

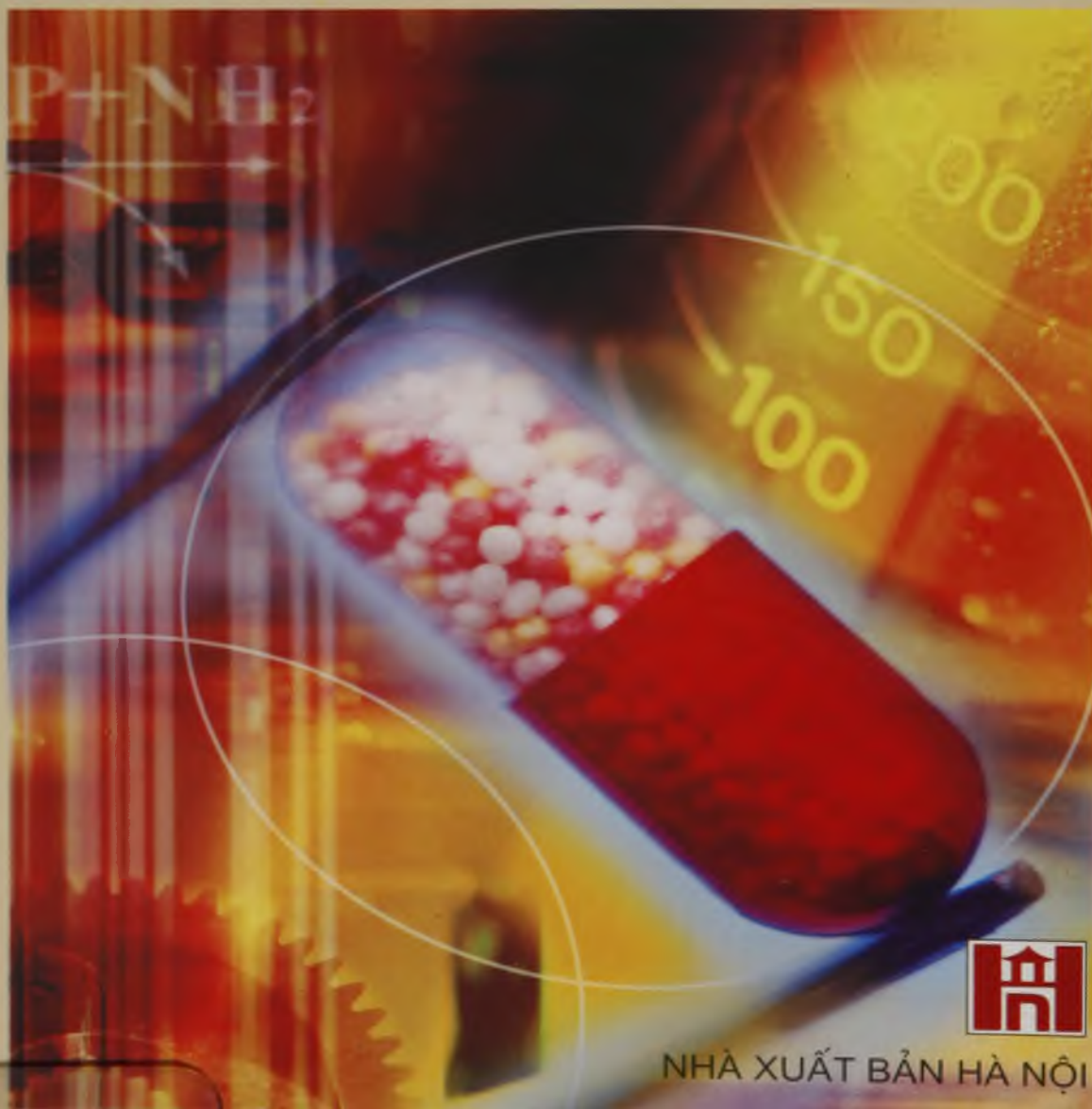


SỞ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO HÀ NỘI

GIÁO TRÌNH

Kiểm nghiệm thuốc

DÙNG TRONG CÁC TRƯỜNG TRUNG HỌC CHUYÊN NGHIỆP



GUYỄN
C LIỆU



NHÀ XUẤT BẢN HÀ NỘI

SỞ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO HÀ NỘI

TS.DS. LÊ THỊ HẢI YẾN (*Chủ biên*)

GIÁO TRÌNH
KIỂM NGHIỆM THUỐC

(Dùng trong các trường THCN)

NHÀ XUẤT BẢN HÀ NỘI - 2007

Chủ biên

TS.DS. LÊ THỊ HẢI YẾN

Tham gia biên soạn

DS. NGUYỄN NINH HẢI

TS.DS. LÊ THỊ HẢI YẾN

Lời giới thiệu

*N*ước ta đang bước vào thời kỳ công nghiệp hóa, hiện đại hóa nhằm đưa Việt Nam trở thành nước công nghiệp văn minh, hiện đại.

Trong sự nghiệp cách mạng to lớn đó, công tác đào tạo nhân lực luôn giữ vai trò quan trọng. Báo cáo Chính trị của Ban Chấp hành Trung ương Đảng Cộng sản Việt Nam tại Đại hội Đảng toàn quốc lần thứ IX đã chỉ rõ: “Phát triển giáo dục và đào tạo là một trong những động lực quan trọng thúc đẩy sự nghiệp công nghiệp hóa, hiện đại hóa, là điều kiện để phát triển nguồn lực con người - yếu tố cơ bản để phát triển xã hội, tăng trưởng kinh tế nhanh và bền vững”.

Quán triệt chủ trương, Nghị quyết của Đảng và Nhà nước và nhận thức đúng đắn về tầm quan trọng của chương trình, giáo trình đối với việc nâng cao chất lượng đào tạo, theo đề nghị của Sở Giáo dục và Đào tạo Hà Nội, ngày 23/9/2003, Ủy ban nhân dân thành phố Hà Nội đã ra Quyết định số 5620/QĐ-UB cho phép Sở Giáo dục và Đào tạo thực hiện đề án biên soạn chương trình, giáo trình trong các trường Trung học chuyên nghiệp (THCN) Hà Nội. Quyết định này thể hiện sự quan tâm sâu sắc của Thành ủy, UBND thành phố trong việc nâng cao chất lượng đào tạo và phát triển nguồn nhân lực Thủ đô.

Trên cơ sở chương trình khung của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành và những kinh nghiệm rút ra từ thực tế đào tạo, Sở Giáo dục và Đào tạo đã chỉ đạo các trường THCN tổ chức biên soạn chương trình, giáo trình một cách khoa học, hệ

thống và cập nhật những kiến thức thực tiễn phù hợp với đối tượng học sinh THCN Hà Nội.

Bộ giáo trình này là tài liệu giảng dạy và học tập trong các trường THCN ở Hà Nội, đồng thời là tài liệu tham khảo hữu ích cho các trường có đào tạo các ngành kỹ thuật - nghiệp vụ và đông đảo bạn đọc quan tâm đến vấn đề hướng nghiệp, dạy nghề.

Việc tổ chức biên soạn bộ chương trình, giáo trình này là một trong nhiều hoạt động thiết thực của ngành giáo dục và đào tạo Thủ đô để kỷ niệm “50 năm giải phóng Thủ đô”, “50 năm thành lập ngành” và hướng tới kỷ niệm “1000 năm Thăng Long - Hà Nội”.

Sở Giáo dục và Đào tạo Hà Nội chân thành cảm ơn Thành ủy, UBND, các sở, ban, ngành của Thành phố, Vụ Giáo dục chuyên nghiệp Bộ Giáo dục và Đào tạo, các nhà khoa học, các chuyên gia đầu ngành, các giảng viên, các nhà quản lý, các nhà doanh nghiệp đã tạo điều kiện giúp đỡ, đóng góp ý kiến, tham gia Hội đồng phản biện, Hội đồng thẩm định và Hội đồng nghiệm thu các chương trình, giáo trình.

Đây là lần đầu tiên Sở Giáo dục và Đào tạo Hà Nội tổ chức biên soạn chương trình, giáo trình. Dù đã hết sức cố gắng nhưng chắc chắn không tránh khỏi thiếu sót, bất cập. Chúng tôi mong nhận được những ý kiến đóng góp của bạn đọc để từng bước hoàn thiện bộ giáo trình trong các lần tái bản sau.

GIÁM ĐỐC SỞ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

Lời nói đầu

Kiểm nghiệm thuốc là khâu quan trọng không thể thiếu trong hệ thống quản lý chất lượng của thuốc và mỹ phẩm. Kiểm nghiệm có mặt trong các công đoạn sản xuất (kiểm nghiệm nguyên liệu, bán thành phẩm, thành phẩm), trong tồn trữ, lưu thông cũng như trong quá trình sử dụng thuốc...

Các kỹ thuật được sử dụng trong công tác kiểm nghiệm rất phong phú và đa dạng, thuộc các lĩnh vực: Vật lý, Hóa học, Sinh học... và đặc biệt là môn Phân tích định tính và Phân tích định lượng là hai môn học cơ sở cần thiết trong kiểm nghiệm thuốc.

Giáo trình môn học Kiểm nghiệm thuốc do các giáo viên bộ môn Dược Trường Trung học Y tế Hà Nội biên soạn. Giáo trình biên soạn bám sát với mục tiêu và nội dung của chương trình khung đào tạo dược sĩ trung học do Bộ Y tế quy định.

Giáo trình Kiểm nghiệm thuốc gồm 45 tiết lý thuyết (phần thực tập kiểm nghiệm với 56 tiết được trình bày trong giáo trình riêng) bao gồm 150 trang với 13 bài, mỗi bài được chia thành 3 phần: Mục tiêu học tập, nội dung chính và câu hỏi lượng giá sau mỗi bài học.

Nội dung giáo trình cập nhật những thông tin, kiến thức mới kết hợp với đổi mới phương pháp biên soạn nhằm tạo tiền đề cơ sở để giáo viên và học sinh có thể áp dụng phương pháp dạy và học tích cực.

Giáo trình Kiểm nghiệm thuốc là tài liệu chính thức để sử dụng dạy và học cho đối tượng dược sĩ trung học trong các trường trung học chuyên nghiệp Hà Nội.

Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn GVC.Cn. Trần Tích, ThS. Nguyễn Thị Kiều Anh, ThS. Nguyễn Lâm Hồng đã tham gia phản biện giáo trình môn học Kiểm nghiệm thuốc. Xin trân trọng cảm ơn Hội đồng nghiệm thu giáo trình, cảm ơn ý kiến đóng góp của các chuyên gia, các thầy cô giáo.

Giáo trình Kiểm nghiệm thuốc chắc chắn còn có nhiều thiếu sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến của các chuyên gia, các đồng nghiệp, các thầy cô giáo và của các học sinh để giáo trình môn học ngày càng hoàn thiện hơn.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn.

CÁC TÁC GIẢ

Bài mở đầu

Mục tiêu môn học:

- Trình bày nguyên tắc chung và một số phương pháp kiểm nghiệm thuốc được ghi trong Dược điển Việt Nam.
- Kiểm nghiệm được một số nguyên liệu và dạng thuốc thông dụng.
- Rèn luyện tác phong chính xác, trung thực trong hoạt động nghề nghiệp.

NỘI DUNG MÔN HỌC KIỂM NGHIỆM THUỐC

I. PHẦN LÝ THUYẾT (45 tiết)

TT	Tên bài học	Số tiết
1	Đại cương về công tác kiểm tra chất lượng thuốc, mỹ phẩm	2
2	Công tác kiểm tra thuốc và mỹ phẩm	5
3	Các chất đối chiếu, thuốc thử, chỉ thị màu thường dùng trong kiểm nghiệm.	4
4	Các phương pháp phân tích dụng cụ	8
5	Các xác định cơ bản trong kiểm nghiệm	2
6	Phương pháp chung xác định các chỉ số vật lý	4
7	Xác định giới hạn các tạp chất trong thuốc và trong dược liệu	3
8	Kiểm nghiệm thuốc bột, thuốc cốm	2
9	Kiểm nghiệm viên nén, viên nang	2
10	Kiểm nghiệm các dạng thuốc lỏng: tiêm, siro, nhỏ mắt, rượu thuốc	4
11	Kiểm nghiệm thuốc mỡ, thuốc kem	2

12	Kiểm nghiệm thuốc Đông dược	2
13	Kiểm nghiệm thuốc bằng phương pháp vi sinh vật	4
	Tổng:	45

II. PHẦN THỰC HÀNH (56 tiết)

TT	Tên bài học	Số tiết
1	Pha dung dịch mẫu, dung dịch chuẩn, thuốc thử...	4
2	Xác định tạp chất trong thuốc	8
3	Xác định một số chỉ số vật lý của thuốc	4
4	Kiểm nghiệm thuốc bột, thuốc cốm	4
5	Kiểm nghiệm viên nén, viên nang	4
6	Kiểm nghiệm các dạng thuốc lỏng: tiêm, siro, nhỏ mắt, rượu thuốc	8
7	Kiểm nghiệm thuốc mỡ, thuốc kem	4
8	Kiểm nghiệm thuốc Đông dược	4
9	Kiểm nghiệm thuốc bằng phương pháp vi sinh vật	8
10	Kiểm tập ngoài trường	8
	Tổng cộng:	56

Bài 1

ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được khái niệm chất lượng thuốc và 3 yếu tố cơ bản ảnh hưởng tới chất lượng thuốc (GMP, GLP, GSP).
- Trình bày được hệ thống tổ chức, quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc ở Việt Nam.
- Biết cách sử dụng Dược điển Việt Nam III.

I. KHÁI NIỆM VỀ CHẤT LƯỢNG THUỐC VÀ MỸ PHẨM

1. Khái niệm

* *Chất lượng thuốc và mỹ phẩm* là tổng hợp các tính chất đặc trưng của thuốc và mỹ phẩm đó, được thể hiện ở 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 và mỹ phẩm đạt các mục tiêu sau:

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

* *Vai trò của thuốc và mỹ phẩm trong cuộc sống:*

- Thuốc là sản phẩm đặc biệt có liên quan trực tiếp đến sức khỏe của người tiêu dùng, là thành phần không thể thiếu trong chính sách y tế quốc gia.... Vì vậy, thuốc phải đảm bảo chất lượng trong toàn bộ quá trình sản xuất, bảo quản, lưu thông, phân phối đến cho người sử dụng.

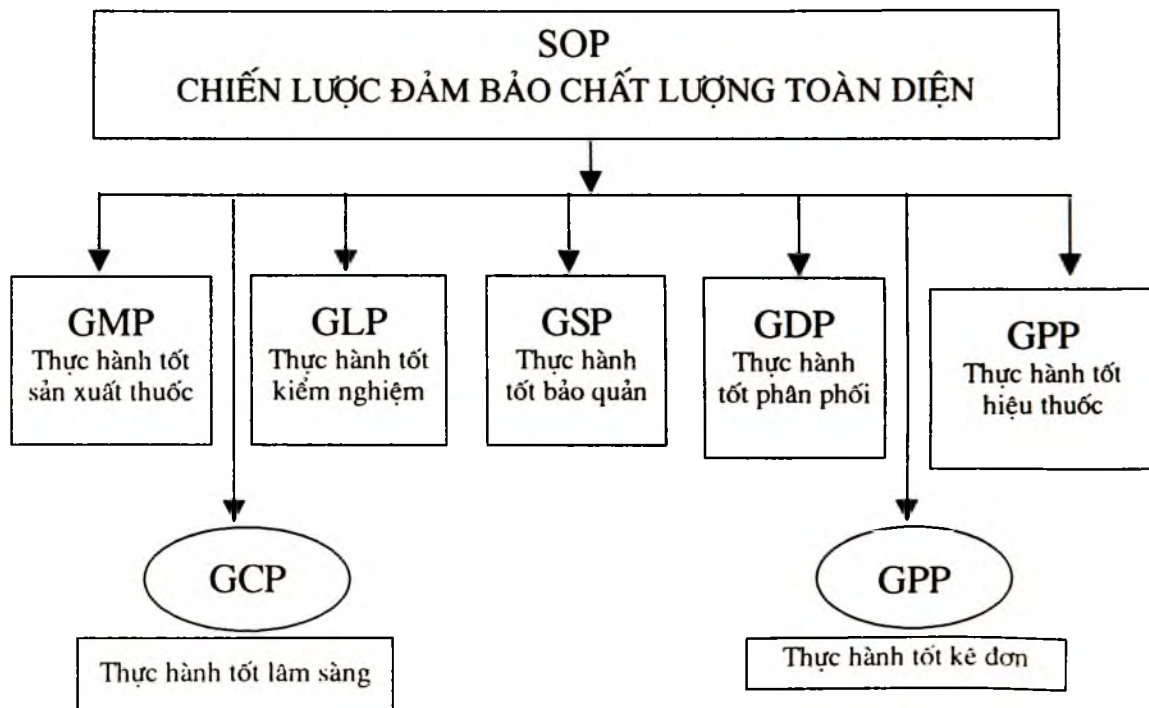
- Mỹ phẩm là sản phẩm cao cấp để bảo vệ và chăm sóc sắc đẹp có liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến sức khỏe của người tiêu dùng...

2. Các yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng thuốc

Thuốc đảm bảo chất lượng khi đáp ứng được những yêu cầu cơ bản sau:

- Thuốc có chứa đúng các thành phần và tỷ lệ theo quy định của công thức đã được đăng ký và cấp phép.
- Thuốc sản xuất theo đúng các quy trình đã đăng ký.
- Nguyên liệu làm thuốc 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, đúng quy cách đã đăng ký.
- Thuốc được bảo quản, phân phối, quản lý theo quy định để chất lượng đảm bảo trong suốt hạn dùng đã đăng ký.

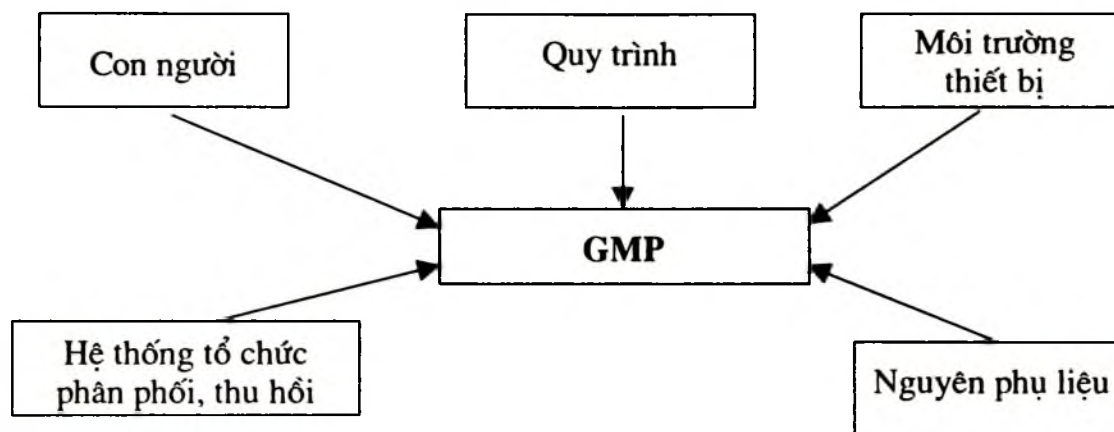
Để đạt các mục tiêu trên, cần có nhiều yếu tố, trong đó 3 yếu tố cơ bản phải đạt được là: thực hành tốt sản xuất (GMP), thực hành tốt kiểm nghiệm (GLP) và thực hành tốt bảo quản (GSP).



Hình 1.1: Sơ đồ chiến lược đảm bảo chất lượng thuốc toàn diện

2.1. Thực hành tốt sản xuất thuốc (GMP - Good Manufacturing Practices)

Bao gồm những quy định chặt chẽ và chi tiết về mọi mặt của quá trình sản xuất như: Tổ chức, nhân sự, cơ sở, tiện nghi, máy móc, trang thiết bị, kiểm tra nguyên phụ liệu, bao bì, đóng gói, kiểm tra bán thành phẩm và thành phẩm... nhằm mục đích đảm bảo thuốc được sản xuất một cách ổn định, đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định an toàn cho người sử dụng (đúng sản phẩm, đúng hàm lượng, không bị ô nhiễm, không bị hư hỏng, đúng chai lọ, đúng nhãn, toàn vẹn bao bì...). Muốn vậy, phải thực hiện được các yêu cầu cơ bản sau:



Hình 1.2: Sơ đồ năm yếu tố cơ bản trong GMP

2.2. Thực hành tốt kiểm nghiệm (GLP - Good Laboratory Practices)

Bao gồm những quy định chặt chẽ và chi tiết các yếu tố tham gia vào quá trình kiểm tra chất lượng thuốc, nhằm đảm bảo kết quả có độ chính xác, đúng, khách quan.

2.3. Thực hành tốt bảo quản (GSP - Good Storage Practices)

Bao gồm những quy định chặt chẽ và nghiêm ngặt cho việc tồn trữ, điều kiện bảo quản, xuất nhập nguyên phụ liệu, bao bì, chế phẩm, nhãn thuốc... Tất cả nhằm giám sát kiểm tra chặt chẽ để thuốc đảm bảo chất lượng đến người sử dụng.

II. 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

1. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc

1.1. Cục quản lý Dược Việt Nam

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, có nhiệm vụ:

- Xây dựng quy hoạch, kế hoạch về quản lý chất lượng thuốc và tổ chức thực hiện theo 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.
- Quản lý việc đăng ký tiêu chuẩn cơ sở, cung cấp thông tin về khoa học kỹ thuật liên quan đến đảm bảo chất lượng thuốc.
- Kiểm tra và cấp giấy chứng nhận cơ sở sản xuất đạt tiêu chuẩn GMP, phòng kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn GLP.
- Cấp số đăng ký cho thuốc lưu hành tại thị trường VN.
- Phối hợp với thanh tra Bộ Y tế thực hiện chức năng kiểm tra, thanh tra nhà nước về chất lượng và xử lý vi phạm pháp luật về chất lượng thuốc.

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

2. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc

2.1. Cơ quan kiểm tra chất lượng thuốc của Nhà nước

Viện kiểm nghiệm và phân viện kiểm nghiệm 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 chất lượng thuốc lưu hành trên thị trường.
- Thẩm tra kỹ thuật, giúp Bộ Y tế xét duyệt các tiêu chuẩn kiểm nghiệm để 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.
- Xây dựng các tiêu chuẩn cho các phòng kiểm nghiệm thuốc, kiểm tra công nhận các phòng kiểm nghiệm trong cả nước.
- Kiểm tra việc kiểm nghiệm thuốc theo tiêu chuẩn trong phạm vi toàn quốc.

2.2. Hệ thống tự kiểm tra chất lượng ở các cơ sở

Phòng kiểm nghiệm, phòng KCS (phòng kiểm tra chất lượng sản phẩm) hay tổ kiểm nghiệm có nhiệm vụ kiểm tra chất lượng thuốc được thực hiện tại cơ sở. Tùy theo quy mô của cơ sở sản xuất, kinh doanh, bệnh viện mà lập phòng kiểm nghiệm để tự kiểm tra chất lượng thuốc.

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 tới địa phương.

III. DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

1. Giới thiệu Dược điển Việt Nam

Dược điển Việt Nam là tập hợp các tiêu chuẩn nhà nước (TCVN) về thuốc (hoá dược, các chế phẩm, huyết thanh, dược liệu, chế phẩm đông dược...). Mỗi tiêu chuẩn còn gọi là một chuyên luận. Dược điển Việt Nam được gọi tên theo lần xuất bản tuân theo quy tắc lần sau phải nhận lần trước:

- Dược điển Việt Nam I: Gồm 638 chuyên luận tân dược và 284 chuyên luận đông dược (tập 1 xuất bản 1970, bổ sung năm 1977, tập 2 đông dược được xuất bản lần 1 vào 1983).
- Dược điển Việt Nam II: Gồm 357 chuyên luận tân dược, 64 chuyên luận đông dược và 32 chuyên luận vaccin, tập 1 (1990), tập 2 (1991) và tập 3 (1994).
- Dược điển Việt Nam III: Có 821 chuyên luận bao gồm 342 chuyên luận hoá dược và các chế phẩm, 276 chuyên luận dược liệu, 37 chuyên luận chế

phẩm đông dược, 47 chuyên luận về chế phẩm sinh học, 119 chuyên luận chung và 500 chuyên luận về hoá chất và thuốc thử, xuất bản năm 2002.

Đặc biệt, Dược điển Việt Nam III đã đưa vào nhiều chuyên luận các kỹ thuật phân tích hiện đại bao gồm phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký khí, HPLC, quang phổ IR, UV - VIS.... Ngoài ra còn có nhiều chuyên luận mới như các chuyên luận chung về dạng bào chế, phép thử nội độc tố, thử độ hoà tan, vi sinh vật...

2. Giới thiệu nội dung chính của một số chuyên luận

2.1. Các chuyên luận về hóa dược và các chế phẩm

- Tên hóa dược hoặc chế phẩm theo danh pháp Việt Nam và Latin
- Công thức hóa học hoặc thành phần
- Các phản ứng định tính, định lượng, xác định tạp chất, bảo quản...

2.2. Các chuyên luận huyết thanh và vaccin

- Tên huyết thanh hoặc vaccin theo danh pháp Việt Nam và Latin
- Định nghĩa, sản xuất
- Các kiểm định huyết thanh hoặc vaccin: nhận dạng, độc tính bất thường, độc tính đặc hiệu, vô khuẩn...
- Bảo quản, hạn dùng, nhãn.

2.3. Các chuyên luận dược liệu

- Tên dược liệu theo danh pháp Việt Nam và Latin
- Bộ phận dùng, mô tả, chế biến
- Các phản ứng định tính, định lượng, độ ẩm...
- Công năng chủ trị, cách dùng và liều dùng, bảo quản.

3. Giới thiệu phụ lục trong Dược điển Việt Nam III

Dược điển Việt Nam III gồm 14 phụ lục như sau:

3.1. Phụ lục 1

Gồm 18 chuyên luận cụ thể về các tiêu chuẩn kiểm nghiệm các dạng thuốc cụ thể: Cao thuốc, cồn thuốc, dung dịch, potio, siro, thuốc bột, thuốc cốm, thuốc dán, thuốc đạn và thuốc trứng, thuốc mỡ, thuốc nang, thuốc nhỏ mắt, thuốc rửa mắt, thuốc viên nén, thuốc tiêm, thuốc hoàn, rượu thuốc, thuốc thang.

3.2. Phụ lục 2

Gồm 10 chuyên luận cụ thể về: Các chất đối chiếu, các dung dịch chuẩn độ, các dung dịch đệm, các dung dịch mẫu, cân và xác định khối lượng, cỡ bột và rây, dụng cụ đo thể tích, hóa chất và thuốc thử, phễu lọc thủy tinh xốp, các chất chỉ thị.

3.3. Phụ lục 3

Gồm 4 chuyên luận cụ thể về: Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, phương pháp quang phổ hồng ngoại, phương pháp quang phổ huỳnh quang, phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ.

3.4. Phụ lục 4

Gồm 4 chuyên luận cụ thể về: Phương pháp sắc ký giấy, phương pháp sắc ký khí, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, phương pháp sắc ký lớp mỏng.

3.5. Phụ lục 5

Gồm 21 chuyên luận cụ thể về: Xác định các chất không bị xà phòng hóa, xác định chỉ số acid, xác định chỉ số acetyl, xác định chỉ số ester, xác định chỉ số hydroxyl, xác định chỉ số iod, xác định chỉ số khúc xạ, xác định chỉ số peroxyd, xác định chỉ số pH, xác định chỉ số xà phòng hóa, xác định độ nhớt của chất lỏng, xác định độ trong của dung dịch, xác định góc quay cực và góc quay cực riêng, xác định lưu huỳnh dioxyd, xác định khối lượng riêng và tỷ trọng, xác định mất khối lượng do làm khô, xác định màu sắc của dung dịch, xác định nhiệt độ đông đặc, xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt, xác định nhiệt độ điểm sôi và khoảng chưng cất, đốt trong oxygen.

3.6. Phụ lục 6

Gồm 15 chuyên luận cụ thể về: Định lượng aldehyd, định lượng cineol trong tinh dầu, định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp iod, định lượng các steroid bằng tetrazolium, định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ, định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fisher, xác định hàm lượng methanol và propan - 2 - ol, định lượng vitamin A, phương pháp chuẩn độ đo ampe, phương pháp chuẩn độ bằng nitrit, phương pháp chuẩn độ complexon, phương pháp chuẩn độ đo điện thế, phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan, phương pháp phân tích acid amin, xác định hàm lượng ethanol.

3.7. Phụ lục 7

Bao gồm 9 chuyên luận cụ thể về: Các phản ứng định tính, định tính các penicilin, phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin, thử giới hạn các tạp chất, xác định tro không tan trong acid, xác định tro tan trong nước, thử giới hạn carbon monoxyl trong khí y tế.

3.8. Phụ lục 8

Bao gồm 9 chuyên đề cụ thể về: Giới hạn cho phép về thể tích, nồng độ, hàm lượng thuốc, phép thử độ đồng đều hàm lượng, phép thử độ đồng đều khối lượng, phép thử độ hòa tan của viên nén và viên nang, phép thử độ rã của viên nén và viên nang, phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột, rửa dụng cụ thủy tinh, xác định giới hạn tiêu phân.

3.9. Phụ lục 9

Bao gồm 10 chuyên luận cụ thể về: Định lượng taninoid trong dược liệu, định lượng tinh dầu trong dược liệu, xác định các chất chiết được trong dược liệu, xác định tạp chất lẫn trong dược liệu, xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu, xác định hàm lượng nước bằng phương pháp chưng cất với dung môi, lấy mẫu dược liệu, định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi, phương pháp chế biến đông dược, xác định chỉ số trương nở.

3.10. Phụ lục 10

Bao gồm 10 chuyên luận cụ thể về: Phân tích thống kê kết quả thử nghiệm sinh học, phép thử histamin, phép thử nội độc tố vi khuẩn, thử các chất hạ áp, thử chất gây sốt, thử độc tố bất thường, thử giới hạn nhiễm khuẩn, thử vô khuẩn, xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản, xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

3.11. Phụ lục 11

Gồm 2 chuyên đề cụ thể về: Các phương pháp tiệt khuẩn, chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

3.12. Phụ lục 12

Bao gồm 6 chuyên đề cụ thể về: Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược, độ bền đối với nước ở mặt trong đồ đựng, đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt, đồ đựng và nút bằng chất dẻo, đồ đựng bằng chất dẻo cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm, đồ đựng bằng chất dẻo cho chế

phẩm tiêm, đồ đựng bằng chất dẻo cho chế phẩm nhỏ mắt, bộ dây truyền dịch, nút cao su dùng cho chai đựng dung dịch tiêm truyền.

3.13. Phụ lục 13

Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố.

3.14. Phụ lục 14

Bao gồm 34 chuyên luận cụ thể về: Xác định độ sống của vaccin BCG, xác định độ chân không của vaccin BCG, xác định độ phân tán của vaccin BCG, kiểm tra tính an toàn vaccin BCG, kiểm tra đậm độ vi khuẩn ho gà bằng bộ soi độ đục, kiểm tra độc tính bất thường của vaccin bại liệt uống, kiểm tra tính vô khuẩn áp dụng cho các chế phẩm vaccin và sinh phẩm, môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm, phát hiện mycobacteria gây bệnh (an toàn đặc hiệu), điện di miễn dịch đối với huyết thanh miễn dịch, kiểm tra tính an toàn chung vaccin và sinh phẩm, kiểm tra chất gây sốt trong vaccin và sinh phẩm, kiểm tra chất lượng môi trường thioglycolat, phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu, xác định hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu, xác định hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố uốn ván, xác định hiệu giá của huyết thanh kháng dại, xác định nitrogen toàn phần của vaccin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, thử nghiệm nhận dạng thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà trong vaccin DTP, thử nghiệm phát hiện độc tính thần kinh tồn dư trong vaccin bại liệt uống, xác định công hiệu của giải độc tố uốn ván hoặc thành phần uốn ván trong vaccin DTP, xác định công hiệu của giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vaccin DTP, xác định công hiệu thành phần ho gà trong vaccin DTP, xác định formaldehyd tự do trong vaccin và sinh phẩm, xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein, xác định hàm lượng nhôm (Al^{3+}) trong vaccin và sinh phẩm, xác định hàm lượng phenol trong vaccin và sinh phẩm, xác định hàm lượng chất bảo quản thimerosal trong vaccin và sinh phẩm, xác định hiệu lực vaccin dại theo phương pháp Habel, xác định nitrogen trong vaccin dại fluenzalida bằng thuốc thử Nessler, xác định pH của vaccin và sinh phẩm, xác định hàm lượng protein toàn phần của vaccin và sinh phẩm bằng phương pháp Lowry.

4. Ví dụ một chuyên luận trong Dược điển Việt Nam III

NANG PIROXICAM

Capsulae piroxicami: Là viên nang chứa piroxicam.

* Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận chung “Thuốc nang” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau đây:

- Hàm lượng piroxicam $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ từ 92,5 đến 107,5% so với lượng ghi trên nhãn.

- Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang trắng hoặc vàng nhạt, không mùi.

- Định tính

A. Phổ hấp thụ của dung dịch thu được ở phần định lượng trong khoảng từ 250nm đến 400nm có một cực đại ở 334nm.

B. Trong phần tạp chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch (2) phải có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

- Nước

Không được quá 8,0% (Phụ lục 6.6)

- Độ hoà tan (Phụ lục 8.4)

+ Thiết bị kiểu cánh khuấy.

+ Môi trường hoà tan: 900ml dung dịch acid hydrochloric 0,1N.

+ Tốc độ quay: 100 vòng/ phút.

+ Thời gian: 45 phút.

+ Cách tiến hành: Pha loãng dung dịch thử sau khi lọc với dung dịch acid hydrochloric 0,1N (nếu cần) để có nồng độ khoảng $10\mu\text{g/ml}$.

+ Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10mg piroxicam chuẩn cho vào bình định mức 100ml, thêm 20ml methanol (TT) để hoà tan, pha loãng bằng nước cất đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10ml dung dịch này cho vào bình định mức 100ml khác, pha loãng bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1N đến vạch, lắc đều.

+ Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và chuẩn ở bước sóng 242nm (Phụ lục 3.1), cốc đo dày 1cm. Dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1N làm mẫu trắng (hoặc có thể lấy A (1%, 1cm) ở bước sóng 242nm là 386 để tính hàm lượng chất giải phóng được).

+ Yêu cầu: Không ít hơn 70% lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 phút.

- Tạp chất liên quan

- + Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4)
- + Bản mỏng: Silicagen GF₂₅₄ đã hoạt hoá.
- + Dung môi khai triển: Toluene - acid acetic (90:10).
- + Dung dịch (1): Hoà tan một lượng bột viên tương ứng 80mg piroxicam trong 25ml dicloromethan (TT), lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hoà tan cặn trong 2ml dicloromethan (TT).
- + Dung dịch (2): Lấy 1ml dung dịch (1) pha loãng thành 20ml với dicloromethan (TT).
- + Dung dịch (3): Dung dịch chứa 0,20% (kl/tt) piroxicam chuẩn trong dicloromethan (TT).
- + Dung dịch (4): Lấy 2ml dung dịch (2) pha loãng thành 50ml với dicloromethan (TT).
- + Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7,5µl mỗi dung dịch (1), (2), (3), (4). Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính có trên sắc ký đồ của dung dịch (1) phải không được đậm hơn vết có được trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (0,2%).

- Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10mg piroxicam, chuyển vào bình định mức 100ml, thêm 70ml dung dịch acid hydrochloric 0,1M trong methanol (TT), lắc siêu âm 10 phút, làm nguội, thêm cùng dung môi tới vừa đủ, trộn đều và lọc. Bỏ 15ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5ml dịch lọc cho vào bình định mức 100ml pha loãng tới vừa đủ thể tích với cùng dung môi và trộn đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 334nm (Phụ lục 3.1), dùng mẫu trắng là dung dịch acid hydrochloric 0,1M trong methanol.

Tính hàm lượng C₁₅H₁₃N₃O₄S theo A (1%, 1cm); lấy 856 là giá trị A(1%, 1cm) ở bước sóng 334nm hoặc tiến hành song song với mẫu chuẩn trong cùng điều kiện.

- Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín hoặc ép trong vỉ bấm, để nơi mát, tránh ánh sáng.

- Hàm lượng thường dùng: 10mg, 20mg.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 4 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Chất lượng thuốc và mỹ phẩm là tổng hợp các.....(A)..... của thuốc (mỹ phẩm) đó, được thể hiện ở.....(B)..... với những yêu cầu kỹ thuật đã định trước tùy theo điều kiện xác định về kinh tế, kỹ thuật, xã hội...

A.....

B.....

2. Kể tên 3 yếu tố cơ bản trong chiến lược đảm bảo chất lượng toàn diện là:

A. Thực hành tốt sản xuất (GMP)

B.....

C.....

3. Hệ thống tổ chức quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc của ngành Y tế được chia làm 3 phần:

A.....

B.....

C. Hệ thống thanh tra Dược

4. Dược điển Việt Nam được gọi tên theo.....(A)..... tuân theo quy tắc lần sau.....(B)..... lần trước.

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 5 đến 10 bằng cách đánh dấu √ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
5	Mỹ phẩm không phải là thuốc nên không chịu sự quản lý chất lượng của ngành Y tế.		
6	Dược điển Việt Nam III phủ nhận Dược điển Việt Nam I, II		
7	Viện Kiểm nghiệm có nhiệm vụ xây dựng tiêu chuẩn Việt Nam về thuốc.		
8	GLP là thực hành tốt sản xuất.		
9	Xí nghiệp dược có phòng kiểm nghiệm để tự kiểm tra chất lượng thuốc trước khi đưa ra lưu thông trên thị trường.		
10	Dược điển Việt Nam III đã đưa vào nhiều chuyên luận kỹ thuật phân tích hiện đại: sắc ký lớp mỏng, HPLC...		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 11 đến 15 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

11. Theo anh (chị) cơ quan kiểm tra chất lượng thuốc của nhà nước có nhiệm vụ làm trọng tài về chất lượng khi có tranh chấp khiếu nại về chất lượng thuốc là:

- | | |
|-------------------------|---------------------|
| A. Phòng kiểm nghiệm | D. Viện kiểm nghiệm |
| B. Tổ kiểm nghiệm thuốc | E. Cục quản lý dược |
| C. Trạm kiểm nghiệm | |

12. Theo anh (chị) Dược điển Việt Nam bao gồm các chuyên luận về thuốc với các tiêu chuẩn đạt:

- | | |
|-----------------------|-------------------------|
| A. Tiêu chuẩn cơ sở | D. Tiêu chuẩn Dược điển |
| B. Tiêu chuẩn ngành | E. Tiêu chuẩn Việt Nam |
| C. Tiêu chuẩn Bộ Y tế | |

13. Theo anh (chị) cơ quan nhà nước kiểm tra chất lượng thuốc ở địa phương là:

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| A. Viện kiểm nghiệm | D. Phòng kiểm nghiệm |
| B. Phân viện kiểm nghiệm | E. Tổ kiểm nghiệm |
| C. Trạm kiểm nghiệm | |

14. Theo anh (chị) cơ quan quản lý chất lượng thuốc ở địa phương là:

- | | |
|-------------------------|---------------------|
| A. Cục quản lý dược | D. Trạm kiểm nghiệm |
| B. Viện kiểm nghiệm | E. Công ty dược |
| C. Phòng nghiệp vụ dược | |

15. Theo anh (chị), Dược điển Việt Nam III được phát hành chính thức vào năm:

- | | |
|---------|---------|
| A. 2000 | D. 2005 |
| B. 2002 | E. 1994 |
| C. 2004 | |

Bài 2

CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được nội dung cơ bản của công tác kiểm nghiệm thuốc và mỹ phẩm.
- Trình bày được nội dung chính của thực hành kiểm nghiệm tốt.
- Biết cách trả lời kết quả kiểm nghiệm và ghi phiếu kiểm nghiệm theo đúng tiêu chuẩn.

I. KHÁI NIỆM VỀ KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

Kiểm nghiệm thuốc, mỹ phẩm là việc phân tích một mẫu thuốc, mỹ phẩm đại diện cho một lô sản phẩm đó bằng các phương pháp lý, hóa, sinh học... đã được tiêu chuẩn hóa, rồi đối chiếu với tiêu chuẩn chất lượng đã quy định cho mẫu thuốc, mỹ phẩm đó để kết luận xem lô sản phẩm đó có đạt hay không đạt theo tiêu chuẩn để quyết định có được đưa vào sử dụng hay không.

Trong Dự thảo chính sách thuốc quốc gia Việt Nam có quy định: *“Tất cả các thuốc và nguyên liệu làm thuốc đều phải được kiểm nghiệm xác định chất lượng, nếu đạt tiêu chuẩn quy định mới được đưa vào sử dụng”*.

II. CÁC NỘI DUNG CHÍNH CỦA KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

Để kết quả kiểm nghiệm được chính xác, đòi hỏi phải làm tốt 3 công tác:

- Lấy mẫu kiểm nghiệm đạt chất lượng.
- Thực hành phân tích, đánh giá kết quả tốt.
- Viết phiếu trả lời.

1. Lấy mẫu kiểm nghiệm

1.1. Một số khái niệm

- *Lô thuốc*: Là một lượng thuốc xác định của cùng một loại sản phẩm được sản xuất trong một chu kỳ nhất định đáp ứng yêu cầu GMP, được coi là đồng nhất và được ghi bằng số lô của cơ sở sản xuất trên nhãn các bao bì.

- *Tổng thể*: Là toàn bộ các đơn vị sản phẩm được xét. Tùy theo từng trường hợp tổng thể có thể là một lô, một số lô hay một quá trình sản xuất.

- *Đơn vị bao gói*: Là dạng bao gói sản phẩm lặp lại trong lô (thùng, hộp...)

- *Đơn vị đóng gói*: Là dụng cụ đóng gói trực tiếp sản phẩm (chai đựng thuốc, vỉ thuốc...)

- *Đơn vị sản phẩm*: Là đối tượng quy ước hoặc cụ thể của một lượng sản phẩm nhất định (viên thuốc, ống thuốc, lg...)

- *Mẫu*: Là một số đơn vị sản phẩm lấy từ tổng thể để thử và được dùng làm cơ sở để có những thông tin quyết định về tổng thể đó. Số đơn vị sản phẩm có trong lô gọi là cỡ lô, số đơn vị có trong mẫu gọi là cỡ mẫu.

- *Mẫu ban đầu*: Là một lượng sản phẩm của lô thuốc được lấy trong một lần ở một hay nhiều đơn vị bao gói, mỗi bao gói lấy một lần.

- *Mẫu riêng*: Là một lượng sản phẩm được lấy từ mẫu ban đầu đã được gộp lại và trộn đều của một bao gói.

- *Mẫu chung*: Là một lượng sản phẩm được lấy từ nhiều mẫu riêng của từng đơn vị bao gói gộp lại và trộn đều.

- *Mẫu trung bình thí nghiệm*: Là một lượng sản phẩm được lấy từ mẫu chung dùng để tiến hành các phép thử quy định.

- *Mẫu lưu*: Được lấy từ mẫu trung bình thí nghiệm hay từ mẫu ban đầu tương đương với lượng mẫu thử. Mẫu lưu dùng để lưu lại khi cần thiết hoặc để làm các thí nghiệm trọng tài.

1.2. 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, tỉ 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.

1.3. Tiến hành lấy mẫu

Việc lấy mẫu phải đảm bảo tính khách quan, đại diện cho được chất lượng của thuốc cần lấy kiểm tra. Quy trình lấy mẫu có thể tóm tắt theo sơ đồ 2.1.

Sau khi lấy mẫu, người lấy mẫu tự tay niêm phong, bao gói và lập biên bản lấy mẫu. Biên bản và bao gói phải có chữ ký xác nhận của người lấy mẫu và cơ sở được lấy mẫu.

Cỡ mẫu: Số bao gói trọng lô lấy ra để tạo mẫu ban đầu tính theo công thức:

$$n = 0,4N^{1/2}$$

Trong đó:

n: Số bao gói lấy ra

N: Số đơn vị bao gói cuối cùng trong lô

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

Khi $N < 100$ có thể dùng bảng 2.1.

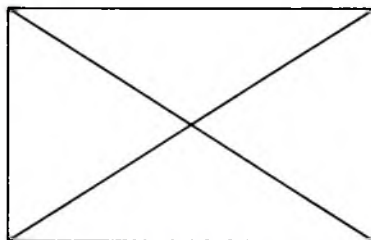
Bảng 2.1: Cách tính số mẫu cần lấy

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 sản phẩm trong 1 bao gói: Trước khi lấy mẫu phải xem sản phẩm có đồng nhất hay không. Lấy mẫu ban đầu tại 3 vị trí khác nhau: trên, giữa, dưới. Sau đó trộn thành mẫu chung.

Dàn đều mẫu chung thành lớp phẳng hình chữ nhật dày không quá 2cm, chia mẫu thành 2 đường chéo, bỏ 2 phần đối diện, trộn đều 2 phần còn lại và chia liên tiếp cho đến khi lượng mẫu còn lại tương ứng với 2 - 4 lần mẫu thử cần lấy (đó là mẫu trung bình). Chia đều mẫu trung bình thành các mẫu lưu và mẫu kiểm nghiệm.



Hình 2.1. Cách lấy mẫu trung bình

- Trường hợp sản phẩm đóng trong nhiều bao gói: Lấy mẫu ban đầu theo công thức nêu trên.

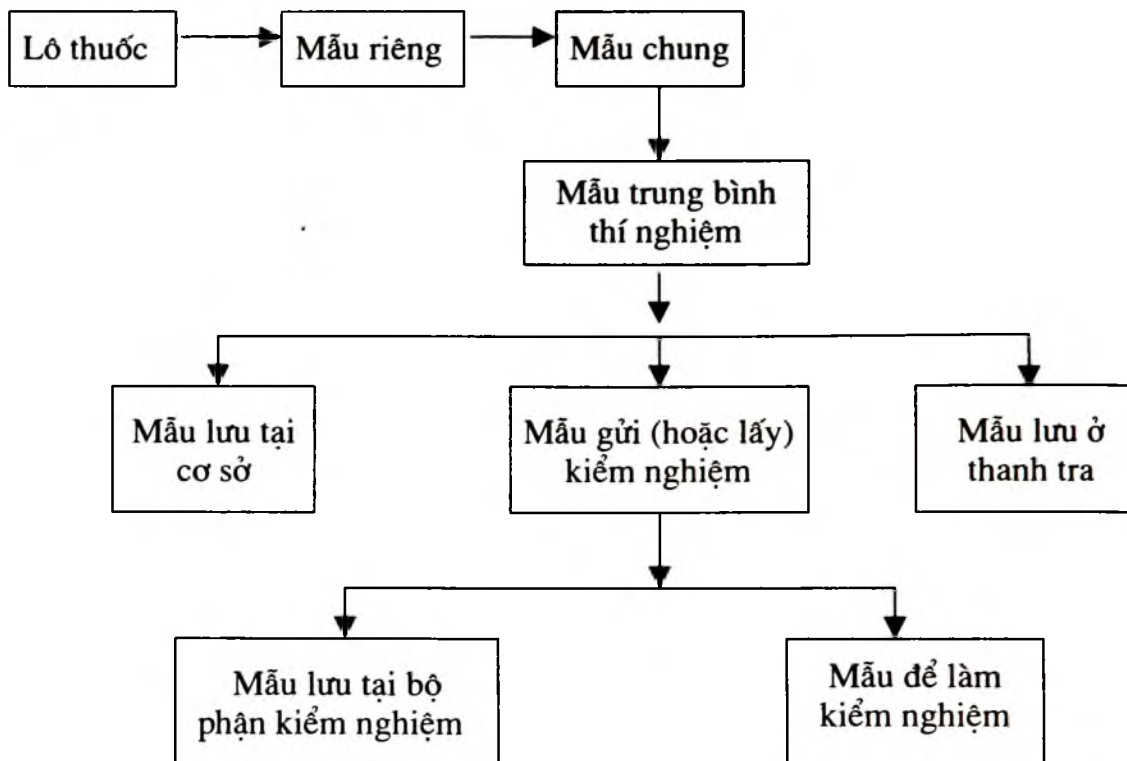
** Lấy mẫu là sản phẩm lỏng:*

- Trường hợp sản phẩm trong 1 bao gói: Nếu sản phẩm không đồng nhất thì phải khuấy đều trước khi lấy mẫu. Nếu sản phẩm đồng nhất thì lấy mẫu ở bất kỳ vị trí nào cũng được. Nếu sản phẩm đựng trong thùng lớn thì dùng dụng cụ đặc biệt để lấy mẫu tại 3 vị trí khác nhau: Trên, giữa, dưới của lớp chất lỏng (mẫu ban đầu).

- Trường hợp sản phẩm trong nhiều bao gói: Lấy mẫu ban đầu theo công thức nêu trên.

** Lấy mẫu là thuốc mỡ, bột nhão:*

Tiến hành lấy mẫu như các sản phẩm lỏng, nhưng lưu ý mẫu chung phải khuấy trộn đều cẩn thận để thu được một hỗn hợp đồng nhất.



Hình 2.2: Sơ đồ lấy mẫu thuốc (mỹ phẩm) để kiểm nghiệm

2. Tiến hành kiểm nghiệm

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 sau không:

- Mẫu phải được lấy theo đúng các thủ tục quy định
- Mẫu phải được đóng gói niêm phong và có nhãn ghi đủ các thông tin cần thiết (nhãn gốc, tên thuốc, số lô sản xuất, tên tiêu chuẩn yêu cầu kiểm tra...)
- Các mẫu do thanh tra lấy về phải có kèm biên bản lấy mẫu
- Các mẫu giữ phải kèm công văn hoặc giấy giới thiệu
- Nếu mẫu xin phép sản xuất phải kèm các tài liệu theo quy định thuốc xin đăng ký sản xuất.
- Nếu mẫu nhận qua đường bưu điện, phải kiểm tra kỹ niêm phong sau đó báo lại cho nơi gửi mẫu. Chỉ sau khi nhận được ý kiến trả lời của nơi gửi mẫu mới tiến hành kiểm nghiệm.

2.2. Kiểm nghiệm và xử lý kết quả

Công việc này do bộ phận kỹ thuật thực hiện, kiểm nghiệm càng sớm càng tốt. Thông thường gồm các nội dung sau:

- Chuẩn bị tài liệu: Theo TCVN hoặc theo TCCS...
- 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 bẩn hoặc biến chất các 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 và được coi là chứng từ gốc của các số liệu sau này công bố trên phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm (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.
 - + Cần lặp lại ít nhất 2 lần, lấy giá trị trung bình đối với phân tích định lượng hoặc phép đo vật lý.
 - + Khi kết quả thu được không rõ ràng, có sai lệch lớn thì đổi tay kiểm nghiệm viên, làm 2 lần nữa. Nếu kết quả của 2 kiểm nghiệm viên không trùng khớp thì cần tìm nguyên nhân, xem xét bình luận kết quả và ghi vào phiếu.
 - + Khi hoàn thành thử nghiệm, kiểm nghiệm viên tự cho đánh giá và ghi kết luận về chất lượng của mẫu thử nếu mẫu đạt yêu cầu. Nếu mẫu sai khác với tiêu chuẩn thì cần đổi tay kiểm nghiệm viên, nếu kết quả lần 2 phù hợp với lần 1 thì thử trưởng ra quyết định, nếu không lặp lại thì thử trưởng đơn vị đưa ra kết luận.

2.3. Hồ sơ tài liệu

- Sổ tay kiểm nghiệm viên cần ghi lại đầy đủ quá trình thử nghiệm.
- Hồ sơ phân tích cần được ghi chép đầy đủ, bao gồm cả phổ, sắc ký đồ và được gửi lưu.
- Hồ sơ kiểm nghiệm và các hồ sơ khác như tiêu chuẩn chất lượng, hiệu chuẩn thiết bị cũng phải được lưu giữ.
- Phiếu kiểm nghiệm hoặc phiếu phân tích cần đầy đủ thông tin.

2.4. Lưu mẫu

Mẫu lưu phải được đánh số cùng với số đăng ký mẫu thử cùng loại, nhưng

có nhãn riêng với chữ “*Lưu mẫu*” và bảo quản trong điều kiện theo quy định chung. Các mẫu có hạn dùng phải lưu tiếp 3 tháng kể từ khi hết hạn.

3. Viết phiếu trả lời kết quả

Bằng phiếu kiểm nghiệm hay phiếu phân tích.

Phiếu kiểm nghiệm là văn bản pháp lý của 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 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).

Nội dung của một phiếu kiểm nghiệm phải có:

- Phần tiêu đề (bao gồm tên cơ quan kiểm nghiệm, số phiếu kiểm nghiệm, tên mẫu kiểm nghiệm, lý lịch mẫu kiểm nghiệm...).
- Các chỉ tiêu thử và kết quả.
- Kết luận cuối cùng về mẫu thuốc kiểm nghiệm.
- Ngày, tháng năm kiểm nghiệm.
- Thủ trưởng cơ quan ký tên và đóng dấu.

(Xem mẫu trang sau)

BỘ Y TẾ
VIỆN KIỂM NGHIỆM
48 Hai Bà Trưng -
Hoàn Kiếm - Hà Nội

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số kiểm nghiệm: 352 - 04 TP

Số phiếu:

Mẫu kiểm nghiệm: VIÊN NANG PIROXICAM

Nơi sản xuất: Công ty dược phẩm Hà Nội (HAPHARCO)

Số lô: 05/04804

Hạn dùng: 08/2007

Ngày lấy mẫu: 17/08/2004

Thử theo: Dược điển Việt Nam III

Yêu cầu kiểm nghiệm: Kiểm tra chất lượng

Tình trạng mẫu khi nhận và mở niêm phong: Thành phẩm đóng trong vỉ, 01vỉ + 01 toa/hộp, SKS rõ, đúng quy định, nhãn đúng quy chế.

YÊU CẦU	KẾT QUẢ
1. Tính chất: Nang nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.	Đạt
2. Định tính: Chế phẩm phải đáp ứng phép thử định tính của Piroxicam	Đúng
3. Nước: Không quá 8,0%	Đạt (6,5%)
4. Độ đồng đều khối lượng: Khối lượng trung bình viên + 7,5%	Đạt
5. Độ hoà tan: Không ít hơn 70% lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 phút	Đạt (75%)
6. Định lượng: Hàm lượng Piroxicam từ 92,5 đến 107,5% so với lượng ghi trên nhãn	Đạt (99,2%)

KẾT LUẬN: Mẫu thử viên nang Piroxicam số lô 05/040804 đạt yêu cầu kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam.

Hà Nội, ngày 20 tháng 8 năm 2004

Thủ trưởng cơ quan
(Ký tên và đóng dấu)

III. NỘI DUNG CHÍNH CỦA THỰC HÀNH KIỂM NGHIỆM TỐT

Để đảm bảo được chất lượng, công tác kiểm nghiệm thuốc là một mắt xích rất quan trọng trong toàn bộ dây chuyền từ khi sản xuất cho tới khi thuốc đến tay người tiêu dùng.

Kết quả kiểm nghiệm không những có ý nghĩa về mặt kỹ thuật mà còn có ý nghĩa về mặt pháp lý hành chính vì là căn cứ để đưa ra quyết định về số phận của cả lô thuốc.

Thực hành kiểm nghiệm tốt (GLP) là tập hợp những yếu tố cần thiết, những yêu cầu tối thiểu về mặt nghiệp vụ và kỹ thuật cho các phòng kiểm nghiệm thuốc vận hành và hoạt động để đảm bảo cho sản phẩm của nó - các chứng chỉ về chất lượng mẫu thuốc - được chính xác và đáng tin cậy để làm căn cứ cho các quyết định về quản lý chất lượng thuốc.

Để thu được kết quả kiểm nghiệm chính xác và đáng tin cậy, phản ánh đúng bản chất chất lượng của mẫu thử, GLP đưa ra các yêu cầu, nguyên tắc cần tuân thủ áp dụng ở phòng kiểm nghiệm thuốc. Các nội dung này đã được thể hiện trong nguyên tắc “Thực hành tốt phòng kiểm nghiệm thuốc” được Bộ Y tế ban hành theo quyết định số 1570/2000/QĐ - BYT ngày 22/5/2000, bao gồm:

1. Nhân sự

Các nhân viên phải được đào tạo và huấn luyện về chuyên môn để có thể thực hiện được các nhiệm vụ được giao với tinh thần trách nhiệm cao. Các nhân viên phải mặc trang phục theo quy định, phải được kiểm tra sức khỏe thường xuyên.

2. Cơ sở vật chất chung

Phải có diện tích làm việc phù hợp với yêu cầu đặt ra. Theo Tổ chức Y tế thế giới, quy mô các phòng thí nghiệm có thể xếp thành 2 loại:

* *Phòng thí nghiệm cấp I*: Tương đương với viện hay phân viện

- Diện tích: Từ 400m² trở lên

- Số phòng: Gồm nhiều phòng chuyên môn hóa như phòng vật lý, hóa lý, kiểm nghiệm sinh vật, kiểm nghiệm vi sinh vật...

- Nhân sự: 8 - 10 người/phòng

- Số lượng mẫu phân tích: 1.500 - 2.500 mẫu/năm

* *Phòng thí nghiệm cấp II*: Tương đương với các trạm kiểm nghiệm có thể gồm 1 hay nhiều phòng.

- Diện tích: 60 m²/phòng
- Nhân sự: 5 - 10 người
- Số lượng mẫu phân tích: 200 - 300 mẫu/năm

Cơ sở thí nghiệm phải không bị nhiễm bẩn do môi trường hoặc các bộ phận lân cận khác, đảm bảo vệ sinh, được chiếu sáng, thông gió tốt...

3. Trang thiết bị

- Trang thiết bị phải đáp ứng được các yêu cầu thực nghiệm.
- Thiết bị được đặt ở vị trí thích hợp.
- Định kỳ kiểm tra và bảo dưỡng, chuẩn hóa.
- Có nội quy vận hành, hướng dẫn sử dụng.

4. Cơ sở vật chất cho các phép thử

- Các phép thử phải có quy trình chuẩn hóa được viết chi tiết
- Mọi hóa chất, thuốc thử, chất chuẩn phải đáp ứng các yêu cầu quy định.

5. Quy định về quy trình và hướng dẫn kiểm nghiệm

- Quy trình và hướng dẫn kiểm nghiệm phải rõ ràng, chính xác, được chuẩn hóa và được lãnh đạo cơ quan duyệt thông qua.

- Kiểm nghiệm viên tiến hành kiểm nghiệm phải báo cáo một cách chi tiết những hiện tượng gặp phải trong quá trình làm với người phụ trách.

6. Quy trình báo cáo kết quả

Phải báo cáo đầy đủ và chỉ rõ mục đích của phép thử nghiệm, nơi thử nghiệm, tên mẫu thử, ngày thử, phương pháp áp dụng, người thử, phương pháp thống kê và xử lý số liệu, kết quả, bàn luận, kết luận, ký xác nhận, nơi lưu mẫu...

IV. XỬ LÝ KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM

Khi tiến hành đo lường trong kiểm nghiệm, các kết quả thu được thường mắc phải sai số ngẫu nhiên, sai số hệ thống, sai số thô... Trong thực tế đo lường còn tùy thuộc vào xác suất bất gặp mà ta yêu cầu. Ví dụ giá trị thực của mẫu đo sẽ nằm trong khoảng giá trị nào đó với xác suất bất gặp là 90%, 95% hay 99%... Do vậy phải sử dụng thêm xác suất thống kê và một số phương pháp khác để xử lý số liệu thực nghiệm.

V. MỘT SỐ QUY ĐỊNH CHUNG

Trong công tác kiểm nghiệm thuốc phải tuân theo một số quy định chung:

1. Tên theo danh pháp tên Việt Nam, sau là tên Latin và tên thông dụng khác nếu có.

2. Đơn vị đo lường phải sử dụng theo đúng yêu cầu của cơ quan đo lường nhà nước Việt Nam.

3. Khái niệm “*cân chính xác*” là cân trên cân phân tích có độ nhạy đến 0,1mg. Khái niệm “*lấy khoảng*” có 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 sai giữa 2 lần cân kế tiếp nhau $< 0,5\text{mg}$.

4. Nồng độ phần trăm (%) khi không có chỉ dẫn được hiểu là % KL/TT

5. Độ tan theo quy ước:

Một chất dễ tan	Khi hoà tan 1g chất	Dưới 1ml	Dung môi
Rất tan	”	1 - 10ml	”
Tan	”	> 10 - 30ml	”
Hơi tan	”	> 30- 100ml	”
Khó tan	”	> 100 - 1.000ml	”
Rất khó tan	”	> 1.000 - 10.000ml	”
Thực tế không tan	”	> 10.000ml	”

6. Nhiệt độ biểu thị bằng độ bách phân, ký hiệu $^{\circ}\text{C}$ theo quy ước:

Nhiệt độ chuẩn: 20°C

Nước nóng: $70 - 80^{\circ}\text{C}$

Nhiệt độ thường: $20 - 30^{\circ}\text{C}$

Nước cách thủy: $98 - 100^{\circ}\text{C}$

Nước ấm: $40 - 50^{\circ}\text{C}$

Nhiệt độ nơi bảo quản:

Rất lạnh: $< - 10^{\circ}\text{C}$

Nóng: $35 - 40^{\circ}\text{C}$

Lạnh: $2 - 10^{\circ}\text{C}$

Rất nóng: $> 40^{\circ}\text{C}$

Mát: $10 - 20^{\circ}\text{C}$

Nung đỏ: $\sim 400^{\circ}\text{C}$

Nhiệt độ phòng: $20 - 35^{\circ}\text{C}$

Đỏ thẫm: $\sim 600^{\circ}\text{C}$

Nhiệt độ phòng có điều nhiệt: $20 - 25^{\circ}\text{C}$

Đỏ trắng: $\geq 900^{\circ}\text{C}$

7. Hàm lượng: Nếu trong chuyên luận không giới hạn thì có nghĩa hàm lượng không được quá 101,0%

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

Tự lượng giá

*** Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 7 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:**

1. Hệ thống thanh tra được trong Dự thảo chính sách thuốc quốc gia Việt Nam có quy định: "Tất cả các thuốc và nguyên liệu làm thuốc đều phải được....(A).... Xác định chất lượng, nếu đạt.....(B)..... mới được đưa vào sử dụng".

A.....

B.....

2. Mẫu ban đầu là một lượng.....(A).... của lô thuốc được lấy trong.....(B)... ở một hay nhiều đơn vị bao gói, mỗi bao gói lấy một lần.

A.....

B.....

3. Mẫu riêng là một lượng sản phẩm được lấy từ.....(A).... đã được gộp lại và.....(B)..... của một bao gói.

A.....

B.....

4. Mẫu lưu được lấy từ mẫu trung bình thí nghiệm hay từ mẫu...(A)..... tương đương với lượng mẫu thử. Mẫu lưu dùng để.....(B)..... khi cần thiết hoặc để làm các thí nghiệm trọng tài.

A.....

B.....

5. Kết quả kiểm nghiệm không những có ý nghĩa về mặt kỹ thuật mà còn có ý nghĩa về mặt.....(A)..... vì là căn cứ để đưa ra quyết định về.....(B).... của cả lô thuốc.

A.....

B.....

6. Theo Tổ chức Y tế thế giới, quy mô các phòng thí nghiệm có thể xếp thành 2 loại:

A.....

B.....

7. Để kết quả kiểm nghiệm được chính xác, đòi hỏi phải làm tốt 3 công tác:

A.

B.

C. Viết phiếu trả lời

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 8 đến câu 20 bằng cách đánh dấu vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
8	Mẫu lưu có hạn dùng phải lưu lại sau khi hết hạn 3 tháng.		
9	Mẫu lưu và mẫu thí nghiệm phải cùng một lô, mẻ sản phẩm.		
10	Không cần phải niêm phong vào bao gói mẫu.		
11	Thao tác lấy mẫu phải thận trọng, tỉ mỉ, chính xác...		
12	Kết quả kiểm nghiệm không được xử lý số liệu thực nghiệm.		
13	Phải tiến hành các thí nghiệm phân tích theo tiêu chuẩn.		
14	Phiếu kiểm nghiệm phải có dấu và chữ ký của giám đốc cơ quan hoặc đơn vị kiểm nghiệm.		
15	Sổ sách, phiếu kiểm nghiệm phải được lưu giữ ít nhất 1 năm.		
16	Trang thiết bị kiểm nghiệm phải định kỳ kiểm tra, chuẩn hóa và bảo dưỡng.		
17	Bảo quản ở nhiệt độ phòng là nhiệt độ từ 20 - 25°C.		
18	Một chất thực tế không tan trong nước có nghĩa là không hề tan trong nước với bất cứ tỷ lệ nào.		
19	Đơn vị đo lường phải tuân theo yêu cầu của cơ quan đo lường nhà nước Việt Nam.		
20	Khi kiểm nghiệm độ tinh khiết, nếu phát hiện tạp chất lạ phải ghi vào kết quả thử.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 21 đến 26 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

21. Theo anh (chị), khi lấy mẫu ban đầu của sản phẩm là chất rắn trong một bao gói phải lấy tại vị trí:

- A. Trên
- B. Trên và dưới
- C. Dưới và giữa
- D. Trên, dưới và giữa
- E. Lấy tại vị trí nào cũng được

22. Theo anh (chị), các mẫu lưu có hạn dùng phải lưu tiếp sau khi hết hạn dùng với thời gian là:

- A. 1 tháng
- B. 2 tháng
- C. 3 tháng
- D. 6 tháng
- E. 1 năm

23. Sổ sách, phiếu kiểm nghiệm phải được lưu giữ ít nhất là:

- A. 6 tháng
- B. 1 năm
- C. 2 năm
- D. 3 năm
- E. 5 năm

24. Theo anh (chị), phiếu kiểm nghiệm của xí nghiệp dược phải có chữ ký của:

- A. Kỹ thuật viên
- B. Dược sĩ
- C. Trưởng phòng kinh doanh
- D. Giám đốc xí nghiệp dược
- E. Trưởng phòng kiểm tra chất lượng

25. Theo anh (chị), một chất tan trong nước có nghĩa là 1g chất đó phải tan hoàn toàn trong lượng dung môi có thể tích là:

- A. Dưới 1ml
- B. 1 - 10ml
- C. >10 - 20ml
- D. >10 - 30ml
- E. > 30 - 100ml

26. Theo anh (chị), khi bảo quản thuốc ở nơi mát có nghĩa là phải bảo quản ở nhiệt độ:

- A. 2 - 10°C
- B. 10 - 20°C
- C. 20 - 25°C
- D. 20 - 35°C
- E. 25 - 35°C

Bài 3

CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được cách pha các chất đối chiếu, thuốc thử, chỉ thị màu thường dùng trong kiểm nghiệm.
- Xác định được khoảng chuyển màu của các chất chỉ thị màu đã học.

I. CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU

1. Định nghĩa

Chất đối chiếu là chất đồng nhất đã được xác định là đúng để dùng trong các phép thử đã được quy định về hóa học, vật lý và sinh học.

Trong các phép thử, 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.

Chất đối chiếu thường được dùng trong các phép thử sau:

- Định tính bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại.
- Định lượng bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, quang phổ huỳnh quang.
- Các phép thử định tính tạp chất và định lượng bằng phương pháp sắc ký.
- Định lượng bằng phương pháp vi sinh vật.
- Các phép chuẩn độ thể tích, phân tích trọng lượng.
- Các phép thử sinh học.
- Một số phép thử khác có hướng dẫn trong các chuyên luận riêng.

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 phải được đựng trong bao bì gốc, kín, có nhãn rõ ràng, được thường xuyên bảo quản ở nhiệt độ thấp, tránh ánh sáng và ẩm. Nếu cần có chế độ 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 trên mẫu đối chiếu đã được chuẩn bị trong cùng một điều kiện ghi trong chuyên luận.

- Nếu trên nhãn của chất đối chiếu không có chỉ dẫn phải làm khô và nếu 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 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 do hàm lượng nước được xác định theo hướng dẫn trong chuyên luận của thuốc tương ứng. Khi chất đối chiếu có nước kết tinh, có thể có hướng dẫn đặc biệt trong một phép thử riêng.

- Nếu không thể thực hiện được việc xác định hàm lượng nước của chất đối chiếu bằng phương pháp chuẩn độ (phương pháp Karl Fischer) và nếu chuyên luận thuốc tương ứng không có phép thử mất khối lượng do làm khô thì nên làm khô chất đối chiếu trên một chất hút ẩm thích hợp để chuyển khối lượng cân của chất đối chiếu thành chất khan (trừ khi có hướng dẫn khác).

- 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.

II. THUỐC THỬ

1. Quy định chung về thuốc thử

Các thuốc thử được quy định trong Dược điển Việt Nam III, phụ lục 2, mục 2.8.

Thuốc thử là những dung môi, hoá chất... được sử dụng để phân tích

định tính, định lượng, thử độ tinh khiết, kiểm nghiệm thuốc. Vì vậy thuốc thử phải có chất lượng phù hợp để kết quả phân tích thu được có độ đúng và độ tin cậy cao.

Các quy định chung về thuốc thử:

- Thuốc thử phải có độ tinh khiết và hàm lượng chính xác được quy định theo Dược điển Việt Nam III.

- Các thuốc thử mua về phải để nguyên nhãn gốc, trong trường hợp ra lẻ phải ghi lại đầy đủ những thông tin như nhãn gốc và người ra lẻ phải ký.

- Thuốc thử được pha trong phòng thí nghiệm phải ghi rõ tên thuốc thử, nồng độ hàm lượng, người pha và ngày pha. Các dung dịch pha loãng từ dung dịch gốc cũng phải ghi nhãn đầy đủ và kèm theo thông tin về nguồn gốc.

- Nước cất và nước khử ion được coi như một thuốc thử, vì vậy cần phải thận trọng để tránh làm nước bị nhiễm bẩn trong quá trình cung cấp và phân phối. Phải kiểm tra định kỳ chất lượng nước cất ít nhất một tháng một lần.

- Nếu không cần thiết không nên vận chuyển thuốc thử từ nơi này đến nơi khác. Nên vận chuyển thuốc thử ở dạng đóng gói ban đầu.

- Các dung dịch thuốc thử phải được pha chế trong dụng cụ thủy tinh có độ chính xác cao (chuẩn nếu có) và theo đúng quy định ghi trong Dược điển hoặc quy trình đã được duyệt.

2. Chuẩn bị thuốc thử trong phòng thí nghiệm

- Phải quy định trách nhiệm rõ ràng cho người được phân công chuẩn bị thuốc thử trong phòng thí nghiệm.

- Tiến hành pha theo các bước đã được quy định trong quy trình đã thông qua, theo Dược điển Việt Nam hoặc theo các tiêu chuẩn khác.

- Phải được ghi chép vào sổ pha chế thuốc thử và ghi rõ pha theo tài liệu nào, ngày pha, chất lượng sau khi pha. Nếu người pha thuốc thử không dịch được các tài liệu tiếng nước ngoài thì người dịch phải ký vào các tài liệu dịch.

3. Một số thuốc thử thường dùng

3.1. Acid acetic

- *Acid acetic băng*: CH_3COOH ptl. 60,1

Acid acetic kết tinh được. Dùng loại tinh khiết phân tích, 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).

- *Dung dịch acid acetic x M*

Pha loãng 57 x ml (60 x g) acid acetic bằng với nước vừa đủ 1.000ml.

- Acid acetic (dung dịch acid acetic 30% - dung dịch acid acetic 5M)

Pha loãng 30g acid acetic bằng (TT) với nước vừa đủ 100ml. Hàm lượng CH_3COOH khoảng 29,0 - 31,0%.

- *Acid acetic loãng* (dung dịch acid acetic 12% - dung dịch acid acetic 2M). Pha loãng 12g acid acetic bằng (TT) với nước vừa đủ 100ml. Hàm lượng CH_3COOH khoảng 11,5 - 12,5%.

- *Dung dịch acid acetic 6%*. Lấy 100ml dung dịch acid acetic 30% (TT), pha loãng nước vừa đủ 500ml.

- *Acid acetic khan*

+ Acid acetic bằng dùng trong chuẩn độ môi trường khan phải có hàm lượng CH_3COOH không ít hơn 99,6% kl/kl.

+ Tỷ trọng ở 20°C: Từ 1,052 đến 1,053

+ Điểm sôi: 117°C đến 119°C

+ Hàm lượng nước: không được quá 0,4% (kl/kl). Xác định bằng phương pháp Karl Fischer. Nếu hàm lượng nước lớn hơn 0,4% có thể làm khan bằng cách cho thêm anhydrid acetic (cứ 7ml anhydrid acetic cho mỗi gam nước). Cát hỗn hợp, thu lấy phần sôi ở khoảng 118 - 120°C hoặc đun sôi hồi lưu trong vòng 20 phút.

+ Bảo quản: Tránh ánh sáng.

3.2. Bạc nitrat

- *Bạc nitrat* AgNO_3 ptl. 169,87

Dùng loại tinh khiết phân tích. Tinh thể không màu hay màu trắng, chuyển thành màu xám, nâu hay đen khi để ngoài ánh sáng và có mặt của chất hữu cơ.

- *Dung dịch bạc nitrat 5%*. Hoà tan 5g bạc nitrat (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu có nút mài.

- *Dung dịch bạc nitrat 4,25%*. Hoà tan 4,25g bạc nitrat (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu có nút mài.

- *Dung dịch bạc nitrat 4%*. Hoà tan 4g bạc nitrat (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu có nút mài.

- *Dung dịch bạc nitrat 2%*. Hoà tan 2g bạc nitrat (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100ml. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu có nút mài.

3.3. Natri hydroxyd

- *Natri hydroxyd* NaOH ptl. 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 quá 2,0% Na_2CO_3 . Cục trắng hay thối hình trụ, dễ hút ẩm. Bảo quản trong đồ đựng kín.

- *Dung dịch natri hydroxyd 40%* (dung dịch natri hydroxyd 10M). Hoà tan 400g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 1.000ml. Để lắng và gạn lấy phần trong. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín bằng nút cao su.

- *Dung dịch natri hydroxyd 30%*. Hoà tan 300g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 1.000ml. Để lắng và gạn lấy phần trong. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín bằng nút cao su.

- *Dung dịch natri hydroxyd 20%* (dung dịch natri hydroxyd 5M). Hoà tan 200g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 1.000ml. Để lắng và gạn lấy phần trong. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín bằng nút cao su.

- *Dung dịch natri hydroxyd 2M*. Hoà tan 80g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 1.000ml.

- *Dung dịch natri hydroxyd 10%*. Hoà tan 100g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 1.000ml. Để lắng và gạn lấy phần trong. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín bằng nút cao su.

- *Dung dịch natri hydroxyd loãng*. Hoà tan 8,5g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 100ml.

- *Dung dịch natri hydroxyd 5%*. Hoà tan 5g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 100ml.

- *Dung dịch natri hydroxyd 2%*. Hoà tan 2g natri hydroxyd (TT) trong nước và để nguội, thêm nước vừa đủ 100ml.

III. CÁC CHẤT CHỈ THỊ

1. Khoảng chuyển màu của một số chất chỉ thị acid - bazơ

Khoảng pH và sự chuyển màu của một số chất chỉ thị acid - bazơ và màu sắc của chúng được biểu thị ở bảng 3.1.

Bảng 3.1: Khoảng pH và sự chuyển màu của một số chất chỉ thị

TT	Tên chất chỉ thị	Khoảng pH chuyển màu	Màu chuyển
1	Đỏ cresol	0,2 - 1,8	Đỏ - Da cam
2	Xanh thymol	1,2 - 2,8	Đỏ - Vàng
3	Da cam methyl	3,0 - 4,6	Đỏ - Vàng
4	Xanh bromophenol	2,8 - 4,6	Vàng - Tím lơ nhạt
5	Đỏ congo	3,0 - 5,0	Lam - Đỏ
6	Lục bromocresol	3,6 - 5,2	Vàng - Lam
7	Đỏ methyl	4,4 - 6,0	Đỏ - Vàng
8	Xanh bromothymol	6,0 - 7,6	Vàng - Lam
9	Đỏ trung tính	6,8 - 8,0	Đỏ - Da cam
10	Đỏ phenol	6,8 - 8,4	Vàng - Đỏ
11	Phenolphthalein	8,2 - 10,0	Không màu - Hồng
12	Thymolphthalein	9,3 - 10,5	Không màu - Lam

2. Một số chỉ thị màu thường dùng

2.1. Da cam methyl: $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ ptl. 327,3

Helianthin 4 - Dimethylaminazobenzen - 4' - natri sulfonat

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 từ 3,0 (đỏ) đến 4,4 (vàng).

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

Thử độ nhạy: Lấy 100ml nước không có carbon dioxyd, thêm 0,1ml dung dịch da cam methyl (CT), hỗn hợp có màu vàng. Khi thêm không quá 0,1ml dung dịch acid hydrocloric 0,1N, màu của hỗn hợp phải chuyển sang màu đỏ.

2.2. Phenolphthalein: $C_{20}H_{14}O_4$ ptl. 318,3

- 3,3'- Bis (4-hydroxyphenyl) phthalid.

Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt. Không tan trong nước, tan trong ethanol.

Vùng chuyển màu pH từ 8,2 (không màu) đến 10,0 (đỏ).

- *Dung dịch phenolphthalein (CT)*: Hòa tan 0,1g phenolphthalein trong 80ml ethanol 96% (TT) và thêm nước vừa đủ 100ml.

Thử độ nhạy: Lấy 100ml nước không có carbon dioxyd, thêm 0,1ml dung dịch phenolphthalein (CT), hỗn hợp phải không màu. Khi thêm không quá 0,2ml dung dịch natri hydroxyd 0,02N, hỗn hợp phải chuyển sang màu hồng.

2.3. Quỳ

Là sắc tố màu chàm chiết từ các loại địa y như: Rocella, Lecanora...

Mảnh nhỏ màu lục thẫm, tan một phần trong nước và ethanol tạo dung dịch có màu lục nhạt. Khoảng chuyển màu: Từ pH 5,0 (đỏ) đến 8 (xanh).

Có 3 loại quỳ thường dùng:

- Giấy quỳ xanh (CT)
- Giấy quỳ đỏ (CT)
- Dung dịch quỳ (CT)

2.4. Dung dịch hồ tinh bột (CT)

Nghiền 1g tinh bột trong cối với 5ml nước cho đến khi thành một hỗn hợp đồng nhất rồi vừa đổ vừa khuấy vào 100ml nước sôi. Đun sôi tiếp 2 - 3 phút cho đến 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.

Thử độ nhạy: Lấy 5ml dung dịch hồ tinh bột (CT) pha loãng với nước thành 100ml, thêm 2 giọt dung dịch iod 0,1N, dung dịch phải có màu xanh.

2.5. Đỏ methyl:

$C_{15}H_{15}N_3O_2$ ptl. 269,3

4 - Dimethylamino - 2' - carboxyazobenzen

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 từ pH 4,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng).

- *Dung dịch đỏ methyl*: Hòa tan 50mg methyl trong một hỗn hợp của 1,86ml dung dịch natri hydroxyd 0,1N và 50ml ethanol 96% (TT). Sau khi tan hết, thêm nước vừa đủ 100ml.

Thử độ nhạy: Lấy 100ml nước không có carbon dioxyd, thêm 0,05ml dung dịch acid hydroclorid 0,02N và 0,1ml dung dịch đỏ methyl (CT), hỗn hợp có màu đỏ. Khi thêm không quá 0,1ml dung dịch natri hydroclorid 0,02N, màu của hỗn hợp phải chuyển sang vàng.

- *Dung dịch hỗn hợp đỏ methyl*: Hòa tan 0,1g đỏ methyl và 0,05g xanh methylen trong 100ml ethanol.

IV. BẢO QUẢN VÀ KIỂM TRA THUỐC THỬ, CHẤT CHUẨN, CHỈ THỊ MÀU

1. Bảo quản thuốc thử, chất chuẩn, chỉ thị màu

Thuốc thử và chất chuẩn, chỉ thị màu phải được bảo quản theo đúng quy định.

- Phải có kho bảo quản thuốc thử, chất chuẩn, chỉ thị màu và được chia thành từng khu vực riêng biệt cho các chất dễ cháy, acid, baze, các chất bay hơi, chất độc...

- Tại phòng kiểm nghiệm không nên giữ những chất gây cháy nổ, chất độc bay hơi trừ khi thật cần thiết.

- Đối với các chất gây nghiện và chất độc phải được bảo quản theo quy chế riêng và để trong tủ có khoá do người có thẩm quyền quản lý, cấp phát.

- Chất chuẩn (nếu không ghi rõ) phải được bảo quản trong buồng lạnh hoặc trong tủ lạnh ở dạng đóng gói kín, nhiệt độ $< 5^{\circ}\text{C}$ và độ ẩm tương đối $< 50\%$.

2. Kiểm tra các thuốc thử và chất chuẩn, chỉ thị màu

- Tất cả các thuốc thử, chất chuẩn, chỉ thị màu đều cần phải được kiểm tra trước khi nhập kho và phân phát cho các phòng.

- Khi kết quả cho thấy mẫu không đạt tiêu chuẩn hoặc có dấu hiệu khác thường thì cần kiểm tra lại các dung dịch này và các thuốc thử có liên quan. Kết quả kiểm tra phải ghi vào hồ sơ kiểm nghiệm.

- Tất cả các thuốc thử, chất chuẩn, chỉ thị màu phải được kiểm tra theo định kỳ, kết quả kiểm tra phải được ghi vào sổ theo dõi và thông báo cho nơi sử dụng.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 6 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Chất đối chiếu là chất.....(A)..... đã được xác định là.....(B)..... để dùng trong các phép thử đã được quy định về hóa học, vật lý và sinh học.

A.....

B.....

2. Trong các phép thử, các.....(A)..... của chất đối chiếu được so sánh với các tính chất của.....(B).....

A.....

B.....

3. Thuốc thử là những.....(A)..... được sử dụng để phân tích định tính, định lượng,.....(B)....., kiểm nghiệm thuốc...

A.....

B.....

4. Thuốc thử phải có chất lượng.....(A)..... để kết quả phân tích thu được có.....(B)..... và độ tin cậy cao.

A.....

B.....

5. Kể thêm cho đủ tên 5 loại chỉ thị màu đã học trong bài:

A.....

B. Hồ tinh bột

C. Đỏ methyl

D.....

E. Phenolphthalein

6. Kể thêm cho đủ 4 loại thuốc thử từ acid acetic được quy định trong Dược điển Việt Nam III:

A. Acid acetic băng

B.....

C. Acid acetic loãng

D.....

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 7 đến 15 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
7	Chất đối chiếu có thành phần hóa học giống chất cần thử.		
8	Chất đối chiếu phải có độ tinh khiết thích hợp.		
9	Thuốc thử là những hóa chất có độ tinh khiết bình thường.		
10	Pha chế thuốc thử phải tiến hành theo đúng quy định của Dược điển.		
11	Pha dung dịch thuốc thử phải dùng dụng cụ chính xác cao.		
12	Tất cả các loại thuốc thử đều phải pha trước khi sử dụng.		
13	Hồ tinh bột là chất chỉ thị màu.		
14	Khoảng chuyển màu của phenolphthalein pH từ 7,0 đến 10,0		
15	Khoảng chuyển màu của da cam methyl giống đỏ methyl.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 16 đến 20 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

16. Theo anh (chị), khoảng chuyển màu của chỉ thị da cam methyl trong khoảng:

- A. pH từ 3,0 (đỏ) đến 4,0 (vàng)
- B. pH từ 4,0 (đỏ) đến 4,5 (vàng)
- C. pH từ 3,5 (đỏ) đến 4,4 (vàng)
- D. pH từ 3,0 (đỏ) đến 4,4 (vàng)
- E. pH từ 3,0 (đỏ) đến 5,0 (vàng)

17. Theo anh (chị), khoảng chuyển màu của chỉ thị phenolphthalein trong khoảng:

- A. pH từ 7,0 (không màu) đến 10,0 (đỏ)
- B. pH từ 7,5 (không màu) đến 10,0 (đỏ)
- C. pH từ 8,2 (không màu) đến 10,0 (đỏ)
- D. pH từ 8,2 (không màu) đến 9,0 (đỏ)
- E. pH từ 8,5 (không màu) đến 9,0 (đỏ)

18. Theo anh (chị), khoảng chuyển màu của chỉ thị đỏ methyl trong khoảng:

- A. pH 4,4 (đỏ) đến pH 5,0 (vàng)
- B. pH 4,5 (đỏ) đến pH 7,0 (vàng)
- C. pH 4,5 (đỏ) đến pH 5,0 (vàng)
- D. pH 3,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng)
- E. pH 4,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng)

19. Chất thuộc nhóm chỉ thị màu trong các chất dưới đây là:

A. Acid hydroclorid

D. Natri hydroxyd

B. Đỏ methyl

E. Methanol

C. Bạc nitrat

20. Theo anh (chị), quy định nào trong các quy định sau không phải là quy định của thuốc thử:

A. Phải tinh khiết

B. Có hàm lượng chính xác

C. Được pha bằng dụng cụ chính xác

D. Pha theo quy trình quy định

E. Tính chất so sánh với các tính chất của chất cần thử.

Bài 4

CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DỤNG CỤ

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp đo quang phổ hấp thụ ở vùng tử ngoại và vùng khả kiến.
- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp sắc ký.
- Trình bày được cách tiến hành và ứng dụng của sắc ký lớp mỏng.

I. PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ UV - VIS

1. Cơ sở lý thuyết

Khi chiếu một chùm tia đơn sắc cường độ I_0 qua một môi trường đồng nhất nào đó, một phần bị phản xạ (I_p) một phần bị môi trường hấp thụ (I_h) và một phần ló ra ngoài (I_l). Bốn đại lượng này liên hệ nhau theo công thức:

$$I_0 = I_h + I_p + I_l$$

Nếu môi trường là những dung dịch nước thì I_p nhỏ đến mức có thể bỏ qua, do đó:

$$I_0 = I_h + I_l$$

Nhận xét: Phần ánh sáng bị hấp thụ I_h càng lớn nếu trên đường đi tia sáng gặp phải nhiều phân tử chất màu, nghĩa là nó tỷ lệ thuận với nồng độ dung dịch và bề dày lớp dung dịch đó.

1.1. Định luật Lambert - Beer

Logarit của tỷ số giữa cường độ ánh sáng tới I_0 và cường độ ánh sáng ló I_l tỷ lệ thuận với nồng độ dung dịch C và bề dày lớp dung dịch L mà ánh sáng truyền qua.

$$A = D = \lg \cdot \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I_1} = K \cdot C \cdot L$$

Trong đó:

A: Độ hấp thụ ánh sáng

D: Mật độ quang

I_0 : Cường độ ánh sáng đơn sắc tới

I_1 : Cường độ ánh sáng đơn sắc sau khi đã truyền qua dung dịch

T. Độ truyền qua $T = \frac{I_1}{I_0}$

K: Hệ số hấp thụ (phụ thuộc vào λ , thay đổi theo cách biểu thị nồng độ)

L: Chiều dày lớp dung dịch

C: Nồng độ chất tan trong dung dịch

* Trong trường hợp C tính bằng mol/l và L tính bằng cm thì:

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Khi nồng độ $C = 1 \text{ mol/l}$, $L = 1 \text{ cm}$ thì: $A = D = \epsilon$ (hệ số hấp thụ phân tử). ϵ đặc trưng cho bản chất của chất tan trong dung dịch chỉ phụ thuộc vào bước sóng ánh sáng đơn sắc.

Trường hợp C tính theo% (Kl/TT) và $C = 1\%$, $L = 1 \text{ cm}$ thì:

$$A = D = E^{1\%}_{1\text{cm}} \cdot L \cdot C$$

$$\longrightarrow E^{1\%}_{1\text{cm}} = \frac{D}{L \cdot C}$$

$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ được gọi là hệ số hấp thụ riêng, đặc trưng cho từng chất.

Trong phân tích kiểm nghiệm hay dùng $E^{1\%}_{1\text{cm}}$

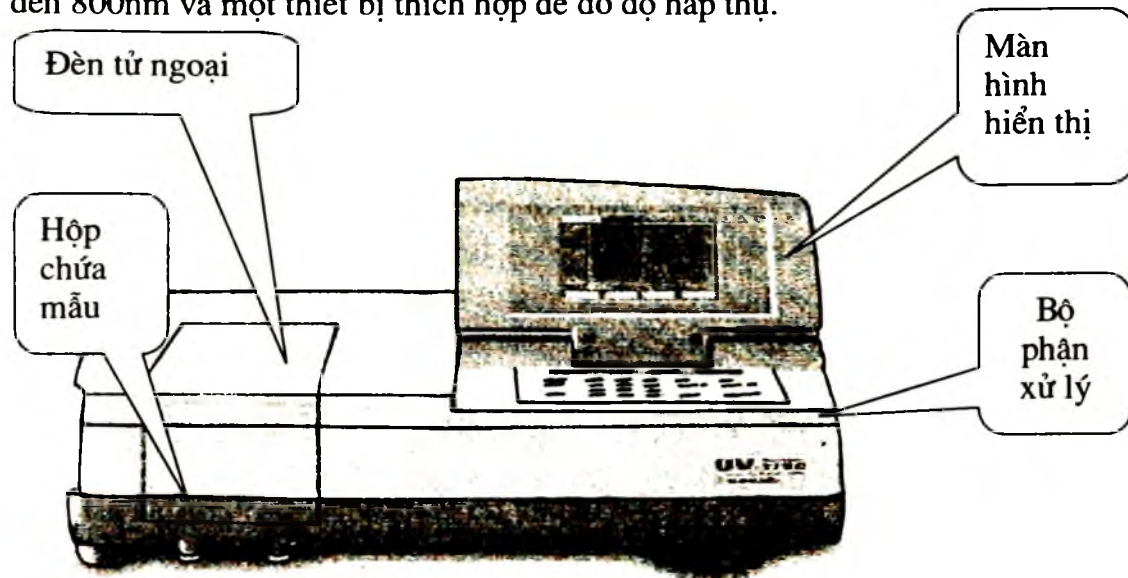
1.2. Điều kiện áp dụng định luật Lambert - Beer

- Ánh sáng phải đơn sắc
- Khoảng nồng độ phải thích hợp (định luật chỉ đúng trong một giới hạn nhất định của nồng độ)
- Dung dịch phải trong suốt
- Chất thử phải bền trong dung dịch và bền dưới tác dụng của ánh sáng UV-VIS

2. Máy quang phổ hấp thụ UV - VIS

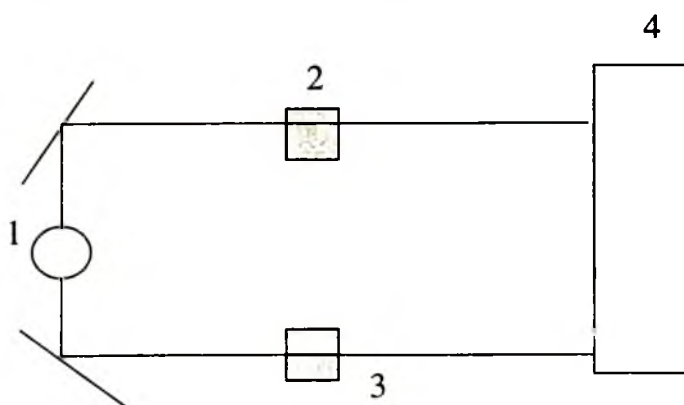
2.1. Cấu tạo máy quang phổ hấp thụ

Máy quang phổ thích hợp cho việc đo phổ ở vùng tử ngoại và khả kiến bao gồm một hệ quang học có khả năng tạo ánh sáng đơn sắc trong vùng từ 200 đến 800nm và một thiết bị thích hợp để đo độ hấp thụ.



Hình 4.1: Máy quang phổ hấp thụ UV - VIS

Nguyên tắc hoạt động của máy quang phổ UV-VIS được thể hiện ở sơ đồ 4.1.



Hình 4.2: Nguyên tắc hoạt động của máy quang phổ UV - VIS

- 1: Đèn tử ngoại có thể điều chỉnh được bước sóng
- 2: Cuvet đựng dung dịch thử
- 3: Cuvet đựng dung dịch so sánh
- 4: Bộ phận đo độ hấp thụ được nối với màn hình hiển thị

Hai cuvet dùng chứa dung dịch thử và dung dịch so sánh phải có đặc tính quang học như nhau.

- Cuvet thạch anh: Dùng đo ở vùng tử ngoại
- Cuvet thạch anh và thủy tinh, nhựa: Dùng đo ở vùng khả kiến.

2.2. Hiệu chuẩn máy quang phổ

Trong xác định định tính và định lượng các chất bằng phương pháp quang phổ UV-VIS việc chuẩn hoá máy đóng vai trò quan trọng, đặc biệt là trong kỹ thuật định lượng bằng đo phổ trực tiếp. Việc hiệu chuẩn máy yêu cầu kiểm tra 6 chỉ tiêu kỹ thuật như sau:

- Kiểm tra thang độ dài sóng: Bằng cách sử dụng cực đại hấp thụ của dung dịch Holmium perchlorate.

- Kiểm tra độ hấp thụ: Để kiểm tra độ hấp thụ đa số các được diễn dùng dung dịch Kali cromat trong H_2SO_4 . Đo độ hấp thụ của dung dịch ở các độ dài sóng khác nhau, mỗi độ dài sóng có một giá trị chính xác của độ hấp thụ riêng A (1%, 1cm) và các giới hạn cho phép.

- Giới hạn ánh sáng lạc: Ánh sáng lạc là ánh sáng không đi vào mẫu thử mà đi thẳng vào detector. Ánh sáng lạc có thể được phát hiện ở độ dài sóng đã cho với kính lọc hoặc các dung dịch thích hợp.

- Độ phân giải (cho phân tích định tính): Tiến hành đo phổ của dung dịch Toluene 0,02% trong hexan, giá trị tối thiểu của tỷ số giữa cực đại hấp thụ ở 269nm và cực tiểu hấp thụ ở bước sóng 266nm được quy định trong chuyên luận riêng.

- Độ rộng giải phổ nguồn (cho phân tích định lượng): Để tránh sai số gây ra do độ rộng khe phổ, khi sử dụng máy có độ rộng khe phổ thay đổi ở độ dài sóng đã chọn thì độ rộng khe phổ phải nhỏ so với nửa độ rộng của băng hấp thụ. Song độ rộng này phải đủ lớn để thu được giá trị cao của cường độ ánh sáng I_0 và việc thu hẹp độ rộng khe phổ phải không làm cho độ hấp thụ tăng lên.

- Cuvet: Dung sai của chiều dày lớp dung dịch của các cuvet là $\pm 0,005\text{cm}$. Các cuvet đựng mẫu thử và mẫu so sánh phải có độ truyền qua như nhau. Các cuvet phải được làm sạch và chăm sóc cẩn thận, có thể bảo quản trong cồn tuyệt đối để tránh mốc.

3. Ứng dụng phổ UV - VIS trong kiểm nghiệm thuốc

3.1. Định tính và thử tinh khiết

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 D (độ hấp thụ) và bước sóng của tia sáng

đơn sắc. Trên phổ hấp thụ sẽ nhận thấy các cực đại hấp thụ (ứng với bước sóng ở đó có sự hấp thụ là cực đại). Các chất khác nhau thường có phổ hấp thụ khác nhau. Do vậy thường dùng phổ hấp thụ để định tính hoặc để thử tinh khiết các chất căn cứ vào dạng phổ, các cực đại và cực tiểu hấp thụ, tỷ lệ cường độ của các cực đại hoặc cực tiểu hấp thụ.

Ví dụ: Trong dung dịch nước, vitamin B₁₂ có 3 cực đại hấp thụ ở các bước sóng:

278nm ± 1nm 361nm ± 1nm 548nm ± 2nm

Có tỷ số $D_{361} / D_{278} = 1,70$ đến 1,90

- Phenoxymethyl penicillin (BP.80) có 2 cực đại hấp thụ ở 268nm và 274nm

Có tỷ số $D_{268} / D_{274} = 1,20$ đến 1,25

- Cloramphenicol có một cực đại hấp thụ ở bước sóng 278nm

- Piroxicam có một cực đại hấp thụ ở bước sóng 334nm

- Berberin có 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 263nm và 345nm

3.2. Định lượng

Để xây dựng quy trình định lượng một chất, chúng ta cần khảo sát để chọn các điều kiện thích hợp:

- Chọn bước sóng thích hợp: Chọn bước sóng ứng với các cực đại hấp thụ, khi đó đường chuẩn có độ dốc lớn nhất, tức là với cùng một sai số của mật độ quang thì sai số của nồng độ và bước sóng là nhỏ nhất.

- Chọn khoảng nồng độ thích hợp: Khoảng nồng độ thích hợp có quan hệ tuyến tính với mật độ quang và cho các giá trị D trong khoảng từ 0,2 - 0,8 và càng gần với giá trị 0,43 càng tốt.

- Chọn các điều kiện khác: Chọn pH và dung môi thích hợp, sử dụng mẫu trắng có các thành phần như dung dịch thử nhưng không có chất cần định lượng...

** Các phương pháp định lượng:*

3.2.1. Phương pháp đo phổ trực tiếp

Đo độ hấp thụ A của dung dịch, tính nồng độ C của nó dựa vào giá trị $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (có trong các bảng tra cứu)

$$A = E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot L \cdot C$$

với L = 1cm suy ra $C = A / E_{1\text{cm}}^{1\%}$

Để áp dụng phương pháp này cần phải chuẩn hoá máy quang phổ cả về bước sóng lẫn độ hấp thụ.

3.2.2. Phương pháp gián tiếp

Các phương pháp gián tiếp như phương pháp đường chuẩn, so sánh và thêm chuẩn tương tự như các phương pháp hoá lý khác.

Đặc điểm của phương pháp gián tiếp là phải có chất chuẩn để so sánh và có thể không cần chuẩn hoá máy.

- *Phương pháp so sánh*: Theo định luật Lambert - Beer, sau khi đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn so sánh (S) và dung dịch mẫu thử (X) ta có:

$$A_s = K \cdot L \cdot C_s$$

$$A_x = K \cdot L \cdot C_x$$

Trong đó: A_s là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn có nồng độ C_s ,

A_x là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử có nồng độ C_x

Vì hệ số hấp thụ K và bề dày L của lớp dung dịch là như nhau nên ta có:

$$\frac{A_x}{A_s} = \frac{C_x}{C_s}$$

Suy ra:

$$C_x = \frac{A_x}{A_s} \cdot C_s$$

Chú ý: Nồng độ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử không được chênh lệch nhau quá nhiều. Các nồng độ này càng gần nhau kết quả thu được càng chính xác.

- *Phương pháp thêm chuẩn so sánh*: Trong phương pháp quang phổ, để loại trừ các yếu tố ảnh hưởng gây sai số cho quá trình định lượng như xử lý mẫu (chiết xuất), sai lệch do thiết bị và hoá chất, thuốc thử... người ta áp dụng phương pháp thêm.

Nguyên tắc: Lấy hai lượng giống nhau của một mẫu thử, thêm một lượng chất chuẩn đã biết vào một mẫu. Tiến hành xử lý cả hai mẫu trong cùng một điều kiện (chiết xuất, pha loãng...) thu được 2 dung dịch (dung dịch thử và dung dịch thử đã thêm chuẩn). Đo mật độ quang của hai dung dịch thu được A_x và A'_x .

Ta có:

$$\frac{A_x}{A'_x} = \frac{C_x}{C_s + C_x}$$

Suy ra:

$$C_x = \frac{A_x}{A'_x - A_x} \cdot C_s$$

- *Phương pháp đường chuẩn*: Đây là phương pháp cũng hay dùng trong phân tích quang phổ.

Chuẩn bị một dãy chuẩn khoảng 5 dung dịch có các nồng độ chất chuẩn khác nhau. Đo phổ hấp thụ của dãy chuẩn và lập đồ thị của A theo C. Đo phổ hấp thụ A_x của dung dịch thử, dựa vào đường chuẩn ta xác định được nồng độ của mẫu thử C_x .

Chú ý: Khi xây dựng đường chuẩn nên khảo sát khoảng tuyến tính của nồng độ với mật độ quang. Trong trường hợp dãy chuẩn không tuân theo định luật Lambert - Beer (đường chuẩn cong) thì cần làm thêm nhiều mẫu nữa với các nồng độ gần nhau hơn (khác nhau không quá 10%).

Ngoài ra còn có các phương pháp khác như: Phương pháp định lượng hỗn hợp, phương pháp phổ đạo hàm...

II. QUANG PHỔ HỒNG NGOẠI IR

1. Nguyên tắc

Quang phổ hồng ngoại là phương pháp đo sự hấp thụ của bức xạ hồng ngoại khi nó đi qua một lớp chất cần thử ở các số sóng khác nhau.

Vùng bức xạ hồng ngoại sử dụng trong các máy quang phổ IR thông thường là $600 - 4.000\text{cm}^{-1}$. Các máy hiện nay có thể mở rộng vùng bức xạ ($100 - 10.000\text{cm}^{-1}$)

Nguyên tắc: Trong phân tử khi có nhóm nguyên tử nào đó hấp thụ năng lượng và thay đổi trạng thái dao động thì tạo nên một dải hấp thụ trên phổ IR. Có mối tương quan giữa nhóm nguyên tử và dải hấp thụ nên có thể dựa vào đó để nhận biết một nhóm chức nào đó.

Nhiều nhóm chức có các dải hấp thụ đặc trưng. Đây là cơ sở của việc phân tích cấu trúc bằng IR. Việc xác định được sự có mặt của các nhóm chức trong phân tử giúp chúng ta sử dụng IR để định tính một chất.

2. Áp dụng phổ hồng ngoại trong định tính

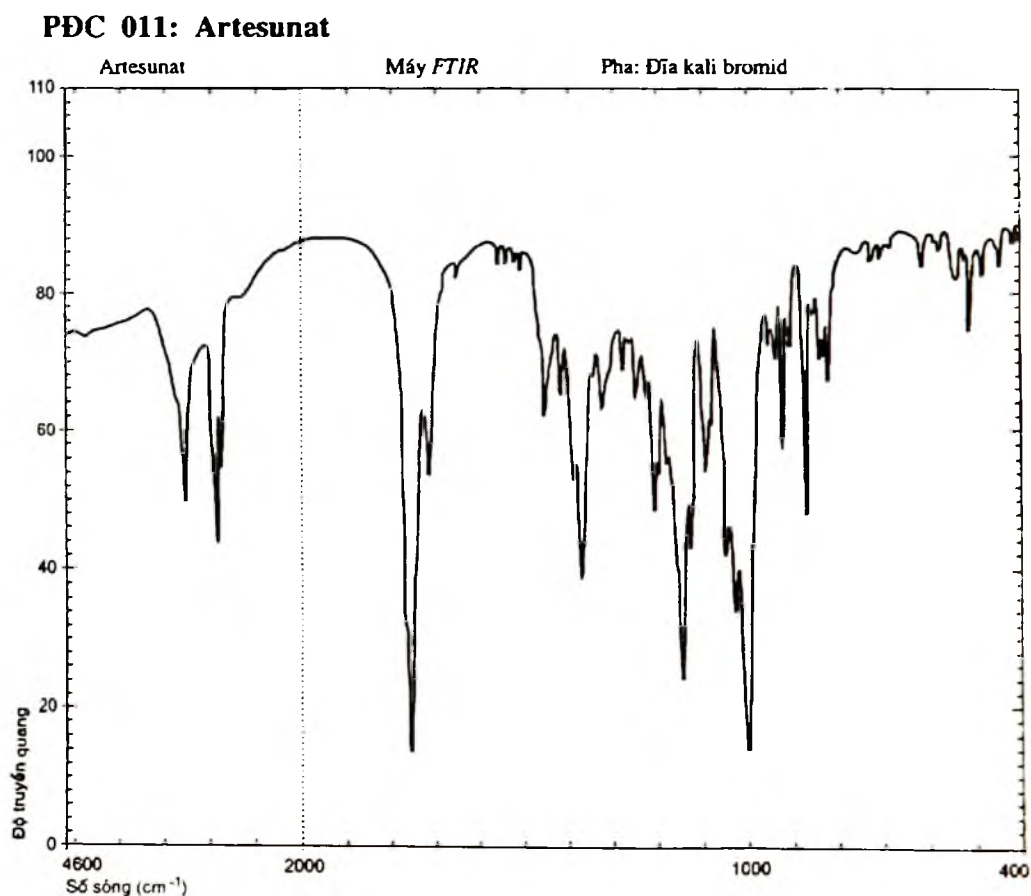
Phương pháp quang phổ hồng ngoại chủ yếu được ứng dụng trong định tính các chất hữu cơ. Việc định tính này dựa trên hai nguyên tắc:

- So sánh sự phù hợp giữa phổ chất thử với phổ chất chuẩn cho sẵn trong sách tra cứu hoặc trong thư viện phổ lưu giữ trong máy. Muốn vậy ta phải chuẩn hoá máy quang phổ (độ phân giải và thang số sóng).

- So sánh sự phù hợp giữa phổ chất thử với phổ chất chuẩn được ghi trong cùng điều kiện. Cực đại hấp thụ ở phổ của chất thử với phổ của hoá chất chuẩn phải tương ứng về vị trí và kích thước.

Ví dụ: Định tính Artesunat bằng phổ hồng ngoại được so sánh với phổ Artesunat chuẩn được ghi trong Dược điển Việt Nam III, phụ lục 3.2.

Phổ Artesunat mẫu phải có hình dạng tương tự phổ chuẩn và có các pic đặc trưng ở 3020cm^{-1} ; 2930cm^{-1} ; 1750cm^{-1} và 1716cm^{-1} .



Hình 4.3: Phổ hồng ngoại của Artesunat

III. SẮC KÝ

1. Lịch sử phát triển

Năm 1906 nhà bác học Nga Tsvet đã cho dung dịch các sắc tố thực vật trong ether dầu hoả lên cột, rồi nhồi bột mịn canxi cacbonat, ông thấy các sắc tố bị hấp phụ trên đầu cột. Khi cho dung môi nguyên chất (ether dầu hoả) lên cột, các sắc tố di chuyển trong cột từ trên xuống dưới, mỗi sắc tố có một tốc độ di chuyển khác nhau, tách thành những vùng riêng biệt, hình thành nên sắc đồ. Ông đặt tên cho phương pháp này là sắc ký.

Công trình của Tsvet là ví dụ của sắc ký lỏng hấp phụ (trên cột). Sau này các phương pháp sắc ký khác ra đời và phát triển mạnh vào những năm 60. Tiếp đó, cuối những năm 60 và trong những năm 70 sắc ký lỏng hiện đại (sắc ký lỏng cao áp, sắc ký lỏng hiệu năng cao) được xây dựng và phát triển tạo thêm một bước ngoặt mới trong lịch sử sắc ký.

2. Một số khái niệm về sắc ký

2.1. Quá trình sắc ký

Sắc ký là một nhóm các phương pháp hoá lý dùng để tách các thành phần của một hỗn hợp.

Sự tách sắc ký dựa trên sự phân chia khác nhau của các chất khác nhau vào hai pha luôn tiếp xúc và không hoà lẫn vào nhau: một pha tĩnh và một pha động.

Quá trình sắc ký thường bao gồm 3 giai đoạn chính:

- Đưa hỗn hợp lên pha tĩnh: Các chất được giữ trên pha tĩnh
- Cho pha động chạy qua pha tĩnh: Ví dụ dung môi ether dầu hoả qua cột, kéo theo các chất di chuyển trên pha tĩnh với tốc độ khác nhau, tách khỏi nhau và có vị trí khác nhau trên pha tĩnh tạo thành sắc đồ. Giai đoạn này gọi là khai triển sắc ký. Nếu tiếp tục cho pha động chạy thì các chất có thể lần lượt bị kéo ra ngoài pha tĩnh (ví dụ: ra khỏi cột). Đó là quá trình rửa giải và dung môi dùng được gọi là dung môi rửa giải, dịch hứng được ở cuối cột gọi là dịch rửa giải.
- Phát hiện các chất: Các chất màu có thể phát hiện dễ dàng, các chất không màu có thể phát hiện bằng đèn UV hay bằng các thuốc thử. Trong sắc ký rửa giải có thể phát hiện các chất khi chúng đi ra khỏi cột bằng cách cho dung dịch rửa giải đi qua một bộ phận phát hiện gọi là detector đặt sau cột.

2.2. Phân loại phương pháp sắc ký

2.2.1. Theo bản chất vật lý các pha

Pha động có thể là chất lỏng hay khí, pha tĩnh có thể là một chất rắn (hạt xốp hay bột mịn) hay một chất lỏng (được giữ trên một chất rắn). Do đó theo bản chất vật lý của các pha, người ta phân biệt được các phương pháp:

- | | |
|----------------------|---------------------|
| + Sắc ký lỏng - lỏng | + Sắc ký khí - lỏng |
| + Sắc ký lỏng - rắn | + Sắc ký khí - rắn |

2.2.2. Theo bản chất hiện tượng sắc ký

- Sắc ký hấp phụ: Pha tĩnh là chất rắn có khả năng hấp phụ.
- Sắc ký phân bố: Pha tĩnh là chất lỏng không hoà tan được với pha động, chất lỏng này được bao trên bề mặt một chất rắn gọi là giá hay chất mang trơ không tham gia vào quá trình sắc ký). Sắc ký phân bố bao gồm sắc ký lỏng - lỏng và sắc ký khí - lỏng.
- Sắc ký trao đổi ion: Pha tĩnh là chất nhựa trao đổi ion (hợp chất cao phân tử có mang những ion có khả năng trao đổi với các ion cùng dấu của dung dịch hỗn hợp sắc ký)

- Sắc ký theo loại cỡ

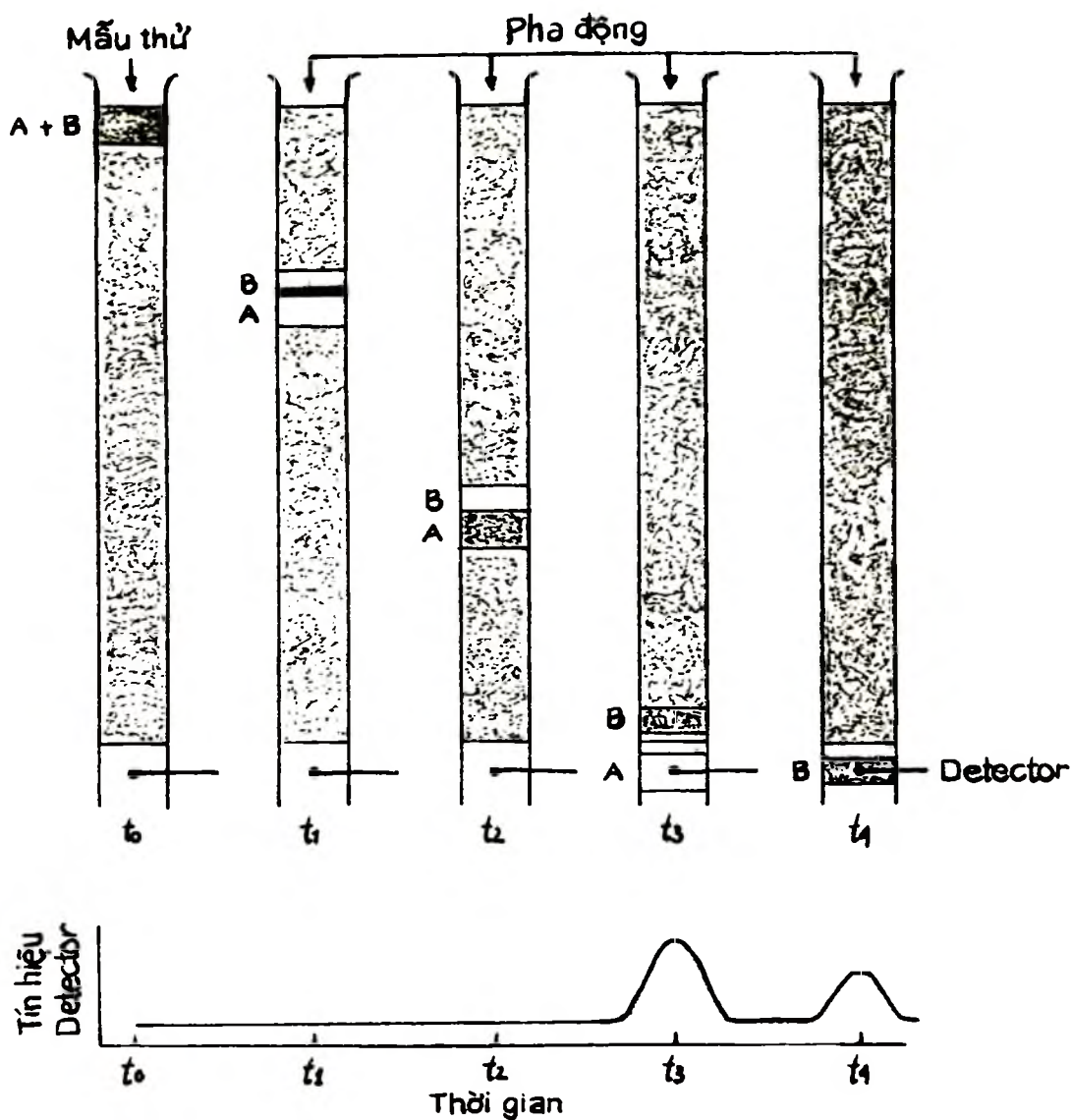
2.2.3. Theo kỹ thuật và phương tiện sắc ký

- Sắc ký trên cột: Pha tĩnh được chứa trên cột bằng kim loại hay thủy tinh.
- Sắc ký lớp mỏng: Pha tĩnh được rải và giữ trên mặt phẳng của bản thủy tinh, nhựa hay nhôm. Lớp mỏng pha tĩnh (silicagel, nhôm oxyd, cellulose, chất nhựa trao đổi ion...) thường có chiều dày khoảng 0,2 - 0,3mm.
- Sắc ký giấy: Pha tĩnh (lỏng) được thấm trên một tờ giấy lọc loại đặc biệt.

3. Sự tách sắc ký và sắc đồ

Xét sự tách hai chất A và B trên cột.

Khởi đầu, tại thời điểm t_0 , cho hỗn hợp hai chất A và B lên đầu cột, ở đó A, B sẽ tự phân bố vào hai pha (một cách khác nhau). Thêm một ít dung môi mới vào cột, phần dung môi mới sẽ đẩy dung môi có hoà tan A, B xuống cột bên dưới. Có sự phân bố lại A, B giữa hai pha ở cả hai phần cột trên và dưới.



Hình 4.4: Sự tách sắc ký và sắc đồ

Tiếp tục thêm dung môi mới, A và B sẽ bị kéo dần xuống dưới và ở thời điểm t_1 đã tách khỏi nhau tuy chưa hoàn toàn. Tại thời điểm t_2 hai dải A , B tách riêng khỏi nhau trên cột: Ta có sắc đồ ngay trên cột. Nếu ngừng tại đây ta có sắc ký khai triển.

Nếu tiếp tục thêm dung môi mới, tới thời điểm t_3 dải chất A ra khỏi cột, gặp detector và cho ta tín hiệu dưới dạng một đỉnh hay một pic, ở t_4 dải B ra

khỏi cột lại cho ta thêm một pic. Ta thu được một sắc đồ gồm hai pic riêng biệt ứng với hai chất A,B. Đây là phương pháp sắc ký rửa giải và sắc đồ thu được gọi là sắc đồ rửa giải. Vị trí của pic trên trục thời gian là cơ sở để định tính chất tương ứng và diện tích dưới pic hay chiều cao của pic là đặc trưng định lượng của chất.

4. Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sắc ký

4.1. Tốc độ di chuyển của các chất

Tốc độ di chuyển của một chất có thể được đặc trưng bởi các đại lượng về sự lưu giữ của chất đó trên pha tĩnh (thời gian lưu hay thể tích lưu).

Khi sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao, người ta đo thời gian lưu của chất. Thời gian lưu t_R (phút) là thời gian cần để một chất di chuyển từ nơi tiêm mẫu qua cột sắc ký tới detector và cho pic trên sắc đồ (tính từ lúc tiêm tới lúc xuất hiện đỉnh của pic). T_R càng lớn chất tan bị lưu giữ càng mạnh và tốc độ di chuyển của nó càng nhỏ.

Nếu ta dùng đơn vị đo là thể tích dung môi thì tương tự ta có thể tích lưu.

4.2. Sự doãng pic và hình dáng của pic

Hình dáng của pic liên quan chặt chẽ đến quá trình tách sắc ký. Hình dáng lý tưởng của pic là pic đối xứng, trên thực tế pic sắc ký thường chỉ gần đối xứng. Để đánh giá tính bất đối của pic người ta dùng hệ số bất đối:

$$AF = b/a$$

$a = 1/2$ chiều rộng phía trước của pic

$b = 1/2$ chiều rộng phía sau của pic

Chiều rộng của pic được đo ở $1/10$ chiều cao của pic. Một cột được nhồi tốt sẽ có AF trong khoảng 0,9 - 1,1.

Sự doãng pic hay sự mở rộng dải là một hiện tượng đặc biệt quan trọng trong sắc ký. Sự doãng pic là kết quả của sự di chuyển nhanh, chậm khác nhau của các phân tử của cùng một chất trong khi đi qua cột sắc ký. Các pic ra muộn bao giờ cũng tù hơn. Một cột sắc ký tốt sẽ cho các pic nhọn.

4.3. Độ phân giải và các yếu tố ảnh hưởng

Độ phân giải là đại lượng đo mức độ tách các chất trên một cột sắc ký, thể hiện:

R_s = khoảng cách giữa hai pic/ độ rộng trung bình của pic

$R_s = 0,75$ hai pic tách không tốt còn xen phủ nhau nhiều

$R_s = 1,0$ hai pic tách khỏi nhau khá tốt còn xen phủ khoảng 4%

$R_s = 1,5$ hai pic tách khỏi nhau hoàn toàn

Để tăng độ phân giải, người ta có thể:

- Dùng cột dài hơn (áp suất, thời gian và độ rộng của pic tăng theo)
- Thay đổi thành phần pha động
- Thay đổi cột hay thay đổi thành phần pha động

4.4. Thời gian phân tích

Thời gian phân tích là yếu tố quan trọng giúp cho ta biết muốn đạt độ phân giải thì mất thời gian là bao lâu. Nếu chọn dung môi tốt thì tách được các chất nhưng thời gian quá dài. Để giảm thời gian và tách tốt ta có thể pha hỗn hợp dung môi, tăng áp suất pha động hoặc tiến hành dưới áp suất giảm.

5. Ứng dụng của sắc ký

5.1. Định tính và thử độ tinh khiết

Sắc ký được dùng rộng rãi để xác nhận sự có mặt hay vắng mặt các thành phần của một hỗn hợp. Ví dụ, có thể phát hiện một cách khá chắc chắn hơn 30 acid amin trên một sắc đồ phân tích dung dịch đậm thuỷ phân.

Việc định tính một chất được dựa vào vị trí của pic tương ứng trên sắc đồ, trùng với pic của chất đối chiếu.

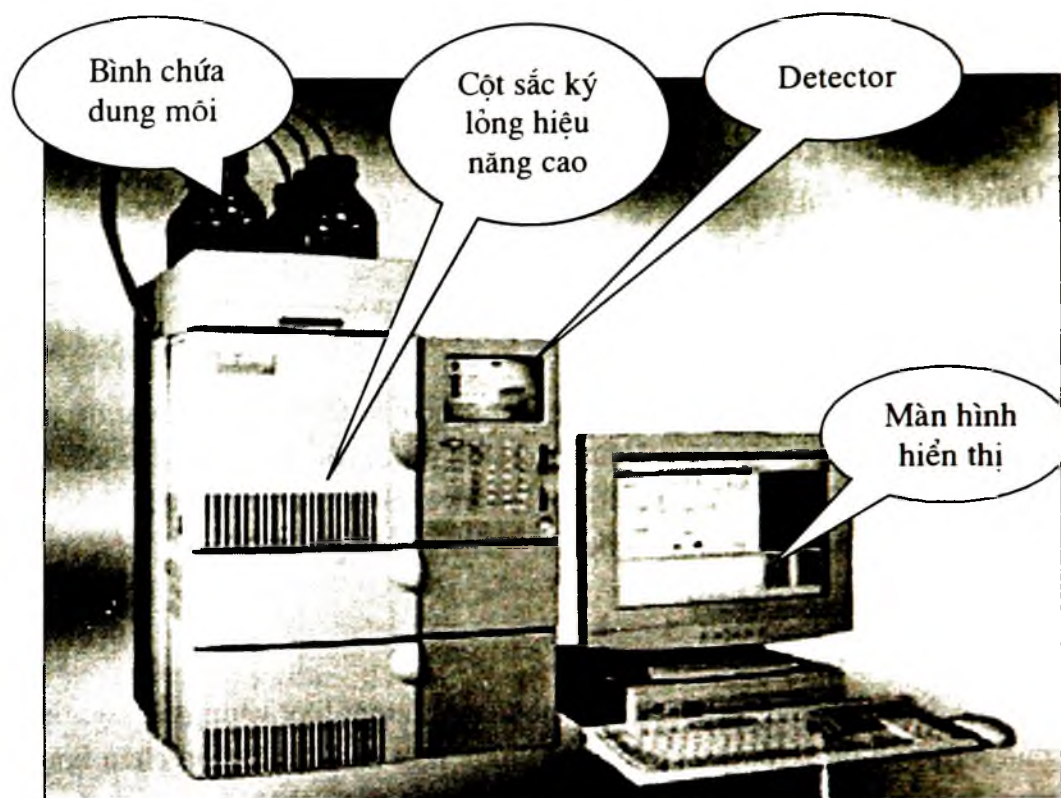
5.2. Định lượng

Sắc ký là một phương pháp rất thuận lợi để định lượng một chất trong hỗn hợp vì chất đó được tách khỏi các chất khác đồng thời được định lượng dựa vào việc đo chiều cao hay diện tích của pic.

Phương pháp đo chiều cao của pic cho kết quả chính xác hơn phương pháp đo diện tích nếu pic hẹp. Trường hợp pic tù hay lệch phương nên đo diện tích pic.

5.3. Các phương pháp sắc ký thông thường

* *Sắc ký lỏng hiệu năng cao: HPLC* (High Performance Liquid Chromatography). Sắc ký lỏng hiệu năng cao (sắc ký lỏng cao áp) dựa trên cơ chế hấp thụ, phân bố, trao đổi ion hay loại cỡ là tùy thuộc vào loại pha tĩnh sử dụng. Các thành phần chính của máy HPLC: Bình chứa dung môi và hệ thống xử lý dung môi, hệ thống bơm, hệ tiêm mẫu, cột sắc ký lỏng hiệu năng cao, detector như trong hình 4.5.



Hình 4.5: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC

* *Sắc ký lớp mỏng* (được trình bày kỹ ở mục 6)

* *Sắc ký trên giấy*: Sử dụng giấy lọc riêng phân biệt bởi độ dày và tốc độ hút nước của giấy. Có nhiều yếu tố tác động lên quá trình tách các chất trên sắc ký giấy như: hấp phụ, phân bố, trao đổi ion, nhưng chủ yếu là sự phân bố các chất tan giữa hai dung môi tĩnh và động.

6. Sắc ký lớp mỏng

Sắc ký lớp mỏng tuy là một phương pháp đơn giản nhưng có một vai trò khá quan trọng, thường được sử dụng để:

- Thử độ tinh khiết của sản phẩm
- Định tính
- Tìm điều kiện tối ưu cho sự tách trên cột (tiến hành nhanh chóng ít tốn kém) làm các thí nghiệm thăm dò cho sắc ký trên cột.

Sắc ký lớp mỏng thường được tiến hành trên một bản mỏng có rải một lớp mỏng của các hạt bột mịn. Lớp mỏng này thường được dùng làm pha tĩnh.

6.1. Chuẩn bị

6.1.1. Chất hấp phụ

Trong sắc ký lớp mỏng, cần dùng bột chất hấp phụ rất mịn, thông thường như: Silicagel loại hạt mịn (qua rây lỗ 0,07 - 0,10mm), nhôm oxyd, thạch cao, cellulosa...

6.1.2. Bản mỏng

Các loại bản mỏng dùng để sắc ký được chia làm 2 loại:

- Bản mỏng dính chắc: Dùng chất hấp phụ được trộn thêm 5 - 15% chất kết dính như tinh bột, dextrin... Hiện nay trên thị trường có bán các bản mỏng làm sẵn loại này.

Chuẩn bị bản mỏng dính chắc bằng cách dùng các tấm kính có kích cỡ 20 x 20cm, 10 x 12cm, 7 x 2,5cm... đã rửa sạch bằng xà phòng, dung dịch sulfocromic, natri carbonat, nước và sấy khô. Chuẩn bị hỗn hợp bột nhão bằng cách nghiền kỹ bột với 70% nước, đánh đều (không được có bọt), thêm nốt nước vào trộn đều, rải ngay hỗn hợp lên kính để có lớp mỏng khoảng 0,25 - 0,30mm. Để bản mỏng trên mặt phẳng nằm ngang 15 - 20 phút cho se rồi đưa vào tủ sấy ở 110°C trong 30 phút, sau đó cất bản mỏng trong bình hút ẩm.

- Bản mỏng không dính chắc: Rải bột có hoạt độ thích hợp lên tấm kính (chọn loại kính mờ) và san bột bằng một thìa thép có hai đầu dây lên khoảng 0,5 - 1mm hoặc bằng dụng cụ đặc biệt riêng.

6.1.3. Chuẩn bị dung môi

Sử dụng các dung môi phải thật tinh khiết, có thể dùng hỗn hợp 2 - 3 dung môi theo các tỷ lệ thích hợp.

Các dung môi thường xếp theo khả năng khử hấp phụ mạnh dần từ: hexan, heptan, cyclohexan, carbon tetraclohid, benzen, cloroform, butyl acetat, ether, ethyl acetat, pyridin, aceton, ethanol, methanol, nước.

6.1.4. Bình sắc ký

Sử dụng các loại bình sắc ký chuyên dụng và có nắp đậy.

6.2. Quá trình tiến hành

6.2.1. Chuẩn bị dung môi

Cho một lượng vừa đủ dung môi vào bình, quanh thành bình lót giấy lọc để bão hòa dung môi được nhanh hơn. Lượng dung môi sử dụng vừa đủ, sao cho sau khi thấm đều giấy lọc vẫn còn lại một lớp dày khoảng 5 - 10mm ở đáy bình. Đậy kín bình và để yên 1 giờ ở nhiệt độ 20 - 25°C. (Chú ý: Dung môi sử

dùng phải là loại thật tinh khiết, những dung môi dễ bị biến đổi hóa học phải pha trước khi dùng).

6.2.2. Chấm dung dịch lên bản mỏng

Đánh dấu đường xuất phát ở mép của bản mỏng cách mép khoảng 1cm. Dùng micropipet hay ống mao quản chấm dung dịch lên những điểm cách nhau ít nhất 1cm. Khi chấm không được làm thủng lớp mỏng, vết chấm phải nhỏ gọn chứa lượng chất thử khoảng 1 - 10 microgam.

6.2.3. Khai triển sắc ký

Là quá trình cho pha động chạy, kéo mẫu phân tích di chuyển trên pha tĩnh. Đặt bản mỏng gần như thẳng đứng với bình triển khai, các vết chấm phải ở trên bề mặt của lớp dung môi triển khai. Đậy kín bình và để yên ở nhiệt độ không đổi. Khi dung môi đã triển khai trên bản mỏng được một đoạn theo quy định trong chuyên luận, lấy bản mỏng ra khỏi bình, đánh dấu mức dung môi, làm bay hơi dung môi còn đọng lại trên bản mỏng rồi hiện vết theo chỉ dẫn trong chuyên luận.

6.2.4. Phát hiện các vết trên bản mỏng

Hai cách phổ biến là phun dung dịch hiện màu (iod hữu cơ hay acid sulfuric) sẽ xuất hiện các màu tối hoặc soi đèn tử ngoại để phát hiện các màu tối hoặc huỳnh quang khác màu với nền sáng của bản mỏng.

Vị trí các vết sắc đồ có thể xác định nhờ chỉ số R_f .

R_f = Đường đi của chất tan(vết)/ đường đi của dung môi

R_f của một chất phụ thuộc vào nhiều yếu tố như cách tiến hành, tính chất và hoạt độ của chất hấp phụ, tính chất dung môi, chiều dày của lớp mỏng, quãng đường chạy sắc ký, lượng chất chấm... nên người ta thường sử dụng song song một chất đã biết để làm chất đối chứng (A') trên cùng một bản mỏng và tính giá trị R_s .

$$R_s(X) = \frac{R_f(X)}{R_f(A)} = \frac{OX / OF}{OA / OF} = \frac{OX}{OA}$$

Trong đó: OA là khoảng cách của vết đối xứng

OX là khoảng cách của vết chất thử

OF là khoảng dung môi triển khai

6.3. Ứng dụng của sắc ký lớp mỏng

- Định tính và thử độ tinh khiết: Thường so sánh với chất chuẩn. Chất thử được coi là tinh khiết khi trên sắc đồ không thấy có vết lạ.

- Định lượng: Có thể đo diện tích của vết hoặc cường độ màu của vết bằng cách đo quang, phương pháp thông dụng nhất vẫn là cạo lấy bột chứa vết, chiết lấy chất thử, đem định lượng bằng đo quang hay một phương pháp thích hợp khác.

6.4. Ưu điểm của phương pháp sắc ký lớp mỏng

- Cho kết quả nhanh (sau 15 - 30 phút)
- Trang thiết bị tương đối đơn giản
- Dễ kết hợp định tính với định lượng, bán định lượng
- Tách tốt nhiều hỗn hợp phức tạp.

Tự lượng giá

*** Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 13 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:**

1. Logarit của tỷ số giữa cường độ ánh sáng tới I_0 và cường độ ánh sáng ló I_1 tỷ lệ.....(A)..... với nồng độ dung dịch C và bề dày lớp dung dịch L mà.....(B)....

A.....

B.....

2. Khi chiếu một chùm tia đơn sắc cường độ I_0 qua một môi trường đồng nhất nào đó, một phần bị.....(A)..... một phần bị môi trường.....(B).... và một phần ló ra ngoài (I_1).

A.....

B.....

3. Nêu thêm cho đủ 4 điều kiện khi áp dụng định luật Lambert - Beer:

A. Ánh sáng phải đơn sắc

B. Khoảng nồng độ phải thích hợp

C.....

D.....

4. Quang phổ hồng ngoại là phương pháp đo sự.....(A)..... của bức xạ hồng ngoại khi nó đi qua một lớp chất cần thử ở.....(B)..... khác nhau.

A.....

B.....

5. Nguyên tắc của đo quang phổ hồng ngoại là trong phân tử khi có nhóm nguyên tử nào đó hấp thụ.....(A)..... và thay đổi.....(B)..... thì tạo nên một dải hấp thụ trên phổ IR.

A.....

B.....

6. Sắc ký là một nhóm các phương pháp.....(A)..... dùng để tách các thành phần của một.....(B).....

A.....

B.....

7. Kể tên 3 giai đoạn chính của quá trình sắc ký bao gồm:

A.....

B.....

C. Phát hiện các chất

8. Kể tên 3 loại sắc ký phân theo kỹ thuật và phương tiện sắc ký:

A. Sắc ký trên cột

B.....

C.....

9. Kể thêm cho đủ 4 yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sắc ký đã học trong bài:

A.....

B. Sự doãng pic và hình dáng của pic

C. Độ phân giải và các yếu tố ảnh hưởng

D.....

10. Sắc lý lớp mỏng thường được tiến hành trên một bản mỏng có rải một lớp mỏng của.....(A)..... Lớp mỏng này thường được dùng làm.....(B).....

A.....

B.....

11. Hai cách phổ biến để phát hiện các vết trên bản mỏng là:

A.....

B.....

12. Kể thêm cho đủ 4 ưu điểm của phương pháp sắc ký lớp mỏng:

A.....

B. Trang thiết bị tương đối đơn giản

C. Dễ kết hợp định tính với định lượng, bán định lượng

D.....

13. Kể tên 2 phương pháp phân tích dụng cụ sử dụng phổ hấp thụ phân tử đã học trong bài:

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 14 đến 27 bằng cách đánh dấu \checkmark vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
14	Khi 1 tia sáng đơn sắc chiếu qua dung dịch sẽ bị hấp thụ 1 phần.		
15	Cuvet bằng thủy tinh dùng để đo ở vùng tử ngoại.		
16	Hai cuvet chứa dung dịch thử và dung dịch so sánh phải có đặc tính quang học như nhau.		
17	Máy quang phổ UV-VIS sử dụng ánh sáng đa sắc.		
18	Dựa vào các cực đại hấp thụ của mẫu để xác định các chất trên quang phổ UV-VIS.		
19	Có mối liên quan giữa nhóm nguyên tử và dải hấp thụ trên quang phổ hồng ngoại.		
20	Phổ hồng ngoại thường dùng để định lượng vì có độ chính xác cao.		
21	Phổ hồng ngoại chỉ cần xác định các pic đặc trưng, không cần quan tâm đến hình dạng phổ.		
22	Sử dụng sắc ký lớp mỏng không cần quan tâm đến thời gian tách sắc ký.		
23	Có thể sử dụng hỗn hợp các dung môi để tách các chất trong phương pháp sắc ký.		
24	Sử dụng sắc ký có thể phát hiện được nhiều chất trong 1 hỗn hợp.		
25	Sắc ký lớp mỏng chỉ dùng định tính, không dùng định lượng.		
26	Silicagel dùng làm pha tĩnh trong sắc ký lỏng hiệu năng cao.		
27	Mẫu trắng là mẫu có chứa chất hấp thụ như mẫu thử.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 28 đến 40 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

28. Theo anh (chị), khi đo phổ hấp thụ UV - VIS thường đo ở vùng:

- A. < 200nm
- B. 200 - 500nm
- C. 200 - 800nm
- D. 500 - 800nm
- E. > 800nm

29. Theo anh (chị), để định lượng một chất bằng quang phổ hấp thụ UV - VIS, thì khoảng nồng độ thích hợp có quan hệ tuyến tính với mật độ quang và cho giá trị D trong khoảng nào là tốt nhất:

- A. 0,0 - 0,1
- B. 0,1 - 0,2
- C. 0,1 - 0,45
- D. 0,2 - 0,8
- E. > 0,8

30. Theo anh (chị), phương pháp quang phổ hồng ngoại thường ứng dụng nhiều nhất trong:

- A. Định tính các chất hữu cơ
- B. Định tính các chất vô cơ
- C. Định lượng các chất hữu cơ
- D. Định lượng hỗn hợp các chất
- E. Tách các chất ra khỏi hỗn hợp

31. Theo anh (chị), trong phương pháp sắc ký có hai pha: Pha tĩnh và pha động, giữa 2 pha này có đặc điểm:

- A. Không tiếp xúc với nhau
- B. Luôn tiếp xúc với nhau
- C. Hoà tan lẫn vào nhau
- D. Luôn tiếp xúc và hoà tan lẫn vào nhau
- E. Luôn tiếp xúc và không hoà lẫn vào nhau

32. Khi đo sắc ký lớp mỏng bằng cách chấm dung dịch thử lên bản mỏng, theo anh (chị) những điểm chấm cách nhau ít nhất là:

- A. 1cm
- B. 2cm
- C. 3cm
- D. 1,5cm
- E. 2,5cm

33. Đánh dấu đường xuất phát ở mép của bản mỏng cách mép khoảng:

- A. 1,5cm
- B. 2cm
- C. 3cm
- D. 1cm
- E. 2,5cm

34. Theo anh (chị), để tách các chất khác nhau trong một hỗn hợp có thể dùng phương pháp nào trong các phương pháp sau:

- A. Quang phổ hấp thụ UV - VIS
- D. Phổ huỳnh quang

- B. Quang phổ hồng ngoại E. Sắc ký lỏng cao áp hiệu năng cao
- C. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
35. Bộ phận nào trong các bộ phận dưới đây không thuộc máy đo quang phổ hấp thụ UV-VIS:
- A. Đèn tử ngoại D. Cuvet đựng dung dịch so sánh
- B. Đèn hồng ngoại E. Màn hình hiển thị
- C. Cuvet đựng dung dịch thử
36. Để thử độ tinh khiết của một chất, người ta dùng phương pháp sắc ký lớp mỏng với chất chuẩn để so sánh. Chất thử được coi là không tinh khiết khi trên sắc đồ có:
- A. Vết khác chất chuẩn D. Vết có cường độ đậm hơn chất chuẩn
- B. Vết tương ứng với chất chuẩn E. Diện tích của vết nhỏ hơn của chất chuẩn
- C. Tỷ lệ các vết giống chất chuẩn
37. Phương pháp có trang thiết bị đơn giản nhất là một trong các phương pháp sau:
- A. Quang phổ hấp thụ UV-VIS D. Sắc ký lớp mỏng
- B. Quang phổ hồng ngoại E. Sắc ký lỏng cao áp hiệu năng cao
- C. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
38. Theo anh (chị), vết chấm dung dịch thử trên sắc ký lớp mỏng có yêu cầu nào không cần trong các yêu cầu dưới đây:
- A. Vết chấm nhỏ và gọn D. Chấm thủng lớp mỏng
- B. Không làm thủng lớp mỏng E. Vết chấm cách mép bản mỏng
- C. Các vết chấm cách nhau ít nhất 1cm khoảng 1cm
39. Để bảo quản cuvet thủy tinh của máy quang phổ hấp thụ UV-VIS cần phải không được:
- A. Lau sạch bằng gạc mềm D. Tráng bằng dung dịch thử
- B. Bảo quản trong cồn tuyệt đối E. Sấy khô ở nhiệt độ cao
- C. Tránh nấm mốc
40. Theo anh (chị), để phát hiện các vết trên bản mỏng người ta không sử dụng phương pháp nào trong các phương pháp dưới đây:
- A. Phun dung dịch iod hữu cơ D. Phun dung dịch hiện màu
- B. Phun acid sulfuric E. Phun nước cất
- C. Soi đèn tử ngoại

Bài 5

CÁC XÁC ĐỊNH CƠ BẢN TRONG KIỂM NGHIỆM

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được cách xác định mất khối lượng do làm khô.
- Trình bày được nguyên tắc và tính được lượng nước trong thuốc theo phương pháp Karl Fischer.
- Trình bày được cách xác định màu sắc dung dịch trong kiểm nghiệm.

I. XÁC ĐỊNH MẤT KHỐI LƯỢNG DO LÀM KHÔ

1. Khái niệm và các phương pháp

Cách xác định mất khối lượng do làm khô được ghi trong Dược điển Việt Nam III, phụ lục 5.16.

Mất khối lượng do làm khô là sự giảm khối lượng của mẫu thử biểu thị bằng phần trăm (kl/kl) khi được làm khô trong điều kiện xác định ở mỗi chuyên luận. Sự giảm khối lượng thu được sau khi làm khô biểu thị sự mất đi lượng nước ẩm, một phần hoặc toàn bộ lượng nước kết tinh và lượng chất dễ bay hơi khác trong mẫu thử.

Việc xác định mất khối lượng do làm khô không được làm thay đổi tính chất lý hóa cơ bản của mẫu thử, vì vậy mỗi chuyên luận riêng sẽ có quy định cách làm khô theo một trong các phương pháp sau đây:

- Phương pháp 1: Sấy trong tủ sấy ở áp suất thường
- Phương pháp 2: Sấy ở áp suất giảm
- Phương pháp 3: Làm khô trong bình hút ẩm với những chất hút nước mạnh như acid sulfuric đậm đặc, phosphor pentoxyd, calci clorid khan, silicagel...

Với mỗi phương pháp, các điều kiện tiến hành cụ thể được quy định riêng trong mẫu thử. Nếu chuyên luận ghi:

- “*Không quá 1% (1g, 105⁰C, 4 giờ)*” có nghĩa là dùng phương pháp 1. Cân 1 gam mẫu thử đem sấy trong tủ sấy ở áp suất thường trong thời gian 4 giờ, khối lượng mẫu thử không được giảm đi quá 10mg.

- “*Không quá 0,5% (1g, 105⁰C, phosphor pentoxyd, 24 giờ)*” có nghĩa là dùng phương pháp 2. Cân 1 gam mẫu thử đem sấy 24 giờ trong dụng cụ sấy ở áp suất giảm (2 kPa) có chất hút ẩm phosphor pentoxyd, khối lượng mẫu thử không được giảm đi quá 5mg.

Nếu trong chuyên luận không quy định thời gian làm khô có nghĩa là làm khô đến khối lượng không đổi. Tức là sự chênh lệch khối lượng sau khi sấy thêm 1 giờ trong tủ sấy hoặc 6 giờ trong bình hút ẩm so với lần sấy trước đó không quá 0,5mg.

2. Cách tiến hành

Dùng hộp lồng thủy tinh hoặc chén cân có nắp mài làm bình đựng mẫu thử. Làm khô bì trong thời gian 30 phút theo phương pháp và điều kiện quy định trong chuyên luận.

Cân ngay vào bì một lượng chính xác mẫu thử bằng khối lượng quy định trong chuyên luận với sai số $\pm 10\%$. Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì lượng mẫu được dàn mỏng thành lớp có độ dày không quá 5mm. Nếu mẫu thử có kích thước lớn thì phải nghiền nhanh tới kích thước dưới 2mm trước khi cân.

Tiến hành làm khô trong điều kiện quy định của chuyên luận và trong cùng một dụng cụ đã làm khô bì.

- Nếu dùng phương pháp sấy thì nhiệt độ cho phép chỉ chênh lệch $\pm 2^{\circ}\text{C}$ so với nhiệt độ quy định. Sau khi sấy phải làm nguội tới nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm có silicagel rồi cân ngay.

- Nếu mẫu thử bị chảy ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ sấy quy định thì trước khi đưa lên nhiệt độ đó, cân duy trì từ 1 - 2 giờ ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ nóng chảy của mẫu thử từ 5 - 10⁰C.

- Nếu mẫu thử ở dạng viên nang hoặc viên bao thì phải bỏ vỏ và nghiền nhanh tới kích thước dưới 2mm rồi lấy lượng bột viên tương đương không ít hơn 4 viên đem thử.

- Nếu mẫu thử là dược liệu, khi chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành theo phương pháp 1. Dược liệu phải được làm thành mảnh

nhỏ đường kính không quá 3mm, lượng đem thử từ 2g - 5g, chiều dày lớp mẫu thử đem sấy là 5mm và không quá 10mm đối với dược liệu có cấu tạo xốp. Nhiệt độ và thời gian sấy theo yêu cầu của chuyên luận riêng.

II. ĐỊNH LƯỢNG NƯỚC THEO PHƯƠNG PHÁP KARL FISCHER

1. Nguyên tắc (DĐVN III, phụ lục 6.6)

Phương pháp định lượng nước này dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong dung môi khan chứa một chất base hữu cơ thích hợp.

Dung môi hữu cơ thông dụng là methanol khan nước hoặc dung môi hữu cơ khác thích hợp để hoà tan chất thử.

Thuốc thử Karl Fischer gốc gồm 4 thành phần chính: Lưu huỳnh dioxyd, iod, pyridin hoặc một base hữu cơ khác và methanol. Thuốc thử phải pha trước khi dùng 1 giờ và dùng trong 1 ngày.

2. Tiến hành

Cân chính xác một lượng mẫu chứa khoảng 10mg - 50mg nước đem định lượng. Cho khoảng 20ml methanol khan vào cốc chuẩn độ, nhỏ thuốc thử Karl Fischer đến điểm dừng, cho nhanh lượng chất thử đã cân vào cốc chuẩn độ, khuấy đều để phản ứng tác dụng trong 1 phút. Tiếp tục chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer đến điểm dừng, ghi số N ml thuốc thử đã dùng sau khi cho chất thử. Tính kết quả theo công thức:

$$X = N \cdot F$$

Trong đó:

X: Là số mg nước có trong lượng mẫu đem thử

N: Là số ml thuốc thử đã dùng cho lần chuẩn độ sau khi cho chất thử

F: Là hệ số đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer

Chú ý:

- Các thao tác phải nhanh và thực hiện trong phòng có độ ẩm thấp.
- Phải xác định chính xác đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer.

III. XÁC ĐỊNH MÀU SẮC CỦA DUNG DỊCH

Việc xác định màu sắc của dung dịch trong phạm vi: nâu - vàng - đỏ được ghi trong DĐVNIII, phụ lục 5.17.

Một dung dịch được coi là không màu nếu nó giống như nước cất hay dung môi dùng để pha dung dịch đó.

Xác định màu sắc của dung dịch được tiến hành theo 1 trong 2 phương pháp dưới đây với các dung dịch màu chuẩn theo quy định của Dược điển:

1. Phương pháp 1

Dùng những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt và giống hệt nhau, có đường kính ngoài 12mm để so sánh 2,0ml dung dịch thử với 2,0ml nước cất hoặc dung môi hoặc dung dịch màu chuẩn theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Quan sát dung dịch dọc theo trục ống trong ánh sáng khuếch tán trên nền trắng.

Dung dịch màu chuẩn được bảo quản trong những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt có đường kính ngoài 12mm, hàn kín và tránh ánh sáng.

2. Phương pháp 2

Dùng những ống thủy tinh trung tính, đáy bằng, không màu, trong suốt, giống hệt nhau và có đường kính trong từ 15 - 25mm để so sánh lớp dung dịch thử có bề dày 40mm với lớp chất lỏng có bề dày 40mm của nước cất hoặc dung môi hoặc dung dịch màu chuẩn theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Quan sát dung dịch dọc theo trục ống trong ánh sáng khuếch tán trên nền trắng.

Các dung dịch màu chuẩn phải được chuẩn bị ngay trước khi dùng từ dung dịch màu gốc.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 3 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Mất khối lượng do làm khô là.....(A)..... của mẫu thử biểu thị bằng phần trăm (kl/kl) khi được làm khô trong.....(B)..... ở mỗi chuyên luận.

A.....

B.....

2. Sự giảm khối lượng thu được sau khi làm khô biểu thị sự mất đi.....(A)...., một phần hoặc toàn bộ.....(B)... và lượng chất dễ bay hơi khác trong mẫu thử.

A.....

B.....

3. Một dung dịch được coi là không màu nếu nó.....(A)..... hay.....(B)..... dùng để pha dung dịch đó.

A.....

B.....

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 4 đến 8 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
4	Methanol dùng trong phương pháp Karl Fischer phải khan.		
5	Quá trình xác định mất nước do làm khô của mẫu thử có thể làm biến đổi một số tính chất lý hóa cơ bản của mẫu thử.		
6	Dung dịch có màu giống màu của dung môi pha nó, gọi là dung dịch có màu.		
7	Mất khối lượng do làm khô mẫu thử bao gồm cả mất đi lượng nước kết tinh trong mẫu thử.		
8	Quan sát màu sắc của dung dịch dọc theo trục ống trong ánh sáng khuếch tán trên nền trắng.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 9 đến 10 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

9. Theo anh (chị), chất nào trong các chất dưới đây không thuộc thành phần của thuốc thử Karl Fischer:

A. Lưu huỳnh dioxyd

D. Methanol

B. Iod

E. Aceton

C. Pyridin hoặc một base hữu cơ khác

10. Theo anh (chị), thuốc thử Karl Fischer phải pha trước khi dùng trong thời gian:

A. Trước khi dùng trong 1 ngày

D. 1 giờ và dùng trong 1 ngày

B. 2 giờ và dùng trong 1 ngày

E. 1 giờ và dùng trong 5 ngày

C. 5 giờ và dùng trong 1 ngày

Bài 6

PHƯƠNG PHÁP CHUNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ VẬT LÝ

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được nguyên tắc và cách xác định độ pH của dung dịch.
- Trình bày được cách xác định khối lượng riêng và tỷ trọng, khoảng nóng chảy, nhiệt độ nóng chảy.
- Trình bày được khái niệm và phương pháp đo độ nhớt của dung dịch.

I. XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ pH (ĐDVN III, phụ lục 5.9)

1. Nguyên tắc

pH là một số biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của dung dịch nước.

Trong định nghĩa thực nghiệm này, pH của một dung dịch liên quan với pH của một dung dịch đối chiếu theo biểu thức sau:

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \frac{(E - E_s)}{k}$$

Trong đó:

E: Điện thế tính bằng von của pin chứa dung dịch được khảo sát

E_s : Điện thế tính bằng von của pin chứa dung dịch đã biết pH
(dung dịch đối chiếu)

pH_s : pH của dung dịch đối chiếu

k: Hệ số thay đổi theo nhiệt độ.

Bảng 6.1: Giá trị k thay đổi theo nhiệt độ

TT	Nhiệt độ (°C)	K
1	15	0,0572
2	20	0,0582
3	25	0,0592
4	30	0,0601
5	35	0,0611

Việc xác định chỉ số pH được tiến hành trên máy đo pH với điện cực kép (điện cực thủy tinh - calomen). Tất cả các phép đo cần tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ từ 20 - 25°C, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

2. Phương pháp đo

Nhúng sâu các điện cực vào trong dung dịch cần khảo sát và đo trị số pH ở chính nhiệt độ đo của các dung dịch đệm chuẩn khi hiệu chỉnh máy. Sau cùng đo lại trị số pH của dung dịch đệm chuẩn dùng để hiệu chuẩn máy và điện cực. Nếu sự khác nhau giữa lần đọc này và trị số gốc của dung dịch chuẩn lớn hơn 0,05 thì các phép đo phải làm lại.

Khi đo các dung dịch có pH trên 10 phải đảm bảo rằng điện cực thủy tinh đang dùng là phù hợp, chịu được các điều kiện kiềm và cần áp dụng hệ số điều chỉnh trong phép đo.

Khi máy được dùng thường xuyên, việc kiểm tra thang đo pH phải được thực hiện định kỳ. Nếu máy không thường xuyên dùng, việc kiểm tra cần thực hiện trước mỗi phép đo.

Tất cả các dung dịch và dịch treo của chế phẩm khảo sát và các dung dịch đệm chuẩn, phải được pha chế với nước không có lẫn carbon dioxyd.

3. Các dung dịch đệm chuẩn

- Dung dịch đệm A: Hoà tan 12,61g kali tetraoxalat (TT) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,05M).

- Dung dịch đệm B: Lắc kỹ một lượng thừa kali hydro (+)-tartrat (TT) với nước ở 25°C. Lọc hoặc để lắng gạn. Pha ngay trước khi dùng.

- Dung dịch đệm C: Hòa tan 11,41g kali dihydrocitrat (TT) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,05M). Pha ngay trước khi dùng.

- Dung dịch đệm D: Hòa tan 10,13g kali hydrophthalat (TT) đã sấy khô trước ở 110 - 135°C trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,05M).

- Dung dịch đệm E: Hòa tan 3,39g kali dihydrophosphat (TT) và 3,53g dinatri hydrophosphat khan (TT) (cả hai đã được sấy khô trước ở 110 - 130°C trong 2 giờ) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,025M cho mỗi muối).

- Dung dịch đệm F: Hòa tan 1,18g kali dihydrophosphat (TT) và 4,30g dinatri hydrophosphat khan (TT) (cả hai đã được sấy khô trước ở 110 - 130°C trong 2 giờ) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,0087M và 0,0303M mỗi muối theo thứ tự kể trên).

- Dung dịch đệm G: Hòa tan 3,80g natri tetraborat khan (TT) và 2,09g natri hydrocarbonat (TT) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,01M). Bảo quản tránh carbon dioxyd của không khí.

- Dung dịch đệm H: Hòa tan 2,64g natri carbonat khan (TT) và 2,09g natri hydrocarbonat (TT) trong nước vừa đủ để có 1.000ml dung dịch (0,025M cho mỗi muối).

pH của các dung dịch đệm chuẩn này cũng thay đổi theo nhiệt độ đo, bảng 6.2:

Bảng 6.2: pH của dung dịch đệm chuẩn ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Dung dịch đệm							
	A	B	C	D	E	F	G	H
T°								
15	1,67	-	3,80	4,00	6,90	7,45	9,28	10,12
20	1,68	-	3,79	4,00	6,88	7,43	9,23	10,06
25	1,68	3,56	3,78	4,01	6,87	7,41	9,18	10,01
30	1,68	3,55	3,77	4,02	6,85	7,40	9,14	9,97
35	1,69	3,55	3,76	4,02	6,84	7,39	9,10	9,93
$\Delta\text{pH}/\Delta t$	+0,001	-0,0014	-0,0022	+0,0012	-0,0028	-0,0028	-0,0082	-0,0096

$\Delta\text{pH}/\Delta t$ là độ lệch pH trên 1°C

II. XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG VÀ TỶ TRỌNG (ĐDVN III, phụ lục 5.15)

1. Khối lượng riêng

Khối lượng riêng của một chất ở nhiệt độ t (p_t) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t .

$$p = \frac{M}{V}$$

Trong đó: M : Khối lượng của chất xác định ở nhiệt độ t

V : Thể tích của chất xác định ở nhiệt độ t

p : Khối lượng riêng

Trong ngành Dược thường xác định khối lượng riêng ở nhiệt độ 20°C (p_{20}) có tính đến ảnh hưởng của sức đẩy của không khí (tức quy về giá trị xác định trong chân không) và dùng đơn vị kg/l hoặc g/ml .

2. Tỷ trọng

2.1. Định nghĩa

Tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất là tỷ số giữa khối lượng của một thể tích cho trước của chất đó và khối lượng của cùng thể tích nước cất, tất cả đều cân ở 20°C .

Tỷ trọng biểu kiến được dùng trong các chuyên luận ethanol... là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng. Tỷ trọng biểu kiến được biểu thị bằng đơn vị kgm^{-3} và được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ trọng biểu kiến} = 997,2 \times d_{20}^{20}$$

Trong đó: d_{20}^{20} là tỷ trọng tương đối của chất thử

997,2 là khối lượng cân trong chân không của 1m^3 nước, tính bằng kg .

2.2. Phương pháp dùng tỷ trọng kế

Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether. Dùng đĩa thủy tinh tròn đều chất lỏng cần xác định tỷ trọng. Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng đó sao cho tỷ trọng kế không chạm vào thành và đáy của dụng cụ đựng chất thử. Chỉnh nhiệt độ tới 20°C và khi tỷ trọng kế ổn định, đọc kết quả.

III. XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ NÓNG CHẢY, KHOẢNG NÓNG CHẢY

(ĐDVN III, phụ lục 5.19)

1. Định nghĩa

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.

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, hóa than hoặc sủi bọt.

Khi xác định khoảng 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. Nhiệt độ này phải nằm trong giới hạn quy định trong chuyên luận riêng của chế phẩm.

Để việc định tính hoặc thử tinh khiết của một chế phẩm được tốt hơn, cần tiến hành xác định khoảng chảy của một hỗn hợp gồm các phần bằng nhau của chế phẩm đó (mẫu thử) và của mẫu đối chiếu (mẫu chuẩn). Nếu mẫu thử và mẫu đối chiếu khác nhau, hoặc nếu mẫu thử có lẫn tạp chất thì hỗn hợp sẽ bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ thấp hơn và khoảng chảy sẽ rộng hơn quy định.

2. Phương pháp xác định đối với các chất rắn

Phương pháp này áp dụng cho chất rắn dễ nghiền nhỏ

2.1. Dụng cụ

Một khối kim loại (như đồng) không bị ăn mòn bởi chất thử nghiệm, khả năng truyền nhiệt tốt, bề mặt trên được đánh bóng cẩn thận. Khối kim loại này được đun nóng toàn khối và đồng đều bằng một dụng cụ như đèn ga nhỏ điều chỉnh được hay dụng cụ đun nóng bằng điện có thể điều chỉnh chính xác.

Khối kim loại có một khoang hình ống nằm song song, bên dưới và cách bề mặt đánh bóng khoảng 3mm có kích thước thích hợp để chứa được một nhiệt kế thủy ngân, đặt ở vị trí giống vị trí khi hiệu chuẩn.

Dụng cụ có thể hiệu chuẩn với các chất chuẩn có điểm chảy được chứng nhận của Tổ chức Y tế thế giới hay những chất thích hợp khác.

2.2. Cách xác định

Đun nóng khối kim loại với một tốc độ thích hợp tới nhiệt độ dưới điểm nóng chảy dự kiến khoảng 10°C thì điều chỉnh nhiệt độ tăng $1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$, tại những khoảng thời gian đều nhau, thả một vài hạt chất thử đã được làm khô bằng phương pháp thích hợp hay theo sự chỉ dẫn trong chuyên luận và nghiền

thành bột mịn lên bề mặt khối kim loại gần vị trí của bầu thủy ngân của nhiệt kế. Lau sạch bề mặt kim loại sau mỗi lần thử nghiệm.

Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử tan chảy lần đầu tiên ngay khi nó chạm tới bề mặt kim loại (T_1) và ngừng đun ngay.

Trong khi để nguội dần, lại thả một vài hạt chất thử trong khoảng thời gian đều đặn, lau sạch bề mặt sau mỗi lần thử. Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử ngừng tan chảy ngay khi tiếp xúc với bề mặt tấm kim loại (T_2).

Điểm chảy tức thời được tính theo công thức:

$$T = \frac{T_1 + T_2}{2}$$

IV. XÁC ĐỊNH ĐỘ NHỚT CỦA CHẤT LỎNG (ĐĐVN III, phụ lục 5.11)

1. Khái niệm

Độ nhớt của chất lỏng là một đặc tính của chất lỏng liên quan chặt chẽ đến lực ma sát nội tại cản lại sự di động tương đối của các lớp phân tử trong lòng chất lỏng đó.

Cần phân biệt độ nhớt tuyệt đối (hay độ nhớt lực học) với độ nhớt tương đối và độ nhớt động học.

Độ nhớt tuyệt đối ký hiệu η là lực tiếp tuyến trên một đơn vị bề mặt, được biết như một ứng suất trượt τ (biểu thị bằng pascal) cần thiết để chuyển động một lớp chất lỏng 1m^2 song song với mặt phẳng trượt ở tốc độ (v) là 1m/s so với lớp chất lỏng song song ở một khoảng cách (x) là 1m . Tỷ lệ dv/dx là gradient vận tốc cho tốc độ trượt D , biểu thị là nghịch đảo của giây (s^{-1}) và $\eta = \tau D$.

Đơn vị của độ nhớt tuyệt đối là pascal-giây hoặc newton-giây trên mét vuông ($\text{Pa.s} = \text{N.s/m}^2$) và ước số hay dùng là milipascal - giây. Đơn vị của độ nhớt tuyệt đối còn được biểu thị là poazơ (P) và ước số hay dùng là centipoazơ (cP).

$$1\text{Pa.s} = 1.000\text{mPa.s} = 1\text{N.s/m}^2$$

$$1\text{P} = 0,1\text{Pa.s} = 100\text{cP} = 100\text{mPa.s}$$

Độ nhớt tương đối của nước cất ở 20°C xấp xỉ bằng 1 centipoazơ.

Độ nhớt tương đối là tỷ lệ độ nhớt tuyệt đối của hai chất lỏng ở cùng một nhiệt độ. Độ nhớt tương đối là một số không có thứ nguyên.

Độ nhớt động học (ν) là tỷ số giữa độ nhớt tuyệt đối (biểu thị bằng Pa.s) và khối lượng riêng (ρ) của chất lỏng (biểu thị bằng kg/m^3), cả hai đều được xác định ở cùng nhiệt độ t .

$$\nu = \frac{\eta}{p}$$

Đơn vị độ nhớt động học là m^2/s , ước số là mm^2/s .

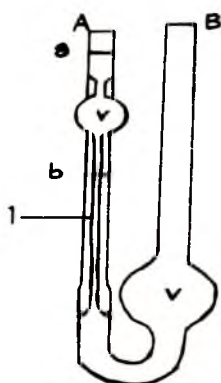
Độ nhớt thay đổi rõ rệt khi nhiệt độ thay đổi. Nhiệt độ tăng thì độ nhớt giảm và ngược lại. Vì vậy, phải xác định độ nhớt của chất lỏng ở nhiệt độ ổn định, dao động không quá $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

2. Phương pháp xác định độ nhớt của chất lỏng

Sử dụng nhớt kế Ostwald (hình vẽ) để xác định thời gian chảy của chất lỏng qua ống mao quản, từ đó xác định độ nhớt động học của chất lỏng đó.

Rửa sạch nhớt kế bằng hỗn hợp sulfocromic, sau đó rửa lại bằng nước thường rồi bằng nước cất, ethanol. Cuối cùng rửa bằng ether hoặc acetone và làm khô.

Dùng pipet dài để chuyển qua miệng ống B chất lỏng cần xác định đã được ổn định ở nhiệt độ $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (trừ khi có chỉ dẫn khác) vào bầu chứa V, sao cho không dính hoặc chỉ dính rất ít chất lỏng đem thử vào thành ống B ở phía trên bầu V. Đặt nhớt kế thẳng đứng và chìm hết bầu V trong môi trường điều nhiệt ở nhiệt độ $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (trừ khi có chỉ dẫn khác) trong 30 phút. Sau đó dùng quả bóp cao su (phụ kiện của dụng cụ đo độ nhớt) thổi từ miệng ống B để chất lỏng dâng lên quá ngăn chuẩn a thì ngừng bơm, bỏ quả bóp cao su ra khỏi miệng ống B để chất lỏng đem thử chảy tự do về bầu V. Ghi thời gian cần thiết để vòng khum dưới của chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngăn a đến ngăn b. Làm như vậy 5 lần, lấy trung bình cộng của các kết quả đo được làm thời gian t cần xác định. Sai số các kết quả đo không vượt quá 0,5%. Để đỡ mắc sai số lớn, cần chọn nhớt kế thích hợp sao cho thời gian t không được dưới 200 giây.



- v: Bầu dòng chất thử
- V: Bầu chứa chất thử
- l: Mao quản
- a, b: Vạch chuẩn

Hình 6.1: Nhớt kế Ostwald

Tính độ nhớt tuyệt đối η hoặc độ nhớt động học ν lần lượt theo công thức sau:

$$\eta = k \cdot p \cdot t \quad (1)$$

$$\nu = k \cdot t \quad (2)$$

Trong đó:

η : Độ nhớt tuyệt đối (mPa.s hoặc cP)

ν : Độ nhớt động học (mm²/s)

k: Hằng số dụng cụ đo

p: Khối lượng riêng của chất lỏng đem thử (g/cm³)

t: Thời gian chảy (giây)

Khi không có giá trị k, có thể tự xác định hằng số k bằng cách dùng một chất lỏng đã biết trước độ nhớt η hoặc ν và tính k theo công thức (1) hoặc (2). Nhớt kế đã bị sửa chữa thì khi sử dụng phải được chuẩn lại.

Nếu dùng nhớt kế mao quản với máy đo tự động thì vận hành máy theo quy trình hướng dẫn của hãng sản xuất máy. Thời gian cần thiết để chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngăn a đến ngăn b sẽ được tự động ghi lại.

Tự lượng giá

*** Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 6 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:**

1. Theo định nghĩa thực nghiệm: pH là một số biểu thị quy ước nồng độ.....(A)..... của.....(B).....

A.....

B.....

2. Khoảng nóng chảy (gọi tắt là khoảng chảy) của một chất là.....(A)..... đã hiệu chỉnh kể từ khi chất rắn bắt đầu.....(B)..... và xuất hiện những giọt chất lỏng đầu tiên đến khi chất rắn chuyển hoàn toàn sang trạng thái lỏng.

A.....

B.....

3. Nhiệt độ nóng chảy (gọi tắt là điểm chảy) của một chất là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó.....(A)..... của chất thử nghiệm chuyển thành.....(B)....., bắt đầu biến màu, hóa than hoặc sủi bọt.

A.....

B.....

4. Độ nhớt của chất lỏng là một đặc tính của chất lỏng liên quan chặt chẽ đến...(A).....
cản lại sự di động tương đối của.....(B)..... trong lòng chất lỏng đó.

A.....

B.....

5. Tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất là.....(A)..... giữa khối lượng của một thể tích
cho trước của chất đó và khối lượng của cùng thể tích.....(B)....., tất cả đều cân ở 20°C.

A.....

B.....

6. Khối lượng riêng của một chất ở nhiệt độ t (ρ_t) là khối lượng.....(A)..... của chất đó,
xác định ở.....(B).....

A.....

B.....

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 7 đến 14 bằng cách đánh dấu \checkmark vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
7	pH của dung dịch chuẩn thay đổi theo nhiệt độ đo.		
8	Khi đo pH của dung dịch phải đo ở cùng điều kiện đo của dung dịch đệm chuẩn.		
9	Dùng tỷ trọng kế để đo tỷ trọng tương đối của chất lỏng ở nhiệt độ 25°C.		
10	Chất thử tinh khiết phải có điểm chảy và khoảng nóng chảy giống mẫu chuẩn.		
11	Chất thử có lẫn tạp chất có điểm nóng chảy cao hơn mẫu chuẩn.		
12	Sử dụng nhớt kế Ostwald để xác định thời gian chảy của chất lỏng qua ống mao quản.		
13	Nếu máy pH không thường xuyên dùng, việc kiểm tra cần thực hiện trước mỗi phép đo.		
14	Dùng nước cất tráng lại nhớt kế Ostwald trước khi sử dụng.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 15 đến 20 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

15. Theo anh (chị), sự khác nhau giữa lần đọc này và trị số gốc của dung dịch chuẩn khi đo pH của dung dịch phải:

- A. Nhỏ hơn 0,05
- B. Lớn hơn 0,05
- C. Không lớn hơn 0,05
- D. Không lớn hơn 0,5
- E. Nhỏ hơn 0,5

16. Theo anh (chị), khi xác định tỷ trọng tương đối của một chất, cần điều chỉnh nhiệt độ dung dịch đo đến:

- A. 15°C
- B. 20°C
- C. 25°C
- D. 30°C
- E. 35°C

17. Khi xác định độ nhớt của dung dịch bằng nhớt kế Ostwald, chúng ta cần đặt nhớt kế trong môi trường điều chỉnh nhiệt độ ổn định ở:

- A. 25°C \pm 0,1°C trong 30 phút
- B. 25°C \pm 0,1°C trong 10 phút
- C. 20°C \pm 0,1°C trong 20 phút
- D. 20°C \pm 0,1°C trong 10 phút
- E. 20°C \pm 0,1°C trong 30 phút

18. Khi xác định độ nhớt dung dịch, để tránh mắc sai số lớn, cần chọn nhớt kế Ostwald thích hợp sao cho thời gian t đo phải:

- A. Không được dưới 100 giây
- B. Không được dưới 200 giây
- C. Không được dưới 300 giây
- D. Không được dưới 400 giây
- E. Không được dưới 500 giây

19. Theo anh (chị), nếu mẫu thử có lẫn tạp chất thì hỗn hợp sẽ bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ thấp hơn quy định và khoảng chảy sẽ:

- A. Hẹp hơn
- B. Rộng hơn
- C. Bằng nhau
- D. Không xác định
- E. Không có điểm chảy

20. Theo anh (chị), khi đo độ nhớt dung dịch bằng nhớt kế Ostwald, chúng ta cần tiến hành rửa sạch nhớt kế trước khi dùng bằng các dung dịch khác nhau. Dung dịch nào trong các chất dưới đây được dùng rửa nhớt kế Ostwald cuối cùng trước khi làm khô:

- A. Sulfocromic
- B. Nước thường
- C. Nước cất
- D. Ethanol
- E. Aceton

Bài 7

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

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được cách xác định giới hạn tạp chất trong thuốc.
- Trình bày được cách lấy mẫu và xác định giới hạn tạp chất trong dược liệu.
- Trình bày được cách xác định tỷ lệ vụn nát trong dược liệu.

I. GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC

Giới hạn các tạp chất trong thuốc được quy định ở Dược điển Việt Nam III, phụ lục 7, mục 7.4 gồm 14 chất khác nhau. Trong phần này chỉ đưa ra một số cách xác định giới hạn tạp chất trong thuốc thường gặp.

1. Amoni

Sử dụng phương pháp này nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

Hoà tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận với 14ml nước trong một ống nghiệm, kiểm hóa (nếu cần) bằng dung dịch natri hydroxyd 2M (TT), thêm nước vừa đủ 15ml. Thêm 0,3ml thuốc thử Nessler (TT), lắc đều rồi để yên 5 phút. So sánh màu tạo thành trong ống thử với màu mẫu được chuẩn bị đồng thời. Khi so màu, quan sát dọc theo trục ống nghiệm trong ánh sáng khuếch tán trên nền trắng. Màu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu.

Màu ống mẫu: Lấy chính xác 10ml dung dịch ion amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 cho vào ống nghiệm, pha loãng với nước thành 15ml. Thêm 0,3ml thuốc thử Nessler (TT), lắc đều rồi để yên 5 phút.

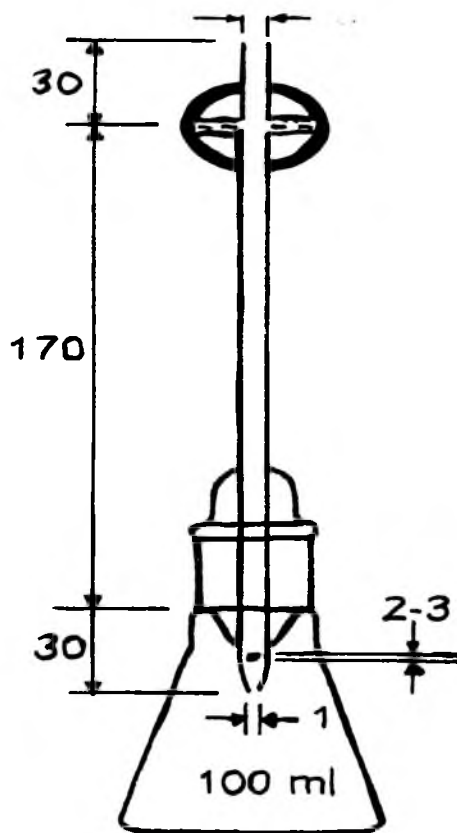
2. Arsen

Sử dụng phương pháp này nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

- Dụng cụ: Bộ dụng cụ thử arsen gồm một bình nón nút mài cỡ 100ml được đậy bằng nút thủy tinh mài, xuyên qua nút có một ống thủy tinh dài khoảng 200mm, đường kính trong là 5mm. Phần dưới của ống thủy tinh được kéo lại để có đường kính trong là 1mm.

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

Một ống thủy tinh thứ hai dài 30cm, có cùng đường kính và cũng có một đĩa tròn phẳng tương tự như ống thứ nhất, đặt tiếp xúc mặt đĩa tròn với ống thứ nhất và được giữ chặt với ống thứ nhất bằng 2 dây lò xo.



Dụng cụ thử arsen

- Tiến hành: Cho vào ống thủy tinh dài khoảng 50 - 60mg bông tẩm chì acetat (TT). Đặt một miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT), hình tròn hay hình vuông, có kích thước đủ để phủ kín lỗ tròn giữa 2 ống thủy tinh, giữ chặt 2 ống thủy tinh bằng dây lò xo.

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

Song song tiến hành một mẫu so sánh trong cùng điều kiện, dùng 1ml dung dịch arsen 1 phần triệu As hòa loãng với nước thành 25ml thay cho chế phẩm thử. Sau ít nhất 2 giờ lấy các miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid ra so sánh các vết màu. Vết màu nếu có trên miếng giấy của bình thử phải không được đậm hơn vết màu trên miếng giấy của bình mẫu.

3. Calci

Thêm 1ml dung dịch amoni oxalat 4% (TT) vào 0,2ml dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96%. Sau 1 phút thêm hỗn hợp gồm 1ml dung dịch acid acetic 2M (TT) và 15ml dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận và lắc.

Sau 15 phút, so sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện nhưng thay dung dịch chế phẩm thử bằng hỗn hợp gồm 10ml dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca và 5ml nước.

Độ đục trong ống thử phải không đậm hơn độ đục chuẩn.

4. Kim loại nặng

Trong mục này gồm 5 phương pháp thử kim loại nặng trong thuốc, tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng mà sử dụng 1 trong 5 phương pháp (ở tài liệu này giới thiệu 3 phương pháp thông thường).

4.1. Phương pháp 1

Lấy 12ml dung dịch chế phẩm thử được pha chế như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, 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.

Chuẩn bị đồng thời ống mẫu, dùng hỗn hợp 10ml dung dịch ion chì mẫu 1

phần triệu Pb hoặc dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận, và 2ml dung dịch chế phẩm thử.

So sánh màu tạo thành trong ống thử và ống chuẩn. Màu nâu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu. Ống chuẩn có màu nâu nhạt khi được so sánh với ống trắng được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, dùng 10ml nước và 2ml dung dịch chế phẩm thử.

4.2. Phương pháp 2

Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận trong một dung môi hữu cơ có chứa một tỷ lệ nước tối thiểu như 1,4-dioxan (TT) hoặc acetone (TT) có chứa 15% nước. Thực hiện giống như phương pháp 1, nhưng chuẩn bị dung dịch ion chì mẫu bằng cách pha loãng dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb với dung môi được dùng để pha chế phẩm thử thành các dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb hoặc 2 phần triệu Pb tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận.

4.3. Phương pháp 3

Dùng một bộ giữ màng lọc có kích thước như ghi trên hình vẽ, lắp với một bơm tiêm cỡ 50ml. Màng lọc (C) được làm từ một chất liệu thích hợp có đường kính lỗ là 3 μ m và được bảo vệ bởi một màng lọc phụ (B) bằng sợi thủy tinh borosilicat.

Hoà tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận vào trong 30ml nước, nếu không có quy định gì khác. Lọc dung dịch qua màng lọc nhờ một áp lực nhẹ.

Tháo bộ giữ màng lọc ra và kiểm tra xem màng lọc có bị nhiễm bẩn không; nếu cần thì thay màng lọc và lọc lại. Lấy toàn bộ hay một phần dịch lọc như chỉ dẫn ở chuyên luận, thêm 2ml dung dịch đệm acetat pH = 3,5 và 1,2ml dung dịch thioacetamid (TT), lắc đều và để yên 10 phút. Đảo trật tự màng lọc và màng lọc phụ rồi lọc dung dịch phản ứng qua màng với một áp lực nhẹ và chậm. Lấy màng lọc ra, làm khô bằng cách ép trên giấy lọc. Độ đậm của vết màu tạo thành trên màng lọc không được đậm hơn màu mẫu 1 phần triệu Pb như đã chỉ dẫn trong chuyên luận và được chuẩn bị như cách làm với mẫu thử.

5. Phosphat

Thêm 4ml thuốc thử sulphomolybdic (TT) vào 100ml dung dịch đã được chuẩn bị, nếu cần thì trung hoà như chỉ dẫn. Lắc và thêm 0,1ml dung dịch

chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 2ml dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4 và 98ml nước. Sau 10 phút, lấy mỗi dung dịch 20ml và so sánh màu.

Màu trong ống thử phải không được đậm hơn màu trong ống chuẩn.

6. Sắt

Hòa tan một lượng chế phẩm quy định trong nước rồi pha loãng với nước tới 10ml, hoặc lấy 10ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một ống Nessler. Thêm 2ml dung dịch acid citric 20% (TT) và 0,1ml acid mercaptoacetic (TT). Lắc đều, kiểm hóa bằng dung dịch amoniac 10M (TT) và pha với nước tới 20ml. Chuẩn bị một dung dịch màu chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 10ml dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe thay cho dung dịch chế phẩm thử. Sau 5 phút, màu hồng tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu chuẩn.

7. Sulfat

Thêm 1ml dung dịch bari clorid 25% (TT) vào 1,5ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 , lắc và để yên 1 phút. Thêm 15ml dung dịch chế phẩm thử đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, hoặc thêm một lượng chế phẩm thử quy định đã hoà tan trong 15ml nước và 0,5ml dung dịch acid acetic 5M (TT). Để yên 5 phút.

Độ đục tạo thành trong ống thử không được đậm hơn trong ống chuẩn được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, nhưng dùng 15ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 thay cho dung dịch chế phẩm thử.

8. Xác định tro toàn phần

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận thì áp dụng phương pháp sau:

* *Với mẫu thử là thảo mộc*: Cho 2 - 3g bột đem thử vào một chén sứ hoặc chén platin đã nung và cân bì. Nung ở nhiệt độ không quá 450°C tới khi không còn carbon, làm nguội rồi cân. Bằng cách này mà tro chưa loại được hết carbon thì dùng một ít nước nóng cho vào khối chất đã than hóa, dùng đũa thủy tinh khuấy đều, lọc qua giấy lọc không tro. Rửa đũa thủy tinh và giấy lọc, tập trung nước rửa và dịch lọc. Cho giấy lọc và cặn vào chén nung rồi nung đến khi thu được tro màu trắng hoặc gần như trắng. Cho dịch lọc vào cặn trong chén nung, đem bốc hơi đến khô rồi nung ở nhiệt độ không quá 450°C đến khi khối lượng không đổi. Tính tỷ lệ phần trăm của tro toàn phần theo dược liệu đã làm khô trong không khí.

* Với các mẫu thử khác: Cũng thực hiện như trên nhưng chỉ dùng 1g mẫu thử nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận.

II. XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT LẨN TRONG DƯỢC LIỆU

Phương pháp xác định tạp chất lẫn trong dược liệu được ghi trong Dược điển Việt Nam III, phụ lục 9, mục 9.4.

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

1. Cách xác định

Cần một lượng mẫu vừa đủ đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cần phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$X(\%) = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó: a: Số lượng tạp chất tính bằng gam

p: Số lượng mẫu thử tính bằng gam

2. Ghi chú

- Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc có thể phải làm các phản ứng định tính hóa học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính toán bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

- Lượng mẫu lấy thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

+ Hạt và quả rất nhỏ (như hạt mã đề): 10g

+ Hạt và quả nhỏ: 20g

+ Dược liệu thái thành lát: 50g

III. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ VỤN NÁT CỦA DƯỢC LIỆU

Phương pháp xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu được ghi trong ĐĐVN III, phụ lục 9.5.

1. Cách xác định

Cân một lượng dược liệu nhất định (p gam) đã được loại bỏ tạp chất. Rây qua rây có số quy định theo chuyên luận riêng. Cân toàn bộ phần đã lọt qua rây (a gam). Tính tỷ lệ vụn nát (X%) theo công thức:

$$X\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó: a: Khối lượng vụn nát của dược liệu lọt qua rây tính bằng gam

p: Khối lượng dược liệu đem cân tính bằng gam

X: Tỷ lệ vụn nát của dược liệu tính bằng%

2. Ghi chú

- Lượng dược liệu lấy để thử (tùy theo bản chất của dược liệu) từ 100 - 200 gam).

- Đối với dược liệu mỏng manh thì chỉ lắc nhẹ, tránh làm nát vụn thêm dược liệu.

- Phần bụi và bột vụn không phân biệt được bằng mắt thường được tính vào mục tạp chất.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 4 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Tạp chất lẫn trong dược liệu bao gồm tất cả các chất.....(A)..... của dược liệu đó như: Đất, đá, rơm, rạ, cây cỏ khác,.....(B)..... của cây không quy định làm dược liệu, xác côn trùng...

A.....

B.....

2. Giới hạn các tạp chất trong thuốc được quy định ở.....(A)....., phụ lục 7, mục 7.4 gồm.....(B)..... khác nhau.

A.....

B.....

3. Công thức tính phần trăm tạp chất lẫn trong dược liệu như sau:

$$X\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó: a:.....(A).....

p:.....(B).....

4. Công thức tính tỷ lệ vụn nát (X%) của dược liệu theo công thức:

$$X\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó:

a: Khối lượng vụn nát của dược liệu.....(A)..... tính bằng gam

p: Khối lượng.....(B)..... tính bằng gam

A.....

B.....

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 5 đến 11 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
5	Ống mẫu có đầy đủ các thành phần như ống thử nhưng hàm lượng chất thử đã biết trước.		
6	Xác định tạp chất calci trong thuốc bằng cách kết tủa calci trong amoni oxalat.		
7	Thử giới hạn sắt trong thuốc phải cho kết quả: màu hồng tạo thành trong dung dịch thử đậm hơn màu chuẩn.		
8	Tìm ion sulfat trong xác định giới hạn tạp chất bằng phản ứng kết tủa với bari clorid.		
9	Các bộ phận khác của cây không quy định làm dược liệu không phải là tạp chất trong dược liệu.		
10	Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu phải lấy từ dược liệu đã loại bỏ tạp chất.		
11	Bụi và bột vụn của dược liệu không phân biệt được bằng mắt thường được tính vào tỷ lệ vụn nát.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 12 đến 15 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn**

12. Theo anh (chị), lượng mẫu lấy thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì đối với dược liệu thái thành lát cần lấy như sau:

- | | |
|--------|---------|
| A. 10g | D. 50g |
| B. 20g | E. 100g |
| C. 40g | |

13. Theo anh (chị), hàm lượng arsen trong thuốc theo quy định phải nhỏ hơn là:

- | | |
|------------------|------------------|
| A. 1 phần triệu | D. 20 phần triệu |
| B. 5 phần triệu | E. 50 phần triệu |
| C. 10 phần triệu | |

14. Theo anh (chị), lượng dược liệu cần lấy để xác định tỷ lệ vụn nát thông thường từ:

- | | |
|----------------|----------------|
| A. 100g - 200g | D. 200g - 500g |
| B. 10g - 20g | E. 200g - 300g |
| C. 20g - 50g | |

15. Theo anh (chị), để xác định độ tro toàn phần của thuốc và dược liệu, thông thường phải nung mẫu thử ở nhiệt độ:

- | | |
|----------|----------|
| A. 200°C | D. 600°C |
| B. 300°C | E. 800°C |
| C. 450°C | |

Bài 8

KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT, THUỐC CỐM

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm nghiệm thuốc bột.
- Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm nghiệm thuốc cốm.

I. KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT (ĐĐVN III, phụ lục 1.6)

1. Định nghĩa

Thuốc bột (pulveres) là dạng thuốc rắn, gồm các hạt nhỏ, khô tơi, có độ mịn xác định, có chứa một hay nhiều hoạt chất. Ngoài các hoạt chất, trong thuốc bột còn có thể có thêm các tá dược như chất điều hương, chất màu, tá dược độn...

Tùy mục đích sử dụng, có thể phân biệt một số loại thuốc bột như sau: Thuốc bột để uống, thuốc bột để pha, thuốc tiêm, thuốc bột dùng ngoài (đắp trực tiếp hoặc pha dung dịch, hỗn dịch dùng rửa, thụt, tra mắt...)

2. Các yêu cầu chất lượng chung

2.1. Tính chất

Bột phải khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất. Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên, với một lượng bột vừa đủ, được phân tán đều lên một tờ giấy trắng, mịn.

2.2. Độ ẩm

Các thuốc bột không được chứa hàm lượng nước quá 9% trừ chỉ dẫn khác.

Cách thử: Xác định độ ẩm trong các thuốc bột theo phương pháp làm khô (Phụ lục 5.16) ĐĐVN III hoặc theo phương pháp Karl Fischer (phụ lục 6.6), tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

2.3. Độ mịn

Nếu không có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho tất cả các thuốc bột kếp, các thuốc bột dùng để đắp, các thuốc bột dùng để pha chế thuốc dùng cho mắt, tai.

Độ mịn của thuốc bột được xác định qua phép thử cỡ bột và rây (phụ lục 2.6). Thuốc bột phải đạt độ mịn quy định trong chuyên luận.

2.4. 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 hay 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 (trong mẫu đã làm đồng nhất) 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 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 trung bình.

Nếu hai hoặc ba đơn vị có giá trị hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 - 115% nhưng ở giữa 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 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.

2.5. Độ đồng đều khối lượng

Những thuốc bột không quy định phải thử độ đồng đều hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng. Nếu thuốc bột chứa nhiều hoạt chất thì chỉ khi tất cả các hoạt chất đã được thử độ đồng đều hàm lượng mới không cần thử độ đồng đều khối lượng.

Riêng thuốc bột để pha thuốc tiêm hoặc truyền tĩnh mạch, nếu khối lượng nhỏ hơn hoặc bằng 40mg thì không phải thử độ đồng đều khối lượng nhưng phải đáp ứng 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. Tất cả các đơn vị phải đạt quy định trong bảng độ đồng đều khối lượng. Nếu có 1 đơn vị có khối lượng lệch ngoài quy định này thì phải thử lại với 5 đơn vị khác. Nếu lần thử lại có quá 1 đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

Đối với các chế phẩm đóng gói trong hộp hoặc 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.

Bảng 8.1: Quy định độ đồng đều khối lượng thuốc bột

Khối lượng ghi trên nhãn	% chênh lệch so với khối lượng ghi trên nhãn
Dưới hoặc bằng 0,5g	± 10
Trên 0,5g - 1,5g	± 7
Trên 1,5g - 6,0g	± 5
Trên 6,0g	± 3

2.6. Định tính

Theo chuyên luận riêng, phải có phản ứng của hoạt chất.

2.7. Định lượng

Theo chuyên luận riêng

2.8. Giới hạn nhiễm khuẩn

Các thuốc bột có nguồn gốc dược liệu cần đáp ứng yêu cầu “Giới hạn nhiễm khuẩn” quy định trong các chuyên luận riêng.

2.9. Ghi nhãn

Đối với thuốc bột trong đơn vị đóng gói một liều, phải ghi tên và hàm lượng hoạt chất; trong đơn vị đóng gói nhiều liều phải ghi tên và hàm lượng hoạt chất trên tổng khối lượng. Trên nhãn cũng phải ghi tên và lượng chất bảo quản chống vi khuẩn, hạn dùng, điều kiện bảo quản.

3. Các loại thuốc bột

3.1. Thuốc bột để uống

Thuốc bột để uống được sử dụng sau khi đã hoà tan hoặc phân tán trong nước hoặc chất lỏng thích hợp, cũng có thể dùng nuốt trực tiếp.

Thuốc bột để uống phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột. Ngoài ra thuốc bột sử phải đạt yêu cầu sau về độ tan. Thả một lượng thuốc bột tương ứng với một liều vào một cốc thủy tinh chứa 200ml nước ở 15 - 20°C, xuất hiện nhiều bọt khí bay ra. Khi hết bọt khí bay ra, thuốc phải hoà 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.

3.2. Thuốc bột dùng ngoài

Thuốc bột dùng ngoài được đóng gói một liều hoặc nhiều liều. Nó có thể dùng đắp, rắc trực tiếp lên da, vết thương hoặc được hoà tan, phân tán trong dung môi thích hợp để nhỏ, rửa hoặc thụt.

Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu 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 theo phụ lục 10.8 ĐĐVN III.

- Độ mịn: Thuốc bột dùng đắp hoặc rắc phải là bột mịn hoặc rất mịn. Cách thử theo phụ lục 2.6 ĐĐVN III.

3.3. Thuốc bột để pha tiêm

Phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền dạng bột.

Cách thử theo phụ lục 1.14 ĐĐVN III.

II. KIỂM NGHIỆM THUỐC CỐM (ĐĐVN III, phụ lục 1.7)

1. Định nghĩa

Thuốc cốm (granulae) là dạng thuốc rắn có dạng hạt nhỏ xộp hay sợi ngắn xộp, thường dùng để uống, chiêu với nước hay một chất lỏng thích hợp hoặc pha thành dung dịch, hỗn dịch hay siro. Ngoài được chất, thuốc cốm còn chứa tá dược. Tá dược trong thuốc cốm có thể là những chất điều hương vị như bột đường, lactose, chất thơm...

2. Yêu cầu chất lượng

Trừ chỉ dẫn riêng, thuốc cốm phải đạt các yêu cầu chất lượng chung sau đây:

2.1. Hình thức

Thuốc cốm phải khô, đồng đều về kích thước hạt, không có hiện tượng hút ẩm, bị mềm và biến màu.

2.2. Kích thước hạt

Nếu không có chỉ dẫn khác, cân 5 đơn vị đóng gói. Rây qua rây số 2.000 và rây số 250. Toàn bộ cốm phải qua được rây số 2.000. Tỷ lệ vụn nát qua rây số 250 không quá 8% khối lượng toàn phần.

2.3. Độ ẩm

Các thuốc cốm không được chứa quá 5,0% nước, trừ khi có chỉ dẫn khác.

2.4. Tính hoà tan hoặc phân tán

Thêm 20 phần nước nóng vào 1 phần thuốc cốm, khuấy trong 5 phút, loại thuốc cốm tan phải hoàn toàn tan hết, loại thuốc cốm hỗn dịch phải lơ lửng đều trong nước, không có những tạp chất lạ.

2.5. Độ đồng đều khối lượng (phụ lục 8.3)

Tất cả các loại thuốc cốm phải nằm trong giới hạn cho phép đồng đều khối lượng $\pm 5\%$.

2.6. Độ đồng đều hàm lượng

Phép thử này áp dụng cho tất cả thuốc cốm đóng gói 1 liều, có chứa 1 hoặc nhiều hoạt chất, trong đó có các hoạt chất có hàm lượng nhỏ dưới 2mg hoặc dưới 2% (kl/kl) so với khối lượng thuốc cốm trong 1 liều.

2.7. Định tính

Theo chuyên luận riêng, phải có phản ứng của hoạt chất.

2.8. Định lượng

Theo chuyên luận riêng.

2.9. Bảo quản

Thuốc cốm phải được bảo quản trong các đồ đựng kín, đóng từng liều hoặc nhiều liều, có nhãn đúng quy định. Để nơi khô mát.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 3 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Thuốc bột là dạng.....(A)....., gồm các hạt nhỏ, khô tơi, có độ mịn xác định, có chứa một hay nhiều.....(B).....

A.....

B.....

2. Thuốc bột sủi phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của.....(A)...., ngoài ra phải đạt yêu cầu về.....(B).....

A.....

B.....

3. Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột, ngoài ra phải đạt các yêu cầu riêng sau:

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 4 đến 8 bằng cách đánh dấu ☒ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
4	Thuốc bột phải có độ đồng đều hàm lượng nằm trong giới hạn 85 - 115%.		
5	Tất cả các loại thuốc cốm phải có độ đồng đều khối lượng trong giới hạn $\pm 10\%$.		
6	Thuốc bột pha tiêm phải đảm bảo về độ vô khuẩn.		
7	Thuốc cốm không được chứa lượng nước quá 10,0%.		

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

8. Theo anh (chị), thuốc bột có hàm lượng hoạt chất trong một đơn vị đóng gói dưới 0,50g phải đạt giới hạn về hàm lượng trong khoảng:

A. $\pm 10\%$

D. $\pm 3\%$

B. $\pm 5\%$

E. $\pm 2\%$

C. $\pm 7\%$

9. Theo anh (chị), thuốc bột có hàm lượng hoạt chất trong một đơn vị đóng gói trên

6,00g phải đạt giới hạn về hàm lượng trong khoảng:

A. $\pm 10\%$

D. $\pm 3\%$

B. $\pm 5\%$

E. $\pm 2\%$

C. $\pm 7\%$

10. Theo anh (chị), thuốc cốm trong một đơn vị đóng phải đạt giới hạn về khối lượng trong khoảng:

A. $\pm 8\%$

D. $\pm 3\%$

B. $\pm 5\%$

E. $\pm 2\%$

C. $\pm 4\%$

Bài 9

KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN, VIÊN NANG

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được định nghĩa và các yêu cầu kỹ thuật trong kiểm nghiệm viên nén.
- Trình bày được khái niệm và các yêu cầu kỹ thuật trong kiểm nghiệm viên nang.

I. KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN (ĐDVN III, phụ lục 1.15)

1. Định nghĩa

Viên nén (Tabellae) là chế phẩm rắn dùng để uống, nuốt hoặc nhai, có thể hoà vào nước trước khi uống hoặc ngâm trong miệng. Mỗi viên nén chứa 1 liều của một hay nhiều hoạt chất, được điều chế bằng cách nén nhiều khối hạt nhỏ đồng đều của các chất.

Các khối hạt nhỏ này chứa một hay nhiều hoạt chất, có cho thêm hoặc không cho thêm tá dược như chất pha loãng, chất kết dính, chất làm rã, làm trơn, các chất làm thay đổi tác động của hoạt chất trong bộ máy tiêu hoá, các chất màu, các chất làm thơm đã quy định.

Viên nén được chia làm nhiều loại: viên nén, viên bao, viên nén sủi bọt, viên nén bền với dịch dạ dày, viên nén làm thay đổi giải phóng hoạt chất, viên nén dùng trong miệng...

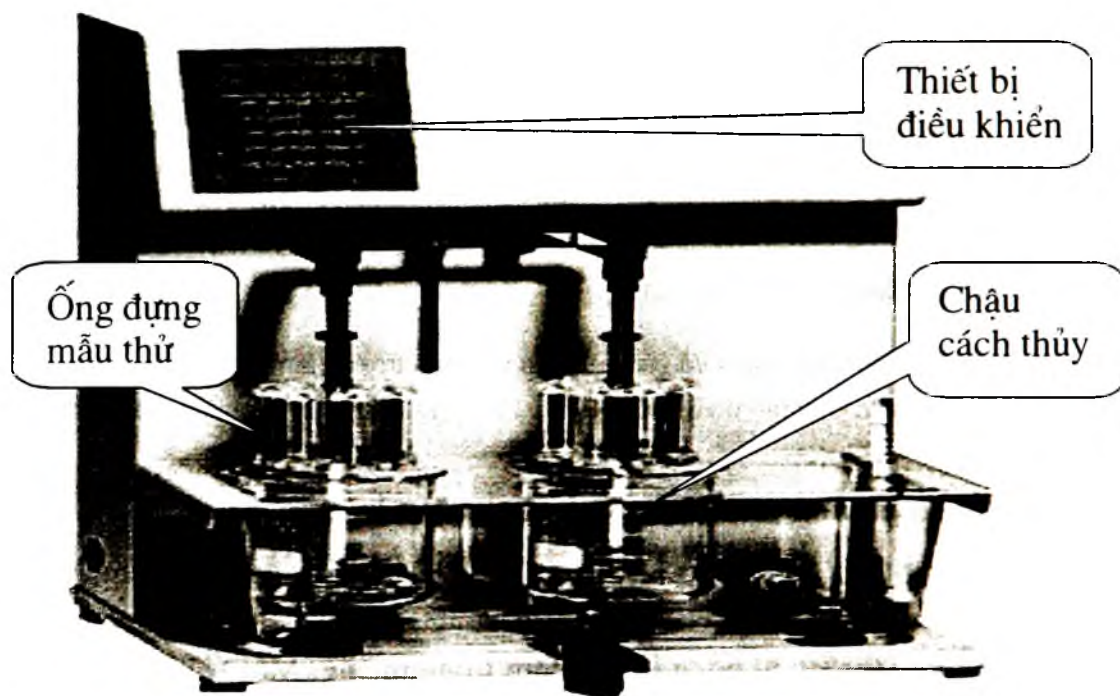
2. Yêu cầu kỹ thuật

2.1. Tính chất

Viên nén thường có thể chất rắn, hình trụ, hai mặt nhấn bóng, mặt đáy phẳng hoặc lõm, trên mặt viên có thể có rãnh, chữ hoặc ký hiệu, cạnh và thành viên lành lặn. Viên nén có loại được bao. Viên nén phải đủ rắn để bảo quản và sử dụng, không bị gãy, vỡ khi vận chuyển.

2.2. Độ rã

Thử theo chuyên luận “*Thử độ rã của viên nén và viên nang*” phụ lục 8.6 DDVNIII. Viên nén và viên bao đã thử độ hoà tan thì không áp dụng thử độ rã.



Hình 9.1: Máy thử độ rã

Độ rã của viên nén, viên nang là khả năng tan rã của chúng trong môi trường thử theo quy định (thường là nước), bằng thiết bị thử độ rã được quy định trong thời gian nhất định được quy định ở từng chuyên luận.

Cho vào mỗi ống một viên nén hoặc viên nang (mỗi lần thử với 6 viên ở 6 ống thử) rồi đẩy đĩa chất dẻo vào mỗi ống. Nhúng thiết bị vào trong cốc có chứa chất lỏng và vận hành thiết bị theo thời gian quy định ở nhiệt độ $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi cốc chất lỏng.

Mẫu thử đạt yêu cầu nếu cả 6 viên rã hết, không còn cặn, trừ những mảnh vỏ bao không tan của viên nén, viên nang. Nếu có cặn còn lại thì nó chỉ là một khối mềm không được có nhân khô rắn sờ thấy được.

Mẫu thử còn dưới hai viên chưa rã hết phải thử lại với 12 viên nữa. Chế phẩm đạt yêu cầu về độ rã khi 16 trong 18 viên thử đạt độ rã theo quy định.

2.3. Độ đồng đều khối lượng

Bảng 9.1: Quy định về độ đồng đều khối lượng viên nén

TT	Dạng bào chế	Khối lượng trung bình	% chênh lệch so với khối lượng trung bình
1	Viên nén thường Viên bao phim	Nhỏ hơn hoặc bằng 80mg	10
		Trên 80mg - - 120mg	7,5
		Lớn hơn 250mg	5
2	Viên bao đường	Tất cả các loại	10

Cân 20 đơn vị bất kỳ, tính khối lượng trung bình, cân riêng khối lượng từng đơn vị. Cho phép không quá 2 đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài quy định, nhưng không được có đơn vị nào lệch gấp 2 lần.

2.4. Độ đồng đều hàm lượng

Viên nén có hàm lượng hoạt chất dưới 2mg hoặc dưới 2% (kl/kl) thì phải thử độ đồng đều khối lượng.

Lấy 10 viên bất kỳ, xác định hàm lượng hoạt chất từng viên theo phương pháp đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Chế phẩm đem kiểm tra đạt yêu cầu phép thử nếu có giá trị hàm lượng nằm trong giới hạn 85 - 115% của hàm lượng trung bình. Nếu có 1 đơn vị nào nằm ngoài giới hạn 85 - 115% nhưng trong giới hạn 75 - 125% của hàm lượng trung bình thì thử lại 20 viên khác lấy bất kỳ.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu trong tổng số 30 viên đã thử có không quá 1 viên nằm ngoài giới hạn 85 - 115% và không có viên nào nằm ngoài giới hạn 75 - 125% của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm đem kiểm tra không đạt yêu cầu nếu có quá 1 viên ở ngoài giới hạn 85 - 115% của hàm lượng trung bình hoặc có 1 viên ở ngoài giới hạn 75 - 125% của hàm lượng trung bình.

Đối với thuốc viên nén chứa nhiều vitamin và các vết nguyên tố thì không yêu cầu thử độ đồng đều hàm lượng.

2.5. Độ hoà tan

Thử theo chuyên luận “*Thử độ hoà tan của viên nén và viên nang*” phụ lục 8.4 ĐĐVNIII.

Độ hòa 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 hòa tan, thời gian thử nghiệm và phần trăm hoạt chất được giải phóng.

Môi trường hòa tan được chỉ dẫn trong từng chuyên luận riêng và phải loại khí trước khi dùng.

Cho một thể tích quy định môi trường hòa tan đã đuổi khí vào bình. Làm ấm môi trường hòa tan đến nhiệt độ khoảng 36,5 - 37,5°C. Nếu không có chỉ dẫn gì khác thì dùng 1 viên nén hay viên nang cho 1 bình trụ hoặc một giỏ quay, thử đồng thời 6 viên.

Tùy theo chỉ dẫn ở chuyên luận riêng mà lấy mẫu ra để thử ở phút thứ 45 hoặc sau những khoảng thời gian quy định, hoặc lấy mẫu ra liên tục. Vị trí hút mẫu ở khoảng giữa bề mặt môi trường hòa tan và mặt trên của giỏ hay cạnh trên của cánh khuấy 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 hòa tan, cũng như trong trường hợp lấy mẫu phân tích một lần, còn các trường hợp khác phải thêm một thể tích môi trường hòa tan bằng thể tích mẫu thử đã lấy ở nhiệt độ 36,5 - 37,5°C (hoặc có thể dùng phép tính hiệu chỉnh). Dịch lọc dùng để xác định phần trăm hoạt chất giải phóng.

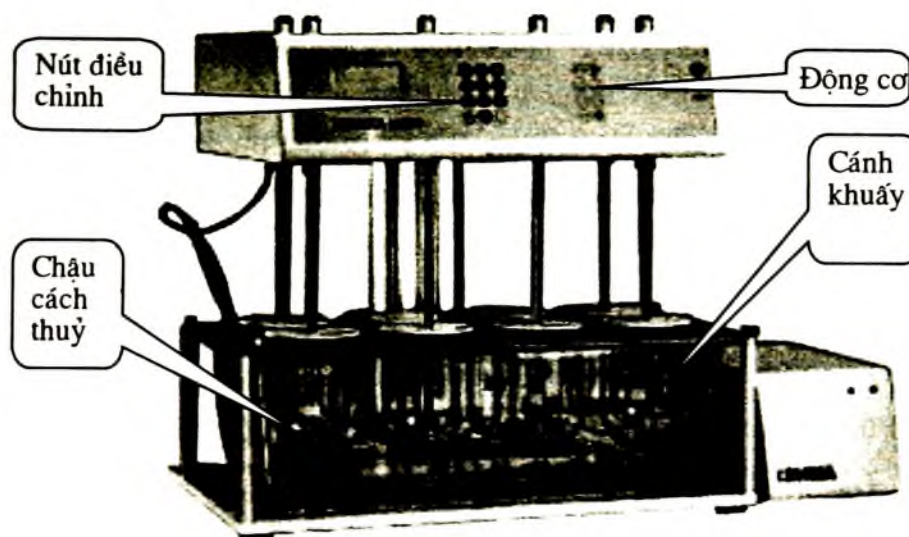
Trong trường hợp mỗi thí nghiệm dùng một viên để thử theo chỉ định, ở mỗi một viên trong 6 viên được thử lượng hoạt chất đi vào dung dịch không được ít hơn 70% lượng hoạt chất quy định, trừ khi có chỉ dẫn khác. Nếu 1 viên không đáp ứng yêu cầu thì phải thử lại 6 viên khác, lần này cả 6 viên phải đạt yêu cầu.

2.6. Định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo chuyên luận riêng

2.7. Bảo quản, ghi nhãn

Thuốc viên nén phải đựng trong bao bì kín, chống ẩm và chống va chạm cơ học. Ghi nhãn theo quy định của Bộ Y tế, nếu là viên bao phải ghi rõ “*Viên bao*”, “*Viên bao phim*”, “*Viên bao tan trong ruột*”.



Hình 9.2: Máy thử độ hoà tan

II. KIỂM NGHIỆM VIÊN NANG (ĐĐVN III, phụ lục 1.11)

1. Khái niệm

Viên nang (Capsulae) 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 người.

Thuốc chứa trong nang có thể ở dạng rắn, lỏng hay dạng kem.

Người ta phân biệt một số loại thuốc nang như sau:

- Thuốc nang cứng
- Thuốc nang mềm
- Thuốc nang tan trong ruột
- Thuốc nang giải phóng hoạt chất đặc biệt.

2. Yêu cầu chất lượng chung

2.1. Hình thức

Bằng cảm quang xác định tính chất của viên nang cứng hoặc viên nang mềm chứa bột hoặc cốm hay chất lỏng.

2.2. Độ đồng đều hàm lượng

Yêu cầu này áp dụng cho các thuốc nang có chứa một hay nhiều hoạt chất, trong đó các hoạt chất có hàm lượng nhỏ hơn 2mg hay nhỏ hơn 2% (kl/kl) so

với khối lượng thuốc trong nang. Yêu cầu này không áp dụng đối với các thuốc có chứa nhiều vitamin và các nguyên tố vi lượng.

Cách xác định theo phụ lục 8.2. ĐĐVN III (giống thuốc viên nén).

2.3. Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 8.3)

Cách thử như đối với viên nén với quy định về độ đồng đều khối lượng cụ thể như sau:

- Viên nang có khối lượng trung bình nhỏ hơn 300mg: % chênh lệch so với khối lượng trung bình là 10%.

- Viên nang có khối lượng trung bình lớn hơn hoặc bằng 300mg: % chênh lệch so với khối lượng trung bình là 7,5%.

2.4. Định tính, định lượng, tạp chất (nếu có)

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

2.5. Độ rã

Cách thử độ rã của thuốc nang như thuốc viên nén được ghi ở phụ lục 8.6.

- Viên nang cứng: Thời gian rã trong vòng 30 phút

- Viên nang mềm: Thời gian rã trong vòng 30 phút

- Viên nang tan trong ruột: Thử độ rã qua 2 giai đoạn

+ Giai đoạn 1: không bị rã sau 2 giờ trong acid hydrocloric 0,1M

+ Giai đoạn 2: rã hết trong vòng 60 phút trong dung dịch đệm phosphat pH = 6,8.

2.6. Bảo quản

Bảo quản trong bao bì thật kín, ở nhiệt độ không quá 30°C.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 3 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Viên nén (Tabellae) là.....(A)..... dùng để uống, nuốt hoặc nhai, có thể hoà vào nước trước khi uống hoặc.....(B).....

A.....

B.....

2. Viên nang (Capsulae) là dạng thuốc uống chứa một hay nhiều.....(A)... trong vỏ nang.....(B)..... với nhiều kiểu dáng và kích thước khác nhau.

A.....

B.....

3. Kể tên 4 loại viên nang thông thường:

A. Thuốc nang cứng

B.

C.

D. Thuốc nang giải phóng hoạt chất đặc biệt

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 4 đến 8 bằng cách đánh dấu √ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
4	Cách thử độ hòa tan và độ rã của thuốc khác nhau.		
5	Thuốc viên nén phải có hàm lượng trong khoảng 85 - 115% hàm lượng trung bình.		
6	Viên nang tan trong ruột phải tan trong môi trường acid hydrochloric trong vòng 60 phút.		
7	Hoạt chất chứa trong viên nang chỉ ở dạng rắn.		
8	Viên nén phải đủ rắn để bảo quản và sử dụng. Không bị gãy, vỡ khi vận chuyển.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 9 đến 10 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

9. Theo anh (chị), thuốc nang tan trong ruột phải đạt chỉ tiêu về độ rã cụ thể:

A. Không bị rã sau 2 giờ trong acid hydrochloric 0,1M

B. Tan hết trong vòng 60 phút trong dung dịch đệm phosphat pH = 6,8

C. Tan hết trong 2 giờ trong acid hydrochloric 0,1M

D. Gồm cả hai yêu cầu A và B

E. Gồm cả hai yêu cầu B và C

10. Theo anh (chị), để thử độ hoà tan của thuốc viên nén, người ta phải làm ấm môi trường hòa tan đến nhiệt độ trong khoảng:

A. 36,5 - 37,5°C.

D. 37°C

B. 30 - 35°C

E. 25°C

C. 35 - 36°C

Bài 10

KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LÔNG: TIÊM, SIRO, NHỎ MẮT, RƯỢU THUỐC

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và phương pháp kiểm nghiệm thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền.
- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và phương pháp kiểm nghiệm siro.
- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và phương pháp kiểm nghiệm thuốc nhỏ mắt.
- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và phương pháp kiểm nghiệm rượu thuốc.

I. KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM, THUỐC TIÊM TRUYỀN

1. Định nghĩa

Kiểm nghiệm thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được ghi trong ĐĐVNIII, phụ lục 1.14. Dựa vào cách sử dụng để chia thành 3 nhóm:

- Thuốc tiêm là các dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương, vô khuẩn, được điều chế bằng cách hòa tan hoặc nhũ hóa, phân tán các hoạt chất và các chất phụ trong nước để pha thuốc tiêm hoặc trong một dung môi vô khuẩn thích hợp.
- Thuốc truyền tĩnh mạch là dung dịch nước hoặc nhũ tương dầu trong nước vô khuẩn, không có chất gây sốt, không có nội độc tố vi khuẩn và thường đẳng trương với máu, không chứa chất bảo quản diệt khuẩn, dùng để tiêm vào tĩnh mạch với thể tích lớn, tốc độ chậm.
- Thuốc tiêm, tiêm truyền dạng bột hoặc dạng dung dịch đậm đặc vô khuẩn (cả những chất đông khô) được đóng thành từng liều vào lọ, ống, túi hoặc dưới dạng viên nén... và khi trộn lẫn với những thể tích quy định của chất lỏng vô khuẩn thích hợp thì trở thành các dung dịch trong không có các tiểu phân lạ hoặc các hỗn dịch đồng nhất.

2. Các yêu cầu chất lượng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được pha chế bằng các phương pháp thích hợp và trong điều kiện chế phẩm phải đảm bảo vô khuẩn.

2.1. Độ trong

Dung dịch để tiêm khi kiểm tra bằng mắt thường ở điều kiện thích hợp phải trong và hầu như không có tạp cơ học.

- Các thuốc tiêm thể tích ít hơn hoặc bằng 5ml: Khi soi 20 ống, không được có quá 2 ống có nhiều nhất 1 vật thể.

- Các thuốc tiêm thể tích lớn hơn 5ml và nhỏ hơn 100ml: Soi 10 ống, không được có quá 1 ống có nhiều nhất 1 vật thể.

- Các thuốc tiêm và truyền tĩnh mạch thể tích từ 100ml trở lên: Soi 3 ống hoặc chai, không được có 1 vật thể nào.

Nhũ tương để tiêm, tiêm truyền không được có dấu hiệu tách lớp. Hỗn dịch để tiêm có thể lắng cặn nhưng phải phân tán ngay khi lắc và giữ được sự đồng đều khi lấy đủ liều thuốc ra khỏi ống.

2.2. Màu sắc

Không có màu hoặc màu do hoạt chất được ghi trong chuyên luận riêng. Thử bằng cảm quan.

2.3. Độ pH

Trung tính hoặc gần trung tính theo chuyên luận riêng.

Cách thử theo ĐĐVN III, phụ lục 5.9.

2.4. Độ vô khuẩn

Phải vô khuẩn. Thử theo ĐĐVN III, phụ lục 10.8.

2.5. Nội độc tố

Thử theo ĐĐVN III, phụ lục 10.3.

Phép thử nội độc tố vi khuẩn thực hiện trong những trường hợp có quy định trong chuyên luận hoặc theo yêu cầu quy định riêng (trừ chỉ dẫn khác).

2.6. Chất gây sốt

Không được có chất gây sốt.

Thử theo ĐĐVN III, phụ lục 10.5.

2.7. Thể tích

* *Phương pháp 1*: Xác định với thuốc tiêm có thể tích không lớn hơn 5ml

Lấy 6 ống: 5 ống để thử, 1 ống để tráng bơm tiêm. Dùng bơm tiêm khô sạch có gắn kim tiêm thích hợp, có dung tích không lớn hơn 2,5 lần so với thể tích cần đo. Lấy thuốc vào bơm tiêm sao cho trong bơm tiêm không có bọt khí và trong kim tiêm vẫn chứa đầy thuốc tiêm. Lần lượt lấy hết thuốc trong từng ống để đo theo cách đó. Kết quả thể tích trung bình của 5 ống phải từ 100 - 115% của thể tích ghi trên nhãn.

** Phương pháp 2: Xác định với thuốc tiêm có thể tích lớn hơn 5ml*

Lấy 4 ống: 3 ống để thử, 1 ống để tráng bơm tiêm. Cách tiến hành thử theo phương pháp 1. Kết quả thể tích trung bình của 3 ống phải từ 100 - 110% của thể tích ghi trên nhãn.

Đối với thuốc tiêm nhiều liều trong 1 lọ thì thể tích phải lớn hơn so với số liều quy định được lấy ra.

** Đối với thuốc tiêm truyền: Lấy 1 chai để thử, dùng bơm tiêm hoặc ống đong khô có thể tích không lớn hơn 2,5 lần so với thể tích cần đo, chuyển toàn bộ dung dịch trong chai vào bơm tiêm hoặc ống đong. Thể tích đo được không được nhỏ hơn thể tích ghi trên nhãn.*

2.8. Định tính, định lượng

Theo chuyên luận riêng.

2.9. Độ đồng đều hàm lượng

Trừ các quy định trong chuyên luận riêng, đối với hỗn dịch để tiêm đóng ống từng liều mà hàm lượng hoạt chất nhỏ hơn 2mg hoặc nhỏ hơn 2% so với khối lượng của toàn bộ thì phải đáp ứng yêu cầu về độ đồng đều hàm lượng được quy định ở phụ lục 8.2.

II. KIỂM NGHIỆM SIRO (ĐĐVN III, phụ lục 1.5)

1. Định nghĩa

Siro (sirupi) là dung dịch đậm đặc của đường trắng (sucrose) trong nước, có chứa các dược chất hoặc các dịch chiết từ dược liệu và các chất thơm.

2. Phương pháp điều chế và yêu cầu chất lượng

- Siro phải chứa không dưới 60% đường trắng.

- Điều chế: Thêm siro đơn vào dịch thuốc, trộn đều để thu được dung dịch có nồng độ hoạt chất quy định như ghi trên nhãn.

- Điều chế siro trong điều kiện sạch, lọc và bảo quản trong chai, lọ và đồ đựng khô sạch.

- Sử dụng chất phụ gia tuân theo quy định của Bộ Y tế.

Yêu cầu chất lượng chung của siro theo các yêu cầu sau:

2.1. Tính chất

Siro phải có màu sắc và mùi vị đúng theo từng chuyên luận, không có mùi lạ, bọt khí hoặc sự biến chất khác trong quá trình bảo quản.

Xác định bằng cảm quan.

2.2. Độ trong

Siro phải đạt độ trong theo chuyên luận.

2.3. pH

Một số chế phẩm có yêu cầu thì pH phải nằm trong giới hạn quy định. Cách thử: Theo ĐĐVN III, phụ lục 5.9.

2.4. Tỷ trọng

Tỷ trọng của chế phẩm phải nằm trong giới hạn quy định theo từng chuyên luận riêng. Thử theo ĐĐVN III, phụ lục 5.15

2.5. Định tính, định lượng

Phải đạt theo quy định trong chuyên luận riêng.

2.6. Sai số lượng đóng gói

Siro đóng gói liều đơn cần được xác định sai số lượng đóng gói.

Lấy 5 đơn vị đóng gói, đổ lượng siro trong từng chai (riêng biệt) vào dụng cụ kiểm tra đã được làm khô, phép thử tiến hành ở nhiệt độ phòng. Không được quá một chai có lượng thuốc ít hơn dưới 95% lượng ghi trên nhãn.

Bảng 10.1: Giới hạn cho phép thể tích siro

Thể tích ghi trên nhãn	% chênh lệch so với thể tích ghi trên nhãn
Tối 100ml	95 - 110
Trên 100 - 250ml	95 - 108
Trên 250ml	95 - 106

2.7. Bảo quản: Siro được đựng trong chai lọ kín, bảo quản nơi mát.

III. KIỂM NGHIỆM THUỐC NHỎ MẮT (ĐĐVN III, phụ lục 1.12)

1. Định nghĩa

Thuốc nhỏ mắt (Collyria) là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch vô khuẩn của một hay nhiều hoạt chất để nhỏ mắt. Khi có yêu cầu, chế phẩm được pha chế ở dạng khô, vô khuẩn để có thể hòa 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 như để điều chỉnh tính đẳng trương hoặc độ nhớt, điều chỉnh hoặc ổn định pH, tăng độ hòa tan của hoạt chất hoặc để ổn định chế phẩm.

Các thuốc nhỏ mắt được điều chế bằng các nguyên liệu và các phương pháp đảm bảo vô khuẩn, tránh bị nhiễm bẩn và các vi khuẩn sinh trưởng.

2. Yêu cầu chất lượng

Thuốc nhỏ mắt thường có các yêu cầu chung sau:

2.1. Độ trong

Thuốc nhỏ mắt dạng dung dịch phải trong suốt, không được có các tiểu phân khi quan sát bằng mắt thường. Thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch có thể lắng đọng, nhưng khi lắc phải phân tán dễ dàng và đồng nhất trong toàn khối.

2.2. 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, dùng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp để xác định.

2.3. pH

Phải nằm trong giới hạn quy định ở mỗi chuyên luận riêng. Thử theo ĐĐVN III, phụ lục 5.9.

2.4. Giới hạn các tiểu phân

Thuốc nhỏ mắt là hỗn dịch phải theo các thử nghiệm sau: Cho một thể tích thích hợp vào cốc đo hoặc ngăn đếm của kính hiển vi. Dùng kính hiển vi quan sát một diện tích tương ứng $10\mu\text{g}$ pha rắn.

Không được có quá 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn $25\mu\text{m}$, không được có quá 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn $50\mu\text{m}$ và không có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn $90\mu\text{m}$.

2.5. Độ vô khuẩn

Tiến hành như mô tả ở phụ lục 10.8

Thuốc nhỏ mắt phải vô khuẩn.

2.6. Định tính, định lượng

Theo chuyên luận riêng.

2.7. Đồ đựng

Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải làm từ vật liệu không ảnh hưởng đến chế phẩm. Các chế phẩm nhiều liều phải được đóng gói trong những đồ đựng cho phép lấy chế phẩm ra nhiều lần liên tiếp. Trừ khi có các chỉ dẫn khác, các đơn vị đóng gói này không chứa quá 10ml.

2.8. Ghi nhãn

Đối với đơn vị đóng gói nhiều liều, nhãn ghi thời gian sử dụng tính từ khi thuốc được sử dụng lần đầu, sau thời gian đó không được dùng thuốc nữa. Thời gian này không quá 4 tuần trừ khi có các chỉ dẫn khác.

Đối với đơn vị đóng gói 1 liều, nhãn ghi tên hoạt chất và nồng độ của nó trong chế phẩm.

IV. KIỂM NGHIỆM RƯỢU THUỐC (ĐĐVN III, phụ lục 1.17)

1. Định nghĩa

Rượu thuốc (Alcoolaturae) 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 (tuỳ theo quy định của từng công thức), rồi gạn lấy rượu thuốc. Hàm lượng ethanol trong rượu thuốc không quá 45%.

2. Phương pháp điều chế

Rượu thuốc có thể điều chế theo một trong hai phương pháp sau:

- Phương pháp ngâm lạnh
- Phương pháp ngâm nóng

Dung môi để ngâm thường dùng rượu trắng hoặc ethanol loãng. Tỷ lệ dung môi và hàm lượng ethanol theo công thức quy định.

3. Yêu cầu chất lượng

3.1. Màu sắc

Đạt yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Cách thử: Lấy 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. Mùi vị

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng.

Thử theo cảm quan.

3.3. Độ trong và độ đồng nhất

Rượu thuốc phải trong, đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có vẩn 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. Thuốc phải trong và đồng nhất. Nếu không đạt yêu cầu, thử lại lần thứ hai với một chai thuốc khác. Lần này không đạt yêu cầu thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.

3.4. Hàm lượng ethanol

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng. Sử dụng phương pháp 1 hoặc phương pháp 2 trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

** Phương pháp 1:*

Tiến hành phương pháp sắc ký khí với các dung dịch:

- Dung dịch 1: Chứa ethanol chuẩn (ethanol tuyệt đối) 5% (tt/tt) và propan 1-ol 5% (tt/tt) (chuẩn nội).
- Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng nước để có một dung dịch chứa ethanol 4,0 - 6,0% (tt/tt).
- Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm chất chuẩn nội để tạo ra nồng độ cuối cùng của chuẩn nội chứa trong dung dịch này là 5,0% (tt/tt).

Quá trình sắc ký có thể thực hiện bằng cách dùng cột (1,5m x 4mm) đã nhồi hạt xốp polyme (100 - 120mesh) với nhiệt độ lò cột đặt ở 150°C, nhiệt độ buồng tiêm và detector ở 170°C.

Tính hàm lượng phần trăm ethanol căn cứ vào các diện tích của pic ethanol trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch 1 và dung dịch 3.

** Phương pháp 2:*

Với những chế phẩm thử mà trong đó theo quy định của chuyên luận riêng đã sử dụng cồn công nghiệp, xác định hàm lượng ethanol giống như phương

pháp 1 nhưng chuẩn bị dung dịch 2 bằng cách hòa loãng một thể tích chế phẩm với nước để tạo một dung dịch có nồng độ tổng cộng của methanol và ethanol từ 4,0 - 6,0%. Xác định hàm lượng methanol bằng cách thực hiện quá trình sắc ký như đã mô tả ở phương pháp 1 nhưng chuẩn bị các dung dịch như sau:

- Dung dịch 1: Chứa methanol chuẩn 0,25% (tt/tt) và propan 1-ol 0,25% (tt/tt) (chuẩn nội).

- Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng nước để có một dung dịch chứa methanol từ 0,2 - 0,3% (tt/tt).

- Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm vừa đủ chất chuẩn nội để có nồng độ cuối cùng của chuẩn nội chứa trong dung dịch này là 0,25%.

Tổng lượng ethanol và methanol phải ở trong giới hạn quy định của chuyên luận riêng và tỷ số giữa lượng methanol và lượng ethanol tìm được phải tương ứng với cồn công nghiệp đã sử dụng.

3.5. Tỷ trọng

Đạt yêu cầu theo quy định trong chuyên luận, được xác định theo phụ lục 5.15.

3.6. Độ lắng cặn

Đạt yêu cầu theo quy định trong từng chuyên luận.

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 chia của ống đong. Mỗi loại rượu phải đạt yêu cầu của tiêu chuẩn đề ra.

Sau khi đọc kết quả, nghiêng ống đong nhẹ để gạn lớp rượu ở trên, lấy lớp cặn ra bát sứ trắng để quan sát. Trong lớp cặn phải không được có bã dược liệu và vật lạ...

3.7. Định tính, định lượng và các chỉ tiêu khác

Đạt yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

3.8. Bảo quản

Rượu thuốc được đựng trong bao bì kín, bảo quản tránh ánh sáng, ở nơi khô mát.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 6 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được pha chế bằng các phương pháp....(A)..... và trong điều kiện chế phẩm phải.....(B).....

A.....

B.....

2. Siro (sirupi) là dung dịch đậm đặc của.....(A)..... trong nước, có chứa các dược chất hoặc các.....(B)..... và các chất thơm.

A.....

B.....

3. Thuốc nhỏ mắt (Collyria) là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch.....(A)..... của một hay nhiều hoạt chất để.....(B).....

A.....

B.....

4. Kể tên hai phương pháp điều chế rượu thuốc thông thường:

A.....

B.....

5. Dung môi để ngâm rượu thuốc thường dùng là:

A.....

B.....

6. Thuốc truyền tĩnh mạch là dung dịch nước hoặc nhũ tương dầu trong nước vô khuẩn, không có.....(A)....., không có nội độc tố vi khuẩn và thường.....(B)....., không chứa chất bảo quản diệt khuẩn, dùng để tiêm vào tĩnh mạch với thể tích lớn, tốc độ chậm.

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 7 đến 15 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
7	Các yêu cầu chất lượng của thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền như nhau.		
8	Thuốc tiêm phải đảm bảo vô trùng.		
9	Nhũ tương để tiêm, tiêm truyền có dấu hiệu tách lớp thì phải lắc kỹ trước khi tiêm.		

10	Hàm lượng đường trong siro phải lớn hơn hoặc bằng 60%.		
11	Thuốc nhỏ mắt không phải thử độ vô trùng.		
12	Rượu thuốc không chứa methanol quá hàm lượng cho phép.		
13	Thể tích siro phải đạt từ 85% - 115% so với thể tích ghi trên nhãn.		
14	Thuốc nhỏ mắt phải không được có quá 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn 25 μm trong 1 thể tích thích hợp của phép thử.		
15	Thuốc tiêm và tiêm truyền phải không có chất gây sốt.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 16 đến 20 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

16. Theo anh (chị), thuốc nhỏ mắt là hỗn dịch, khi xác định giới hạn các tiểu phân trong thuốc nhỏ mắt yêu cầu nào trong các yêu cầu sau không phù hợp:

- A. Ít hơn 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn 25 μm .
- B. Ít hơn 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 50 μm
- C. Không có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn 90 μm
- D. Không có tiểu phân nào nhìn thấy bằng mắt thường
- E. Có 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 90 μm

17. Theo anh (chị), thuốc tiêm truyền không đạt chất lượng khi:

- A. Đảm bảo vô trùng
- B. Không có chất gây sốt
- C. Thể tích đạt 90% so với thể tích trên nhãn
- D. Không có nội độc tố
- E. pH thích hợp

18. Theo anh (chị), thuốc nhỏ mắt không đạt chất lượng khi:

- A. Không vô trùng
- B. pH thích hợp
- C. Giới hạn tiểu phân thích hợp
- D. Đạt độ trong
- E. Đạt về định tính, định lượng

19. Theo anh (chị), các yêu cầu sau, yêu cầu nào không thuộc các yêu cầu chất lượng cần thiết của rượu thuốc:

- A. Màu sắc
- B. Độ trong, độ đồng nhất
- C. Hàm lượng ethanol
- D. Vô trùng
- E. Tỷ lệ lắng cặn

20. Theo anh (chị), độ chênh lệch về thể tích cho phép của chai siro 100ml là:

- A. 95% - 100%
- B. 95% - 106%
- C. 95% - 108%
- D. 95% - 110%
- E. 95% - 115%

Bài 11

KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được định nghĩa thuốc mỡ, phân loại và các yêu cầu chất lượng, phương pháp kiểm nghiệm thuốc mỡ.
- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và phương pháp kiểm nghiệm thuốc mỡ tra mắt.

I. ĐỊNH NGHĨA

Thuốc mỡ (Unguenta) 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 rắn không tan.

Thành phần của thuốc mỡ gồm một hay nhiều hoạt chất, được hòa tan hay phân tán đồng đều trong một tá dược hoặc hỗn hợp tá dược. Tùy theo cách phối hợp và sử dụng tá dược, thuốc mỡ được chia làm 3 loại:

- Thuốc mỡ không thân nước
- Thuốc mỡ thân nước (thuốc gel)
- Thuốc mỡ nhũ hóa nước (thuốc kem).

Thuốc kem bôi da có thể chất mềm và mịn màng do sử dụng các tá dược nhũ tương dầu/nước (D/N) hoặc nước/dầu (N/D).

Các tá dược thường dùng trong bào chế thuốc mỡ như: Sáp ong, dầu thực vật, mỡ động vật, parafin rắn, các acid béo cao, alcol béo cao, glycerid bán tổng hợp, polyalkylsiloxan, carboxymethyl cellulose natri, polyethylen glycol, alcol cetylic, gelatin...

Để bào chế thuốc mỡ, các hoạt chất được hòa tan thành dung dịch hoặc phân tán thành hỗn dịch hay nhũ dịch trong các tá dược thích hợp. Hoạt chất ở dạng rắn hay bột tinh thể phải được nghiền thành bột mịn rồi mới trộn vào tá dược.

II. YÊU CẦU CHẤT LƯỢNG

1. Tính chất

Thử bằng cảm quan.

Thuốc mỡ phải mịn, đồng nhất, không được có mùi lạ, không biến màu, không cứng lại hoặc tách lớp ở điều kiện thường, không được chảy lỏng ở nhiệt độ 37°C và phải bắt dính được trên da hay niêm mạc khi bôi.

2. Độ đồng nhất

Các tiểu phân phải phân tán đồng đều.

Cách thử độ đồng nhất của thuốc mỡ: 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 thứ hai và ép mạnh cho đến khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường (cách mắt khoảng 30cm), ở 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phân. Nếu có các tiểu phân thì 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 phân cho phép nhận thấy, không được vượt quá 2 tiêu bản.

3. Độ đồng đều khối lượng

Thuốc mỡ phải đạt yêu cầu về độ đồng đều về khối lượng theo bảng 11.1.

Bảng 11.1: Quy định biến thiên khối lượng của thuốc mỡ, cao xoa

TT	Khối lượng ghi trên nhãn	% chênh lệch so với khối lượng ghi trên nhãn
1	Dưới 10,0 g	± 15
2	Từ 10,0g - 20,0g	± 10
3	Trên 20,0g - 50,0g	± 8
4	Trên 50,0g	± 5

Cách thử: Cân từng đơn vị trong số 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất được lấy bất kỳ. Tất cả các đơn vị phải đạt quy định trong bảng 10.1. Nếu có 1 đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài quy định này thì phải thử lại với 5 đơn vị khác, nếu lần thử lại có quá 1 đơn vị không đạt thì lô thuốc không đạt yêu cầu.

Đối với các chế phẩm đóng gói trong hộp hoặc 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.

4. Định tính

Theo quy định riêng trong chuyên luận riêng.

5. Định lượng

Theo quy định riêng trong chuyên luận riêng.

Hàm lượng hoạt chất trong thuốc mỡ phải nằm trong giới hạn quy định ở bảng 11.2.

Bảng 11.2: Giới hạn hàm lượng cho phép đối với thuốc mỡ

TT	Nồng độ hàm lượng ghi trên nhãn	% chênh lệch so với hàm lượng ghi trên nhãn
1	Tối 200mg	$\pm 15\%$
2	Trên 200mg - 1g	$\pm 10\%$
3	Trên 1g - 5g	$\pm 7,5\%$
4	Trên 5g	$\pm 3\%$

III. KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ TRA MẮT

Thuốc mỡ tra mắt phải đạt các yêu cầu của thuốc mỡ và những yêu cầu riêng của thuốc mỡ tra mắt được quy định trong DĐVN III, phụ lục 1.10.

1. Độ vô khuẩn

Thử theo DĐVN III, phụ lục 10.8.

Thuốc mỡ tra mắt phải vô khuẩn và không được phát hiện thấy có *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Các phân tử kim loại

Trừ trường hợp có chỉ dẫn riêng, cách thử được tiến hành như sau:

Lấy 10 ống thuốc, bóp hết thuốc chứa bên trong vào từng đĩa petri riêng có đường kính 6cm, đáy bằng, không có vết xước và các phân tử lạ nhìn thấy được. Đậy đĩa, đun nóng đến 80 - 85°C trong 2 giờ và để cho thuốc mỡ phân tán đồng đều. Làm nguội cho thuốc mỡ đông lại, lật ngược mỗi đĩa đặt lên bản soi của kính hiển vi thích hợp. Chiếu sáng từ trên xuống bằng một đèn chiếu thích hợp đặt ở góc 45° so với mặt phẳng của bản soi. Quan sát và đếm các phân tử kim loại sáng bóng, lớn hơn 50µm ở bất kỳ kích thước nào.

Kết quả: Không được có quá một ống trong 10 ống thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phân tử và không được quá 50 phân 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 phân tử trong mỗi ống và tổng số không quá 150 phân tử trong 30 ống thử.

3. Giới hạn kích thước phân tử

Trải một lượng nhỏ chế phẩm thành một lớp mỏng trên bản soi của kính hiển vi, phủ phiến kính lên trên và soi.

Yêu cầu: Không được có phân tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn 75µm.

4. Bảo quản

Thuốc mỡ phải đựng trong hộp, lọ hay ống có nắp hoặc nút kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Tự lượng giá

*** Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 3 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:**

1. Thuốc mỡ (Unguenta) là dạng thuốc có thể chất.....(A)....., dùng để bôi.....(B)..... nhằm bảo vệ da hoặc đưa thuốc thấm qua da.

A.....

B.....

2. Thuốc mỡ phải mịn, đồng nhất, không được có mùi lạ, không biến màu, không cứng lại hoặc tách lớp ở điều kiện thường, không được chảy lỏng ở.....(A)... và phải.....(B)..... trên da hay niêm mạc khi bôi.

A.....

B.....

3. Thuốc mỡ tra mắt phải.....(A)..... và không được.....(B).....

Staphylococcus aureus và *Pseudomonas aeruginosa*.

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 4 đến 8 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
4	Thuốc mỡ phải thử độ đồng nhất.		
5	Thuốc mỡ tra mắt phải thử các phân tử kim loại trong thuốc.		
6	Thuốc mỡ phải chảy lỏng ở 37°C.		
7	Thuốc mỡ không được tách lớp ở điều kiện thường.		

* Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 9 đến 10 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:

8. Theo anh (chị), thuốc mỡ có hàm lượng trên 5g, thì% chênh lệch so với hàm lượng ghi trên nhãn là:

A. $\pm 3\%$

D. $\pm 10\%$

B. $\pm 5\%$

E. $\pm 15\%$

C. $\pm 7\%$

9. Theo anh (chị), giới hạn kích thước phân tử trong thuốc mỡ phải đạt yêu cầu không được có phần tử nào của thuốc có kích thước:

A. Lớn hơn 50 μm

D. Lớn hơn 90 μm

B. Nhỏ hơn 75 μm

E. Nhỏ hơn 90 μm

C. Lớn hơn 75 μm

10. Theo anh (chị), thuốc mỡ có khối lượng dưới 10g/ 1 đơn vị đóng gói, thì% chênh lệch so với khối lượng ghi trên nhãn là:

A. $\pm 15\%$

D. $\pm 7\%$

B. $\pm 10\%$

E. $\pm 5\%$

C. $\pm 8\%$

Bài 12

KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và cách kiểm nghiệm cao thuốc.
- Trình bày được các yêu cầu chất lượng và cách kiểm nghiệm thuốc hoàn.

I. CAO THUỐC

1. Định nghĩa

Cao thuốc (Extracta) 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.

Tùy theo thể chất, cao thuốc được chia thành 3 loại:

- Cao lỏng: Có thể chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu dùng để điều chế cao. Nếu không có chỉ dẫn khác thì theo quy ước 1ml cao lỏng tương ứng với 1g dược liệu dùng chế cao thuốc.
- Cao đặc: Là một khối đặc quánh có hàm lượng dung môi dùng để chiết xuất còn lại trong cao không quá 20%.
- Cao khô: Là một khối hoặc bột khô, đồng nhất nhưng rất dễ hút ẩm. Cao khô có độ ẩm không được lớn hơn 5%.

2. Yêu cầu chất lượng

Đạt yêu cầu chuyên luận riêng và các yêu cầu chung sau:

2.1. Cao lỏng

* *Độ tan*: Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã dùng để điều chế cao.

* *Độ trong, độ đồng đều và màu sắc*: Cao lỏng phải có màu sắc đúng màu đã mô tả trong chuyên luận riêng, phải đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã được liệu và vật lạ.

Cách thử: 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 để 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 2 với chai thuốc khác. Nếu vẫn không đạt coi như lô thuốc không đạt chỉ tiêu này.

2.2. Cao đặc, cao khô

Tiến hành xác định độ mất khối lượng nước do làm khô theo DDVN III, phụ lục 5.16.

- Cao đặc: Mất khối lượng do làm khô không quá 20%
- Cao khô: Mất khối lượng do làm khô không quá 5%.

2.3. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành theo quy định trong phụ lục 10.7, chế phẩm phải đạt yêu cầu:

- Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được 5.10^4 trong 1g (ml).
- Nấm và mốc không quá 500 trong 1g (ml)
- Tổng số Enterobacteria không quá 500 trong 1g (ml)
- Mẫu không có *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

2.4. Bảo quản

Cao thuốc được đựng trong bao bì, để nơi thoáng mát, khô ráo, nhiệt độ ít thay đổi.

II. KIỂM NGHIỆM THUỐC HOÀN

1. Định nghĩa

Thuốc hoàn là dạng thuốc rắn hình cầu mềm hoặc cứng, khối lượng có thể thay đổi thường từ 4mg đến 12g. 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.

2. Yêu cầu chất lượng

2.1. Hình thức

Hoàn phải tròn, đều, đồng nhất về hình dáng và màu sắc. Hoàn mềm mại, ong phải mịn, trơn bóng, nhuyển, dẻo với độ cứng thích hợp.

2.2. Độ ẩm

Tiến hành xác định độ mất khối lượng nước do làm khô theo DDVN III, phụ lục 5.16.

- Hoàn mềm mại ong không được chứa nhiều hơn 15% nước.
- Hoàn mại ong nước (hoàn cứng) không được chứa nhiều hơn 12% nước.
- Hoàn nước, hoàn hồ (hoàn cứng) không được chứa nhiều hơn 9% nước.

2.3. Độ rã

Phương pháp thử độ rã chỉ áp dụng cho hoàn cứng, theo quy định trong phụ lục 8.6 “*Thử độ rã của viên nén và viên nang*”.

Độ rã không quá 1 giờ cho các loại hoàn, riêng hoàn hồ được phép rã không quá 2 giờ.

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 viên hoàn, xác định khối lượng trung bình của 1 hoàn. Cân riêng rẽ từng hoàn và so sánh với khối lượng trung bình hoàn. Sự chênh lệch khối lượng của từng hoàn phải nằm trong giới hạn sai số cho phép ở bảng 12.1. Không được có quá 2 hoàn vượt giới hạn cho phép. Không được có hoàn nào vượt gấp đôi giới hạn sai số cho phép.

Bảng 12.1: Giới hạn sai số cho phép của viên hoàn

TT	Khối lượng trung bình của 1 hoàn	Giới hạn sai số cho phép
1	Từ 0,05g đến 1,5g	$\pm 12\%$
2	Trên 1,5g đến 5g	$\pm 10\%$
3	Trên 5g đến 9g	$\pm 7\%$
4	Trên 9g	$\pm 5\%$

** 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 1 phần. Khối lượng của từng phần so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn sai số quy định ở bảng 12.2. Không được có quá 2 phần vượt quá giới hạn sai số cho phép. Không được có phần nào vượt gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 12.2: Giới hạn sai số cho phép của 1 phần hoàn

TT	Khối lượng trung bình của 1 phần hoàn	Giới hạn sai số cho phép
1	Từ 0,05g đến 0,1g	$\pm 12\%$
2	Trên 0,1g đến 1g	$\pm 10\%$
3	Trên 1g	$\pm 7\%$

** 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, sai số giữa khối lượng cân được và khối lượng quy định trên nhãn phải trong giới hạn sai số quy định ở bảng 12.3. Không quá 2 đơn vị đóng gói vượt quá giới hạn sai số cho phép và không có đơn vị đóng gói nào vượt gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 12.3: Giới hạn sai số cho phép của 1 đơn vị đóng gói hoàn

TT	Khối lượng theo nhãn của đơn vị đóng gói	Giới hạn sai số cho phép
1	Từ 0,5g trở xuống	$\pm 12\%$
2	Trên 0,5g đến 1g	$\pm 11\%$
3	Trên 1g đến 2g	$\pm 10\%$
4	Trên 2g đến 3g	$\pm 8\%$
5	Trên 3g đến 6g	$\pm 6\%$
6	Trên 6g đến 9g	$\pm 5\%$
7	Trên 9g	$\pm 4\%$

2.5. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành theo quy định trong phụ lục 10.7, chế phẩm phải đạt yêu cầu như đối với cao thuốc.

2.6. Định tính, định lượng và các chỉ tiêu khác

Đạt yêu cầu trong chuyên luận riêng.

2.7. Độc tính bất thường

Thử độc tính bất thường được xác định bằng cách theo dõi số chuột bạch sống và chết trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột uống một liều thuốc. Nếu không có con chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu có con chuột nào chết, phải lập lại thử nghiệm với 10 con chuột khác, mỗi con nặng 19 ± 1 g. Sau 48 giờ phải không có con chuột nào chết.

Tự lượng giá

* Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 3 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:

1. Cao thuốc (Extracta) là chế phẩm điều chế bằng cách.....(A).... đến thể chất quy định các.....(B)..... thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

A.....

B.....

2. Tùy theo thể chất, cao thuốc được chia thành 3 loại:

A.....

B. Cao đặc

C.....

3. Thuốc hoàn là dạng thuốc rắn.....(A)..... mềm hoặc cứng, khối lượng có thể thay đổi thường từ.....(B).....

A.....

B.....

* Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 4 đến 7 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:

TT	Nội dung	Đ	S
4	Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã dùng để điều chế cao.		
5	Cao khô chứa lượng nước không quá 5%.		

6	Viên hoàn là thuốc đông y nên không cần thử độ rã như viên nén.		
7	Phải xác định độc tính bất thường của viên hoàn trước khi lưu hành.		

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

8. Theo anh (chị), cao đặc có hàm lượng dung môi dùng để chiết xuất còn lại trong cao không quá:

- A. 30%
- B. 20%
- C. 10%
- D. 8%
- E. 5%

9. Theo anh (chị), thử độc tính bất thường của thuốc hoàn được xác định bằng cách theo dõi số chuột bạch sống và chết trong thời gian bao lâu sau khi cho chuột uống một liều thuốc trên:

- A. 12 giờ
- B. 24 giờ
- C. 48 giờ
- D. 72 giờ
- E. 1 tuần

10. Theo anh (chị), hoàn mềm mật ong không được chứa lượng nước:

- A. Nhiều hơn 5%
- B. Nhiều hơn 8%
- C. Nhiều hơn 10%
- D. Nhiều hơn 15%
- E. Nhiều hơn 20%

Bài 13

KIỂM NGHIỆM THUỐC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC

Mục tiêu học tập:

- Trình bày được nguyên tắc và cách tiến hành thử độc tính bất thường.
- Trình bày được nguyên tắc và cách tiến hành thử chất gây sốt.
- Trình bày được nguyên tắc, chuẩn bị môi trường và cách tiến hành thử độ vô khuẩn.

I. THỬ ĐỘC TÍNH BẤT THƯỜNG (ĐĐVN III, phụ lục 10.6)

1. Nguyên tắc

Độc tính bất thường của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột bạch sống và chết trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường tiêm hay đường uống.

Thí nghiệm này thường được áp dụng cho các thuốc đông được có được liều độc như ô đầu, phụ tử... hay các chế phẩm đông được mới.

2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhất trắng khoẻ mạnh, cân nặng 18 - 22 gam, chưa dùng vào thí nghiệm, nếu là chuột cái phải không được có thai hoặc đang cho con bú, được chăn nuôi trong điều kiện bình thường.

3. Pha dung dịch thử

Nếu không có hướng dẫn gì khác, hoà tan chất thử trong dung dịch NaCl 0,9% hoặc nước cất tiệt để được dung dịch có nồng độ quy định trong từng chuyên luận.

4. Tiến hành thử

Dùng 5 con chuột, cho mỗi con 0,5ml dung dịch thử bằng một trong những đường dùng sau:

- Tiêm tĩnh mạch: Tiêm vào tĩnh mạch đuôi của mỗi con chuột với tốc độ hằng định trong 15 - 30 giây.
- Tiêm trong màng bụng: Tiêm qua lớp da bụng vào thẳng hốc bụng của chuột.
- Tiêm dưới da: Tiêm dưới da vào một chỗ ở lưng hoặc bụng.
- Uống: Cho uống bằng một kim cong đầu tù hoặc một dụng cụ khác thích hợp, phải đảm bảo đưa thuốc vào trong thực quản hoặc dạ dày của con chuột.

5. Đánh giá kết quả

Nếu không có hướng dẫn gì khác thì quan sát chuột 48 giờ sau khi dùng thuốc:

- Nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu không gây độc tính bất thường.
- Nếu có một hay nhiều con chuột chết, phải làm lại thử nghiệm với 10 con chuột khác, mỗi con có thể trọng là $19 \pm 1g$. Sau 48 giờ, nếu không có con chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu không gây độc tính bất thường.

II. THỬ CHẤT GÂY SỐT (ĐĐVN III, phụ lục 10.5)

1. Nguyên tắc

Thử chất gây sốt là phương pháp sinh học dùng để đánh giá chất lượng mẫu thử dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch dung dịch của mẫu thử.

Các dung dịch tiêm truyền yêu cầu bắt buộc phải thử chất gây sốt. Các thuốc tiêm có thể tích từ 15ml trở lên cũng phải thử chất gây sốt.

2. Động vật thí nghiệm

Dùng thỏ khỏe mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái không mang thai, cân nặng từ 1,5kg trở lên và 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 14 ngày nếu lần thử trước dương tính.

Thỏ được nuôi dưỡng riêng trong chuồng bằng thức ăn tổng hợp không có chất kháng sinh. Nhà nuôi thỏ phải sạch sẽ, thoáng, yên tĩnh, có nhiệt độ ổn định và chênh lệch với nhiệt độ phòng thí nghiệm không quá $\pm 3^{\circ}C$.

3. 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 tối thiểu 5cm và tối thiểu phải 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 thủy tinh, bơm kim tiêm phải rửa sạch, tráng nước cất và loại các chất gây sốt bằng cách sấy ở 250°C trong 30 phút hoặc 200°C trong 60 phút.

4. Tiến hành

1 - 3 ngày trước ngày tiêm mẫu thử phải kiểm tra sơ bộ với những thỏ đạt tiêu chuẩn.

Thí nghiệm được tiến hành ở nơi yên tĩnh, tránh các yếu tố gây kích động. Độ ẩm và nhiệt độ 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. 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 2 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 $38 - 39,8^{\circ}\text{C}$ mới dùng để tiêm mẫu.

Mỗi mẫu thử được tiêm cho một nhóm 3 thỏ có nhiệt độ khác nhau không quá 1°C . Đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng 30 phút 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 các dung dịch nhược trương thì phải đẳng trương bằng NaCl 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 lên 38°C . Thời gian tiêm cho một thỏ không kéo dài quá 4 phút.

Trường hợp dùng các thiết bị đo nhiệt độ có cài đặt chương trình, giữ nhiệt kế trong trực tràng thỏ trong suốt thời gian thí nghiệm. Đọc nhiệt độ của thỏ ở những khoảng thời gian cách nhau ít nhất 30 phút.

5. Đánh giá kết quả

Đáp ứng của thử là hiệu số của nhiệt độ tối đa sau khi tiêm mẫu thử và nhiệt độ ban đầu.

- Nếu không thử nào có đáp ứng bằng hoặc lớn hơn $0,6^{\circ}\text{C}$ và nếu tổng số đáp ứng của 3 thử không vượt quá $1,4^{\circ}\text{C}$ thì mẫu thử đạt yêu cầu về thử chất gây sốt.

- Nếu 1 thử trở lên có đáp ứng bằng hoặc lớn hơn $0,6^{\circ}\text{C}$ hoặc nếu tổng số đáp ứng của 3 thử lớn hơn $1,4^{\circ}\text{C}$ thì phải làm lại thí nghiệm trên 5 thử khác.

- Nếu không quá 3 trong số 8 thử của 2 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.

III. THỬ VÔ KHUẨN (ĐĐVN III, phụ lục 10.8)

1. Quy định chung

Kỹ thuật này áp dụng để thử vô khuẩn nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn, nấm mốc và nấm men trong các nguyên liệu chế phẩm và dụng cụ mà theo tiêu chuẩn riêng cần phải vô khuẩn.

Thử vô khuẩn phải được tiến hành trong buồng hoặc trong lồng kính thổi khí vô khuẩn để tránh ô nhiễm. Trong quá trình thử, mẫu không được tiếp xúc với các tác nhân có ảnh hưởng đến vi khuẩn, nấm mốc, nấm men như: Tia tử ngoại, chất sát trùng, nhiệt độ cao...

Các dụng cụ, dung môi, môi trường nuôi cấy phải được diệt khuẩn trước khi dùng.

2. Nguyên tắc

Nếu vi khuẩn, nấm mốc, nấm men được cấy vào môi trường có chất dinh dưỡng và nước, được giữ ở điều kiện nhiệt độ thích hợp thì chúng sẽ phát triển. Sự có mặt của chúng làm cho môi trường biến đổi trạng thái từ trong sang đục, hoặc có cặn lắng ở đáy môi trường hoặc thay đổi màu sắc môi trường...

Trên môi trường đặc, vi khuẩn, vi nấm có thể mọc thành các khuẩn lạc đặc trưng.

3. Chuẩn bị môi trường

3.1. Môi trường để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí

* *Môi trường Thioglycolat có thạch*: Dùng cho thử nghiệm những chế phẩm lỏng và trong.

- Thành phần:

L - Cystin	0,50g
Natri clorid	2,50g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6$)	5,50g
Thạch bột (có độ ẩm nhỏ hơn 15%)	0,75g
Cao men bia (có khả năng tan trong nước)	5,00g
Natri thioglycolat (hoặc acid thioglycolat)	0,50g
Resazurin (dung dịch 1% mới pha)	10ml
Nước cất	1.000ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

- Tiến hành: Trộn tất cả các thành phần theo thứ tự đã ghi ở trên (trừ resazurin và thioglycolat) trong cối nghiền, thêm vào một ít nước nóng, trộn kỹ, chuyển sang dụng cụ thích hợp. Thêm số nước còn lại, đun hỗn hợp cách thủy cho sôi đến khi tạo thành dung dịch trong. Thêm natri thioglycolat, dùng dung dịch natri hydroxyd 1N để điều chỉnh sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH = $7,1 \pm 0,2$. Đun nóng lại dung dịch (tránh đun sôi), lọc qua giấy lọc đã thấm ướt, thêm dung dịch resazurin trộn đều. Đóng vào các ống nghiệm (hoặc bình) thích hợp. Đem hấp vô khuẩn ở $121^{\circ}C$ trong 18 - 20 phút. Lấy ra làm nguội nhanh tới $25^{\circ}C$, tiếp tục bảo quản ở nhiệt độ $20 - 30^{\circ}C$, tránh ánh sáng.

* *Môi trường Thioglycolat không có thạch*: Dùng cho thử nghiệm những chế phẩm đặc hoặc sền sệt dạng cao.

- Thành phần:

L - Cystin	0,50g
Natri clorid	2,50g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6$)	5,50g
Cao men bia (có khả năng tan trong nước)	5,00g
Casein pancreatic	15,0g
Natri thioglycolat (hoặc acid thioglycolat)	0,50g
Resazurin (dung dịch 1% mới pha)	10ml
Nước cất	1.000ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

- Tiến hành: Cho tất cả các thành phần trên vào một dụng cụ thích hợp, đun cách thủy, khuấy đều đến khi thành dung dịch. Dùng natri hydroxyd 1N

điều chỉnh để cho pH sau khi tiệt khuẩn đạt $7,1 \pm 0,2$, có thể lọc (nếu cần). Phân chia vào các ống nghiệm (hoặc bình) thích hợp. Hấp tiệt khuẩn ở 121°C trong 18 - 20 phút. Sau khi tiệt khuẩn, đem làm nguội nhanh tới 25°C , môi trường không được đun nóng trở lại.

3.2. Môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc

Môi trường Soybean - casein

- Thành phần:

Casein pancreatic	17,0g
Bột papaic soybean	3,0g
Natri clorid	5,0g
Dinatri hydrophosphat (Na_2HPO_4)	2,5g
Dextrose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	2,5g
Nước cất	1.000ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,3 \pm 0,2$

- Tiến hành: Hòa tan tất cả các chất rắn trong nước, đun nóng nhẹ để cho tan hoàn toàn. Để nguội ở nhiệt độ phòng. Dùng dung dịch natri hydroxyd 0,1N để điều chỉnh cho đến pH sau khi tiệt khuẩn đạt $7,3 \pm 0,2$. Lọc (nếu cần) để cho môi trường trong. Phân chia vào những dụng cụ thích hợp, hấp tiệt khuẩn ở 121°C trong 20 phút.

4. Chuẩn bị dung môi để pha loãng

Khi những chế phẩm thử không ở dạng dung dịch lỏng, cần hòa loãng bằng dung môi thích hợp để thử nghiệm. Thường dùng các dung môi sau:

- Dung môi A: Hòa tan 1g pepton vào nước cho vừa đủ 1 lít. Lọc (hoặc ly tâm) cho trong. Điều chỉnh pH trong khoảng $7,1 \pm 0,2$. Đựng vào nhiều bình, mỗi bình khoảng 100ml. Hấp ở 121°C trong 18 - 20 phút.

- Dung môi B: Chuẩn bị như dung môi A, nhưng thêm 1ml polysorbat 80 cho 1 lít dung môi. Dung môi B dùng để pha loãng những chế phẩm thử có lecithin.

5. Kỹ thuật thử

Có thể thực hiện theo một trong hai phương pháp sau:

5.1. Phương pháp dùng màng lọc

Các dụng cụ thí nghiệm phải đảm bảo vô khuẩn, màng lọc thường dùng loại có đường kính lỗ lọc khoản $0,2 - 0,45\mu\text{m}$.

Dùng dung môi A để thấm ướt màng lọc. Rót lên màng lọc một lượng chế phẩm cần thử với thể tích theo quy định ở bảng 13.1. Dùng máy hút chân không để rút ngắn thời gian lọc. Rửa màng lọc ít nhất 3 lần, mỗi lần dùng 100ml dung môi thích hợp, vô khuẩn. Lấy màng lọc ra và cắt màng lọc thành 2 phần. Nhúng chìm mỗi phần vào một loại môi trường thích hợp. Nếu không có chỉ dẫn gì trong chuyên luận riêng, ủ môi trường ở nhiệt độ thích hợp ít nhất 7 ngày (môi trường thyoglycolat ở 30 - 35°C, môi trường soybean - casein ở 20 - 25°C).

Bảng 13.1: Lượng chế phẩm cần lấy cho một lần thử theo phương pháp màng lọc

TT	Loại mẫu thử	Lượng tối thiểu chế phẩm cần lấy
1	Dung dịch thuốc tiêm có chứa trong một đơn vị đóng gói: - Dưới 1ml - Từ 1ml đến dưới 4ml - Từ 4ml đến dưới 20ml - Từ 20ml đến 100ml - Trên 100ml	Toàn bộ một đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói 2ml 2 - 10ml 1/2 đơn vị đóng gói
2	Dung dịch thuốc nhỏ mắt và các chế phẩm lỏng không dùng để tiêm	5 - 10ml của dung dịch đã hòa loãng đến 10 lần (tt/tt) bằng dung môi thích hợp.
3	Những chế phẩm là chất rắn, dịch treo, nhũ dịch, kem hoặc thuốc mỡ.	0,5 - 1g chế phẩm đã được hòa loãng thành dung dịch với tỷ lệ 1% (kl/tt) bằng dung môi thích hợp.

5.2. Phương pháp nuôi cấy trực tiếp

Dùng bơm tiêm hoặc pipet lấy chế phẩm cấy vào các môi trường với lượng chế phẩm cần dùng được quy định ở bảng 13.2.

Nếu chế phẩm thử là rắn thì cấy trực tiếp vào môi trường và chú ý lắc để chế phẩm phân tán đều trong môi trường.

Nếu không có chỉ dẫn riêng thì ủ môi trường phát hiện vi khuẩn ở 30 - 35°C, ủ môi trường phát hiện nấm mốc ở 20 - 25°C, thời gian ít nhất 14 ngày. Thường xuyên theo dõi môi trường đã cấy.

Nếu chế phẩm làm đục môi trường, để có thể dễ dàng quan sát sự mọc của vi khuẩn, sau khi ủ môi trường 3 - 7 ngày nên chuyển một phần nhỏ môi trường này sang một loạt môi trường mới cùng loại. Tiếp tục ủ các ống môi trường đã cấy lại ít nhất 7 ngày.

Bảng 13.2: Lượng chế phẩm cần dùng để thử nghiệm theo phương pháp cấy trực tiếp

TT	Loại mẫu thử	Lượng tối thiểu chế phẩm cần lấy	Thể tích tối thiểu môi trường cần lấy	Ghi chú
1	Chế phẩm là chất lỏng chứa trong một đơn vị đóng gói: - Dưới 1ml - Từ 1ml đến 5ml - Từ 5ml đến 20ml - Từ 20ml đến 50ml - Từ 50ml đến 100ml	Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói 2ml 5ml 10ml	15ml 15ml 20ml 40ml 80ml	Nếu chế phẩm là dầu hay dung dịch dầu phải thêm vào môi trường 1% polyethoxy - ethanol hoặc 1% polysorbat để nhũ hóa.
2	Chế phẩm là chất rắn, thuốc mỡ hay kem chứa trong một đơn vị đóng gói: - Dưới 50mg - Từ 50mg đến 200mg - Lớn hơn 200mg	Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói 100mg	40ml 80m; 80ml	Nếu mẫu thử là thuốc mỡ hay kem thì cần hòa loãng với dung môi B theo tỷ lệ 1/10 (kl/tt) trước khi cấy.

6. Đánh giá kết quả

Trong suốt thời gian ủ, hàng ngày phải quan sát các môi trường đã cấy màng lọc hoặc chế phẩm.

- Nếu không có vi khuẩn, nấm mốc mọc trong suốt thời gian quy định, chế phẩm được coi là đạt tiêu chuẩn vô khuẩn.

- Nếu có từ 1 trở lên trong số các môi trường nuôi cấy, có vi khuẩn hoặc nấm mốc mọc, cần phải:

+ Rà soát lại quy trình thử

+ Thử lại các chế phẩm nghi ngờ

+ Giữ lại các môi trường có vi khuẩn, nấm mốc mọc. Tiến hành phân lập, so sánh vi khuẩn hoặc nấm mốc đã mọc ở môi trường cũ. Nếu trên tiêu bản phân lập, vi khuẩn hoặc nấm mốc khác biệt so với lần thí nghiệm đầu tiên, cần thực hiện phép thử lặp lại với số lượng mẫu gấp đôi. Nếu không phát hiện thấy vi khuẩn hoặc nấm mốc, chế phẩm được coi là đạt tiêu chuẩn vô khuẩn. Nếu vẫn thấy vi khuẩn hoặc nấm mốc mọc lại ở lần lặp lại này, chế phẩm được coi là không đạt tiêu chuẩn vô khuẩn.

Tự lượng giá

*** Trả lời ngắn các câu hỏi từ 1 đến 6 bằng cách điền từ hoặc cụm từ vào chỗ trống:**

1. Độ tính bất thường của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột nhất trắng.....(A)..... trong thời gian.....(B)..... sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường tiêm hay đường uống.

A.....

B.....

2. Kể 4 cách đưa thuốc vào cơ thể chuột nhất trắng trong phép thử độ tính bất thường của thuốc:

A. Tiêm tĩnh mạch

B.....

C.....

D. Uống

3. Thử chất gây sốt là phương pháp sinh học dùng để đánh giá chất lượng mẫu thử dựa trên....(A)..... của thỏ sau khi tiêm.....(B)..... dung dịch của mẫu thử.

A.....

B.....

4. Thử vô khuẩn nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn,.....(A)..... trong các nguyên liệu chế phẩm và dụng cụ mà theo tiêu chuẩn riêng cần phải.....(B)....

A.....

B.....

5. Kể tên 2 môi trường để phát hiện vi khuẩn kỵ khí thường dùng đã học trong bài:

A.....

B.....

6. Kể tên 2 phương pháp cấy vi khuẩn, nấm vào môi trường thử trong phép thử độ vô khuẩn đã học trong chương trình:

A.....

B.....

*** Phân biệt đúng, sai cho các câu hỏi từ 7 đến 15 bằng cách đánh dấu ✓ vào cột Đ cho câu đúng, cột S cho câu sai:**

TT	Nội dung	Đ	S
7	Các chế phẩm đông được có chứa phụ tử phải thử độc tính bất thường.		
8	Thuốc tiêm truyền phải thử chất gây sốt.		
9	Tất cả các con thử đã thử chất gây sốt 1 lần thì không được sử dụng lại để thử chất gây sốt.		
10	Trong ngày tiêm mẫu thử chất gây sốt, phải để thử ổn định trong phòng thí nghiệm ít nhất 90 phút trước khi tiêm.		
11	Thử chất gây sốt bằng cách tiêm vào bắp thử dung dịch mẫu thử.		
12	Môi trường thử độ vô khuẩn của thuốc phải tuyệt đối vô trùng.		
13	Môi trường Thioglycolat có thạch phải đảm bảo pH sau khi tiệt khuẩn: $7,5 \pm 0,2$		
14	Trên môi trường đặc, vi khuẩn, vi nấm có thể mọc thành các khuẩn lạc đặc trưng.		
15	Nhiệt độ ủ môi trường phát hiện nấm mốc từ 20 - 25°C.		

*** Chọn câu trả lời đúng nhất cho các câu hỏi từ 16 đến 20 bằng cách khoanh tròn vào chữ cái đầu câu được chọn:**

16. Theo anh (chị), chuột bạch dùng trong thử nghiệm độc tính bất thường phải không được có yêu cầu nào trong các yêu cầu dưới đây:

- A. Khoẻ mạnh
- B. Cân nặng 18 - 22 gam
- C. Không được có thai
- D. Không đang cho con bú
- E. Chăn nuôi trong điều kiện đặc biệt

17. Theo anh (chị), thỏ dùng trong thử chất gây sốt phải không được có yêu cầu nào trong các yêu cầu sau:

- A. Mới thử chất gây sốt 1 ngày nhưng âm tính
- B. Dùng thỏ khoẻ mạnh
- B. Thỏ trưởng thành
- C. Không mang thai
- D. Cân nặng từ 1,5 kg trở lên
- E. Chưa dùng vào thí nghiệm khác

18. Theo anh (chị), nếu không có chỉ dẫn riêng thì phải ủ môi trường phát hiện vi khuẩn trong thử độ vô khuẩn ở:

- A. 15 - 20°C
- B. 20 - 25°C
- C. 25 - 30°C
- D. 30 - 35°C
- E. 40 - 50°C

19. Chỉ dùng những thỏ để tiêm mẫu có nhiệt độ chênh lệch giữa hai lần đo không quá 0,2°C và nhiệt độ ban đầu trong khoảng:

- A. 35 - 36,8°C
- B. 36 - 37,5°C
- C. 37 - 38,5°C
- D. 38 - 39,8°C
- E. 39 - 40°C

20. Theo anh (chị), mỗi mẫu thử chất gây sốt được tiêm cho một nhóm 3 thỏ có nhiệt độ khác nhau không quá 1°C và đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng:

- A. 10 phút trong 5 giờ sau khi tiêm
- B. 20 phút trong 5 giờ sau khi tiêm
- C. 30 phút trong 3 giờ sau khi tiêm
- D. 10 phút trong 3 giờ sau khi tiêm
- E. 20 phút trong 3 giờ sau khi tiêm

ĐÁP ÁN

BÀI 1: ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

1. A. Tính chất đặc trưng
B. Mức độ phù hợp
2. B. Thực hành tốt kiểm nghiệm (GLP)
C. Thực hành tốt bảo quản (GSP).
3. A. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc
B. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc
4. A. Lần xuất bản
B. Phủ nhận
5. S 6. Đ 7. Đ 8. S
9. Đ 10. Đ 11. D 12. E
13. C 14. C 15. B

BÀI 2: CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM

1. A. Kiểm nghiệm
B. Tiêu chuẩn quy định
2. A. Sản phẩm
B. Một lần
3. A. Mẫu ban đầu
B. Trộn đều
4. A. Ban đầu
B. Lưu lại
5. A. Pháp lý hành chính
B. Số phận
6. A. Phòng thí nghiệm cấp I
B. Phòng thí nghiệm cấp II
7. A. Lấy mẫu kiểm nghiệm đạt chất lượng
B. Thực hành phân tích, đánh giá kết quả tốt

7. Đ	8. Đ	9. S	10. Đ
11. S	12. Đ	13. Đ	14. S
15. Đ	16. S	17. S	18. Đ
19. Đ	20. Đ	21. C	22. D
23. E	24. C	25. B	

BÀI 3: CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

1. A. Đồng nhất
B. Đúng
2. A. Tính chất
B. Chất cần thử
3. A. Dung môi, hoá chất....
B. Thử độ tinh khiết
4. A. Phù hợp
B. Độ đúng
5. A. Da cam methyl
D. Quỳ
6. B. Dung dịch acid acetic x M
D. Acid acetic khan

7. Đ	8. Đ	9. S	10. Đ
11. Đ	12. S	13. Đ	14. S
15. S	16. D	17. C	18. E
19. B	20. E		

BÀI 4: CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DỤNG CỤ

1. A. Thuận
B. Ánh sáng truyền qua
2. A. Phản xạ (I_p)
B. Hấp thụ (I_h)
3. C. Dung dịch phải trong suốt
D. Chất thử phải bền

4. A. Hấp thụ
B. Các số sóng
 5. A. Năng lượng
B. Trạng thái dao động
 6. A. Hoá lý
B. Hỗn hợp
 7. A. Đưa hỗn hợp lên pha tĩnh
B. Cho pha động chạy qua pha tĩnh
 8. B. Sắc ký lớp mỏng
C. Sắc ký giấy
 9. A. Tốc độ di chuyển của các chất
D. Thời gian phân tích
 10. A. Các hạt bột mịn
B. Pha tĩnh
 11. A. Phun dung dịch hiện màu
B. Soi đèn tử ngoại
 12. A. Cho kết quả nhanh
B. Tách tốt nhiều hỗn hợp phức tạp
 13. A. Quang phổ hấp thụ UV-VIS
B. Quang phổ hồng ngoại
- | | | | |
|-------|-------|-------|-------|
| 14. Đ | 15. S | 16. Đ | 17. S |
| 18. Đ | 19. Đ | 20. S | 21. S |
| 22. S | 23. Đ | 24. Đ | 25. S |
| 26. Đ | 27. S | 28. C | 29. D |
| 30. A | 31. E | 32. A | 33. D |
| 34. E | 35. B | 36. A | 37. D |
| 38. D | 39. E | 40. E | |

BÀI 5: CÁC XÁC ĐỊNH CƠ BẢN TRONG KIỂM NGHIỆM

1. A. Sự giảm khối lượng
B. Điều kiện xác định

2. A. Lượng nước ẩm
B. Lượng nước kết tinh
3. A. Giống như nước cất
B. dung môi
4. Đ 5. S 6. S 7. Đ
8. Đ 9. E 10. D

BÀI 6: PHƯƠNG PHÁP CHUNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ VẬT LÝ

1. A. Ion hydrogen
B. Dung dịch nước
2. A. Khoảng nhiệt độ
B. Nóng chảy
3. A. Hạt chất rắn cuối cùng
B. Trạng thái lỏng
4. A. Lực ma sát nội tại
B. Các lớp phân tử
5. A. Tỷ số
B. Nước cất
6. A. Một đơn vị thể tích
B. Nhiệt độ t
7. Đ 8. Đ 9. S 10. Đ
11. S 12. Đ 13. Đ 14. S
15. C 16. B 17. E 18. B
19. B 20. E

BÀI 7: XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ DƯỢC LIỆU

1. A. Ngoài quy định
B. Các bộ phận khác
2. A. Dược điển Việt Nam III
B. 14 chất

3. A. Số lượng tạp chất tính bằng gam
B. Số lượng mẫu thử tính bằng gam
4. A. Lọt qua rây
B. Dược liệu đem cân
5. Đ 6. Đ 7. S 8. Đ
9. S 10. Đ 11. S 12. D
13. A 14. A 15. C

BÀI 8: KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT, THUỐC CỐM

1. A. Thuốc rắn
B. Hoạt chất
2. A. Thuốc bột
B. Độ tan
3. A. Độ vô khuẩn
B. Độ mịn
4. Đ 5. S 6. Đ 7. S
8. A 9. D 10. B

BÀI 9: KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN, VIÊN NANG

1. A. Chế phẩm rắn
B. Ngậm trong miệng
2. A. Hoạt chất
B. Cứng hay mềm
3. B. Thuốc nang mềm
C. Thuốc nang tan trong ruột
4. Đ 5. Đ 6. S 7. S
8. Đ 9. D 10. A

BÀI 10: KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LÔNG: TIÊM, SIRO, NHỎ MẮT, RƯỢU THUỐC

1. A. Thích hợp
B. Đảm bảo vô khuẩn

2. A. Đường trắng (sucrose)
B. Dịch chiết từ dược liệu
3. A. Vô khuẩn
B. Nhỏ mắt
4. A. Phương pháp ngâm lạnh
B. Phương pháp ngâm nóng
5. A. Rượu trắng
B. Ethanol loãng
6. A. Chất gây sốt
B. Đồng tương với máu
7. S
8. Đ
11. S
12. Đ
15. Đ
16. E
19. D
20. D

9. S
10. Đ
13. S
14. Đ
17. C
18. A

BÀI 11: KIỂM NGHIỆM THUỐC MỖ

1. A. Mềm
B. Lên da hay niêm mạc
2. A. Nhiệt độ 37°C
B. Bất dính được
3. A. Vô khuẩn
B. Phát hiện thấy có
4. Đ
5. Đ
6. S
7. Đ
8. A
9. C
10. A

BÀI 12: KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC

1. A. Cô hoặc sấy
B. Dịch chiết
2. A. Cao loãng
C. Cao khô
3. A. Hình cầu
B. 4mg đến 12g

- | | | | |
|------|------|-------|------|
| 4. Đ | 5. Đ | 6. S | 7. Đ |
| 8. B | 9. C | 10. D | |

BÀI 13: KIỂM NGHIỆM THUỐC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC

1. A. Sống và chết
B. 48 giờ
2. B. Tiêm trong màng bụng
C. Tiêm dưới da
3. A. Sự tăng thân nhiệt
B. Tĩnh mạch
4. A. Nấm mốc và nấm men
B. Vô khuẩn
5. A. Thioglycolat có thạch
B. Thioglycolat không có thạch
6. A. Dùng màng lọc
B. Nuôi cấy trực tiếp

- | | | | |
|-------|-------|-------|-------|
| 7. Đ | 8. Đ | 9. S | 10. Đ |
| 11. S | 12. Đ | 13. S | 14. Đ |
| 15. Đ | 16. E | 17. A | 18. D |
| 19. D | 20. C | | |

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Dược điển Việt Nam III*, Bộ Y tế, 2002.
2. *Giáo trình Lý thuyết kiểm nghiệm thuốc*, Lớp Dược sĩ trung học, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh - Khoa Dược, Bộ môn Hóa phân tích - Kiểm nghiệm, Thành phố Hồ Chí Minh, 2002 - 2003.
3. *Hóa phân tích tập II*, Trường Đại học Dược Hà Nội, Bộ môn Phân tích, 2002.
4. *Kiểm nghiệm thuốc*, Trường Đại học Dược Hà Nội, Bộ môn Phân tích, 2004.

MỤC LỤC

<i>Lời giới thiệu</i>	3
<i>Lời nói đầu</i>	5
<i>Bài mở đầu</i>	7
Bài 1: ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM.....	9
Bài 2: CÔNG TÁC KIỂM NGHIỆM THUỐC VÀ MỸ PHẨM	22
Bài 3: CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM.	36
Bài 4: CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DỤNG CỤ.	47
Bài 5: CÁC XÁC ĐỊNH CƠ BẢN TRONG KIỂM NGHIỆM.....	68
Bài 6: PHƯƠNG PHÁP CHUNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ VẬT LÝ	73
Bài 7: XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU.....	83
Bài 8: KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT, THUỐC CỐM	92
Bài 9: KIỂM NGHIỆM VIÊN NÉN, VIÊN NANG	99
Bài 10: KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LỎNG: TIÊM, SIRO, NHỎ MẮT, RƯỢU THUỐC	106
Bài 11: KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ	116
Bài 12: KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC	121
Bài 13: KIỂM NGHIỆM THUỐC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC	127
<i>Đáp án</i>	138
<i>Tài liệu tham khảo</i>	145

NHÀ XUẤT BẢN HÀ NỘI
SỐ 4 - TỔNG DUY TÂN, QUẬN HOÀN KIẾM, HÀ NỘI
ĐT: (04) 8252916, 8257063 - FAX: (04) 9289143

GIÁO TRÌNH
KIỂM NGHIỆM THUỐC
NHÀ XUẤT BẢN HÀ NỘI - 2007

Chịu trách nhiệm xuất bản:

NGUYỄN KHẮC OÁNH

Biên tập:

HOÀNG CHÂU MINH

Bìa:

PHAN ANH TÚ

Kỹ thuật vi tính:

THU YẾN

Sửa bản in:

CHÂU MINH - CHÍ CƯỜNG

In 600 cuốn, khổ 17x24cm tại Công ty cổ phần in Cầu Giấy. Quyết định xuất bản số: 160 - 2007/CXB/458GT - 27/HN. Số 313/CXB cấp ngày 02/3/2007. In xong và nộp lưu chiểu quý III/2007.