, bài 13.

3.2.9. Độ đồng đều hàm lượng

- Một số chế phẩm yêu cầu thì phải tiến hành phép thử này.
- Cách thử và đánh giá giống như đối với thuốc bột – phần 1.2.5, bài 8.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc tiêm.
2. Trình bày cách tiến hành và đánh giá kết quả thử độ đồng đều thể tích của thuốc tiêm thiamin hydroclorid đóng ống 1ml.
3. Trình bày cách tiến hành và đánh giá kết quả thử độ đồng đều khối lượng của thuốc tiêm benzylpenicilin đóng lọ 1g.
4. Tiến hành định lượng vitamin B₁₂ trong ống tiêm vitamin B₁₂ 0,5mg/ml như sau: Pha loãng 2,00ml chế phẩm trong vừa đủ 50,0ml với nước. Mật độ quang của dung dịch này ở 361nm trong cốc đo dày 1cm, dùng nước làm mẫu trắng là 0,427.

Tính hàm lượng vitamin B₁₂ trong chế phẩm. Chế phẩm có đạt yêu cầu về hàm lượng không? Biết vitamin B₁₂ có A (1%, 1cm) ở bước sóng 361nm là 207.

5. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc nhỏ mắt.
6. Trình bày phương pháp tiến hành và tính kết quả định lượng cloramphenicol trong thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4%.
7. Người ta tiến hành định lượng natri clorid trong thuốc nhỏ mắt natri clorid 0,9% như sau: Lấy chính xác 10ml dung dịch chế phẩm cho vào bình nón 100ml, thêm 5 giọt dung dịch kali cromat 5%. Định lượng bằng dung dịch bạc nitrat 0,1N có $K = 0,9965$ hết 15,02ml.
 Tính hàm lượng natri clorid trong chế phẩm. Chế phẩm có đạt yêu cầu về hàm lượng không? Biết 1ml dung dịch bạc nitrat 0,1N tương đương với 5,844mg NaCl.
8. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm của xirô thuốc.
9. Người ta tiến hành định lượng paracetamol trong xirô hạ sốt trẻ em chứa 15% paracetamol như sau: Lấy chính xác 1ml xirô cho vào bình định mức 200ml, pha loãng với dung môi vừa đủ tới vạch. Lắc đều, lọc (nếu cần). Pha loãng 1,00ml dịch lọc thành 100,0ml trong bình định mức bằng dung môi. Mật độ quang của dung dịch này ở 257nm là 0,524.
 Hỏi chế phẩm có đạt yêu cầu về hàm lượng không? Biết paracetamol có $A(1\%, 1\text{cm})$ ở bước sóng 257nm là 715.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 10 đến 12 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

10. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng hoặc thể tích của thuốc tiêm như sau:
 - a) Thuốc tiêm ampicilin dạng bột đóng lọ 1g

A. $\pm 10\%$	B. $\pm 6\%$	C. $\pm 7\%$	D. $\pm 5\%$
---------------	--------------	--------------	--------------
 - b) Thuốc tiêm vitamin B₁ đóng ống 1ml

A. +8%	B. +7,5%	C. +5%	D. +10%
--------	----------	--------	---------
 - c) Dung dịch tiêm truyền Ringer – Lactat đóng chai 500ml

A. +10%	B. +5%	C. +7,5%	D. +8%
---------	--------	----------	--------
11. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch thể tích của thuốc nhỏ mắt như sau:
 - a) Thuốc nhỏ mắt kẽm sulfat 0,5% đóng lọ 8ml

A. +10%	B. +5%	C. +7,5%	D. +8%
---------	--------	----------	--------

b) Thuốc nhỏ mắt natri clorid 0,9% đóng lọ 15ml

A. +12%

B. +11%

C. +7,5%

D. +10%

c) Thuốc nhỏ mắt nemydexan đóng lọ 5ml

A. +10%

B. +15%

C. +7,5%

D. +8%

12. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm của xirô thuốc so với hàm lượng ghi trên nhãn như sau:

a) Xirô chứa dược chất là thuốc độc bảng A, B

A. $\pm 10\%$

B. $\pm 2,5\%$

C. $\pm 5\%$

D. $\pm 7,5\%$

b) Xirô chứa dược chất là thuốc thường

A. $\pm 10\%$

B. $\pm 12\%$

C. $\pm 11\%$

D. $\pm 8\%$

Bài 11

KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ, THUỐC KEM

MỤC TIÊU

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc mỡ, thuốc mỡ tra mắt, thuốc kem.
- Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
- Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc mỡ.

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ

1.1. Khái niệm

Thuốc mỡ là dạng thuốc có thể chất mềm, dùng để bôi lên da hay niêm mạc nhằm bảo vệ da hoặc đưa thuốc thấm qua da. Bột nhão bôi da là loại thuốc mỡ có chứa một tỷ lệ lớn các dược chất không tan.

1.2. Yêu cầu chất lượng và phương pháp thử

1.2.1. Tính chất

– Thể chất: Thuốc mỡ phải mịn, đồng nhất, không cứng lại hoặc tách lớp ở điều kiện thường, không chảy lỏng ở nhiệt độ 37°C và phải bắt dính được trên da hay niêm mạc khi bôi.

– Màu sắc, mùi: Tuỳ từng chế phẩm.

– Cách thử: Bằng cảm quan.

1.2.2. Độ đồng đều khối lượng

Cách thử: Cân từng đơn vị trong số 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất được lấy bất kỳ.

– Khối lượng tất cả các đơn vị phải nằm trong giới hạn quy định theo bảng 19.

– Nếu có một đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài quy định này thì thử lại với 5 đơn vị khác, nếu lần thử lại có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

Bảng 19. Giới hạn cho phép chênh lệch khối lượng đối với thuốc mỡ

<i>Khối lượng ghi trên nhãn</i>	<i>Chênh lệch cho phép (%)</i>
Dưới 10,0g	± 15
Từ 10,0 – 20,0g	± 10
Trên 20,0 – 50,0g	± 8
Trên 50,0g	± 5

1.2.3. Độ đồng nhất

– Các tiểu phần phải phân tán đồng đều.

– Cách thử: lấy 4 đơn vị đóng gói, mỗi đơn vị khoảng 0,02 – 0,03g, trải chế phẩm lên 4 tiêu bản, bên trên đặt một phiến kính. Đẩy mỗi phiến kính bằng một phiến kính khác và ép mạnh cho đến khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường, 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phần. Nếu có các tiểu phần nhìn thấy ở trong phần lớn số các vết thì phải làm lại với 8 đơn vị đóng gói. Trong số các tiêu bản này, các tiểu phần cho phép nhận thấy không được vượt quá 2 tiêu bản.

1.2.4. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc mỡ phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.5. Định lượng

Cân thuốc trong 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất, tính khối lượng trung bình, trộn đồng nhất. Cân một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận, tiến hành định lượng. Hàm lượng hoạt chất phải nằm trong giới hạn quy định theo bảng 20.

Bảng 20. Giới hạn cho phép về hàm lượng đối với thuốc mỡ

Nồng độ hàm lượng ghi trên nhãn	Chênh lệch cho phép (%)
Tối 200mg	± 15
Trên 200mg – 1g	± 10
Trên 1g – 5g	$\pm 7,5$
Trên 5g	± 3

1.3. Thuốc mỡ tra mắt

Tiêu chuẩn chất lượng của thuốc mỡ tra mắt phải đạt các yêu cầu của thuốc mỡ và những yêu cầu riêng của thuốc mỡ tra mắt như sau:

1.3.1. Độ vô khuẩn

– Thuốc mỡ tra mắt phải vô khuẩn và không được có *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*.

– Cách thử: Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Thử vô trùng" – mục 3, bài 13.

1.3.2. Các phần tử kim loại

– Số lượng các phần tử kim loại phải nằm trong giới hạn cho phép.

– Cách thử: Lấy 10 ống thuốc, bóp hết thuốc chứa bên trong vào từng đĩa petri riêng có đường kính 6cm, đáy bằng, không có các vết xước và các phần tử lạ nhìn thấy được. Đậy các đĩa, đun nóng đến 80 – 85°C trong 2 giờ và để cho thuốc mỡ phân tán đồng đều. Làm nguội và làm đông lạnh thuốc mỡ, lật ngược

mỗi đĩa đặt lên bản soi của kính hiển vi thích hợp; chiếu sáng từ trên xuống bằng một ngọn đèn chiếu đặt ở góc 45^0 so với mặt phẳng của bản soi. Quan sát và đếm các phần tử kim loại sáng bóng, lớn hơn $50\mu\text{m}$ ở bất kỳ kích thước nào. Không được có quá một ống trong 10 ống thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 ống. Nếu chế phẩm không đạt ở lần thử thứ nhất thì làm lại lần thứ hai với 20 ống thuốc khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu nếu không có quá 3 ống chứa quá 8 phần tử trong mỗi ống và tổng số không quá 150 phần tử trong 30 ống thử.

1.3.3. Giới hạn kích thước các phần tử

- Không được có phần tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn $75\mu\text{m}$.
- Cách thử: Trải một lượng nhỏ chế phẩm thành một lớp mỏng trên bản soi của kính hiển vi, phủ phiến kính lên trên và soi.

1.4. Ví dụ

Kiểm nghiệm thuốc mỡ acid boric 10%, đóng gói 15g – ĐDVN III:

- Là thuốc mỡ dùng ngoài da có chứa acid boric.
- Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với "Thuốc mỡ" và các yêu cầu của chuyên luận riêng.
- Hàm lượng của acid boric H_3BO_3 từ 9,0 đến 11,0%.

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Thuốc mỡ màu trắng hoặc vàng nhạt.	Cảm quan.
2. Độ đồng đều khối lượng	$15\text{g} \pm 10\%$.	Theo chuyên luận chung.
3. Độ đồng nhất	Chế phẩm phải đồng nhất, không có tiểu phân, vật lạ.	Theo chuyên luận chung.
4. Định tính	Acid boric.	Theo chuyên luận riêng.
5. Định lượng	Hàm lượng của acid boric H_3BO_3 từ 9,0 đến 11,0%.	Theo chuyên luận riêng.

b) Thuốc thử

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần Thuốc thử, bài 4, Phụ lục 2.8 – ĐĐVN III.

- Ethanol.
- Dung dịch acid sulfuric đậm đặc.
- Dung dịch chuẩn độ natri hydroxyd 0,1 N.
- Dung dịch chỉ thị phenolphthalein.

c) Phương pháp thử

Tính chất:

Thuốc mỡ màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính:

Lấy 1g chế phẩm cho vào một bát đun, thêm 4ml ethanol (TT) và 1 giọt acid sulfuric đậm đặc (TT). Châm lửa đốt, vừa đốt vừa khuấy bằng một thìa thủy tinh. Ngọn lửa có viền màu xanh lá mạ.

Định lượng:

Cân chính xác khoảng 1g chế phẩm cho vào cốc có mỏ, thêm 20ml nước và 20ml phenolphthalein. Đun cách thủy (CT) cho tan. Lắc đều. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N đến khi xuất hiện màu hồng bền vững (chỉ thị phenolphthalein).

(1ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N tương đương với 6,183mg H_3BO_3).

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC KEM

2.1. Khái niệm

Kem (Cream) là dạng chế phẩm mềm, nhót, đồng nhất, thường bao gồm một hay nhiều hoạt chất hoà tan hay phân tán trong tá dược, hoặc hỗn hợp tá dược. Các tá dược này thường ở dạng nhũ tương dầu/nước, hoặc nước/dầu. Kem bôi da thường có thể chất mềm và mịn màng.

2.2. Yêu cầu chất lượng và phương pháp thử

Nói chung yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử của kem giống như đối với thuốc mỡ.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc mỡ.
2. Tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm của thuốc mỡ tra mắt có gì khác so với thuốc mỡ nói chung? Hãy trình bày những điểm khác nhau đó.
3. Trình bày cách tiến hành và đánh giá kết quả thử độ đồng đều khối lượng của kem nghệ đóng gói 5g trong 1 tuyp.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 4 đến 6 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

4. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của thuốc mỡ, thuốc kem như sau:
 - a) Thuốc mỡ tra mắt clorocid – H đóng gói 4g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 15\%$ C. $\pm 12,5\%$ D. $\pm 20\%$
 - b) Thuốc mỡ profenid gel đóng gói 50g
A. $\pm 5\%$ B. $\pm 7,5\%$ C. $\pm 8\%$ D. $\pm 6\%$
 - c) Thuốc mỡ kẽm oxyd đóng gói 15g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 15\%$ D. $\pm 8\%$
 - d) Thuốc mỡ kem acyclovir đóng gói 3g
A. $\pm 12\%$ B. $\pm 7,5\%$ C. $\pm 15\%$ D. $\pm 10\%$
5. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm thuốc mỡ, thuốc kem so với hàm lượng ghi trên nhãn như sau:
 - a) Thuốc mỡ tra mắt tetracyclin 1% đóng gói 5g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 11\%$ D. $\pm 8\%$
 - b) Thuốc kem acyclovir 5% đóng gói 3g
A. $\pm 12\%$ B. $\pm 10\%$ C. $\pm 7,5\%$ D. $\pm 5\%$
 - c) Thuốc mỡ acid boric 10% đóng gói 15g
A. $\pm 10\%$ B. $\pm 6\%$ C. $\pm 5\%$ D. $\pm 7,5\%$
6. Thuốc mỡ tra mắt yêu cầu thử các chỉ tiêu:
 - A. Độ vô khuẩn.
 - B. Trĩ nhiệt tố.
 - C. Giới hạn nhiễm khuẩn.
 - D. Các phần tử kim loại. .
7. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc kem.

Bài 12

KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC

MỤC TIÊU

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc hoàn, rượu thuốc, cao thuốc.
- Đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
- Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc hoàn, rượu thuốc, cao thuốc.

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC HOÀN

1.1. Khái niệm

Hoàn là dạng thuốc rắn hình cầu, mềm hoặc cứng, khối lượng có thể thay đổi thường từ 4mg đến 12mg. Thành phần của hoàn gồm các bột mịn của dược liệu, hoặc các dịch chiết dược liệu, các chất dính, hoặc các tá dược thích hợp. Hoàn dùng để uống, nhai hoặc ngậm.

1.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

1.2.1. Hình thức

- Hoàn phải tròn, đều, đồng nhất về hình dáng và màu sắc. Hoàn mềm mật ong phải mịn, trơn bóng, nhuyễn dẻo với độ cứng thích hợp
- Cách thử: Bằng cảm quan.

1.2.2. Độ ẩm

- Hoàn mềm mật ong không được chứa nhiều hơn 15% nước.
- Hoàn cứng: Hoàn mật ong nước không được chứa nhiều hơn 12% nước; hoàn nước, hoàn hồ không được chứa nhiều hơn 9% nước.

– Cách thử:

Tuỳ theo từng chế phẩm mà có yêu cầu sử dụng phương pháp xác định độ ẩm khác nhau như:

+ Hoàn cứng: Tiến hành theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 5.16 – ĐĐVN III).

+ Hoàn mềm và hoàn cứng trong thành phần có chứa nhiều tinh dầu hoặc đường: Xác định nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 9.6 – ĐĐVN III).

1.2.3. Độ rã

– Chỉ áp dụng cho hoàn cứng.

– Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Phép thử độ rã viên nén và viên nang" – mục 5, bài 7.

– Yêu cầu: Các viên thử phải rã hết không quá 1 giờ cho các loại hoàn, riêng hoàn hồ được phép rã không quá 2 giờ.

1.2.4. Độ đồng đều khối lượng

– Phương pháp 1: Áp dụng cho các hoàn được uống theo số lượng viên.

Cân khối lượng của 10 hoàn, xác định khối lượng trung bình của 1 hoàn. Cân riêng rẽ từng hoàn và so sánh với khối lượng trung bình hoàn.

– Phương pháp 2: Áp dụng cho hoàn được uống theo khối lượng.

Cứ 10 hoàn được coi là 1 phần. Cân riêng rẽ 10 phần và tính khối lượng trung bình của một phần, sau đó so sánh với khối lượng trung bình, tính độ lệch theo tỷ lệ phần trăm của khối lượng trung bình, từ đó tính ra khoảng giới hạn của giá trị trung bình.

– Phương pháp 3: Áp dụng cho đơn vị đóng gói hoàn đã chia liều, hoặc đóng gói theo liều uống một lần hoặc uống hàng ngày.

Lấy 10 đơn vị đóng gói, cân riêng biệt từng đơn vị đóng gói và so sánh với khối lượng trung bình, tính độ lệch theo tỷ lệ phần trăm của khối lượng trung bình, từ đó tính ra khoảng giới hạn của giá trị trung bình.

– Đánh giá: Độ chênh lệch về khối lượng của hoàn phải đạt theo quy định ở bảng 21.

Bảng 21. Giới hạn cho phép chênh lệch khối lượng đối với viên hoàn

<i>Phương pháp 1</i>		<i>Phương pháp 2</i>		<i>Phương pháp 3</i>	
<i>KLTB* của 1 hoàn</i>	<i>% chênh lệch</i>	<i>KLTB* của 1 phần</i>	<i>% chênh lệch</i>	<i>KLTB* của 1 đơn vị đóng gói</i>	<i>% chênh lệch</i>
Từ 0,05g đến 1,5g	± 12%	Từ 0,05g đến 0,1g	± 12%	Từ 0,5g trở xuống	± 12%
				Trên 0,5g đến 1g	± 11%
Trên 1,5g đến 5g	± 10%	Trên 0,1g đến 1g	± 10%	Trên 1g đến 2g	± 10%
				Trên 2g đến 3g	± 8%
Trên 5g đến 9g	± 7%	Trên 1g	± 7%	Trên 3g đến 6g	± 6%
				Trên 6g đến 9g	± 5%
Trên 9g	± 5%			Trên 9g	± 4%

KLTB*: Khối lượng trung bình

Khối lượng của từng hoàn (phương pháp 1), từng phần (phương pháp 2), từng đơn vị đóng gói (phương pháp 3) ứng với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn sai số quy định ở bảng 21. Không được có quá hai đơn vị vượt quá giới hạn sai số cho phép. Không được có đơn vị nào vượt gấp đôi giới hạn cho phép.

1.2.5. Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, thuốc hoàn phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.6. Định lượng

Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo từng chuyên luận riêng.

1.2.7. Độ nhiễm khuẩn

- Các hoàn phải đạt yêu cầu về giới hạn độ nhiễm khuẩn.
- Cách tiến hành: Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo "Thử giới hạn nhiễm khuẩn" – mục 2, bài 13.

1.2.8. Độc tính bất thường

- Đạt yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.
- Cách tiến hành: Nếu không có quy định riêng thì tiến hành thử và đánh giá theo quy định của chuyên luận "Thử độc tính bất thường" (Phụ lục 10.6 – ĐĐVN III).

1.3. Các loại viên hoàn

Tiêu chuẩn chất lượng của các loại viên hoàn phải tuân theo yêu cầu chung của thuốc viên hoàn và yêu cầu riêng đối với từng loại.

- Hoàn mềm mật ong: Không được chứa nhiều hơn 15% nước.
- Hoàn mật ong nước (hoàn cứng): Không được chứa nhiều hơn 12% nước.
- Hoàn nước, hoàn hồ (hoàn cứng): Không được chứa nhiều hơn 9% nước.

1.4. Ví dụ

Kiểm nghiệm Hoàn lục vị (hoàn cứng, đóng gói 25g) – ĐĐVN III:

- Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với "Thuốc hoàn" và các yêu cầu của chuyên luận riêng.
- Công thức bào chế của Hoàn lục vị gồm:

Hoài sơn	80g
Thục địa	160g
Đơn bì	60g
Trạch tả	60g
Phục linh	60g
Sơn thù	80g
Mật ong	1000g

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Hoàn cứng hình cầu, màu đen nhánh. Mùi thơm dược liệu. Vị ngọt hơi chua.	Cảm quan.
2. Độ ẩm	Không được quá 9%.	Theo chuyên luận chung.
3. Độ đồng đều khối lượng	KLTB $\pm$ 10%.	Theo chuyên luận chung, phương pháp 2.
4. Độ rã	Không được quá 1 giờ.	Theo chuyên luận chung.
5. Định tính	– Bằng cất kéo hơi nước. – Sinh địa.	Theo chuyên luận riêng.
6. Độ nhiễm khuẩn	Đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn.	Theo chuyên luận chung.

b) Phương pháp thử

Tính chất:

Chế phẩm là hoàn hình cầu, màu đen nhánh. Mùi thơm dược liệu. Vị ngọt hơi chua.

Định tính:

– Cất kéo bằng hơi nước 10g hoàn và hứng lấy 20ml dịch cất, lấy 2ml dịch cất, thêm 0,5ml acid benzosulfonic đã diazo hoá, 1 – 2 giọt natri carbonat (TT) xuất hiện dần dần màu đỏ da cam.

– Định tính Thực địa:

+ Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4 – ĐĐVN III).

+ Bản mỏng: Silicagel G đã hoạt hoá ở 110°C trong 1 giờ.

+ Dung môi khai triển: Cloroform – ethylacetat (9: 1).

+ Dung dịch thử: lấy khoảng 10g chế phẩm, tán thành bột thô, chiết bằng cách đun sôi cách thuỷ 15 phút với methanol 3 lần, mỗi lần 30ml. Gộp dịch chiết methanol, cô trên cách thuỷ đến cạn. Cặn được chiết bằng n- butanol 3 lần, mỗi lần 5ml, gộp dịch chiết n – butanol rồi lọc, cô dịch lọc trên cách thuỷ đến cạn. Hoà cặn trong 1ml ethanol.

+ Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5g Thực địa thái nhỏ, rồi tiến hành chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ chiết bằng cách đun sôi,... hoà cồn trong 1ml ethanol.

– Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai dung môi khoảng 12 – 15cm. Lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 110°C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2. KIỂM NGHIỆM CAO THUỐC

2.1. Định nghĩa

Cao thuốc là chế phẩm điều chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

2.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

Đạt yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu chung sau đây:

2.2.1. Cao lỏng

a) Độ hoà tan

Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã dùng để điều chế cao.

b) Độ trong, độ đồng nhất và màu sắc

– Cao thuốc phải đúng màu sắc đã mô tả trong chuyên luận riêng, không có váng mốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

– Cách tiến hành: Lấy riêng phần phía trên của chai thuốc, chỉ để lại khoảng 10 – 15ml. Chuyển phần còn lại trong chai vào một bát sứ men trắng, nghiêng bát cho thuốc chảy từ từ trên thành bát tạo thành một lớp dễ quan sát. Quan sát dưới ánh sáng tự nhiên, thuốc phải đạt các yêu cầu quy định. Nếu không đạt phải thử lại lần thứ hai với chai thuốc khác, nếu không đạt coi như lô thuốc không đạt chỉ tiêu này.

c) Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, chế phẩm phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

d) Định lượng

Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo từng chuyên luận riêng.

2.2.2. Cao đặc, cao khô

a) Mất khối lượng do làm khô

Nếu không có chỉ dẫn khác thì:

- Cao đặc: không quá 20%.
- Cao khô: không quá 5%.

b) Độ nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu quy định về độ nhiễm khuẩn theo Phụ lục 10.7 – ĐĐVN III.

c) Định tính

Tiến hành định tính theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, chế phẩm phải cho các phản ứng của các hoạt chất có trong chế phẩm.

d) Định lượng

Tiến hành định lượng theo các phương pháp được quy định trong tiêu chuẩn, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo từng chuyên luận riêng.

2.3. Ví dụ

Kiểm nghiệm Cao hy thiêm (Cao lỏng) – ĐĐVN III:

– Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với " Cao thuốc " và các yêu cầu của chuyên luận riêng.

– Công thức bào chế của Cao hy thiêm gồm:

Hy thiêm	1000g
Thiên niên kiện	50g
Ethanol 90%	235ml
Đường trắng	130g
Nước	1000ml

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Chất lỏng màu nâu đen, mùi thơm Thiên nhiên kiện, vị ngọt.	Cảm quan.
2. Định tính	Hy thiêm.	Theo chuyên luận riêng.
3. Độ trong và độ đồng nhất	Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã được liệu và vật lạ.	Cảm quan.
4. Hàm lượng ethanol	19% ± 1%.	Theo chuyên luận chung.
5. Tỷ trọng	Ở 20°C: 1,05 – 1,10.	Theo chuyên luận chung, dùng tỷ trọng kế.

b) Phương pháp thử

Tính chất:

Chất lỏng màu nâu đen, mùi thơm Thiên nhiên kiện, vị ngọt.

Định tính:

Định tính Hy thiêm:

- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4 – DDVN III).
- Bản mỏng: Silicagel G đã hoạt hoá ở 110°C trong 1 giờ.
- Dung môi khai triển: Cloroform – methanol (9: 1).
- Dung dịch thử: Lấy 25ml chế phẩm, pha loãng với 25ml nước, chiết bằng ethyl acetat 2 lần, mỗi lần 25ml. Gộp các dịch chiết, cô trên cách thuỷ tới cạn. Hoà tan cặn trong 1ml ethanol.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 25g Hy thiêm, cắt nhỏ, đun sôi với 100ml nước trong khoảng 1 giờ (luôn bù nước bốc hơi), gạn, lọc dịch chiết, cô còn khoảng 50ml rồi tiếp tục chiết bằng ethyl acetat như dung dịch thử.

– Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi phun dung dịch acid sulfuric 10% (TT), sấy bản mỏng ở 110°C tới khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất:

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã dược liệu và vật lạ.

Hàm lượng ethanol:

19% ± 1% (Phụ lục 6.15 – ĐĐVN III).

Tỷ trọng:

Ở 20°C: 1,05 – 1,10 (Phụ lục 5.15 – ĐĐVN III, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

3. KIỂM NGHIỆM RƯỢU THUỐC

3.1. Định nghĩa

Rượu thuốc là dạng thuốc lỏng có mùi thơm và vị ngọt, điều chế bằng cách ngâm dược liệu thực vật hoặc động vật (đã chế biến) trong rượu hoặc ethanol loãng trong một thời gian nhất định (tùy theo quy định của từng công thức) rồi gạn lấy rượu thuốc. Hàm lượng ethanol trong rượu thuốc không quá 45%.

3.2. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử

3.2.1. Màu sắc

- Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng.
- Cách tiến hành: Lấy ở 2 chai rượu trong mỗi lô sản xuất, mỗi chai 5ml, cho vào 2 ống nghiệm (thủy tinh không màu, đồng cỡ). Quan sát màu của hai ống ở ánh sáng thiên nhiên bằng cách nhìn ngang, màu sắc của hai ống phải như nhau và đúng như màu sắc đã quy định trong từng chuyên luận.

3.2.2. Mùi vị

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng.

3.2.3. Độ trong và độ đồng nhất

- Rượu thuốc phải trong đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.
- Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có váng mốc. Hút 5ml rượu thuốc ở vị trí cách đáy chai khoảng 2cm, cho vào ống nghiệm (thủy tinh không màu, dung tích 10 – 20ml, quan sát ở ánh sáng thiên nhiên bằng cách nhìn ngang. Rượu thuốc phải trong và đồng nhất. Nếu không đạt yêu cầu, thử lại lần thứ hai với một chai rượu thuốc khác. Lần này không đạt thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.

3.2.4. Hàm lượng ethanol

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng.

Cách xác định: Hàm lượng ethanol trong chế phẩm được xác định theo chỉ dẫn ở Phụ lục 6.15 – ĐĐVN III.

3.2.5. Tỷ trọng

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận. Xác định tỷ trọng theo Phụ lục 5.15 – ĐĐVN III.

3.2.6. Độ lắng cặn

– Đạt yêu cầu theo quy định trong từng chuyên luận.

– Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, nếu thấy có cặn thì để yên khoảng 48 giờ, sau đó mở nút và thận trọng dùng ống cao su hay ống nhựa làm xiphông, hút phần rượu ở phía trên, để còn lại 15 – 20ml (đối với rượu có thể tích cặn không quá 0,5ml), hoặc 40 – 50ml (đối với rượu có thể tích cặn trên 0,5ml). Lắc cặn trong chai cho tan, rót hết sang ống đong 25ml (chia độ 0,5ml) hoặc 50ml (chia độ 1ml) có nút. Lấy phần rượu trong đã hút xiphông để tráng chai, đổ vào ống đong rồi thêm rượu thuốc vừa đủ 25ml hoặc 50ml. Để lắng 48 giờ, đọc kết quả trên vạch chai.

3.3. Ví dụ

Kiểm nghiệm Rượu bổ huyết trừ phong – ĐĐVN III:

– Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với " Rượu thuốc " và các yêu cầu của chuyên luận riêng.

– Công thức bào chế của Rượu bổ huyết trừ phong gồm:

Cẩu tích	20g	Thổ phục linh	10g
Ngũ gia bì	10g	Huyết giác	10g
Tang chi	30g	Tục đoạn	20g
Ngưu tất	10g	Hy thiêm	30g
Hà thủ ô đỏ	40g	Đường trắng	130g
Thiên niên kiện	30g	Kê huyết đằng	40g
Hoàng tinh	20g	Ethanol	130ml

a) Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Chất lỏng trong, màu đỏ nâu, mùi đặc biệt, vị ngọt cay.	Cảm quan.
2. Độ trong	Chế phẩm phải trong.	Cảm quan.
3. Hàm lượng ethanol	19 – 23%	Theo chuyên luận chung.
4. Tỷ trọng	Ở 20°C: 1,02 – 1,04.	Theo chuyên luận chung, dùng tỷ trọng kế.
5. Độ lắng cặn	Lớp cặn không được quá 0,5ml.	Theo chuyên luận chung.

b) Phương pháp thử

Tính chất:

Chất lỏng trong, màu đỏ nâu, mùi đặc biệt, vị ngọt cay.

Độ trong:

Chế phẩm phải trong. Xem chuyên luận "Rượu thuốc" (Phụ lục 1.17 – ĐĐVN III).

Hàm lượng ethanol:

19 – 23% (Phụ lục 6.15 – ĐĐVN III).

Tỷ trọng:

Ở 20°C: từ 1,02 – 1,04 (Phụ lục 5.15 – ĐĐVN III, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Độ lắng cặn:

Lớp cặn không được quá 0,5ml (Phụ lục 1.17 – ĐĐVN III).

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm chung của thuốc hoàn.
2. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm của cao thuốc.
3. Trình bày tiêu chuẩn và kỹ thuật kiểm nghiệm của rượu thuốc.

Chọn câu trả lời đúng cho các câu hỏi từ 4 đến 6 bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn:

4. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của thuốc hoàn được uống theo số lượng viên như sau:
- a) Thuốc đại tràng hoàn có khối lượng trung bình 0,1258g
 - A. $\pm 10\%$
 - B. $\pm 15\%$
 - C. $\pm 12\%$
 - D. $\pm 7\%$
 - b) Thuốc hoàn phong tê thấp có khối lượng trung bình 1,5632g
 - A. $\pm 5\%$
 - B. $\pm 10\%$
 - C. $\pm 7\%$
 - D. $\pm 6\%$
 - c) Thuốc hoàn bổ thận dương có khối lượng trung bình 5,2687g
 - A. $\pm 10\%$
 - B. $\pm 12\%$
 - C. $\pm 7\%$
 - D. $\pm 8\%$
5. Quy định về thời gian rã cho phép đối với thuốc hoàn như sau:
- a) Thuốc đại tràng hoàn (hoàn nước) là không quá:
 - A. 60 phút
 - B. 45 phút
 - C. 90 phút
 - D. 120 phút
 - b) Thuốc hoàn phong tê thấp (hoàn nước) là không quá:
 - A. 105 phút
 - B. 45 phút
 - C. 60 phút
 - D. 90 phút
 - c) Thuốc hoàn bổ thận dương (hoàn hồ) là không quá:
 - A. 105 phút
 - B. 120 phút
 - C. 60 phút
 - D. 90 phút
6. Quy định giới hạn cho phép về hàm lượng nước đối với cao thuốc như sau:
- a) Cao đặc, không quá:
 - A. 5%
 - B. 15%
 - C. 20%
 - D. 10%
 - b) Cao khô, không quá:
 - A. 5%
 - B. 15%
 - C. 20%
 - D. 10%

Bài 13

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC TRONG KIỂM NGHIỆM THUỐC

MỤC TIÊU

- Trình bày được phương pháp làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật và nêu được các phương pháp khử trùng.
- Trình bày được mục đích, nguyên tắc, phương pháp thử chất gây sốt, độ vô khuẩn và giới hạn nhiễm khuẩn của chế phẩm bào chế và nguyên liệu làm thuốc.

Trong Phụ lục 10 của Dược điển Việt Nam III có trình bày phương pháp kiểm nghiệm thuốc bằng phương pháp sinh học. Trong khuôn khổ của tài liệu này, chúng tôi trình bày ba phép thử đánh giá chất lượng thuốc là thử chất gây sốt, thử giới hạn nhiễm khuẩn và thử độ vô trùng.

1. YÊU CẦU CƠ BẢN CỦA PHÒNG KIỂM NGHIỆM VI SINH VẬT

1.1. Quy tắc an toàn trong phòng kiểm nghiệm vi sinh vật

Cán bộ làm việc tại phòng kiểm nghiệm vi sinh phải có đủ kiến thức và kinh nghiệm về công tác kiểm nghiệm vi sinh và phải tuân theo các quy tắc an toàn trong khi làm việc.

1.1.1. Yêu cầu về phòng kiểm nghiệm vi sinh

Diện tích làm việc, các khu vực trong phòng được phân chia và bố trí phù hợp, khoảng cách làm việc hợp lý để hạn chế tối đa sự di chuyển trong phòng (làm xáo động không khí và làm tăng nguy cơ nhiễm). Hệ thống chiếu sáng đầy đủ, có hệ thống thông khí để tránh sự đọng bụi và lan truyền các vi sinh vật,... Khu vực thao tác nuôi cấy nên được lắp đặt đèn tử ngoại để diệt trùng không khí và không gian thao tác. Chú ý tránh hoặc không dùng quạt trong phòng

kiểm nghiệm vi sinh, tránh đổ môi trường, hoá chất trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời.

1.1.2. Các quy tắc an toàn trong phòng kiểm nghiệm vi sinh

– Do thực tế cán bộ phòng kiểm nghiệm vi sinh phải thao tác trực tiếp với các vi sinh vật, đồng thời có nhiều chủng vi sinh vật gây bệnh nên khi tiến hành làm việc phải hết sức cẩn thận với các chủng đang thao tác. Chú ý phải nắm vững nguyên tắc, phương pháp làm việc với vi sinh vật. Không ăn uống, hút thuốc trong phòng kiểm nghiệm. Trong khi làm việc phải mặc áo blouse, mang khẩu trang khi thao tác với vi sinh vật. Trước khi bắt đầu thử nghiệm cần sát trùng mặt bàn, sát trùng tay bằng cồn 70°C hoặc dung dịch chất diệt khuẩn khác, để khô. Sau khi hoàn thành công việc lại tiến hành sát trùng như trên. Trường hợp vô tình bị đổ, nhiễm vi sinh vật ra nơi làm việc, dùng khăn giấy tẩm chất diệt khuẩn lau kỹ, sau đó khử trùng lại bàn làm việc.

– Phải ghi chú tên vi sinh vật, ngày tháng thí nghiệm lên tất cả các hộp Petri, ống nghiệm môi trường, bình nuôi cấy.

– Tất cả chất thải rắn, môi trường chứa hoặc nhiễm vi sinh vật cần được hấp khử trùng trước khi thải đi.

– Các dụng cụ, bình chứa nhiễm vi sinh vật cần được ngâm vào dung dịch chất diệt khuẩn (nước Javel) trước khi rửa và tái sử dụng.

1.2. Dụng cụ, thiết bị

– Các dụng cụ bằng thủy tinh: ống nghiệm, đĩa petri, đèn cồn, cốc thủy tinh, bình cầu đáy bằng và tròn, bình tam giác, các loại ống đong, ống hút,...

– Que cấy: que cấy thẳng, que cấy vòng, que cấy móc.

– Màn lọc vô trùng: màn lọc có kích thước lỗ lọc 0,2 μ m nhỏ hơn đường kính vi khuẩn. VSV sẽ bị giữ lại trên màn lọc còn dung dịch đi qua sẽ vô trùng. Màn lọc có thể bằng cellulose hay hỗn hợp cellulose và muối este của cellulose.

– Thiết bị: nhiệt kế, máy đo pH, tủ sấy, tủ ẩm, máy lắc, bể điều nhiệt, tủ lạnh, đèn tử ngoại (UV), nồi hấp, kính hiển vi, bình ủ kỵ khí,...

– Tủ cấy vô trùng: tủ cấy vô trùng được sử dụng để đảm bảo tính vô trùng cao khi thao tác với vi sinh vật. Không khí trong tủ cấy vô trùng được cung cấp qua hệ thống lọc không khí. Đèn tử ngoại có tác dụng khử trùng bề mặt bàn

thao tác trong tủ cấy và bề mặt các dụng cụ thiết bị khác. Trước khi sử dụng tủ cấy vô trùng, cần bật đèn tử ngoại trước 30 – 60 phút. Khi bắt đầu thao tác, tắt đèn tử ngoại và bật hệ thống lọc không khí.

1.3. Kỹ thuật cơ bản trong phân tích kiểm nghiệm vi sinh vật

1.3.1. Phương pháp pha chế môi trường

– Môi trường nuôi cấy vi sinh vật thông thường chứa đầy đủ các thành phần về nguồn carbon, đạm, chất khoáng, các yếu tố sinh trưởng,... ngoài ra còn chứa một lượng nước cần thiết (khoảng 70 – 85%), có pH xác định thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật. Trong một số môi trường đặc biệt có thể thêm các chất kháng sinh, các chất ức chế sự sinh trưởng của một số vi sinh vật theo yêu cầu mục tiêu của thí nghiệm,...

– Môi trường nuôi cấy thường được phân loại dựa vào tính chất vật lý môi trường và chia thành 3 dạng: lỏng (liquid media), rắn (solid media) và bán rắn (semisolid media).

Hiện nay, nhiều hãng sản xuất môi trường chuyên nghiệp đã sản xuất các môi trường dạng đông khô. Các môi trường này thường được điều chế từ các hoá chất tổng hợp tinh khiết với hàm lượng xác định.

– Trong thử nghiệm vi sinh, chất lượng môi trường đóng vai trò quan trọng, vì vậy việc pha chế môi trường cần được thực hiện chính xác, cẩn thận. Cách pha chế như sau:

+ Để chuẩn bị môi trường cần phải cân đong chính xác từng thành phần của môi trường. Một số thành phần bắt buộc phải cân chính xác trên cân phân tích như các thành phần vi lượng,...

+ Với môi trường lỏng: cân các thành phần, hoà tan vào trong nước.

+ Với môi trường rắn: bổ sung thêm chất làm rắn như thạch, đồng thời phải gia nhiệt để làm tan môi trường.

+ Yêu cầu môi trường phải trong để dễ quan sát, trường hợp cần thiết phải lọc qua giấy lọc, gạc hoặc than hoạt. Tùy theo đối tượng yêu cầu của thử nghiệm, môi trường được điều chỉnh đến pH quy định bằng HCl 1N hoặc NaOH 1N. Môi trường được khử trùng ở nhiệt độ và thời gian thích hợp phụ thuộc vào thành phần của môi trường. Với các môi trường bình thường, thường khử trùng ở 121°C (1atm) trong 15 – 20 phút.

– Môi trường đông khô: Được pha chế đơn giản bằng cách phối hợp một lượng cần thiết môi trường đông khô vào nước, điều chỉnh pH, đóng ống và khử trùng. Trong nhiều trường hợp, có thể không cần điều chỉnh pH.

– Các ống nghiệm đựng môi trường phải sạch và không có bụi. Trường hợp đặc biệt, phải rửa ống nghiệm bên trong bằng nước ấm và xà phòng có sử dụng chổi cọ ống nghiệm. Rửa lại 2 lần nước, lần đầu bằng nước máy, sau đó bằng nước cất để loại trừ xà phòng còn sót lại. Úp ngược các ống nghiệm lên rồi để tự ráo nước, chú ý không lau bằng khăn.

– Khi phân môi trường ra dụng cụ chứa cần chú ý chỉ dùng 1 phần của dụng cụ chứa. Thông thường với các bình chứa như bình cầu, bình tam giác chỉ đổ $1/3 - 1/2$ dung tích, đóng 5ml môi trường lỏng trong ống nghiệm, 5 – 7ml đối với ống thạch nghiêng.

1.3.2. Các kỹ thuật khử trùng dụng cụ và môi trường

Có nhiều phương pháp khử trùng vi sinh vật: bằng các tác nhân lý hoá như nhiệt độ, bức xạ, lọc,... Tác nhân khử trùng được chọn tùy mục đích và vật liệu cần khử trùng.

a) Khử trùng bằng nhiệt

Nhiệt độ cao có thể tiêu diệt được các vi sinh vật do tác dụng làm enzym của vi sinh vật bị biến tính, làm mất nước và oxy hoá các tế bào.

– Khử trùng bằng nhiệt khô: thông thường sấy 170°C trong 2 giờ hoặc đốt. Dụng cụ thủy tinh (đĩa petri, ống hút thủy tinh,...) bên với nhiệt nên thường được khử trùng bằng phương pháp sấy ở 180°C trong 2 giờ trong tủ sấy (chú ý các ống hút cần được nhét nút bông không thấm nước ở đầu hút). Dụng cụ thủy tinh cần được gói kín trong giấy hoặc giấy nhôm; ống hút được cho vào ống inox trước khi sấy. Các thanh gạt thủy tinh được khử trùng bằng cách đốt với cồn 70°C và các que cấy kim loại được khử trùng bằng cách đốt trực tiếp trên ngọn lửa.

– Khử trùng bằng nhiệt ẩm: Đun sôi 100°C trong 10 phút để diệt tế bào sinh dưỡng hoặc hấp bằng hơi nước ở 1atm, 121°C trong 15 – 30 phút để diệt trùng hoàn toàn. Phương pháp này thường được dùng để khử trùng môi trường nuôi cấy và dụng cụ phẫu thuật.

Phương pháp nhiệt ẩm bằng nồi hấp áp lực ở 121°C trong 15 – 30 phút thường được sử dụng để các thành phần hữu cơ của môi trường không bị cháy,

biến tính và môi trường không bị mất nước. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc làm tăng nhiệt độ bằng hơi nước bão hoà dưới áp suất lớn hơn áp suất bình thường của khí quyển.

– Phương pháp khử trùng gián đoạn (phương pháp Tyndall): môi trường được hấp 3 – 4 lần ở nhiệt độ không quá 100°C trong 30 – 40 phút, cách nhau 24 giờ. Giữa 2 lần hấp ủ môi trường ở $28 - 32^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ cho bào tử nảy mầm. Các bào tử nào còn lại sống sót nảy mầm sẽ bị diệt ở lần hấp tiếp theo.

– Phương pháp khử trùng nhiệt độ thấp (phương pháp Pasteur): đun cách thủy môi trường 60°C trong 30 phút hoặc 80°C trong 15 phút; sau đó làm lạnh đột ngột dưới 10°C . Phương pháp này không diệt được bào tử.

Một số trường hợp môi trường có chứa các chất không bền với nhiệt như vitamin, acid amin,... thường được khử trùng bằng ở 0,5atm trong 20 – 30 phút.

b) Khử trùng bằng màng lọc

Sử dụng màng lọc có đường kính lỗ màng lọc là $0,22\mu\text{m}$, cho dịch lỏng đi qua, giữ lại các vi khuẩn và vi sinh vật có kích thước lớn hơn. Phần chảy qua phễu được đựng trong các dụng cụ vô trùng. Trước khi dùng thiết bị lọc và màng lọc phải được khử trùng. Phương pháp này thường được sử dụng để khử trùng trong các trường hợp có các chất dễ bị oxy hoá hoặc không bền với nhiệt.

c) Khử trùng bằng bức xạ

Có thể dùng tia X, tia gama, tia tử ngoại để khử trùng. Tia tử ngoại được dùng nhiều nhất để khử trùng các buồng pha chế, tủ cấy vi sinh vật; trong trường hợp này chú ý đèn tử ngoại phải được chiếu trực tiếp, thẳng góc với nơi làm thí nghiệm, công suất và số lượng đèn phù hợp với diện tích buồng cấy. Đèn tử ngoại ít có tác dụng với nấm, do đó muốn khử trùng buồng pha chế cần phối hợp thêm dùng hoá chất để diệt nấm.

d) Khử trùng bằng hoá chất

Nhiều hoá chất có thể kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật. Ethylen oxyd, triethylen glycol,... được sử dụng để khử trùng, ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Sử dụng dung dịch Cloramin B; Cloramin T 2% hoặc dung dịch phenol 0,5% để xử lý buồng vô khuẩn. Tiệt khuẩn không khí bằng dung dịch formaldehyd (500ml cho 1 lít nước).

1.3.3. Các kỹ thuật thao tác vô trùng

Trong kiểm nghiệm vi sinh vật, các chủng vi sinh vật cần được cấy vào nhiều môi trường khác nhau để tăng sinh, khảo sát đặc tính sinh trưởng của vi

sinh vật, các thử nghiệm sinh hoá,... Việc cấy chủng cần chú ý thực hiện để không đưa các vi sinh vật khác vào hay vi sinh vật nhiễm vào môi trường, vì vậy các thao tác cần hết sức cẩn thận để loại trừ các vi sinh vật gây nhiễm. Để đảm bảo có được trạng thái vô trùng trước khi sử dụng, môi trường và các dụng cụ cần được khử trùng thích hợp.

Các thao tác vô trùng được thực hiện trong không gian vô trùng được tạo ra bởi ngọn lửa đèn cồn, hoặc trong tủ cấy vô trùng. Ngoài ra người tiến hành thử nghiệm cần mang găng tay hoặc sát trùng tay với cồn 70° hoặc các dung dịch tiệt khuẩn, đồng thời sát trùng mặt bàn thao tác. Sau khi thực hiện xong việc cấy chủng lại tiến hành sát trùng tay, mặt bàn tương tự như trên.

– Khử trùng que cấy: Đốt nóng đỏ đầu que cấy trong ngọn lửa và đốt nhẹ phần cán. Cầm thẳng đứng que cấy lên cho que nóng đều. Mỏ nút bông và đưa ngay que cấy đã khử trùng vào dụng cụ chứa giống. Áp đầu que cấy vào thành ống nghiệm, bình chứa hoặc đặt nhẹ lên phần môi trường không chứa vi sinh vật để làm nguội que cấy trước khi lấy vi sinh vật.

– Chuẩn bị ống thạch nghiêng và đổ đĩa:

+ Ống thạch nghiêng: Ngay sau khi khử trùng, đặt đầu các ống nghiệm dựng môi trường rắn cao để tạo độ nghiêng sao cho chiều dài của môi trường trong ống không quá 2/3 chiều cao ống, thạch không được chạm vào nút bông. Để nguội.

+ Đổ đĩa: Đổ ở nhiệt độ 45 – 55°C vừa hạn chế sự ngưng tụ hơi nước trên nắp đĩa petri, vừa tạo được bề mặt môi trường phẳng. Đổ đĩa trong tủ cấy vô trùng, bề dày môi trường trong đĩa là 3 – 4mm.

2. THỬ GIỚI HẠN NHIỄM KHUẨN

Thử giới hạn nhiễm khuẩn (hay thử giới hạn vi sinh vật) là một thử nghiệm bắt buộc cho các dược phẩm từ nguyên liệu đến thành phẩm không được tiệt trùng trong quá trình sản xuất.

2.1. Mục đích

Thử độ nhiễm vi sinh vật nhằm mục đích xác định giới hạn tối đa của số lượng vi khuẩn hiếu khí, vi nấm có trong 1g (hoặc 1ml) chế phẩm thử. Đồng thời phát hiện các vi khuẩn chỉ điểm vệ sinh quy định không được có trong

thuốc là: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, các loài *Salmonella*, vi khuẩn kỵ khí *Clostridia*.

2.2. Nguyên tắc

Đếm số vi khuẩn hiếu khí, nấm mốc, nấm men có trong được phẩm được thể hiện bằng các khuẩn lạc đặc trưng trên đĩa thạch dinh dưỡng thích hợp. Căn cứ vào các đặc tính hình thái, sinh lý, sinh hoá của từng loại vi khuẩn để xác định vi khuẩn gây bệnh. Trên cơ sở kết quả thí nghiệm đánh giá chất lượng của thuốc theo Tiêu chuẩn Dược điển hoặc Tiêu chuẩn cơ sở.

2.3. Phương pháp thử xác định giới hạn tối đa vi sinh vật

2.3.1. Chuẩn bị môi trường

a) Môi trường xác định giới hạn vi khuẩn

Môi trường thạch Casein – Đậu tương:

Pepton casein	15,0g
Pepton đậu tương	5,0g
NaCl	5,0g
Thạch	15,0g
Nước cất	1000ml
pH = 7,1 → 7,3	

Môi trường thạch thường:

Cao thịt	5g
Pepton	10g
NaCl	5g
Thạch	18g
Nước cất vừa đủ	1000ml
pH = 7,4 → 7,6	

b) Môi trường xác định giới hạn vi nấm

Môi trường thạch Sabouraud – Kháng sinh:

Pepton	10g
Glucose	20g

Thạch	20g
Nước cất	1000ml
pH = 5,6 → 6,0	

Thêm 50mg cloramphenicol trong 1 lít môi trường trước khi tiệt trùng hoặc dùng benzyl penicillin, hoặc tetracylin cho vào môi trường sau khi tiệt trùng.

2.3.2. Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử theo quy định chung được lấy 10g (hoặc 10ml) để thí nghiệm.

2.3.3. Đếm số lượng vi sinh vật

– Cho vào mỗi đĩa petri 1ml chất thử ở nồng độ thích hợp sao cho không quá 300 khuẩn lạc vi khuẩn và 100 khuẩn lạc vi nấm trong 1ml. Thêm 15 – 20ml môi trường thạch casein – đậu tương hoặc môi trường thạch thường đối với đĩa xác định số lượng vi khuẩn và 15 – 20ml thạch Sabouraud – kháng sinh đối với đĩa xác định số lượng vi nấm đã để nguội dưới 45°C. Nuôi cấy ở 30 – 35°C trong 1 – 2 ngày đối với đĩa xác định số lượng vi khuẩn và ở 25 – 28°C trong 4 – 5 ngày đối với đĩa xác định số lượng vi nấm.

Ví dụ: Xác định số lượng vi khuẩn hiếu khí, vi nấm trong 1ml bổ phế chỉ khái lộ.

Tiến hành: Dùng cồn 70° sát trùng bên ngoài lọ. Lấy 10ml chế phẩm pha vào 90ml dung dịch NaCl 0,9% để được nồng độ pha loãng 10^{-1} . Pha loãng tiếp được nồng độ 10^{-2} . Cho vào mỗi hộp petri 1ml dung dịch chất thử của mỗi nồng độ. Thêm 15ml dung dịch môi trường thạch thường đã đun chảy để nguội khoảng 45°C đối với đĩa xác định số lượng vi khuẩn, và môi trường Sabouraud – kháng sinh đối với đĩa xác định số lượng vi nấm. Xoay nhẹ đĩa để chất thử trộn đều vào môi trường. Mỗi nồng độ làm 2 đĩa thử song song. Điều kiện nuôi cấy như trên.

– Sau thời gian nuôi cấy, đếm số khuẩn lạc vi khuẩn, vi nấm mọc trên các đĩa thử.

2.3.4. Tính kết quả

Tổng số vi khuẩn hiếu khí, vi nấm trong 1g (1ml) được tính theo công thức:

$$X = \frac{A_1 k_1 + A_2 k_2}{2}$$

(Phép thử thực hiện với 2 nồng độ).

A_1 : số khuẩn lạc vi sinh vật trung bình ở nồng độ pha loãng k_1 .

A_2 : số khuẩn lạc vi sinh vật trung bình ở nồng độ pha loãng k_2 .

k_1, k_2 : độ pha loãng.

Các Dược điển có quy định: mẫu thử có ít hơn 10 vi sinh vật/1g (1ml) nếu không có khuẩn lạc mọc trên đĩa thử ở nồng độ 10^{-1} .

Bảng 22. Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Mức	Loại chế phẩm	Yêu cầu
1	Các chế phẩm dùng cho bỏng và các vết loét sâu.	Không có các vi khuẩn có thể sống lại trong 1g (ml) mẫu thử.
2	Các chế phẩm dùng tại chỗ như chườm sưng tấy, tổn thương và các màng nhầy (mũi, họng, tai, âm đạo),...	Tổng số vi khuẩn hiếu khí không quá 100 trong 1g (ml). Mẫu thử phải không có nấm và mốc trong 1g (ml).
3	Các chế phẩm dùng tại chỗ cho da như kem bôi, nước thơm, dầu, dung dịch, bột,...	Tổng số vi khuẩn hiếu khí không quá 500 trong 1g (ml). Mẫu thử phải không có nấm và mốc trong 1g (ml).
4	Các chế phẩm dùng uống; qua trực tràng; thấm qua da.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí không quá 10^4 trong 1g (ml). Nấm và mốc không quá 100 trong 1g (ml).
5	Các chế phẩm có chứa các nguyên liệu có nguồn gốc thực vật, động vật không thể xử lý theo quy trình làm giảm lượng vi khuẩn.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá $5 \cdot 10^4$ trong 1g (ml). Nấm và mốc không quá 500 trong 1g (ml).

3. THỬ VÔ TRÙNG

3.1. Mục đích

Mục đích của thử vô trùng nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn, vi nấm trong các chế phẩm như dịch tiêm truyền, một số loại thuốc tiêm, thuốc tra mắt và các dụng cụ y tế (dụng cụ phẫu thuật mà theo tiêu chuẩn riêng cần phải vô trùng).

3.2. Nguyên tắc

Vi sinh vật có trong chế phẩm thử sẽ phát triển trên các môi trường dinh dưỡng thích hợp; trong môi trường lỏng, vi sinh vật làm đục môi trường, tạo vẩn trên bề mặt hoặc lắng cặn ở đáy ống nghiệm; trên môi trường đặc vi khuẩn, vi nấm mọc thành các khuẩn lạc đặc trưng.

3.3. Môi trường

Trong nhiều Dược điển, để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí thường dùng môi trường Thioglycolat lỏng và để phát hiện vi khuẩn, vi nấm dùng môi trường Casein – đậu tương lỏng. Tuy nhiên, có thể dùng các môi trường khác cho thử nghiệm, với điều kiện các môi trường này thích hợp cho sự phát triển của loại vi sinh vật cần phát hiện như môi trường canh thang cao thịt – pepton để phát hiện vi khuẩn hiếu khí; môi trường Wilson – Blair phát hiện vi khuẩn kỵ khí; môi trường Sabouraud lỏng để phát hiện vi nấm.

Ví dụ:

– Môi trường Thioglycollat:

Agar	0,75g
Yeast extract	5,0g
Pepton casein	15,0g
Glucose	5,5g
Na thioglycollat	0,5g
NaCl	2,5g
L-Cystine	0,5g
Resazurin	0,001g
Nước cất	1 lít

Hấp tiệt trùng ở 120°C trong 20 phút, lấy ra làm lạnh ngay, pH = 6,9 – 7,3.

– Môi trường canh thang casein – đậu tương lỏng:

Pepton casein	17,0g
Pepton đậu tương	3,0g
NaCl	5,0g
K ₂ HPO ₄	2,5g

Glucose	2,5g
Nước cất	1000ml

Tiệt trùng ở 121°C, 1 atm trong 20 phút, pH = 7,1 – 7,3.

3.4. Phương pháp thử

Thử vô trùng bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp có kỹ thuật đơn giản, nhưng khả năng phát hiện vi sinh vật giảm khi số lượng vi sinh vật có ít và phân phối trong một thể tích chất thử lớn. Phương pháp này không thực hiện được với các chế phẩm có tác dụng ức chế và các chất kháng sinh, vì khi thí nghiệm chất thử được cấy trực tiếp vào các môi trường nuôi cấy thích hợp cho các vi khuẩn, vi nấm.

3.4.1. Lượng mẫu thử dùng trong thí nghiệm

Lượng mẫu thử cần cấy vào các môi trường tùy thuộc vào từng loại mẫu (bảng 23).

Bảng 23. Lượng mẫu thử dùng cho thí nghiệm nuôi cấy trực tiếp

Lượng chế phẩm trong một đơn vị đóng gói	Lượng tối thiểu cho một môi trường nuôi cấy	Thể tích môi trường
Chất lỏng:		
Thể tích $V < 1\text{ml}$	Toàn bộ một ống	10ml
$1\text{ml} \leq V < 4\text{ml}$	1/2 ống	15ml
$4\text{ml} \leq V < 20\text{ml}$	2ml	20ml
$20\text{ml} \leq V < 50\text{ml}$	5ml	40ml
$50\text{ml} \leq V < 100\text{ml}$	10ml	80ml
$V \geq 100\text{ml}$	Thường 10%	100ml
Chất rắn:		
Khối lượng $P < 50\text{mg}$	Toàn bộ một đơn vị đóng gói	20ml
$50\text{mg} < P < 200\text{mg}$	1/2 khối lượng của một đơn vị đóng gói	40ml
$P \geq 200\text{mg}$	100mg	80ml

– Chất lỏng là dầu hay dung dịch dầu phải thêm vào môi trường nuôi cấy 1% Tween 80 hoặc các chất nhũ hoá khác với nồng độ thích hợp.

– Mẫu thử là dạng mỡ hay kem được hoà loãng vào dung dịch pepton 0,1% vô trùng theo tỷ lệ 1/10 trước khi cấy vào môi trường (dung dịch pepton cần thêm Tween 80 với tỷ lệ 1ml/1lít).

3.4.2. Kỹ thuật thử

Kiểm tra độ vô khuẩn mẫu thử là được phẩm thì dùng dụng cụ vô trùng cấy trực tiếp chế phẩm thử vào các môi trường phát hiện vi khuẩn, vi nấm theo số lượng quy định. Chất rắn là dạng bột có thể cho trực tiếp vào môi trường hoặc làm thành dung dịch hay nhũ dịch 1% sau đó cấy vào môi trường.

Ví dụ: Thử vô trùng thuốc tiêm vitamin B₁.

– Dụng cụ thí nghiệm: pipet 1ml, ống nghiệm, kẹp sắt, đèn cồn. Các dụng cụ rửa sạch, tiệt trùng khô ở 160°C trong 2 giờ trước khi dùng.

– Pha chế môi trường: sử dụng môi trường canh thang và môi trường Sabouraud lỏng. Hoà tan từng chất vào nước, đun nóng cho tan hoàn toàn, điều chỉnh pH bằng NaOH 1N hoặc HCl 1N. Điều chỉnh cho đủ thể tích, phân chia môi trường vào ống nghiệm, mỗi ống 10ml. Tiệt trùng bằng nồi hấp autoclave ở 121°C, 1atm trong 15 – 20 phút.

– Tiến hành: Sát trùng ống tiêm bằng cồn 70°. Bỏ đầu ống tiêm bằng kẹp sắt vô trùng. Hút toàn bộ thuốc trong 1 ống cho vào 10ml môi trường canh thang và 1 ống khác được cấy vào môi trường Sabouraud (mỗi môi trường làm 2 ống). Ống phát hiện vi khuẩn nuôi cấy ở 30 – 35°C ít nhất trong 4 ngày và ống phát hiện vi nấm nuôi cấy ở 25 ± 2°C ít nhất trong 7 ngày. Mỗi loại môi trường làm 2 – 3 ống thử song song.

3.4.3. Nhận định kết quả

Trong suốt thời gian nuôi cấy, hằng ngày phải kiểm tra các ống nuôi cấy. Nếu sau thời gian nuôi cấy không có sự xuất hiện vi sinh vật, mẫu thử được coi là vô trùng. Nếu có một hoặc nhiều ống có vi sinh vật phải làm lần hai. Ở lần hai, nếu không có vi sinh vật mọc, ta kết luận là chế phẩm vô trùng, trường hợp có nhiễm vi sinh vật phải tiến hành phân lập so sánh với vi sinh vật đã bị nhiễm ở lần một. Nếu có vi sinh vật giống lần một thì mẫu thử không vô trùng;

nếu có vi sinh vật khác lẫn một, thí nghiệm được làm lại lần ba với số mẫu gấp đôi. Trong lần ba nếu không có vi sinh vật, mẫu vô trùng; nếu có vi sinh vật, mẫu thử không vô trùng.

4. THỬ CHẤT GÂY SỐT

Trong kiểm nghiệm thuốc tiêm hoặc dung dịch tiêm truyền đều phải đánh giá chỉ tiêu này. Hiện nay có 2 phương pháp thử.

– Phương pháp in vitro: Sử dụng thuốc thử LAL (Limulus Amebocyte Lysate), thuốc thử này khi gặp chất gây sốt sẽ tạo ra một tủa gel có thể phát hiện được bằng mắt thường.

– Phương pháp sinh học: Dùng để đánh giá chất lượng mẫu thử dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ sau khi tiêm vào tĩnh mạch thỏ dung dịch của mẫu thử. Đây là phương pháp thử chất gây sốt hiện nay Dược điển Việt Nam quy định.

4.1. Động vật thí nghiệm

Dùng thỏ khỏe mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái không có chữa, cân nặng từ 1,5kg trở lên, chưa dùng vào thí nghiệm khác. Có thể dùng lại những thỏ đã thử chất gây sốt nhưng phải cho nghỉ hai ngày, nếu lần thử trước âm tính; hoặc hai tuần lễ, nếu lần thử trước dương tính. Thỏ được nuôi dưỡng riêng trong chuồng bằng thức ăn tổng hợp không có chất kháng sinh. Nhà chăn nuôi phải sạch sẽ, thoáng, yên tĩnh và có nhiệt độ ổn định, chênh lệch với nhiệt độ phòng thí nghiệm không quá $\pm 3^{\circ}\text{C}$.

4.2. Thiết bị, dụng cụ

Nhiệt kế hay thiết bị điện để đo nhiệt độ phải có độ chính xác $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Khi đo nhiệt độ, nhiệt kế được đặt sâu trong trực tràng thỏ ít nhất 5cm và tối thiểu 5 phút. Nếu là thiết bị điện, phải để yên trong trực tràng ít nhất 60 phút trước khi đo nhiệt độ và giữ nguyên ở vị trí đó trong suốt thời gian thí nghiệm.

Các dụng cụ thuỷ tinh, bơm tiêm, kim tiêm phải rửa sạch, tráng nước cất và loại chất gây sốt bằng cách sấy ở 250°C trong 30 phút, hoặc 200°C trong 60 phút.

4.3. Tiến hành

Thí nghiệm được tiến hành ở nơi yên tĩnh, tránh các yếu tố kích động. Độ ẩm và nhiệt độ của phòng phải ổn định. Giữ thỏ trên bàn bằng các giá kẹp ở cổ

sao cho thỏ vẫn ở tư thế thoải mái nhất. Không cho thỏ ăn trong thời gian thí nghiệm.

1 – 3 ngày trước ngày tiêm mẫu thử, kiểm tra sơ bộ với những thỏ đạt tiêu chuẩn nhưng không được dùng thử chất gây sốt trong vòng 2 tuần trước đó. Sau khi thỏ ở vị trí ổn định, đo nhiệt độ thỏ 3 lần, mỗi lần cách nhau một giờ. Những thỏ có nhiệt độ chênh lệch giữa các lần đo $\geq 0,6^{\circ}\text{C}$ không dùng vào thí nghiệm.

Trong ngày tiêm mẫu thử, để thỏ ổn định trong phòng thí nghiệm ít nhất 90 phút trước khi tiêm. Ngay trước lúc tiêm 40 phút, đo nhiệt độ thỏ 2 lần cách nhau 30 phút. Nhiệt độ ban đầu của thỏ là giá trị trung bình của hai lần đo này. Chỉ những thỏ có nhiệt độ chênh lệch giữa hai lần đo không quá $0,2^{\circ}\text{C}$ và nhiệt độ ban đầu trong khoảng từ 38°C – 39°C mới dùng để tiêm mẫu. Mỗi lần thử được tiêm cho một nhóm 3 thỏ có nhiệt độ khác nhau không quá 1°C .

Đo nhiệt độ thỏ ở cách nhau khoảng 30 phút/lần, trong 3 giờ sau khi tiêm. Nhiệt độ tối đa sau khi tiêm là nhiệt độ cao nhất đo được trong khoảng thời gian này.

Liều lượng và cách xử lý mẫu được quy định trong các chuyên luận riêng. Nếu mẫu thử là dung dịch nhược trương thì phải đẳng trương bằng natri clorid không có chất gây sốt. Thể tích dùng để tiêm có thể thay đổi từ 0,5 – 10ml/kg thỏ. Khi tiêm với thể tích lớn, nên để nóng dung dịch đến 38°C .

Thời gian tiêm cho một thỏ không kéo dài quá 4 phút. Trường hợp dùng các thiết bị đo nhiệt độ có gài đặt chương trình, giữ nhiệt kế trong trực tràng thỏ trong suốt thời gian thí nghiệm. Đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng thời gian ít nhất 30 phút và đánh giá kết quả thu được.

4.4. Đánh giá kết quả

Đáp ứng của mỗi thỏ là hiệu số của nhiệt độ tối đa sau khi tiêm mẫu thử và nhiệt độ ban đầu.

Đáp ứng của thỏ bằng 0 nếu nhiệt độ tối đa sau khi tiêm thuốc đem thử chỉ bằng hoặc thấp hơn nhiệt độ ban đầu.

Nếu không có thỏ nào có đáp ứng bằng hoặc lớn hơn $0,6^{\circ}\text{C}$ và nếu tổng số đáp ứng của 3 thỏ không vượt quá $1,4^{\circ}\text{C}$ thì mẫu thử đạt yêu cầu về thử chất gây sốt.

Nếu 1 thỏ trở lên có đáp ứng bằng hoặc lớn hơn $0,6^{\circ}\text{C}$, hoặc nếu tổng số đáp ứng của 3 thỏ lớn hơn $1,4^{\circ}\text{C}$ thì phải làm lại thí nghiệm trên 5 con thỏ khác.

Nếu không quá 3 trong số 8 thử của hai lần thí nghiệm có đáp ứng bằng hoặc lớn hơn $0,6^{\circ}\text{C}$ và nếu tổng số đáp ứng của 8 thử không vượt quá $3,7^{\circ}\text{C}$ thì mẫu thử đạt yêu cầu về thử chất gây sốt.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các quy tắc an toàn trong phòng kiểm nghiệm vi sinh.
2. Trình bày phương pháp pha chế môi trường nuôi cấy vi sinh vật.
3. Mô tả các phương pháp khử trùng.
4. Trình bày cách khử trùng bằng nồi hấp áp lực.
5. Trình bày cách tiến hành thử chất gây sốt.
6. Trình bày thử nghiệm thử vô trùng bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp.
7. Nêu mục đích, nguyên tắc của thử nghiệm thử vô trùng và thử giới hạn vi sinh vật.
8. Trình bày thử nghiệm đếm số lượng vi sinh vật trong 1g (1ml) được phẩm bằng phương pháp đĩa thạch.
9. Trình bày phương pháp xác định số lượng tối đa vi khuẩn hiếu khí, vi nấm trong một gam viên lục vị hoàn.
10. Trình bày phương pháp thử vô trùng thuốc tiêm vitamin B₁.
11. Chọn câu trả lời đúng bằng cách khoanh tròn chữ cái đầu câu được chọn đối với quy định giới hạn cho phép về nhiệt độ của thử khi kiểm tra chỉ tiêu chỉ nhiệt tổ đối với dung dịch tiêm truyền:
 - a) Cửa từng thử:
 - A. Lớn hơn 0°C và không quá $0,6^{\circ}\text{C}$.
 - B. Không quá $0,6^{\circ}\text{C}$.
 - C. Không quá $0,5^{\circ}\text{C}$.
 - D. Từ 0 – $0,6^{\circ}\text{C}$.
 - b) Cửa ba thử:
 - A. Lớn hơn 0°C và không quá $1,6^{\circ}\text{C}$.
 - B. Không quá $1,5^{\circ}\text{C}$.
 - C. Không quá $1,4^{\circ}\text{C}$.
 - D. Không quá $1,6^{\circ}\text{C}$.

ĐÁP ÁN

Bài 1

5. a) A, D
b) B, C
6. a) C
b) B

Bài 2

7. a) cao hơn
b) có tính thực tế
c) độ chính xác
8. a) A
b) D
c) B
d) D
9. a) B
b) C
c) A
10. a) C
b) A

Bài 3

4. Hàm lượng: 0,02756g/l
Sai số tương đối: $\pm 2,217\%$
Kết quả xử lý thống kê:
 $\mu = 0,02756 \pm 0,000611(g/l)$
5. A: phân huỷ mẫu bằng acid mạnh
B: chất hữu cơ
C: đốt
D: nung

Bài 4

7. 1,0619
8. 1,0848
13. a) A: đỏ cam; B: vàng
b) A: đỏ; B: vàng
c) A: vàng; B: đỏ
d) A: trắng; B: đỏ
14. a) A
b) B
c) D
15. a) A
b) D

Bài 5

4. a) pha lỏng
b) lực ly tâm
c) dung môi
13. 0,74V và 0,62V
14. 0,22V
15. 0,276%
16. 454 μ g/ml
17. a) A
b) B
18. a) B
b) C
c) B
19. a) A
b) C
c) B

Bài 7

9. 1,134
10. 1,458
11. 19,89
12. a) C
b) B
c) C
13. a) A
b) B
14. a) giải phóng
b) tan rã

Bài 8

3. a) D
b) C
c) D
4. a) C
b) A
5. a) B
b) B
c) A
d) D
6. a) A
b) D
7. Đạt

Bài 9

3. a) D
b) C
c) C
d) B
4. a) A
b) B
c) D
5. D, E
7. Không đạt
8. Đạt (99,45%)

Bài 10

4. 0,5157mg/ml. Đạt
7. 0,875%. Đạt
9. Đạt (14,65%)
10. a) C
b) D
c) B
11. a) A
b) D
c) A
12. a) C
b) A

Bài 11

4. a) B
b) C
c) A
d) C
5. a) A
b) B
c) D
6. A

Bài 12

4. a) C
b) B
c) C
5. a) A
b) C
c) B
6. a) C
b) A

Bài 13

11. a) A
b) C

THỰC TẬP KIỂM NGHIỆM THUỐC

Bài 1

PHA DUNG DỊCH MẪU, DUNG DỊCH CHUẨN, THUỐC THỬ

MỤC TIÊU

- Trình bày được cách pha dung dịch mẫu, dung dịch chuẩn, thuốc thử.
- Pha được dung dịch mẫu, dung dịch chuẩn, thuốc thử, dung dịch đệm.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Thìa xúc hoá chất.
- Cốc có mỏ, pipet.
- Phễu thuỷ tinh.
- Đũa thuỷ tinh.
- Bình định mức.

2. PHA DUNG DỊCH MẪU

2.1. Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4

- Sấy khô amoni clorid ở $100 - 105^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi.
- Cân trên cân phân tích chính xác $0,297\text{g}$ amoni clorid và cho vào cốc có mỏ.
- Cho vào cốc có mỏ khoảng 50ml nước. Dùng đũa thuỷ tinh khuấy cho amoni clorid tan hoàn toàn.
- Chuyển toàn bộ dung dịch trên vào một bình định mức 1000ml qua một phễu thuỷ tinh.

– Tráng rửa cốc 3 lần, mỗi lần khoảng 50ml nước. Tập trung toàn bộ nước rửa vào bình định mức trên.

– Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.

2.2. Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As

– Cân trên cân phân tích chính xác 0,330g arsen trioxyd và cho vào cốc có mỏ.

– Cho vào cốc có mỏ khoảng 5ml dung dịch natri hydroxyd 2 M. Dùng thìa thủy tinh khuấy cho arsen trioxyd tan hoàn toàn. Thêm vào dung dịch trên khoảng 50ml nước. Khuấy đều.

– Chuyển toàn bộ dung dịch trên vào một bình định mức 250ml qua một phễu thủy tinh.

– Tráng rửa cốc 3 lần, mỗi lần khoảng 50ml nước. Tập trung toàn bộ nước rửa vào bình định mức trên.

– Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.

2.3. Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl

– Sấy khô natri clorid ở 100 – 105°C đến khối lượng không đổi.

– Cân trên cân phân tích chính xác 0,0824g natri clorid và cho vào bình định mức 100ml.

– Hoà tan natri clorid với khoảng 50ml nước.

– Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.

2.4. Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb

– Cân trên cân phân tích chính xác 0,400g chì (II) nitrat và cho vào bình định mức 250ml.

– Hoà tan chì (II) nitrat với khoảng 100ml nước.

– Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.

2.5. Dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe

– Cân trên cân phân tích chính xác 0,863g sắt amoni sulfat (phèn sắt amoni) và cho vào cốc có mỏ.

- Cho vào cốc có mỏ khoảng 25ml dung dịch acid sulfuric 1M và 25ml nước. Dùng đũa thủy tinh khuấy cho sắt amoni sulfat tan hoàn toàn.
- Chuyển toàn bộ dung dịch trên vào một bình định mức 500ml qua một phễu thủy tinh.
- Tráng rửa cốc 4 lần, mỗi lần khoảng 50ml nước. Tập trung toàn bộ nước rửa vào bình định mức trên.
- Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.

2.6. Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4

- Cân trên cân phân tích chính xác 0,181g kali sulfat và cho vào bình định mức 100ml.
 - Hoà tan kali sulfat với khoảng 50ml nước.
 - Thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc đều.
- Để pha các dung dịch mẫu có nồng độ thấp hơn dùng trong các phép thử giới hạn, người ta pha loãng chính xác các dung dịch mẫu này bằng nước cất ngay trước khi dùng.

3. PHA DUNG DỊCH CHUẨN

3.1. Pha dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N từ ống chuẩn

Chuyển toàn bộ lượng hoá chất có trong ống chuẩn vào bình định mức 1000ml qua một phễu thủy tinh, dùng nước tráng rửa kỹ ống đựng chất chuẩn (khoảng 300ml nước). Lắc kỹ tới khi $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tan hoàn toàn. Thêm nước vừa đủ tới vạch. Lắc đều.

Dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N có $K = 1,000$.

3.2. Pha dung dịch bạc nitrat 0,1N từ bạc nitrat

Cân khoảng 1,75g bạc nitrat, cho vào bình định mức 100ml.

Thêm vào bình định mức trên khoảng 70ml nước. Lắc kỹ cho tan hoàn toàn.

Thêm nước vừa đủ tới vạch. Lắc đều.

- Xác định lại nồng độ dung dịch bạc nitrat 0,1 N như sau: Cân chính xác khoảng 0,12g natri clorid (chất gốc), hoà tan trong khoảng 50ml nước, thêm vài

giọt dung dịch kali cromat 5%. Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat đã điều chế ở trên đến khi xuất hiện tua đỏ nhạt.

– Hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch bạc nitrat 0,1N được tính theo công thức:

$$K = \frac{a}{T.V}$$

Trong đó: a là lượng cân natri clorid (g).

T – độ chuẩn lý thuyết của natri clorid ($T = 0,005845 \text{ g/ml}$).

V – thể tích dung dịch bạc nitrat đã dùng chuẩn độ (ml).

3.3. Pha dung dịch iod 0,01 N từ dung dịch iod 0,1 N có K = 1,005

– Lấy chính xác 10,00ml dung dịch iod 0,1 N có K = 1,005 cho vào bình định mức 100ml.

– Thêm nước vừa đủ đến vạch.

– Dung dịch iod mới pha được có nồng độ là 0,01 N với K = 1,005.

4. PHA MỘT SỐ THUỐC THỬ

4.1. Thuốc thử Nessler

– Hoà tan 10g kali iodid trong 10ml nước và thêm từng ít một, vừa cho vừa khuấy đều, dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid cho tới khi xuất hiện tua đỏ bền. Thêm 30g kali hydroxyd, sau khi tan hết lại thêm 1ml dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid. Pha loãng với nước vừa đủ 200ml. Để yên và gạn lấy phần nước trong.

– Thử độ nhạy: Cho 3 giọt thuốc thử Nessler vào 10ml dung dịch amoni mẫu 2 phần triệu NH_4 , màu vàng cam phải xuất hiện ngay lập tức.

– Bảo quản ở trong lọ thuỷ tinh màu da cam, có nút mài, tránh ánh sáng.

4.2. Dung dịch thiếc (II) clorid AsT

Đun nóng 20g thiếc với 85ml dung dịch acid hydrocloric đặc đến khi không còn khí hydro bay ra. Pha loãng gấp đôi dung dịch này bằng acid hydrocloric đặc. Bốc hơi dung dịch trên đến khi thu được thể tích ban đầu và lọc qua giấy mịn.

4.3. Dung dịch kali iodid 10% (Dung dịch kali iodid loãng)

– Hoà tan 10g kali iodid trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100ml.
Dung dịch không được có màu.

– Bảo quản ở trong lọ thủy tinh màu, nút mài, tránh ánh sáng.

4.4. Dung dịch bari clorid 25%

Hoà tan 25g bari clorid trong nước và cho thêm nước vừa đủ 100ml.

4.5. Dung dịch natri sulfid 2%

– Hoà tan 2g natri sulfid trong nước, thêm 2 – 3 giọt glycerin và pha loãng với nước vừa đủ 100ml.

– Bảo quản ở trong lọ nhỏ, đậy đầy, nút kín, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

4.6. Dung dịch sắt (III) clorid 5%

Hoà tan 5g sắt (III) clorid trong nước vừa đủ 100ml.

4.7. Dung dịch thioacetamid

Hoà tan 4g thioacetamid trong nước vừa đủ 100ml. Thêm 1ml hỗn hợp của 15ml dung dịch natri hydroxyd 1N, 5ml nước và 20ml glycerin 85% vào 0,2ml dung dịch trên. Đun nóng trong cách thủy 20 giây, làm lạnh và dùng ngay.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày cách pha dung dịch:

- Amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 .
- Arsen mẫu 1000 phần triệu As.
- Clorid mẫu 500 phần triệu Cl.
- Chì mẫu 1000 phần triệu Pb.
- Sắt mẫu 200 phần triệu Fe.
- Sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 .

2. Trình bày cách pha:

- Dung dịch Arsen mẫu 1 phần triệu As từ dung dịch 1000 phần triệu As.

- Dung dịch Clorid mẫu 5 phần triệu Cl từ dung dịch 500 phần triệu Cl.
 - Dung dịch Chì mẫu 2 phần triệu Pb từ dung dịch 1000 phần triệu Pb.
 - Dung dịch Sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 từ dung dịch 1000 phần triệu SO_4 .
3. Trình bày cách pha dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N từ ống chuẩn.
 4. Tính nồng độ thực của dung dịch iod thu được sau khi pha loãng chính xác 10,00ml dung dịch iod 0,1 N có $K = 1,053$ thành vừa đủ 100ml bằng nước.
 5. Tính nồng độ dung dịch bạc nitrat, biết rằng khi chuẩn độ 0,1195g natri clorid (chất gốc) với chỉ thị là dung dịch kali cromat 5% hết 20,9ml dung dịch bạc nitrat.
 6. Trình bày cách pha dung dịch thuốc thử thiếc (II) clorid AsT và dung dịch thioacetamid.

Bài 2

XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT TRONG THUỐC

MỤC TIÊU

- Trình bày được cách thử và thử được giới hạn tạp chất kim loại nặng, arsen, sulfat, clorid trong glucose.
- Trình bày được cách thử và thử được giới hạn tạp chất liên quan trong cloramphenicol.

1. DỤNG CỤ

- Cân kỹ thuật.
- Thìa xúc hoá chất.
- Cốc có mỏ, pipet.
- Ống mao quản.

- Ống nghiệm to.
- Đèn tử ngoại.
- Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄, 20 × 8cm.

2. THỬ TẠP CHẤT BẰNG PHƯƠNG PHÁP HOÁ HỌC

2.1. Thử giới hạn tạp chất kim loại nặng trong glucose

Yêu cầu tạp chất kim loại nặng không được quá 5 phần triệu.

– Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn đồng thời nhau vào hai ống nghiệm như sau:

Mẫu thử	Mẫu chuẩn
– Hoà tan 2,4g glucose trong nước vừa đủ 12ml. – Thêm 2ml dung dịch đệm acetat pH = 3,5, lắc đều, thêm 1,2ml dung dịch thioacetamid (TT). – Lắc đều.	– 10ml dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb, thêm 2ml dung dịch S. – Thêm 2ml dung dịch đệm acetat pH = 3,5, lắc đều, thêm 1,2ml dung dịch thioacetamid (TT). – Lắc đều.

- Để yên 2 phút.
- So sánh màu tạo thành của 2 ống.
- Đánh giá kết quả:
 - + Màu nâu trong ống mẫu thử không đậm hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử đạt.
 - + Màu nâu trong ống mẫu thử đậm hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử không đạt.
- Chú ý:
 - + Dung dịch chì mẫu 1 phần triệu được chuẩn bị từ dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb bằng cách lấy chính xác 1,00ml dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb cho vào bình định mức 1000ml, thêm nước vừa đủ, lắc đều. Dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.
 - + Dung dịch đệm acetat pH 3,5: hoà tan 25ml amoni acetat trong 25ml nước, thêm 38ml dung dịch acid hydrocloric 7M và điều chỉnh pH đến 3,5 bằng dung dịch acid hydrocloric 2M, hoặc amoniac 6M rồi pha loãng với nước vừa đủ 100ml.

2.2. Thử giới hạn tạp chất arsen trong glucose

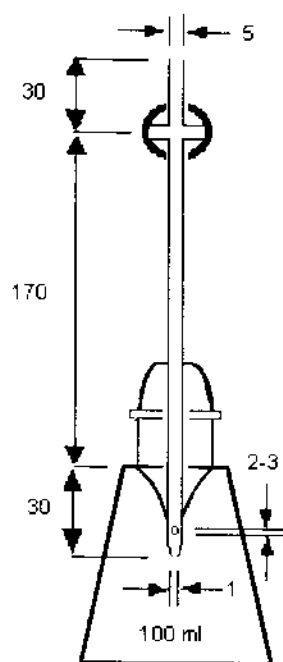
– Yêu cầu tạp chất arsen không được quá 1 phần triệu.

– Tiến hành thử theo phương pháp A của Dược điển.

+ Dùng 2 bộ bình thử như hình bên.

+ Cho vào đầu trên của ống thuỷ tinh dài khoảng 60mg bông tẩm chì acetat (TT), đặt một miếng giấy tẩm thuỷ ngân (II) bromid (TT) hình tròn hay vuông có kích thước phủ kín lỗ tròn giữa 2 ống thuỷ tinh, giữ chặt 2 ống thuỷ tinh với nhau bằng 2 dây lò xo.

+ Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn đồng thời nhau vào hai bình nón của bộ dụng cụ thử arsen như sau:



Dụng cụ thử Arsen

Mẫu thử	Mẫu chuẩn
– 1,00g glucose hoà tan với nước thành 25ml. – Thêm 15ml acid hydroclorid đặc (TT). – Thêm 0,1ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT). – Thêm 5ml dung dịch kali iodid 20% (TT). – Để yên 15 phút. – Thêm 5g kẽm hạt không có As (TT). – Đậy ngay bình nón bằng nút đã lắp sẵn giấy thử ở trên.	– 1ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu, thêm nước thành 25ml. – Thêm 15ml acid hydroclorid đặc (TT). – Thêm 0,1ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT). – Thêm 5ml dung dịch kali iodid 20% (TT). – Để yên 15 phút. – Thêm 5g kẽm hạt không có As (TT). – Đậy ngay bình nón bằng nút đã lắp sẵn giấy thử ở trên.

+ Ngâm bình nón trong nước ở nhiệt độ sao cho khí giải phóng ra đều đặn.

+ Sau ít nhất 2 giờ, lấy các miếng giấy tẩm thuỷ ngân (II) bromid ra so sánh các vết màu.

– Đánh giá kết quả:

+ Vết màu của miếng giấy trên bình chứa chế phẩm cần thử nhạt hơn màu miếng giấy trên bình chứa dung dịch arsen mẫu → mẫu thử đạt.

+ Vết màu của miếng giấy trên bình chứa chế phẩm cần thử đậm hơn màu miếng giấy trên bình chứa dung dịch arsen mẫu → mẫu thử không đạt.

– Chú ý: Dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu được chuẩn bị từ dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As bằng cách lấy chính xác 1,00ml dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As cho vào bình định mức 1000ml, thêm nước vừa đủ, lắc đều. Dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.

2.3. Thử giới hạn tạp chất clorid trong glucose

– Yêu cầu tạp chất clorid không được quá 0,0125%.

– Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn đồng thời nhau vào hai ống nghiệm như sau:

Mẫu thử	Mẫu chuẩn
– 0,40g glucose hoà tan với nước thành 15ml. – Thêm 1ml dung dịch acid nitric 2M và 1ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT).	– 10ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl, thêm nước thành 15ml. – Thêm 1ml dung dịch acid nitric 2M và 1ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT).

– Để yên 5 phút, tránh ánh sáng.

– So độ đục của 2 ống bằng cách quan sát dọc theo trục ống nghiệm trong ánh sáng khuếch tán trên nền đen.

– Đánh giá kết quả:

+ Độ đục trong ống mẫu thử không đục hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử đạt.

+ Độ đục trong ống mẫu thử đục hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử không đạt.

– Chú ý: Dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu được chuẩn bị từ dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl bằng cách lấy chính xác 5,00ml dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl cho vào bình định mức 500ml, thêm nước vừa đủ, lắc đều. Dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.

2.4. Thử giới hạn tạp chất sulfat trong glucose

– Yêu cầu tạp chất sulfat không được quá 0,02%.

– Dung dịch thử: 1,00g glucose hoà tan với nước thành 20ml.

– Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn đồng thời nhau vào hai ống nghiệm như sau:

Mẫu thử	Mẫu chuẩn
– 1ml dung dịch bari clorid 25% (TT). – Thêm 1,5ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu. – Lắc để yên 1 phút. – Thêm tiếp 15ml dung dịch thử. – Thêm 0,5ml acid acetic 5M (TT).	– 1ml dung dịch bari clorid 25% (TT). – Thêm 1,5ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu. – Lắc để yên 1 phút. – Thêm tiếp 15ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu. – Thêm 0,5ml acid acetic 5M (TT).

– Để yên 5 phút.

– So độ đục của 2 ống.

– Đánh giá kết quả:

+ Độ đục trong ống mẫu thử không đục hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử đạt.

+ Độ đục trong ống mẫu thử đục hơn ống mẫu chuẩn → mẫu thử không đạt.

– Chú ý: Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu được chuẩn bị từ dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 bằng cách lấy chính xác 5,00ml dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 cho vào bình định mức 500ml, thêm nước vừa đủ, lắc đều. Dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.

3. THỬ TẠP CHẤT BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỚP MỎNG

Giới hạn tạp chất trong thuốc là những chất vô cơ được thử bằng phương pháp hoá học, còn những tạp hữu cơ thường được thử bằng phương pháp sắc ký.

Trong bài thực tập này chỉ trình bày cách thử giới hạn tạp chất liên quan trong cloramphenicol với điều kiện như sau:

– Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄. 20 × 8cm.

– Dung môi khai triển: Cloroform – methanol – nước (18: 2: 0,2).

– Dung dịch thử: Hoà tan 0,10g cloramphenicol chế phẩm cần kiểm tra trong 10ml aceton.

- Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 0,10g cloramphenicol chuẩn trong 10ml acetone.
- Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100ml bằng acetone.
- Cách tiến hành:
 - + Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l và 20 μ l dung dịch thử, 1 μ l dung dịch chuẩn (1) và 20 μ l dung dịch chuẩn (2).
 - + Triển khai dung môi khoảng 15cm.
 - + Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để khô ngoài không khí đến khi bay hơi hết dung môi.
 - + Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm.
- Đánh giá kết quả:
 - + Bất kỳ vết phụ nào của 20 μ l dung dịch thử không đậm màu hơn vết của dung dịch chuẩn (2) $\rightarrow$ mẫu thử đạt.
 - + Bất kỳ vết phụ nào của 20 μ l dung dịch thử đậm màu hơn vết của dung dịch chuẩn (2) $\rightarrow$ mẫu thử không đạt.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

Đánh dấu vào ô đúng của câu 1 và 2.

1. Các thuốc thử dùng trong phép thử giới hạn tạp chất arsen trong glucose:

TT	Thuốc thử	Có	Không
1	Bông tẩm chì acetat		
2	Giấy tẩm thủy ngân (II) bromid		
3	Acid hydroclorid đặc		
4	Bari clorid		
5	Dung dịch thiếc (II) clorid AsT		
6	Dung dịch kali iodid 20%		
7	Thuốc thử Nessler		
8	Kẽm hạt		

2. Đánh giá kết quả trong phép thử giới hạn tạp chất trong glucose dựa vào:

TT	Tạp chất	Màu	Độ đục
1	Arsen		
2	Kim loại nặng		
3	Clorid		
4	Sulfat		

3. Điền vào chỗ trống. Trong phép thử giới hạn arsen:
- A. Nếu vết màu của miếng giấy trên bình chứa chế phẩm cần thử nhạt hơn màu miếng giấy trên bình chứa dung dịch arsen mẫu thì kết luận,.....
- B. Nếu vết màu của miếng giấy trên bình chứa chế phẩm cần thử đậm hơn màu miếng giấy trên bình chứa dung dịch arsen mẫu thì kết luận,.....
4. Trình bày cách chuẩn bị mẫu thử và mẫu đối chiếu khi thử tạp chất của cloramphenicol bằng sắc ký lớp mỏng.
5. Trình bày điều kiện, cách tiến hành và đánh giá kết quả khi thử tạp chất của cloramphenicol bằng sắc ký lớp mỏng.

Bài 3

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ SỐ VẬT LÝ CỦA THUỐC

MỤC TIÊU

- Xác định được nhiệt độ nóng chảy của acid benzoic.
- Đo được góc quay cực và tính được năng suất quay cực của cloramphenicol.
- Đo được chỉ số khúc xạ của diethyl phtalat.
- Đo được tỷ trọng của cồn 96° bằng tỷ trọng kế và picnomet.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Ống mao quản bằng thủy tinh (để đo nhiệt độ nóng chảy).
- Máy đo nhiệt độ nóng chảy.
- Máy đo góc quay cực.
- Máy đo chỉ số khúc xạ.
- Tỷ trọng kế.
- Picnomet.
- Bình định mức, pipet.

2. ĐO GÓC QUAY CỰC RIÊNG CỦA CLORAMPHENICOL

- Yêu cầu góc quay cực riêng từ 8,5 đến 20,5° ở 20°C.
- Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,50g cloramphenicol (m) hoà tan bằng ethanol 96% trong bình định mức 25ml. Nồng độ phân trăm (KL/TT) cloramphenicol trong dung dịch thử là:

$$C = \frac{m \times 100}{25}$$

– Tiến hành:

+ Xác định góc quay ban đầu R_0 :

Phân cực kế phải có quang trục kính phân cực P và quang trục kính phân tích A vuông góc với nhau, khi đó thị trường sẽ đều màu và tối. Trên bảng chia độ, góc quay cực phải là 0 (điểm 0 của du xích phải trùng khớp với điểm 0 của bảng chia độ). Trong thực tế, do nhiều nguyên nhân, hai điểm 0 không trùng khớp nhau, do đó phải xác định góc quay R_0 (gọi là điểm 0 ban đầu).

Cho ethanol 96% (đã bảo quản ở điều kiện để điều chỉnh về nhiệt độ 20°C) vào ống T có chiều dài 1 (dm). Điều chỉnh cho thị trường đều màu (ở vùng tối). Đọc góc R_0 , làm như vậy 2 lần, lấy giá trị trung bình R_0 .

+ Xác định góc quay cực:

Cho dung dịch thử (đã bảo quản ở điều kiện để điều chỉnh về nhiệt độ 20°C) vào ống T có chiều dài 1 (dm). Điều chỉnh cho thị trường đều màu (ở vùng tối). Đọc góc α , làm như vậy 2 lần, lấy giá trị trung bình α .

– Tính toán:

Góc quay cực riêng của cloramphenicol được tính theo công thức sau:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times 100}{l \times C}$$

– Chú ý: Nếu R_0 khác 0 thì hiệu chỉnh α .

3. ĐO CHỈ SỐ KHÚC XẠ CỦA DIETHYL PHTALAT

– Yêu cầu chỉ số khúc xạ ở 20°C từ 1,500 đến 1,505.

– Kiểm tra khúc xạ kế:

Kiểm tra máy đồng thời đo chiết suất dung môi. Nhỏ 2 – 3 giọt nước cất (đã bảo quản ở điều kiện để điều chỉnh về nhiệt độ 20°C) vào giữa hai lăng kính, điều chỉnh thị kính thích hợp với mắt để được thị trường có hai miền sáng tối rõ nét. Nếu ranh giới giữa sáng tối có màu do hiện tượng tán sắc qua lăng kính, dùng núm điều chỉnh khử tán sắc tạo thị trường có hai miền sáng tối rõ nét.

Điều chỉnh để vạch phân chia sáng tối đến trùng vào ba vạch đánh dấu chuẩn của máy. Đọc giá trị chiết suất của nước cất chỉ ra trên bảng chia (bảng n) tại vị trí vạch phân chia sáng tối. Chiết suất của nước cất tốt là $n_D = 1,333$, nếu không đạt chúng ta phải chỉnh máy để đạt chiết suất nước cất.

– Đo chỉ số khúc xạ của dung dịch thử:

Lau khô nước cất ở giữa lăng kính và nhỏ 2 – 3 giọt diethyl phtalat (đã bảo quản ở điều kiện để điều chỉnh về nhiệt độ 20°C) vào giữa hai lăng kính, điều chỉnh thị kính thích hợp với mắt để được thị trường có hai miền sáng tối rõ nét. Đọc giá trị chỉ số khúc xạ n của dung dịch đo.

4. ĐO TỶ TRỌNG CỦA ETHANOL 96°

Yêu cầu tỷ trọng ở 20°C từ 0,8038 đến 0,8063.

4.1. Dùng picnomet

– Cân trên cân điện lần lượt như sau:

+ Lần cân 1: Lọ Picnomet khô có khối lượng là m_1 .

+ Lần cân 2: Lọ Picnomet đầy nước có khối lượng là m_2

+ Lần cân 3: Lọ Picnomet đầy ethanol 96° có khối lượng là m_3 .

– Tính toán:

+ Khối lượng của nước chứa trong lọ Picnomet là: $m_2 - m_1$.

+ Khối lượng của chất lỏng (có thể tích bằng thể tích của nước) là: $m_3 - m_1$.

+ Tỷ trọng của chất lỏng cần đo là:

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

4.2. Dùng tỷ trọng kế

– Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether.

– Cho khoảng 180ml ethanol 96° vào ống đóng dung tích 200ml.

– Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng (không được chạm vào thành hoặc đáy bình đựng).

– Điều chỉnh nhiệt độ để chất lỏng có nhiệt độ 20°C.

– Đọc kết quả khi tỷ trọng kế ổn định.

5. ĐO NHIỆT ĐỘ NÓNG CHẢY CỦA ACID BENZOIC

- Yêu cầu nhiệt độ nóng chảy từ 121 đến 124°C.
 - Tiến hành:
 - + Lấy một mao quản thủy tinh có đường kính khoảng 1mm chiều dài 4 – 5cm, đem hàn kín một đầu (bằng cách hơ trên ngọn lửa đèn cồn). Để nguội mao quản.
 - + Nghiền chất khảo sát (đã sấy khô) thành bột mịn. Sấy khô.
 - + Cho chất khảo sát đã nghiền mịn vào tận đáy mao quản để lớp chất có chiều cao khoảng 2 – 3mm (bằng cách cắm đầu mao quản vào mỗi chất cần khảo sát rồi gõ nhẹ trên bàn để cho bột dính ở đầu mao quản rơi xuống đáy mao quản.
 - + Đặt ống mao quản vào buồng đo.
 - + Điều chỉnh thiết bị để tăng nhiệt độ. Khi đạt tới nhiệt độ dưới điểm nóng chảy khoảng 10°C thì cho tăng nhiệt độ lên từ từ khoảng 1°C/phút.
 - + Quan sát chất trong mao quản khi chảy thành chất lỏng.
- Đo hai lần, lấy kết quả trung bình.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày cách xác định nhiệt độ nóng chảy của acid benzoic.
2. Trình bày cách đo góc quay cực của cloramphenicol.
3. Tính góc quay cực riêng của cloramphenicol, biết rằng góc quay cực của dung dịch cloramphenicol 6,05% trong ethanol 96% đo trong ống đo có chiều dài $l = 2\text{dm}$ là $+2,31$. Hỏi chế phẩm cloramphenicol này có đạt tiêu chuẩn về năng suất quay cực không?
4. Trình bày cách đo chỉ số khúc xạ của diethylphtalat.
5. Trình bày cách đo tỷ trọng của cồn 96° bằng tỷ trọng kế.
6. Tính tỷ trọng của cồn khi đo bằng picnomet được kết quả sau:
Khối lượng của lọ Picnomet là 12,0635g.
Khối lượng của lọ Picnomet đầy nước là 22,1368g.
Khối lượng của lọ Picnomet đầy cồn là 20,6501g.

Bài 4

KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT OREZOL (OREZOL LOẠI HYDROCARBONAT)

MỤC TIÊU

- Trình bày được yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm của thuốc bột Orezol.
- Trình bày được cách tiến hành và đánh giá được độ đồng đều khô lượng, định tính, định lượng thuốc bột Orezol theo tiêu chuẩn.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Buret.
- Pipet.
- Bình nón dung tích 100ml.
- Cốc có mỏ.
- Phễu thuỷ tinh.
- Đũa thuỷ tinh.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT VỀ CHẤT LƯỢNG THÀNH PHẨM

Chế phẩm đạt yêu cầu chất lượng theo quy định trong Dược điển Việt Nam III.

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Bột trắng hay hơi ngà, khô rời không vón cục. Vị mặn hơi ngọt. Khi pha gói trong 1 lít nước sẽ được dung dịch trong hầu như không màu.	Cảm quan

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
2. Độ đồng đều khối lượng	29,5g $\pm$ 3%.	Trong chuyên luận.
3. Định tính	Ion natri, kali, clorid.	Theo chuyên luận riêng.
4. Định lượng	Hàm lượng kali, natri, hydrocarbonat, clorid phải đạt từ 90,0 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn. Hàm lượng glucose khan $C_6H_{12}O_6$ (hoặc glucose monohydrat $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) phải đạt từ 90,0 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.

Trong nội dung một buổi thực tập, yêu cầu sinh viên thử các chỉ tiêu tính chất, độ đồng đều khối lượng, định tính, định lượng hydrocarbonat và clorid.

3. THUỐC THỬ (THEO ĐVN III)

Cách pha các dung dịch sau được tiến hành như chỉ dẫn ở phần thuốc thử:

- Dung dịch acid acetic 30%.
- Dung dịch acid tartaric 20%.
- Natri acetat.
- Dung dịch acid nitric 16%.
- Dung dịch bạc nitrat 2%.
- Dung dịch amoniac 10%.
- Dung dịch kali cromat 5%.
- Dung dịch chỉ thị da cam methyl.
- Dung dịch magnesi uranyl acetat: Đun nóng trên cách thủy 3,2g uranyl acetat, 10g magnesi acetat, 2ml acid acetic băng và khoảng 30ml nước. Sau khi tan hết để nguội. Thêm 50ml ethanol và nước vừa đủ 100ml. Để yên 24 giờ rồi lọc.
- Dung dịch chuẩn độ acid hydrocloric 0,1M: Pha từ ống chuẩn.
- Dung dịch chuẩn độ bạc nitrat 0,1M: Pha như đã trình bày ở bài 1.

4. PHƯƠNG PHÁP THỬ

4.1. Tính chất

Trải một lượng bột vừa đủ thành một lớp mỏng trên một tờ giấy trắng mịn. Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên.

4.2. Độ đồng đều khối lượng

- Lấy ngẫu nhiên 5 gói.
- Cân chính xác khối lượng thuốc trong từng gói.
- Tính khối lượng trung bình, giá trị này không được nhỏ hơn khối lượng thuốc ghi trên nhãn.
- Khối lượng thuốc của từng gói không được vượt quá giới hạn $\pm 3\%$.

4.3. Định tính

Dung dịch thử: hoà tan 10,00g chế phẩm trong nước cất vừa đủ 100ml.

A. Lấy 1ml dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 1ml dung dịch acid acetic 30%, thêm 1ml dung dịch magnesi uranyl acetat, cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thuỷ tinh nếu cần, sẽ có tủa kết tinh vàng (ion Na^+).

B. Lấy 5ml dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 1ml dung dịch acid tartric 20% và 0,10g natri acetat, lắc đều, có tủa trắng tan trong acid vô cơ loãng (ion K^+).

C. Lấy 5ml dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 0,5ml dung dịch acid nitric 16% và 0,5ml dung dịch bạc nitrat 2%, sẽ có tủa trắng lớn nhỏ, tủa này tan trong dung dịch amoniac 10% (ion Cl^-).

4.4. Định lượng

4.4.1. Hydrocarbonat

Cân chính xác khoảng 2,00g (cân trên cân phân tích) chế phẩm (a), cho vào bình nón. Hoà tan trong 70ml nước không có carbon dioxyd. Thêm 0,2ml dung dịch chỉ thị da cam methyl. Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1M có hệ số hiệu chỉnh K đến khi dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu hồng cam hết V_1 (ml).

(1ml dung dịch acid hydrocloric 0,1M tương đương với 6,10 mg HCO_3^-).

Hàm lượng % hydrocarbonat (HCO_3^-) trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{V_1 \times K \times 0,0061 \times m}{a \times D} \times 100$$

Trong đó: m là khối lượng trung bình của gói thuốc (g).

D là lượng hydrocarbonat ghi trên nhãn (g).

4.4.2. Clorid

Cân chính xác khoảng 0,40g (cân trên cân phân tích) chế phẩm (b), cho vào bình nón. Hoà tan trong 50ml nước không có carbon dioxyd. Thêm 3 giọt dung dịch kali cromat 5%. Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat 0,1M có hệ số hiệu chỉnh K đến khi xuất hiện tua đỏ nhạt, hết V_2 (ml).

(1ml dung dịch bạc nitrat 0,1M tương đương với 3,545 mg Cl^-).

Hàm lượng% clorid (Cl^-) trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{V_2 \times K \times 0,0071 \times m}{b \times P} \times 100$$

Trong đó: m là khối lượng trung bình của gói thuốc (g).

P là lượng clorid ghi trên nhãn (g).

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Bằng tính toán hãy cho biết chế phẩm Orezol có đạt yêu cầu về độ đồng đều khối lượng không, biết rằng khối lượng của 5 gói là:
29,5267g – 30,0018g – 29,3268g – 29,9724g – 30,0678g.
2. Trình bày cách tiến hành định tính các ion Na^+ , K^+ , Cl^- trong Orezol.
3. Hàm lượng hydrocarbonat của Orezol có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi chuẩn độ 1,9800g chế phẩm với chỉ thị da cam methyl hết 25,35ml dung dịch acid hydrocloric 0,1M có hệ số hiệu chỉnh $K = 1,0268$. Lượng hydrocarbonat ghi trên nhãn là 2,5g/gói và khối lượng trung bình của chế phẩm như đã tính ở câu 1.

4. Hàm lượng clorid của Orezol có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi chuẩn độ 0,4026g chế phẩm với chỉ thị kali cromat 5% hết 5,20ml dung dịch bạc nitrat 0,1M có hệ số hiệu chỉnh $K = 0,9902$. Lượng clorid ghi trên nhãn là 2,6674 g/ gói và khối lượng trung bình của chế phẩm như đã tính ở câu 1.
5. Tại sao chế phẩm Orezol lại không yêu cầu thử độ mịn?

Bài 5

KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN VITAMIN C 100mg

MỤC TIÊU

- Trình bày được yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm của viên nén vitamin C 100mg
- Trình bày được cách tiến hành và đánh giá được độ đồng đều khối lượng, định tính, định lượng, thử độ rã của viên nén vitamin C 100mg theo tiêu chuẩn.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Cân kỹ thuật.
- Buret.
- Pipet chính xác dung tích 50ml.
- Bình nón dung tích 100ml.
- Cốc có mỏ.
- Phễu thủy tinh.
- Đũa thủy tinh.
- Máy thử độ rã.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT VỀ CHẤT LƯỢNG THÀNH PHẨM

- Viên nén vitamin C hay viên nén acid ascorbic.
- Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với “Thuốc viên nén” và các yêu cầu riêng của chế phẩm: Hàm lượng acid ascorbic ($C_6H_8O_6$) từ 95,0 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.
- Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm:

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Viên màu trắng hay trắng ngà, gần như không mùi.	Cảm quan.
2. Định tính	Acid ascorbic.	Theo chuyên luận riêng.
3. Độ rã	Không quá 15 phút.	Theo chuyên luận chung.
4. Độ đồng đều khối lượng	Khối lượng trung bình $\pm 7,5\%$.	Theo chuyên luận chung.
5. Định lượng	Hàm lượng acid ascorbic ($C_6H_8O_6$) từ 95,0 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.

3. THUỐC THỬ (THEO ĐDVN III)

- Dung dịch 2,6 diclorophenol indophenol: Đun ấm 0,1g 2,6 diclorophenol – indophenol natri với 100ml nước và lọc. Dung dịch chỉ dùng trong vòng 3 ngày.
- Dung dịch natri nitroprusiat 1%: Hoà tan 1g natri nitroprusiat trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.
- Dung dịch bạc nitrat 5%.
- Dung dịch natri hydroxyd 2M.
- Dung dịch acid hydrocloric 25%.
- Dung dịch chỉ thị hồ tinh bột.
- Dung dịch chuẩn độ iod 0,1N: Hoà tan 13g iod tinh thể vào một dung dịch chứa 20g kali iodid trong 50ml nước. Pha loãng với nước vừa đủ 1 lít.

Chuẩn độ: Hoà tan chính xác khoảng 0,080g arsen trioxid chất gốc vào 20ml dung dịch natri hydroxyd 1 N, thêm 10ml acid hydrocloric đặc, 3g natri hydrocarbonat và chuẩn độ với dung dịch iod vừa điều chế hết V (ml).

$$\text{Dung dịch iod 0,1N có hệ số hiệu chỉnh } K = \frac{0,080}{0,004946 \times V}$$

4. PHƯƠNG PHÁP THỬ

4.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu như mô tả.

4.2. Định tính

A. Lấy một lượng chế phẩm đã được nghiền thành bột mịn tương ứng với khoảng 0,10g acid ascorbic, lắc với 10ml nước. Lọc. Dịch lọc có phản ứng acid với giấy quỳ; làm mất màu xanh của dung dịch 2,6 diclorophenol indophenol, khử dung dịch bạc nitrat 5% và cho một tua đen.

B. Lấy 5ml dịch lọc, thêm 0,05ml dung dịch mới pha natri nitroprusiat 1%, 2ml dung dịch natri hydroxyd 2M và cuối cùng nhỏ từng giọt dung dịch acid hydrocloric 25%: màu vàng sẽ chuyển thành màu lam.

4.3. Độ rã

- Môi trường thử: nước.
- Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- Cho vào mỗi ống thử một viên nén vitamin C rồi đẩy đĩa chất dẻo vào từng ống. Thử trên 6 viên.
- Thời gian tối đa: 15 phút.
- Quan sát bằng mắt nếu thấy các viên thử rã hết thì ghi thời gian.
- Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về độ rã khi không còn cặn. Nếu còn cặn thì nó chỉ là một khối mềm, không được có nhân khô rắn sờ thấy được.
- Kết quả:
 - + Nếu cả 6 viên đều rã hết: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ rã.
 - + Nếu còn dưới 2 viên chưa rã hết: Thử lại trên 12 viên nữa. Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong số 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

4.4. Độ đồng đều khối lượng

Cân chính xác 20 viên bất kỳ và xác định khối lượng trung bình của viên. Cân riêng khối lượng từng viên và so sánh với khối lượng trung bình, tính độ lệch theo tỷ lệ phần trăm của khối lượng trung bình, từ đó tính ra khoảng giới hạn của giá trị trung bình. Không được quá 2 viên có khối lượng chênh lệch

quá khoảng giới hạn của khối lượng trung bình, và không được có viên nào có chênh lệch quá gấp đôi độ lệch tính theo tỷ lệ phần trăm.

4.5. Định lượng

– Cân chính xác 20 viên, tính khối lượng trung bình (m_{TB} mg) và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200mg acid ascorbic (m_T (mg)), cho vào bình định mức 100ml, thêm hỗn hợp (bao gồm 100ml nước mới đun sôi để nguội và 10ml dung dịch acid acetic 1M) vừa đủ tới vạch. Lắc kỹ và lọc nhanh, dùng giấy lọc khô. Loại bỏ 20ml dịch lọc đầu.

– Hút chính xác 50ml dịch lọc, thêm 1ml dung dịch hồ tinh bột.

– Định lượng bằng dung dịch iod 0,1N có hệ số hiệu chỉnh K cho đến khi xuất hiện màu xanh lam bền vững ít nhất trong 30 giây. Hết Vml dung dịch iod 0,1N.

(1ml dung dịch iod 0,1N tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$).

Hàm lượng (%) acid ascorbic trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức sau:

$$\frac{V \times K \times 8,806 \times m_{TB}}{m_T \times 100} \times \frac{100}{50} \times 100$$

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

- Đánh dấu vào ô đúng về yêu cầu kỹ thuật đối với viên nén vitamin C 100mg:

TT	Yêu cầu	Có	Không
1	Tính chất		
2	Độ hoà tan		
3	Định tính acid ascorbic		
4	Độ rã		
5	Độ đồng đều hàm lượng		
6	Định lượng		
7	Độ đồng đều khối lượng		
8	Độ nhiễm khuẩn		

2. Bằng tính toán, hãy cho biết chế phẩm vitamin C 100mg có đạt yêu cầu về độ đồng đều khối lượng không, biết rằng khối lượng của 20 viên là:
- | | | | | |
|---------|---------|---------|---------|---------|
| 164,0mg | 149,6mg | 156,2mg | 160,1mg | 158,0mg |
| 147,8mg | 156,9mg | 162,3mg | 154,5mg | 160,3mg |
| 159,4mg | 149,2mg | 157,2mg | 152,6mg | 151,9mg |
| 155,3mg | 160,8mg | 158,3mg | 153,9mg | 156,1mg |
3. Trình bày cách tiến hành định tính acid ascorbic.
4. Trình bày cách tiến hành thử độ rã của viên nén vitamin C 100mg.
5. Hàm lượng acid ascorbic trong viên nén vitamin C 100mg có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi tiến hành theo quy trình định lượng đã trình bày ở trên với 312,7mg bột viên có khối lượng trung bình viên là 159,3mg thì hết 10,85ml dung dịch iod 0,1 N có hệ số hiệu chỉnh $K = 1,0013$.

Chọn câu trả lời đúng cho câu 6 và 7.

6. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của viên nén vitamin C 100mg có khối lượng trung bình viên 0,1532g là:
- A. $\pm 10\%$ B. $\pm 6\%$ C. $\pm 7,5\%$ D. $\pm 5\%$
7. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm viên nén vitamin C 100mg so với hàm lượng ghi trên nhãn là:
- A. 90 – 110% B. 95 – 110% C. 95 – 105% D. 92,5 – 107,5%

Bài 6

KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM THIAMIN

HYDROCLORID 2,5%

KIỂM NGHIỆM THUỐC NHỎ MẮT

CLORAMPHENICOL 0,4%

MỤC TIÊU

- Trình bày được yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm của thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5% và thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4%.
- Trình bày được cách tiến hành và đánh giá được tính chất, pH, thể tích, định tính, định lượng thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5% và thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4% theo tiêu chuẩn.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Tủ sấy.
- Bơm tiêm dung tích 2ml và 10ml.
- Pipet chính xác.
- Bình định mức.
- Cốc có mỏ.
- Chén cân.
- Bếp điện hoặc đèn cồn.
- Máy đo pH.
- Máy quang phổ UV.
- Máy soi huỳnh quang.
- Bản mỏng Silicagel GF₂₅₄.

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM THIAMIN HYDROCLORID 2,5%

2.1. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

– Chế phẩm là dung dịch vô khuẩn của thiamin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm, đóng ống 1ml (Thuốc tiêm Vitamin B₁).

– Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với “Thuốc tiêm” và các yêu cầu riêng của chế phẩm.

– Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm:

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Dung dịch trong, không màu hoặc có màu hơi vàng.	Cảm quan.
2. pH	2,5 – 4,0.	Đo bằng máy đo pH.
3. Thể tích	1,00 – 1,10ml.	Theo chuyên luận chung.
4. Định tính	Thiamin. Clorid.	Theo chuyên luận riêng.
5. Định lượng	Hàm lượng Thiamin hydroclorid C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ OS. HCl từ 95,0 đến 105,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.
6. Độ vô khuẩn	Chế phẩm phải vô khuẩn.	Theo chuyên luận chung.

2.2. Thuốc thử (theo DDVN III)

– Dung dịch natri hydroxyd 10%.

– Dung dịch acid hydrocloric 10%.

– Dung dịch acid nitric loãng.

– Dung dịch kali fericyanid 5%: Hoà tan 5g kali fericyanid trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

– Dung dịch bạc nitrat 5%: Hoà tan 5g bạc nitrat trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

- Dung dịch acid silicowolframic 10%: Hoà tan 10g acid silicowolframic trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.
- Dung dịch acid silicowolframic 0,2%: Hoà tan 0,2g acid silicowolframic trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

2.3. Phương pháp thử

Chỉ tiêu độ vô khuẩn sẽ được trình bày trong bài 9 (Phần thực tập kiểm nghiệm thuốc). Phần này chỉ trình bày phương pháp thử đối với tính chất, pH, thể tích, định tính và định lượng chế phẩm.

2.3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2.3.2. pH

Đo bằng máy đo pH: pH của dung dịch chế phẩm phải nằm trong khoảng quy định.

2.3.3. Thể tích

- Chế phẩm được để thẳng bằng tới nhiệt độ phòng.
- Lấy 6 ống thuốc, tráng bơm tiêm bằng 1 ống, thử trên 5 ống.
- Kiểm tra bằng cảm quan 5 ống thuốc, thấy các ống thử chứa thể tích ngang nhau.
- Dùng bơm tiêm khô sạch có dung tích không lớn hơn 2,5ml. Lấy thuốc sao cho trong bơm tiêm không có bọt khí và trong kim tiêm vẫn chứa đầy thuốc tiêm. Lần lượt lấy thuốc của từng ống tiêm theo cách đó.
- Thể tích của mỗi đơn vị chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép.

Nếu có một đơn vị không đạt thì phải kiểm tra lại lần thứ hai giống như lần đầu. Nếu lần thứ hai có quá một đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

2.3.4. Định tính

- Lấy 1 – 2ml chế phẩm, thêm vài giọt dung dịch natri hydroxyd 10% (TT), vài giọt dung dịch kali fericyanid 5%, vài mililit n – butanol, lắc mạnh khoảng

1 – 2 phút. Lớp alcol có huỳnh quang màu tím xanh hiện lên rất rõ nếu soi dưới ánh sáng tử ngoại. Huỳnh quang biến mất khi acid hoá dung dịch, và xuất hiện trở lại khi kiềm hoá dung dịch.

– Lấy 1 – 2ml chế phẩm, thêm vài giọt acid nitric loãng, vài giọt dung dịch bạc nitrat 5%, sẽ xuất hiện kết tủa trắng lớn nhỏ tan trong dung dịch amoniac.

2.3.5. Định lượng

Lấy dung dịch chế phẩm của 5 ống tiêm, trộn đều. Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 0,05g thiamin hydroclorid (V_t), thêm 50ml nước, 2ml acid hydroclorid đặc, đun sôi, cho thêm nhanh từng giọt 4ml dung dịch acid silicowolframic 10% vừa mới lọc. Tiếp tục đun sôi trong 4 phút, lọc nóng qua phễu thuỷ tinh xốp số 4 (đường kính lỗ xốp 10 – 16 μ m) đã cân bì (m_1 (g)) để lấy tủa silicowolframic. Rửa tủa với 50ml hỗn hợp đang sôi gồm 1 thể tích acid hydrocloric đậm đặc và 19 thể tích dung dịch acid silicowolframic 0,2%. Sau đó, rửa tiếp bằng aceton 2 lần, mỗi lần 5ml. Sấy tủa ở 100 – 105 $^{\circ}$ C trong 1 giờ. Để nguội 15 phút trong bình hút ẩm. Cân được m_2 (g).

(1g tủa thiamin silicowolframic tương đương với 192,9mg $C_{12}H_7ClN_4OS \cdot HCl$).

– Hàm lượng thiamin hydroclorid trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức:

$$\frac{(m_2 - m_1) \times 0,1929}{V_t \times 2,5} \times 10000$$

– Chú ý: Bì trước khi cân phải được xử lý như phễu có tủa. Cân bì và bì có tủa trên cân phân tích.

3. KIỂM NGHIỆM THUỐC NHỎ MẮT CLORAMPHENICOL 0,4%

– Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4% là dung dịch vô khuẩn của cloramphenicol trong nước.

– Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với "Thuốc nhỏ mắt" và các yêu cầu của chuyên luận riêng.

3.1. Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Dung dịch trong suốt, không màu.	Cảm quan.
2. pH	7,0 – 7,5.	Đo bằng máy đo pH.
3. Thể tích	8,0 – 8,8ml.	Theo chuyên luận chung.
4. Định tính	Cloramphenicol.	Theo chuyên luận riêng.
5. Định lượng	Hàm lượng của cloramphenicol $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O$ từ 90,0 đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.
6. Tạp chất (2 – amino – 1 (4 – nitrophenyl) propan – 1,3 – diol)	Không được quá 8,0%.	Theo chuyên luận riêng.
7. Độ vô khuẩn	Chế phẩm phải vô khuẩn	Theo chuyên luận chung.

3.2. Thuốc thử (theo ĐĐVN III)

- Cloroform.
- Methanol.
- Ether.
- Ethanol 96%.

3.3. Phương pháp thử

Trong nội dung một bài thực tập chỉ trình bày phương pháp thử đối với tính chất, pH, thể tích, định tính và định lượng chế phẩm.

3.3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

3.3.2. pH

Đo bằng máy đo pH: pH của dung dịch chế phẩm phải nằm trong khoảng quy định.

3.3.3. Thể tích

- Lấy 5 lọ bất kỳ.
- Xác định thể tích của từng ống bằng bơm tiêm hoặc ống đong sạch, khô, có dung tích 10ml.
- Thể tích mỗi ống phải nằm trong giới hạn cho phép.

Nếu có một ống không đạt thì phải kiểm tra lại lần thứ hai giống như lần đầu. Nếu lần thứ hai có quá một ống không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

3.3.4. Định tính

A. Sắc ký lớp mỏng:

- Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄.
- Dung môi khai triển: Cloroform – methanol – nước (90: 10: 1)
- Dung dịch thử: Lấy 10ml dung dịch chế phẩm, thêm 15ml nước cất. Chiết 4 lần, mỗi lần 25ml ether. Gộp dịch chiết rồi bốc hơi đến khô. Cẩn thu được hoà tan trong 4ml ethanol.
- Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 10mg cloramphenicol chuẩn trong 1ml ethanol.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng hai dung dịch trên, mỗi dung dịch 1µl. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để khô ngoài không khí đến khi bay hơi hết dung môi, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm.

Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết của cloramphenicol chuẩn thu được trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu chuẩn.

3.3.5. Định lượng

- Lấy chính xác 1,00ml chế phẩm cho vào bình định mức 250,0ml.
- Thêm nước vừa đủ đến vạch.
- Lắc đều.
- Đo độ hấp thụ của dung dịch này ở bước sóng 278nm, cốc đo dày 1cm, mẫu trắng là nước cất. Được D_T.

– Tính hàm lượng cloramphenicol $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ theo A (1%, 1cm) ở 278nm là 297. Hàm lượng (%) cloramphenicol trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức sau:

$$\frac{D_T \times 250}{297 \times 0,4} \times 100$$

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

Đánh dấu vào ô đúng của câu 1 và câu 2.

1. Yêu cầu kỹ thuật đối với thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5%:

TT	Yêu cầu	Có	Không
1	Tính chất		
2	Độ nhiễm khuẩn		
3	Định tính thiamin hydroclorid		
4	Nội độc tố vi khuẩn		
5	Độ đồng đều hàm lượng		
6	Định lượng		
7	Độ đồng đều khối lượng		
8	Độ vô khuẩn		
9	pH		
10	Thể tích		

2. Yêu cầu kỹ thuật đối với thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4%:

TT	Yêu cầu	Có	Không
1	Tính chất		
2	Độ nhiễm khuẩn		
3	Định tính cloramphenicol		
4	Tạp chất		
5	Độ đồng đều hàm lượng		
6	Định lượng		
7	Độ vô khuẩn		
8	pH		
9	Thể tích		

3. Trình bày cách tiến hành định tính cloramphenicol trong thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4%.
4. Trình bày cách tiến hành định tính thuốc tiêm thiamin hydroclorid trong thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5%.
5. Trình bày cách tiến hành thử giới hạn về thể tích của thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5%.
6. Hàm lượng thiamin hydroclorid trong thuốc tiêm thiamin hydroclorid 2,5% có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi tiến hành theo quy trình định lượng đã trình bày ở trên với 2,00ml dung dịch thuốc tiêm, khối lượng phễu là 18,1026g và khối lượng phễu có tủa là 18,3517g.
7. Hàm lượng cloramphenicol trong thuốc nhỏ mắt cloramphenicol 0,4% có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi tiến hành theo quy trình định lượng đã trình bày ở trên với 1,00ml dung dịch thuốc nhỏ mắt, giá trị mật độ quang đo được là 0,548.

Bài 7

KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ TRA MẮT TETRACYCLIN 1%

MỤC TIÊU

- Trình bày được yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm của thuốc mỡ tra mắt tetracyclin 1%.
- Trình bày được cách tiến hành và đánh giá được tính chất, độ đồng đều khối lượng, độ đồng nhất, định tính, định lượng thuốc mỡ tra mắt tetracyclin 1% theo tiêu chuẩn.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Pipet chính xác.

- Cốc có mỏ.
- Phễu thủy tinh.
- Đũa thủy tinh.
- Lam kính.
- Nồi cách thủy.
- Máy quang phổ UV.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT VỀ CHẤT LƯỢNG THÀNH PHẨM

- Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chung đối với "Thuốc mỡ" và "Thuốc nhỏ mắt" và các yêu cầu của chuyên luận riêng.
- Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm:

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Tính chất	Thuốc mỡ màu vàng nhạt đồng nhất, có độ mềm thích hợp, dính được vào niêm mạc và da khi bôi, không tách lớp ở điều kiện bình thường, không chảy lỏng ở 37°C.	Cảm quan.
2. Độ đồng đều khối lượng	5g ± 15%.	Theo chuyên luận chung.
3. Độ đồng nhất	Chế phẩm phải đồng nhất, không có tiểu phân, vật lạ.	Theo chuyên luận chung.
4. Định tính	Tetracyclin hydroclorid.	Theo chuyên luận riêng.
5. Định lượng	Chế phẩm phải chứa từ 90,0 đến 110,0% tetracyclin $C_{22}H_{24}N_2O_8$ so với lượng ghi trên nhãn.	Theo chuyên luận riêng.
6. Các phần tử kim loại	Đạt theo yêu cầu.	Theo chuyên luận chung.
7. Độ vô khuẩn	Chế phẩm phải vô khuẩn.	Theo chuyên luận chung.

3. THUỐC THỬ (THEO ĐVN III)

- Dung dịch acid hydrocloric 0,1N.
- Dung dịch natri hydroxyd 5M.

– Dung dịch acid nitric 32%: Pha loãng 46g acid nitric đặc với nước vừa đủ 100ml.

– Dung dịch bạc nitrat 2%: Hoà tan 2g bạc nitrat trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 3%: Hoà tan 3g sắt (III) clorid trong nước vừa đủ 100ml.

4. PHƯƠNG PHÁP THỬ

Trong nội dung một bài thực tập chỉ trình bày phương pháp thử đối với tính chất, độ đồng đều khối lượng, độ đồng nhất, định tính và định lượng chế phẩm.

4.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

4.2. Độ đồng đều khối lượng

– Cân thuốc của từng ống trong số 5 ống được lấy bất kỳ.

– Khối lượng tất cả các ống phải nằm trong giới hạn quy định.

Nếu có một ống có khối lượng lệch ra ngoài quy định này thì thử lại với 5 ống khác, nếu lần thử lại có quá một ống không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

4.3. Độ đồng nhất

Các tiểu phần phải phân tán đồng đều.

– Lấy 4 ống, mỗi ống khoảng 0,02 – 0,03g, trải chế phẩm lên 4 tiêu bản, bên trên đặt một phiến kính. Đậy mỗi phiến kính bằng một phiến kính khác và ép mạnh cho đến khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2cm.

– Quan sát vết thu được bằng mắt thường.

– Đánh giá: 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phần. Nếu có các tiểu phần nhìn thấy ở trong phần lớn số các vết thì phải làm lại với 8 đơn vị đóng gói. Trong số các tiêu bản này, các tiểu phần cho phép nhận thấy không được vượt quá 2 tiêu bản.

4.4. Định tính

Lấy khoảng 5g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm khoảng 5ml nước, đun cách thủy cho tan hết tá dược, khuấy đều bằng một thìa thủy tinh. Để nguội và làm

lạnh trong nước đá để cho lớp tá được đông lại. Gạn lấy lớp nước (dung dịch A) để thử các phản ứng sau:

A. Lấy 1ml dung dịch A, cho vào một bát sứ, bốc hơi trên cách thủy cho tới khô. Thêm 1 – 2 giọt acid sulfuric đậm đặc sẽ có màu đỏ tím. Thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 3%, màu sẽ chuyển thành nâu hoặc đỏ nâu.

B. Lấy 2ml dung dịch A, cho vào một ống nghiệm, thêm 1 giọt dung dịch acid nitric 32% và vài giọt dung dịch bạc nitrat 2%, sẽ xuất hiện tủa trắng.

4.5. Định lượng

– Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,50g chế phẩm tương ứng với 0,015g tetracyclin hydroclorid (m_T) cho vào cốc có mỏ. Thêm khoảng 20ml nước, đun cách thủy cho tan hết tá được, khuấy đều bằng một thìa thủy tinh. Để nguội và làm lạnh trong nước đá để cho lớp tá được đông lại. Gạn lấy lớp nước vào bình định mức 50ml. Tiếp tục chiết như vậy 2 lần nữa, mỗi lần 10ml nước và tập trung dịch chiết vào bình định mức trên. Thêm vào bình định mức trên 5ml dung dịch acid hydrocloric 0,1N và thêm nước vừa đủ tới vạch (dung dịch A). Lấy chính xác 5ml dung dịch A cho bình định mức 100ml, thêm vào đó khoảng 50ml nước và 5ml dung dịch natri hydroxyd 5M, lắc đều. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để yên 5 phút.

– Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,075g tetracyclin hydroclorid chất đối chiếu (m_C) có hàm lượng C_C . Hoà tan trong nước vừa đủ 250,0ml. Lấy chính xác 5ml dung dịch này cho bình định mức 100ml, thêm vào đó khoảng 50ml nước và 5ml dung dịch natri hydroxyd 5M, lắc đều. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để yên 5 phút.

– Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 380nm, cuvet dày 1cm, mẫu trắng gồm 5,00ml dung dịch natri hydroxyd 5M trong vừa đủ 100ml nước. Được D_C và D_T .

– Chú ý: Dung dịch thử và dung dịch chuẩn được chuẩn bị song song từ giai đoạn thêm dung dịch natri hydroxyd 5M.

Hàm lượng (%) tetracyclin $C_{22}H_{24}N_2O_8$ trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức sau:

$$\frac{D_T \times m_C \times C_C \times 50 \times 100}{D_C \times 250 \times m_T} \times \frac{444}{480,5}$$

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Đánh dấu vào ô đúng. Yêu cầu kỹ thuật đối với thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin 1%:

TT	Yêu cầu	Có	Không
1	Tính chất		
2	Độ nhiễm khuẩn		
3	Định tính Tetracyclin hydroclorid		
4	Độ đồng nhất		
5	Độ đồng đều hàm lượng		
6	Định lượng		
7	Độ đồng đều khối lượng		
8	Độ vô khuẩn		
9	Các phần tử kim loại		

2. Trình bày cách tiến hành định tính Tetracyclin hydroclorid trong thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin 1%.
3. Trình bày cách tiến hành thử độ đồng nhất đối với thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin 1%.
4. Hàm lượng Tetracyclin trong thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin 1% có đạt yêu cầu không? Biết rằng khi tiến hành theo quy trình định lượng đã trình bày ở trên với khối lượng chế phẩm là 1,5037g, khối lượng chất chuẩn là 0,0748g với hàm lượng 98,82%. Giá trị mật độ quang đo được của dung dịch thử là 0,635 và của dung dịch chuẩn là 0,601 (đạt, 95,99%).

Chọn câu trả lời đúng đối với câu 5 và câu 6:

5. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch khối lượng của thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin 1% đóng gói 5g là:
- A. $\pm 10\%$ B. $\pm 15\%$ C. $\pm 12,5\%$ D. $\pm 20\%$
6. Quy định giới hạn cho phép về chênh lệch hàm lượng của chế phẩm thuốc mỡ tra mắt tetracyclin 1% đóng gói 5g so với hàm lượng ghi trên nhãn là:
- A. $\pm 10\%$ B. $\pm 12\%$ C. $\pm 11\%$ D. $\pm 8\%$

Bài 8

KIỂM NGHIỆM THUỐC HOÀN NHỊ TRẦN

MỤC TIÊU

- Trình bày được yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm của thuốc hoàn nhị trần.
- Trình bày được cách tiến hành và đánh giá được tính chất, độ đồng đều khối lượng, độ ẩm, độ rã, định tính thuốc hoàn nhị trần theo tiêu chuẩn.

1. DỤNG CỤ

- Cân phân tích.
- Cốc có mỏ.
- Ống nghiệm.
- Pipet.
- Chén cân.
- Bình nón dung tích 100ml.
- Cốc có mỏ.
- Máy thử độ rã.
- Tủ sấy.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT VỀ CHẤT LƯỢNG THÀNH PHẨM

- Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung đối với "Thuốc viên hoàn" và các yêu cầu riêng của chế phẩm:
- Yêu cầu kỹ thuật về chất lượng thành phẩm:

<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Yêu cầu</i>	<i>Phương pháp thử</i>
1. Tính chất	Hoàn màu nâu tro đến màu nâu vàng; mùi thơm nhẹ; vị ngọt, hơi cay.	Cảm quan.
2. Độ ẩm	Không quá 9%.	Theo chuyên luận chung.
3. Định tính	Trần bì, Bán hạ, Bạch linh, Cam thảo.	Theo chuyên luận riêng.
4. Độ rã	Không quá 60 phút.	Theo chuyên luận chung.
5. Độ đồng đều khối lượng	Khối lượng trung bình $\pm 12\%$.	Theo chuyên luận chung.

3. THUỐC THỬ (THEO ĐDVN III)

- Ethanol 70%.
- Bột magnesi.
- Acid hydrocloric đậm đặc.
- Anhydric acetic.
- Acid sulfuric đậm đặc.
- Dung dịch vanilin 1% trong acid hydrocloric.

4. PHƯƠNG PHÁP THỬ

4.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

4.2. Độ ẩm

- Bật tủ sấy, để nhiệt độ 60 – 70°C. Đợi tới khi nhiệt độ trong tủ sấy đạt nhiệt độ đã đặt.
- Xử lý bì:
 - + Sấy chén cân sạch ở nhiệt độ 60 – 70°C tới khối lượng không đổi.
 - + Cân để xác định khối lượng chén cân thu được khối lượng m.
- Cân trên cân phân tích chính xác khoảng 1,00 gam chế phẩm (được M gam) vào chén cân đã được xử lý ở trên.

– Đặt chén cân có chứa chế phẩm vào tủ sấy, mở nắp và để nắp ở bên cạnh chén cân. Sấy ở nhiệt độ 60 – 70°C khối lượng không đổi.

– Cân chén cân chứa chế phẩm đã sấy nắp trên cân phân tích. Lập lại thao tác sấy đến khối lượng không đổi. Được giá trị P gam.

– Tính kết quả:

+ Lượng chế phẩm trước khi sấy: M gam.

+ Lượng nước có trong mẫu bị mất đi: $M - (P - m)$ gam.

+ Lượng nước có trong mẫu bị mất đi tính theo phần trăm là:

$$\%H_2O = \frac{M - (P - m)}{M} \times 100$$

4.3. Định tính

– Soi kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp thấy: Các sợi nấm không màu của Bạch linh, các sợi tinh thể calci oxalat của Cam thảo. Có đối chiếu với bột Bạch linh, Cam thảo chuẩn.

– Lấy 4g bột kép (hoặc viên hoàn), nếu là viên hoàn thì tán nhỏ. Cho vào ống nghiệm, thêm 10ml ethanol 70% (TT). Lắc đều. Đun nóng trên cách thủy 10 phút. Lọc, dịch lọc cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, bay hơi bớt dung môi trên cách thủy, còn 1ml.

+ Ống 1: Thêm ít bột magnesi và cho từ từ acid hydrocloric đậm đặc, xuất hiện màu đỏ da cam.

+ Ống 2: Thêm 1ml anhydric acetic, lắc đều, thêm vài giọt acid sulfuric đậm đặc, xuất hiện màu hồng.

+ Ống 3: Thêm vài giọt vanilin 1% trong acid hydrocloric (TT). Đun trên cách thủy, xuất hiện màu tím hoa cà.

4.4. Độ rã

– Môi trường thử: nước.

– Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

– Cho vào mỗi ống thử một viên nén vitamin C rồi đặt đĩa chất dẻo vào từng ống. Thử trên 6 viên.

– Thời gian tối đa: 60 phút.

- Quan sát bằng mắt nếu thấy các viên thử rã hết thì ghi thời gian.
- Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về độ rã khi không còn cặn. Nếu còn cặn thì nó chỉ là một khối mềm, không được có nhân khô rắn sờ thấy được.
- Kết quả:
 - + Nếu cả 6 viên đều rã hết: Mẫu thử đạt yêu cầu về độ rã.
 - + Nếu còn dưới 2 viên chưa rã hết: Thử lại trên 12 viên nữa. Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong số 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

4.5. Độ đồng đều khối lượng

Cân khối lượng của 10 hoàn, xác định khối lượng trung bình của 1 hoàn. Cân riêng rẽ từng hoàn và so sánh với khối lượng trung bình hoàn.

Khối lượng tất cả các viên hoàn phải nằm trong giới hạn quy định.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Đánh dấu vào ô đúng. Yêu cầu kỹ thuật đối với hoàn nhị trần:

TT	Yêu cầu	Có	Không
1	Tính chất		
2	Độ hoà tan		
3	Định tính		
4	Độ rã		
5	Độ đồng đều hàm lượng		
6	Định lượng		
7	Độ đồng đều khối lượng		

2. Trình bày cách tiến hành định tính Trần bì, Bán hạ, Bạch linh, Cam thảo trong hoàn nhị trần theo tiêu chuẩn.
3. Trình bày cách tiến hành thử độ rã của hoàn nhị trần.
4. Trình bày cách tiến hành thử độ ẩm của hoàn nhị trần.

Bài 9

KIỂM NGHIỆM BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

- Trình bày được phương pháp làm môi trường nuôi cấy lỏng và môi trường nuôi cấy đặc.
- Làm được thí nghiệm thử vô khuẩn thuốc tiêm vitamin B₁ với các thao tác đảm bảo vô trùng.
- Làm được các thao tác thực nghiệm xác định số lượng vi khuẩn, vi nấm trong 1ml bố phế chỉ khái lộ.

1. DỤNG CỤ – HOÁ CHẤT

- Cân kỹ thuật.
- Bơm tiêm.
- Ống nghiệm.
- Kẹp sắt.
- Pipet.
- Bình nón.
- Cốc có mỏ.
- Hộp Petri.
- Đèn cồn.

Các dụng cụ rửa sạch và tiệt trùng khô ở 160°C trong 2 giờ trước khi sử dụng.

2. THỬ VÔ KHUẨN THUỐC TIÊM VITAMIN B₁

Quá trình thử vô khuẩn phải được tiến hành trong buồng hoặc trong lồng kính thổi khí vô khuẩn để tránh ô nhiễm, mặt khác mẫu thử không được tiếp

xúc với các tác nhân có ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn, nấm mốc, nấm men (như tia tử ngoại, chất sát trùng, nhiệt độ cao,...).

2.1. Môi trường

- Môi trường để phát hiện vi khuẩn hiếu khí:

Môi trường canh thang (MT1)

Pepton	10g
Cao thịt	5g
NaCl	5g
Nước cất vừa đủ	1000ml
pH = 7,4 ± 0,2	

- Môi trường để phát hiện vi nấm:

Môi trường Sabouraud lỏng (MT2)

Pepton	10g
Glucose	40g
Nước cất vừa đủ	1000ml
pH = 5,8 ± 0,2	

Hoà tan các thành phần vào nước nguội, đun nóng cho tan hoàn toàn, điều chỉnh pH bằng dung dịch NaOH 1N hoặc HCl 1N. Điều chỉnh cho đủ thể tích. Phân môi trường vào ống nghiệm, mỗi ống 10ml. Tiệt trùng bằng hấp ướ ở 1atm trong 15 – 20 phút.

2.2. Phương pháp tiến hành

Dùng cồn 70° sát trùng ống tiêm vitamin B1. Bỏ đầu ống tiêm bằng kẹp sắt vô trùng. Hút toàn bộ thuốc trong ống tiêm vitamin B1 bằng pipet hoặc bơm tiêm vô trùng cho vào ống nghiệm đã chuẩn bị 10ml môi trường MT1 và một ống thuốc khác được cấy vào 10ml môi trường MT2 (mỗi môi trường làm 2 ống).

Ủ môi trường phát hiện vi khuẩn ở 30 – 35°C và môi trường phát hiện vi nấm ở 20 – 25°C trong vòng 14 ngày.

2.3. Đọc kết quả

Nếu trong suốt thời gian ủ, nếu không thấy có vi khuẩn, vi nấm phát triển thì chế phẩm là vô khuẩn. Nếu có một hoặc nhiều ống nuôi cấy có vi sinh vật

mọc cần tiến hành làm lại lần thứ hai, đồng thời giữ lại các môi trường có vi khuẩn hoặc vi nấm mọc.

Ở lần nuôi cấy thứ hai, nếu không có ống nào có vi sinh vật mọc thì kết luận là mẫu thử vô trùng; nếu trường hợp có vi sinh vật mọc cần tiến hành phân lập, so sánh vi khuẩn, hoặc vi nấm trên môi trường cấy lại với vi khuẩn, hoặc nấm đã mọc trên môi trường cũ. Nếu nhận thấy vi khuẩn, hoặc vi nấm sau khi phân lập ở lần hai giống lần đầu thì chế phẩm không đạt tiêu chuẩn vô khuẩn, còn trường hợp nếu vi khuẩn hoặc vi nấm khác biệt với lần thử nghiệm đầu tiên thì cần tiến hành thử nghiệm lần thứ ba. Ở lần thứ ba, nếu không phát hiện thấy vi khuẩn, hoặc vi nấm phát triển chế phẩm được coi là vô trùng và ngược lại nếu thấy xuất hiện vi khuẩn, hoặc vi nấm thì chế phẩm được coi là không đạt tiêu chuẩn vô trùng.

3. XÁC ĐỊNH SỐ LƯỢNG VI KHUẨN HIẾU KHÍ, VI NẤM TRONG XIRÔ BỔ PHẾ CHỈ KHÁI LỘ

3.1. Pha chế môi trường

– Môi trường thạch thường (MT1)

Pepton	10g
Cao thịt	5g
NaCl	5g
Thạch	15g
Nước cất vừa đủ	1000ml
pH = 7,4 ± 0,2	

– Môi trường Sabouraud – kháng sinh (MT2)

Pepton	10g
Glucose	40g
Cloramphenicol	50mg
Thạch	15g
Nước cất vừa đủ	1000ml
pH = 5,8 ± 0,2	

– Cách pha chế: Cân các thành phần theo công thức, đun cho tan thạch trước, sau đó thêm các thành phần khác đã được hoà vào nước, thêm nước cho đủ thể tích. Đun sôi, điều chỉnh pH cho đạt theo yêu cầu của từng môi trường.

Tiệt trùng môi trường bằng cách hấp ướ ở 1atm trong 15 – 20 phút.

3.2. Phương pháp tiến hành

– Sát trùng bên ngoài lọ chế phẩm thử bằng cồn 70°.

– Pha loãng chế phẩm ở các nồng độ 10^{-1} ; 10^{-2} : Dùng pipet lấy 10ml chế phẩm pha trong 90ml NaCl 0,9% để được dung dịch có nồng độ 10^{-1} . Từ dung dịch này pha loãng tiếp thành dung dịch có nồng độ 10^{-2} . Cho vào mỗi hộp petri 1ml của từng dung dịch đã pha loãng trên. Thêm 15ml môi trường thạch thường đã đun chảy và để nguội đến 45°C vào hộp Petri để xác định số lượng vi khuẩn. Làm tương tự với môi trường Sabouraud – kháng sinh để xác định số lượng vi nấm. Đậy hộp, trộn đều bằng cách xoay hộp Petri. Mỗi nồng độ làm 2 đĩa thử song song.

– Nuôi cấy:

+ Với các đĩa xác định số lượng vi khuẩn: nuôi cấy trong tủ ấm ở nhiệt độ 35°C trong 24 – 48 giờ.

+ Với các đĩa xác định số lượng vi nấm: nuôi cấy trong tủ ấm ở nhiệt độ 20 – 25°C trong 5 ngày.

3.3. Đọc kết quả

Sau thời gian nuôi cấy, kiểm tra quá trình mọc của vi khuẩn và vi nấm, đếm số khuẩn lạc vi khuẩn và số khuẩn lạc vi nấm mọc ở các đĩa Petri.

Tính số lượng vi khuẩn và vi nấm trong 1ml chế phẩm theo công thức:

$$X = \frac{A_1 \cdot K_1 \times A_2 \cdot K_2}{2}$$

Trong đó: X là số lượng vi khuẩn hoặc vi nấm trong 1ml chế phẩm.

A_1 và A_2 là số khuẩn lạc vi khuẩn hoặc vi nấm trung bình của các đĩa ở các độ pha loãng tương ứng K_1 và K_2 .

Trong trường hợp nếu không có khuẩn lạc mọc ở các đĩa có độ pha loãng 1/10 thì kết luận chế phẩm có ít hơn 10 khuẩn lạc trong 1ml chế phẩm.

TỰ LƯỢNG GIÁ VÀ BÀI TẬP

1. Mục đích của kỹ thuật thử vô khuẩn là gì?
2. Nguyên tắc của kỹ thuật thử vô khuẩn bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp.
3. Tiêu chuẩn thử vô khuẩn thường được áp dụng cho các chế phẩm nào?
4. Cách pha chế một môi trường nuôi cấy lỏng?
5. Cách tiến hành thử vô khuẩn bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp?
6. Nguyên tắc để xác định số lượng vi khuẩn hiếu khí, vi nấm trong 1 gam hoặc 1ml chế phẩm?
7. Cách pha chế một môi trường nuôi cấy đặc?
8. Phương pháp tiến hành thử nghiệm để xác định số lượng vi khuẩn, vi nấm trong 1ml chế phẩm.

ĐÁP ÁN

Bài 1

- 4. 0,01053N
- 5. 0,0978N

Bài 2

- 3. A – mẫu thử đạt
B – mẫu thử không đạt

Bài 3

- 3. $19,09^{\circ}$; đạt
- 6. 0,8524

Bài 4

- 1. Đạt
- 3. Đạt, 95,52%
- 4. Đạt, 101,37%

Bài 5

- 2. Đạt
- 5. Đạt, 97,47%
- 6. C
- 7. B

Bài 6

- 6. Đạt, 96,1%
- 7. Không đạt, 115,3%

Bài 7

- 4. Đạt, 95,99%
- 5. B
- 6. A

Phụ lục 1

BẢNG NGUYÊN TỬ LƯỢNG CÁC NGUYÊN TỐ

Theo tài liệu của Liên đoàn quốc tế về hoá học thuần túy và ứng dụng xuất bản năm 1989 (Pure App.Chem.1991,63,978.)

<i>Tên nguyên tố</i>	<i>Ký hiệu</i>	<i>Nguyên tử số</i>	<i>Nguyên tử lượng</i>
Argon	Ar	18	39,948
Arsen	As	33	74,9216
Bạc (Argentum)	Ag	47	107,8682
Bari	Ba	56	137,327
Beryli	Be	4	9,0122
Bismuth	Bi	83	208,9804
Bor	B	5	10,811
Brom	Br	35	79,904
Cadmi	Cd	48	112,411
Cesi	Cs	55	132,9054
Calci	Ca	20	40,078
Carbon	C	6	12,011
Ceri	Ce	58	140,115
Chi (Plumbum)	Pb	82	207,2
Clor	Cl	17	35,4527
Crom	Cr	24	51,9961
Cobalt	Co	27	58,9332
Đồng (Cuprum)	Cu	29	63,546
Dysprosi	Dy	66	162,50
Erbi	Er	68	167,26
Europi	Eu	63	151,965
Fluor	F	9	18,9984
Gadolini	Gd	64	157,25
Gali	Ga	31	69,723
Germani	Ge	32	72,61

<i>Tên nguyên tố *</i>	<i>Ký hiệu</i>	<i>Nguyên tử số</i>	<i>Nguyên tử lượng</i>
Hafni	Hf	72	178,49
Heli	He	2	4,0026
Holmi	Ho	67	163,9303
Hydrogen	H	1	1,0079
Indi	In	49	114,82
Iod	I	53	126,9045
Iridi	Ir	77	192,22
Kali	K	19	39,0983
Kẽm (Zincum)	Zn	30	65,39
Krypton	Kr	36	83,80
Lanthan	La	57	138,9055
Lithi	Li	3	6,941
Luteti	Lu	71	174,967
Lưu huỳnh (Sulfur)	S	16	32,066
Magnesi	Mg	12	24,3050
Mangan	Mn	25	54,9381
Molybden	Mo	42	95,94
Natri	Na	11	22,9898
Neodymi	Nd	60	144,24
Neon	Ne	10	20,1797
Nhôm (Aluminium)	Al	13	26,9815
Nickel (Niccolum)	Ni	28	58,6934
Niobi	Nb	41	92,9064
Nitrogen	N	7	14,0067
Osmi	Os	76	190,2
Oxygen	O	8	15,9994
Paladi	Pd	46	106,42
Phosphor	P	15	30,9738
Platin	Pt	78	195,08
Praseodymi	Pr	59	140,9077
Rheni	Re	75	186,207

<i>Tên nguyên tố *</i>	<i>Ký hiệu</i>	<i>Nguyên tử số</i>	<i>Nguyên tử lượng</i>
Rhodi	Rh	45	102,9055
Rubidi	Rb	37	85,4678
Rutheni	Ru	44	101,07
Samari	Sm	62	150,36
Sắt (Iron)	Fe	26	55,847
Scandi	Sc	21	44,9559
Selen	Se	34	78,96
Silic (Silicium)	Si	14	28,0855
Stibi (Stibium)	Sb	51	121,757
Stronti	Sr	38	87,62
Tantal	Ta	73	180,9479
Techneti	Tc	43	(97)
Telur	Te	52	127,60
Terbi	Tb	65	158,9253
Thali	Tl	81	204,3833
Thiếc (Stanium)	Sn	50	118,70
Thori	Th	90	232,0381
Thuli	Tm	69	168,9342
Thuỷ ngân (Hydrargyrum)	Hg	80	200,59
Titan	Ti	22	47,88
Uran	U	92	238,0289
Vanadi	V	23	50,9415
Vàng (Aurum)	Au	79	196,9665
Wolfram	W	74	183,85
Xenon	Xe	54	131,29
Yterbi	Yb	70	173,04
Ytri	Y	39	88,9059
Zirconi	Zn	40	91,224

Phụ lục 2

CÁC PHẢN ỨNG ĐỊNH TÍNH MỘT SỐ ION

Acetat

- A. Đun nóng chế phẩm với cùng một lượng acid oxalic (TT). Hơi xông ra có mùi acid acetic.
- B. Hoà tan khoảng 30ml chế phẩm trong 3ml nước, hoặc lấy 3ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,25ml dung dịch lanthan nitrat (TT), 0,1ml dung dịch iod 0,1 N và 0,05ml dung dịch amoniac 2 M (TT). Đun nóng hỗn hợp cẩn thận đến sôi, sau vài phút xuất hiện tủa màu xanh hay màu xanh thẫm.

Amoni (muối)

- A. Hoà tan khoảng 0,2g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), đun nóng, sẽ xông ra khí có mùi đặc biệt và làm xanh giấy quỳ đỏ đã thấm nước.
- B. Hoà tan khoảng 10mg chế phẩm trong 5ml nước, hay một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,2ml thuốc thử Nessler (TT), hỗn hợp có màu vàng hay tủa vàng nâu.

Bạc (muối)

- A. Hoà tan khoảng 10ml chế phẩm trong 5ml nước, hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 3 giọt dung dịch acid hydrocloric 10% (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng lớn nhón, tủa này không tan trong acid nitric loãng (TT) nhưng tan trong dung dịch amoniac (TT).
- B. Hoà tan 20mg chế phẩm trong 5ml nước, hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm một lượng dung dịch amoniac (TT) sẽ có tủa màu nâu xám, tiếp tục thêm dung dịch amoniac (TT), tủa sẽ tan. Sau đó thêm vài giọt formalin (TT), đun nóng dung dịch sẽ có tủa bạc kim loại bám vào thành ống nghiệm (phản ứng tráng gương).

Bari (muối)

- A. Lấy một lượng dung dịch muối bari như chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt acid sulfuric loãng (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan trong acid hydrocloric 10% (TT) và acid nitric loãng (TT).
- B. Dùng một dây bạch kim hoặc đũa thuỷ tinh lấy một lượng chất thử đốt trên ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu xanh lục hơi vàng, khi nhìn qua kính thuỷ tinh màu lục ngọn lửa sẽ có màu xanh.

Benzoat

- A. Lấy 1ml dung dịch trung tính 10% của chế phẩm, hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5ml dung dịch sắt (III) clorid 10% (TT) sẽ xuất hiện tủa vàng thẫm, tủa này tan trong ether (TT).
- B. Lấy khoảng 0,2g chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, làm ẩm bằng 0,2ml đến 0,3ml acid sulfuric (TT) và đun nóng nhẹ ở đáy ống nghiệm, sẽ có các tinh thể trắng hoa trắng bám ở thành trong của ống.
- C. Hoà tan 0,5g chế phẩm trong 10ml nước hoặc dùng 10ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5ml acid hydrocloric (TT), sẽ cho tủa. Kết tinh lại tủa trong nước rồi làm cho khô dưới áp suất giảm, tủa thu được có nhiệt độ chảy từ 120°C đến 124°C.

Bismuth (muối)

- A. Thêm 10ml acid hydrocloric 10% (TT) vào 0,5g chế phẩm, hoặc dùng 10ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 phút, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 20ml nước vào 1ml dung dịch thu được ở trên, xuất hiện tủa trắng hay hơi vàng, tủa này sẽ chuyển thành nâu khi thêm 0,05 đến 0,1ml dung dịch natri sulfid (TT).
- B. Thêm 10ml dung dịch acid nitric 2M (TT) vào 40 đến 50mg chế phẩm, hoặc dùng 10ml chế phẩm đã được xử lý theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 phút, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 2ml dung dịch thioure 10% (TT) vào 5ml dịch lọc thu được ở trên, xuất hiện màu vàng da cam hay tủa da cam. Thêm 4ml dung dịch natri fluorid 2,5% (TT), dung dịch không được mất màu trong vòng 30 phút.

Borat

- A. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm vào 0,1ml acid sulfuric (TT) trong một chén sứ, thêm 3ml methanol (TT), trộn đều rồi châm lửa vào hỗn hợp, hỗn hợp cháy với ngọn lửa màu lục.
- B. Lấy 5ml dung dịch chế phẩm 10%, thêm 0,5ml acid hydrocloric loãng (TT) và 0,5ml cồn nghệ (CT), sẽ cho màu nâu; thêm 1ml dung dịch natri hydroxyd 10% (TT), màu nâu chuyển thành lam hay lục.

Bromid

- A. Hoà tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 3mg ion bromid trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá bằng acid nitric loãng (TT) và thêm 0,4ml dung dịch bạc nitrat 4% (TT). Lắc và để yên sẽ tạo tủa lỏng nhỏ màu vàng nhạt. Lọc lấy tủa, rửa tủa ba lần, mỗi lần với 1ml nước. Phân tán tủa trong 2ml nước, thêm 1,5ml dung dịch amoniac 10 M (TT) tủa khó tan.
- B. Hoà tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 5mg ion bromid trong 2ml nước, hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, acid hoá dung dịch bằng acid

sulfuric loãng (TT), thêm 1ml nước clo (TT) và 2ml cloroform (TT), lắc. Lớp cloroform sẽ có màu đỏ nâu.

Calci (muối)

- A. Lấy khoảng 20mg chế phẩm, hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, hoà tan trong 5ml dung dịch acid acetic 5 M (TT), thêm 0,5ml dung dịch kali ferocyanid (TT), dung dịch vẫn trong, thêm khoảng 50mg amoni clorid (TT), tạo thành tủa kết tinh trắng.
- B. Thêm vào dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận vài giọt dung dịch amoni oxalat 4% (TT), tạo thành tủa trắng, tủa này ít tan trong acid acetic 6 M (TT), nhưng tan trong acid hydrocloric (TT).

Chì (muối)

- A. Hoà tan 0,1g chế phẩm trong 1ml dung dịch acid acetic 5 M (TT), hoặc lấy 1ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2ml dung dịch kali cromat (TT), tủa vàng sẽ tạo thành, tủa này tan trong dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).
- B. Hoà tan 50mg chế phẩm trong 1ml dung dịch acid acetic 5 M, hoặc 1ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 10ml nước và 0,2ml dung dịch kali iodid 10% (TT), tủa vàng sẽ tạo thành; đun sôi 1 đến 2 phút cho tủa tan ra, để nguội, tủa lại xuất hiện như những mảnh vàng.

Citrat

- A. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, nếu cần có thể trung tính hoá dung dịch bằng amoniac (TT), hoặc dùng một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch calci clorid 10% (TT), dung dịch vẫn trong. Đun sôi dung dịch sẽ xuất hiện tủa trắng, tan trong acid acetic 6 M (TT).
- B. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc lấy 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt dung dịch acid sulfuric loãng (TT), đun đến sôi, sau đó thêm vài giọt dung dịch kali permanganat (TT), lắc, màu tím sẽ biến mất. Chia dung dịch làm hai phần, một phần dung dịch thêm vài giọt dung dịch thuỷ ngân (II) sulfat (TT), phần thứ hai thêm vài giọt dung dịch nước brom (TT), tủa trắng được tạo thành ở cả hai dung dịch.

Clorid

- A. Hoà tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2mg ion clorid trong 2ml nước hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá bằng dung dịch acid nitric 2 M (TT), thêm 0,4ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT). Lắc và để yên, sẽ tạo tủa trắng lờn nhớt. Lọc lấy tủa, rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 1ml nước, thêm vào tủa trong 2ml nước, và thêm 1,5ml dung dịch amoniac 10 M, tủa tan ra dễ dàng.

- B. Cho vào ống nghiệm một lượng chế phẩm tương ứng khoảng từ 10 đến 50mg ion clorid (TT), đun nóng, sẽ giải phóng khí clo có mùi đặc biệt, khí này làm xanh giấy tẩm hồ tinh bột có kali iodid (CT) đã thấm nước.

Đồng (muối)

- A. Hoà tan khoảng 10mg chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt dung dịch kali ferocyanid (TT), sẽ có tủa màu đỏ nâu không tan trong acid acetic (TT).
- B. Hoà tan khoảng 10mg chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt dung dịch amoniac (TT), sẽ có tủa màu xanh, tủa này tan trong thuốc thử quá thừa tạo thành dung dịch màu xanh lam thẫm.

Iodid

- A. Hoà tan một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 4mg ion iodid trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá bằng dung dịch acid nitric 2 M (TT), thêm 0,4ml dung dịch bạc nitrat 4% (TT). Lắc và để yên, có tủa tạo thành màu vàng nhạt, lờn nhớt. Lọc lấy tủa. Phân tán tủa trong 2ml nước, thêm 1,5ml dung dịch amoniac 10 M (TT), tủa không tan.
- B. Hoà tan một lượng chế phẩm tương ứng với 4mg ion iodid trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch sắt (III) clorid 3% (TT), 2 giọt acid hydrocloric (TT), 1ml cloroform (TT) và lắc, để yên. Lớp cloroform có màu tím.

Kali (muối)

- A. Hoà tan 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch natri carbonat 10% (TT) rồi đun nóng, không tạo thành tủa. Thêm vào trong lúc nóng 0,05ml dung dịch natri sulfid (TT), không tạo thành tủa. Làm nguội trong nước đá và thêm 2ml dung dịch acid tartric 15% (TT). Để yên, tạo thành tủa kết tinh trắng.
- B. Hoà tan khoảng 40mg chế phẩm trong 1ml nước hoặc dùng 1ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 1ml dung dịch natri cobal trinitrit 10% (TT) mới pha, tạo thành tủa vàng hay da cam.

Kẽm (muối)

Hoà tan 0,1g chế phẩm trong 5ml nước, hoặc dùng 5ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,2ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi thêm 2ml natri hydroxyd 10 M (TT). Thêm 10ml dung dịch amoni clorid (TT), dung dịch vẫn trong, thêm 0,1ml dung dịch natri sulfid (TT), tủa bông trắng được tạo thành.

Magnesi (muối)

Hoà tan khoảng 15mg chế phẩm trong 2ml nước, hoặc lấy 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch amoniac 6 M (TT), tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi thêm 1ml dung dịch amoni clorid (TT). Thêm 1ml dung dịch dinatri hydrophosphat (TT), sẽ có tủa kết tinh trắng.

Natri (muối)

- A. Dùng một dây bạch kim hay đũa thuỷ tinh, lấy một hạt chất thử hay một giọt dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu vàng.
- B. Hoà tan khoảng 50mg chế phẩm trong 2ml nước, hoặc lấy 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá dung dịch bằng acid acetic loãng (TT), thêm 1ml dung dịch magnesi uranyl acetat (TT), cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thuỷ tinh (nếu cần), sẽ có tủa kết tinh vàng.

Nhôm (muối)

Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt dung dịch amoniac (TT) cho tới khi tạo tủa keo trắng, tủa này chuyển thành đỏ khi thêm vài giọt dung dịch alizarin S (TT).

Nitrat

- A. Hoà tan 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từ từ 2ml acid sulfuric (TT), trộn và để nguội.
Cho cẩn thận (không trộn) dọc theo thành ống nghiệm 1ml dung dịch sắt (II) sulfat (TT). Ở miền tiếp giáp giữa hai chất lỏng có một vòng màu nâu.
- B. Trộn 0,1ml nitrobenzen (TT) với 0,2ml acid sulfuric (TT), thêm một lượng chế phẩm đã tán nhỏ tương ứng với khoảng 1mg ion nitrat hoặc một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, để yên 5 phút, làm lạnh trong nước đá vài phút, vừa lắc vừa thêm từ từ 5ml nước, sau đó 5ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và 5ml aceton (TT), lắc rồi để yên. Lớp chất lỏng ở trên có màu tím thẫm.

Oxalat

- A. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 5ml nước, hoặc dùng 5ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5ml dung dịch calci clorid 10% (TT), tạo tủa trắng, tủa tan trong acid vô cơ, không tan trong dung dịch acid acetic 6 M (TT).
- B. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 5ml nước, hoặc dùng 5ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá dung dịch bằng acid sulfuric 10% (TT), dung dịch này sẽ làm mất màu dung dịch kali permanganat (TT) khi đun nóng.

Peroxyd

- A. Nhỏ 1 giọt dung dịch chế phẩm vào 10ml dung dịch acid sulfuric 2% (TT), thêm 2ml ether (TT) và 1 giọt dung dịch kali dicromat (TT), lắc. Ở lớp ether hiện màu xanh.
- B. Lấy 1ml dung dịch chế phẩm, acid hoá nhẹ bằng acid sulfuric 10% (TT), thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT), sẽ giải phóng iod, làm xanh hồ tinh bột (CT).

Phosphat

- A. Hoà tan khoảng 50mg chế phẩm trong 3ml nước, hoặc dùng 3ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hoá dung dịch bằng acid nitric loãng (TT), thêm 2ml dung dịch amoni molybdat (TT) sẽ hiện tủa vàng.
- B. Hoà tan khoảng 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Trung tính hoá dung dịch bằng acid nitric loãng (TT) hoặc dung dịch natri hydroxyd (TT). Thêm 1ml dung dịch bạc nitrat 4% (TT) sẽ tạo tủa vàng, màu của tủa không thay đổi khi đun sôi, tủa tan khi thêm dung dịch amoniac 10 M (TT).

Sắt (II) (muối)

Hoà tan một lượng chế phẩm tương ứng với 10mg sắt (II) trong 1ml nước, hoặc dùng 1ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch kali fericyanid (TT), tạo tủa xanh lam, tủa này không tan trong dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT).

Sắt (III) (muối)

- A. Hoà tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,1mg sắt (III) trong 3ml nước, hoặc dùng 3ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) và 1ml dung dịch kali thiocyanat (TT), dung dịch có màu đỏ. Dùng 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1ml dung dịch thu được ở trên. Một ống cho thêm 5ml alcol amylic (TT) hoặc ether (TT), lắc và để yên, lớp dung môi có màu hồng. Cho vào ống nghiệm kia 3ml dung dịch thủy ngân (II) clorid (TT), màu đỏ sẽ biến mất.
- B. Hoà tan một lượng chế phẩm tương ứng với 1mg sắt (III) trong 1ml nước, hoặc dùng 1ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml dung dịch kali ferocyanid (TT) sẽ tạo tủa xanh lam, tủa này không tan trong dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT).

Sulfat

- A. Hoà tan 45mg chế phẩm trong 5ml nước, hoặc dùng 5ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) và 1ml dung dịch bari clorid 5% (TT), sẽ có tủa trắng tạo thành.
- B. Thêm 0,1ml iod 0,1 N vào hỗn dịch thu được ở phản ứng trên, hỗn dịch có màu vàng (phân biệt với sulfid và dithionit) nhưng mất màu khi thêm từng giọt dung dịch thiếc (II)

clorid (TT) (phân biệt với iodat). Đun sôi hỗn hợp, không được tạo thành tủa có màu (phân biệt với selenat và tungstat).

Sulfid

Hoà tan 0,1g chế phẩm trong 2ml nước, hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1ml acid hydrocloric 10%(TT), khí bay ra có mùi của hydrosulfid, khí này sẽ làm nâu hoặc đen giấy tẩm chì acetat (CT) đã thấm nước.

Thuỷ ngân (muối)

- A.** Nhỏ 2 – 3 giọt dung dịch thử lên một miếng đồng phôi (TT) đã được cọ sạch, sẽ xuất hiện vết hoen màu xám tối; vết này sáng ra khi được lau nhẹ. Đốt nóng phôi đồng đó trong ống nghiệm thì vết hoen sẽ mất.
- B.** Hoà tan khoảng 0,10g chế phẩm trong 2ml nước, nếu là thuỷ ngân oxyd thì hoà tan trong 2ml acid hydrocloric 10% (TT), hoặc dùng 2ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT) sẽ cho tủa đỏ, tủa tan trong thuốc thử quá thừa (đối với muối thuỷ ngân (II)).

Nếu là muối thuỷ ngân (I), khi thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT) sẽ cho tủa vàng, sau đó chuyển sang màu lục.

Phụ lục 3

PHẢN ỨNG MÀU CỦA CÁC PENICILIN VÀ CEPHALOSPORIN

- A. Cho 2mg chế phẩm vào một ống nghiệm (kích thước 15cm × 1,5cm), làm ẩm với 0,05ml nước, thêm 2ml acid sulfuric (TT). Lắc đều hỗn hợp và quan sát màu của dung dịch. Đặt ống nghiệm trong cách thủy sôi trong một phút và lại quan sát màu. Màu sắc của dung dịch được quy định trong bảng dưới đây.
- B. Lặp lại cách thử như phản ứng A, nhưng thay 2ml acid sulfuric (TT) bằng 2ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Màu sắc của dung dịch được quy định trong bảng dưới đây.

Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin

Tên mẫu	Acid sulfuric (TT)	Acid sulfuric (TT) sau 1 phút ở 100°C	Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)	Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT) sau 1 phút ở 100°C
Amoxicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Amoxicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Benzathin penicilin			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin kali			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin natri			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Cephalexin			Vàng nhạt	Vàng sẫm
Cephalexidin	Vàng nhạt	Hầu như không màu	Đỏ	Đỏ nâu
Cephalothin natri	Vàng (màu chuyển nhanh)	Hồng nâu	Đỏ	Đỏ nâu
Cloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Dicloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Flucloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Phenoxymethyl penicilin			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Phenoxymethyl penicilin kali			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Procain penicilin	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Nâu đỏ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trường Đại học Dược Hà Nội (1998). *Hoá phân tích II*.
2. Trường Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh (2001). *Giáo trình kiểm nghiệm thuốc*.
3. Bộ Y tế (2002). *Dược điển Việt Nam III*. NXB Y học. Hà Nội
4. Bộ Y tế (2002). *Các văn bản quản lý nhà nước trong lĩnh vực Dược*. NXB Y học. Hà Nội.
5. Trường Đại học Dược Hà Nội (2004). *Kiểm nghiệm thuốc*.
6. Nguyễn Linh Thuốc (2002). *Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*. Nhà xuất bản Giáo dục.
7. Bộ môn Hoá phân tích – Trường Đại học Dược Hà Nội (1998). *Thực tập Hoá phân tích*. Tài liệu lưu hành nội bộ – Trung tâm thông tin thư viện Đại học Dược Hà Nội.
8. British Pharmacopoeia (2005).
9. Harold J. Benson (1998). *Microbiological applications laboratory manual in general microbiology*. 7th edition. McGraw – Hill.
10. United Stated Pharmacopoeia XXIX (2006).

Chịu trách nhiệm xuất bản:

Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập NGUYỄN QUÝ THAO

Chịu trách nhiệm nội dung:

Chủ tịch HĐQT kiêm Giám đốc Công ty CP Sách ĐH – ĐN
TRẦN NHẬT TÂN

Biên tập và sửa bản in:

NGUYỄN HỒNG ÁNH

Trình bày bìa:

BÙI QUANG TUẤN

Chế bản:

THÁI SƠN

KIỂM NGHIỆM THUỐC

Mã số: 7G068M7 – DAI

In 1.000 bản (QĐ 94), khổ 19 x 27 cm, tại Công ty CP In Anh Việt.

Địa chỉ : Số 74, ngõ 310 đường Nghi Tàm, Tây Hồ, Hà Nội.

Số ĐKKH xuất bản : 874 – 2007/CXB/1 - 1918/GD.

In xong và nộp lưu chiểu tháng 12 năm 2007.



CÔNG TY CỔ PHẦN SÁCH ĐẠI HỌC - DẠY NGHỀ
HEVOBCO

25 HÀN THUYỀN – HÀ NỘI

Website : www.hevobco.com.vn



VƯƠNG MIỀN KIM CƯƠNG
CHẤT LƯỢNG QUỐC TẾ

TÌM ĐỌC SÁCH THAM KHẢO Y HỌC CỦA NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Sinh học phân tử | GS. TS. Nguyễn Văn Thanh (Chủ biên) |
| 2. Bào chế và sinh dược học – Tập 2 | PGS. TS. Lê Quan Nghiệm – TS. Huỳnh Văn Hoá (Đồng chủ biên) |
| 3. Thực vật dược | TS. Trương Thị Đẹp (Chủ biên) |
| 4. Ký sinh trùng | PGS. TS. Phạm Văn Thân (Chủ biên) |
| 5. Hoá đại cương | PGS. TSKH. Phan An (Chủ biên) |
| 6. Điều dưỡng cơ bản 1 | PGS. TS. Phạm Văn Linh – TS. Lê Văn An (Đồng Chủ biên) |
| 7. Điều dưỡng cơ bản 2 | PGS. TS. Hoàng Ngọc Chương – BSKH. Trần Đức Thái (Đồng Chủ biên) |
| 8. Kiểm nghiệm thuốc | Trần Tích (Chủ biên) |
| 9. Nhân khoa | PGS. TS. Hoàng Thị Phúc (Chủ biên) |
| 10. Sinh lý học | GS. TS. Phạm Thị Minh Đức (Chủ biên) |
| 11. Phẫu thuật miệng – Tập 1 | TS. BS. Lê Đức Lánh (Chủ biên) |
| 12. Hoá phân tích – Tập 1 | PGS. TS. Võ Thị Bạch Huệ (Chủ biên) |
| 13. Công nghệ bào chế dược phẩm | PGS. TS. Hoàng Minh Châu (Chủ biên) |
| 14. Dược lý học – Tập 1 | GS. TS. Đào Văn Phan (Chủ biên) |

Bạn đọc có thể mua tại các Công ty Sách - Thiết bị trường học ở các địa phương hoặc các Cửa hàng sách của Nhà xuất bản Giáo dục :

Tại Hà Nội : 25 Hàn Thuyên ; 187B Giảng Võ ; 232 Tây Sơn ; 23 Tràng Tiền ;

Tại Đà Nẵng : Số 15 Nguyễn Chí Thanh ; Số 62 Nguyễn Chí Thanh ;

Tại Thành phố Hồ Chí Minh : Cửa hàng 451B - 453, Hai Bà Trưng, Quận 3 ;

240 Trần Bình Trọng – Quận 5.

Tại Thành phố Cần Thơ : Số 5/5, đường 30/4 ;

Website : www.nxbgd.com.vn



8 934980 787984



Giá: 53.000 đ