TRƯỜNG TRUNG CẤP QUỐC TẾ MEKONG

GIÁO TRÌNH
MÔN HỌC: LÝ THUYẾT KIỂM NGHIỆM THUỐC

NGÀNH: DƯỢC SĨ

TRÌNH ĐỘ TRUNG CẤP

Ban hành kèm theo Quyết định số…… /2022/QĐ-TCQTMK ngày … tháng … năm 2022 của Hiệu trưởng Trường Trung cấp Quốc tế Mekong

Thành phố Cần Thơ, năm 2022

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Để việc dạy và học ngày càng nâng cao chất lượng và giúp cho học sinh ngành Dược nói chung được nắm bắt kiến thức về đánh giá *chất lượng thuốc* trên cơ sở lý thuyết môn học **KIỂM NGHIỆM THUỐC**. Chính vì lý do đó **Bộ Môn Hóa Phân Tích – Kiểm Nghiệm** của Trường TC Y Dược MeKong tổ chức biên soạn cuốn sách **LÝ THUYẾT KIỂM NGHIỆM THUỐC** được biên soạn dựa trên chương trình khung đào tạo Dược Sĩ Trung Cấp và chương trình giáo dục nghề nghiệp cho việc đào tạo trung cấp ngành y tế, đã được phê duyệt của Bộ Y Tế. Với kiến thức thực tiễn và sự cập nhập các tiến bộ khoa học, kỹ thuật, thực tiễn ở Việt nam. Bộ Môn hy vọng cuốn sách này sẽ mang lại cho các bạn học sinh những kiến thức cơ bản, hệ thống, khoa học. Sách được biên soạn dựa trên các dược điển và giáo trình như : Dược Điển Viện Nam IV (DĐVN IV) do Bộ Y Tế ban hành năm 2009, Giáo Trình Kiểm Nghiệm Thuốc của Trường Đại Học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, Giáo Trình Kiểm Nghiệm Thuốc của Nhà Xuất Bản Giáo Dục Việt Nam (CN. Trần Tích - Chủ biên), DƯỢC ĐIỂN ANH (British Pharmacopoeia 2010). DƯỢC ĐIỂN MỸ (USP 32)….

Giáo trình dù được biên soạn với nhiều cố gắng nhưng không tránh khỏi những thiếu sót, rất mong được sự góp ý để sách này được hoàn thiện hơn. Cảm ơn!

Cần Thơ, ngày tháng năm 2022

Tham gia biên soạn:

1. ThS. Nguyễn Ngọc Trâm
2. Cử nhân hóa. Ngô Thị Tường Vy

MỤC LỤC

BÀI 1: ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC, MỸ PHẨM 4
BÀI 2: CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HÓA VÀ KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN 11
BÀI 3: PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU, TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM 21
BÀI 4: DUNG DỊCH CHUẨN, DUNG DỊCH ION MẪU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM 33
BÀI 6: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP ĐO LƯỜNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ LÝ HỌC 56
BÀI 7: XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU 65
BÀI 8: KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT VÀ THUỐC CỐM 70
BÀI 9: KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG VÀ VIÊN NÉN 81
BÀI 10: KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LỎNG 95
BÀI 11: KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ, THUỐC KEM 109
BÀI 12: KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC 116
BÀI 13: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC TRONG KIỂM NGHIỆM THUỐC 124
TÀI LIỆU THAM KHẢO 140

GIÁO TRÌNH MÔN HỌC

Tên môn học: KIỂM NGHIỆM THUỐC

Mã môn học: MH19

Thời gian thực hiện: 60 giờ (Lý thuyết: 28 giờ; Thực hành: 29 giờ; Kiểm tra: 03 giờ)

I.Vị trí, tính chất môn học

– Vị trí: Thuộc một phần nội dung chuyên ngành dược, được xếp giảng dạy sau khi xong cơ sở ngành.

– Tính chất: Là môn học bắt buộc.

II. Mục tiêu

– Về kiến thức: Trình bày được những nguyên tắc chung và một số phương pháp kiểm nghiệm thuốc được ghi trong DĐVN; Liệt kê được các nhiệm vụ của công tác kiểm tra chất lượng thuốc.

– Về kỹ năng: Thực hiện được việc kiểm nghiệm một số nguyên liệu và các dạng thuốc thông dụng.

– Về năng lực tự chủ và trách nhiệm: Rèn luyện tác phong thận trọng, chính xác, trung thực trong hoạt động nghề nghiệp.

III. Nội dung môn học

Nội dung tổng quát và phân bố thời gian

Số TT	Tên chương, mục	Thời gian (giờ)			
		Tổng số	Lý thuyết	Thực hành	Kiểm tra
1	Bài 1: Công tác kiểm tra chất lượng thuốc- mỹ phẩm	4	4		
2	Bài 2: Giới thiệu đại cương kiểm tra chất lượng. Hệ thống KTCL - GLP VÀ KN thuốc bột - thuốc cốm	10	10		
3	Bài 3: Kiểm nghiệm viên nang- viên nén	6	6		
4	Bài 4: KN các dung dịch dạng lỏng như thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, nhỏ mũi. KN thuốc kem- thuốc mỡ.	9	8		1
5	Bài 1: KN dung dịch Povidon 10%	5		5	

Số TT	Tên chương, mục	Thời gian (giờ)			
		Tổng số	Lý thuyết	Thực hành	Kiểm tra
6	Bài 2: KN dung dịch Oxy già 3%	5		5	
7	Bài 3: KN viên nén NABICA 450mg	5		5	
8	Bài 4: KN viên nang ACETYLCYSTEIN 200mg	5		5	
9	Bài 5: KN viên nang Diệp Hạ Châu	5		5	
10	Bài 6: KN kem bôi da CLOTRIMAZOLE 1%	6		4	2
	Cộng	**60**	**28**	**29**	**3**

IV. Điều kiện thực hiện môn học

1. Phòng học chuyên môn hóa/ nhà xưởng: Phòng học lý thuyết, thực hành.

2. Trang thiết bị máy móc: Máy vi tính, máy chiếu.

3. Học liệu, dụng cụ, nguyên vật liệu: Sile bài giảng, tài liệu, bảng, phấn viết.

4. Các điều kiện khác: Mạng Internet.

V. Nội dung và phương pháp, đánh giá

1. Nội dung

– Về kiến thức: Trình bày được những nguyên tắc chung và một số phương pháp kiểm nghiệm thuốc được ghi trong DĐVN; Liệt kê được các nhiệm vụ của công tác kiểm tra chất lượng thuốc.

– Về kỹ năng: Thực hiện được việc kiểm nghiệm một số nguyên liệu và các dạng thuốc thông dụng.

– Về năng lực tự chủ và trách nhiệm: Rèn luyện tác phong thận trọng, chính xác, trung thực trong hoạt động nghề nghiệp.

2. Phương pháp

– Kiểm tra thường xuyên: 01 điểm kiểm tra hệ số.

– Kiểm tra định kỳ: 01 điểm kiểm tra.

– Thi kết thúc môn học: Bài kiểm tra viết, sử dụng câu hỏi truyền thống cải tiến và câu hỏi thi trắc nghiệm.

VI. Hướng dẫn thực hiện môn học

1. Phạm vi áp dụng môn học

Chương trình môn học được sử dụng để giảng dạy cho trình độ Trung cấp.

2. Hướng dẫn về phương pháp giảng dạy, học tập môn học

– Đối với giáo viên, giảng viên:

+ Sử dụng các trang thiết bị và hình ảnh để minh họa trực quan trong giờ học.

+ Môn học đi sâu vào kỹ năng, sau mỗi bài học học sinh cần có bài tập về nhà để vận dụng kiến thức vào thực tiễn.

– Đối với người học: Người học cần chủ động nghiên cứu tài liệu, hoàn thành bài tập được giao và luyện tập ngoài giờ.

3. Những trọng tâm chương trình cần chú ý

Người dạy cần bám sát nội dung của chương trình chi tiết và thực tế tình hình diễn ra trong suốt quá trình giảng dạy để xác định những nội dung chính.

4. Tài liệu tham khảo

– Giáo trình môn kiểm nghiệm thuốc của Trường biên soạn.

– Giáo trình môn kiểm nghiệm thuốc của khoa dược – ĐHYD tp HCM.

– Giáo trình môn kỹ thuật kiểm nghiệm thuốc của Viện kiểm nghiệm và trường TH Dược - Bộ Y tế.

– Kỹ thuật kiểm nghiệm thuốc, NXB Y học, 1972.

BÀI 1: ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC, MỸ PHẨM

MỤC TIÊU

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

NỘI DUNG

1. CHẤT LƯỢNG VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

1.1. Thuốc và yêu cầu chất lượng

1.1.1. Khái niệm về thuốc:

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

- Phòng bệnh, chữa bệnh
- Phục hồi, điều chỉnh chức năng của cơ thể
- Làm giảm triệu chứng bệnh
- Chẩn đoán bệnh
- Phục hồi hoặc nâng cao sức khỏe
- Làm mất cảm giác 1 bộ phận hay toàn thân
- Làm ảnh hưởng quá trình sinh sản
- Làm thay đổi hình dáng cơ thể

1.1.2. Chất lượng thuốc và yêu cầu chất lượng:

Chất lượng thuốc là tổng hợp các tính chất đặc trưng của thuốc được thể hiện ở một mức độ phù hợp với những yêu cầu kỹ thuật đã được định trước trong điều kiện xác định về kinh tế, kỹ thuật xã hội…nhằm đảm bảo cho thuốc đó đạt các mục tiêu sau:

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

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

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

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

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

- Thực hành tốt sản xuất thuốc (Good Manufacture Practice – GMP)
- Thực hành tốt kiểm nghiệm (Good Laboratory Practice – GLP)
- Thực hành tốt lưu trữ (Good Storage Practice – GSP)

1.1.2.1. Thực hành sản xuất thuốc tốt: là những qui định chặt chẽ và chi tiết về mọi mặt của quá trình sản xuất gồm có:

- Tổ chức và nhân sự
- Cơ sở, nhà xưởng
- Thiết bị
- Vệ sinh
- Nguyên liệu ban đầu
- Thao tác sản xuất
- Dán nhãn và đóng gói
- Hệ thống kiểm tra chất lượng
- Tự thanh tra
- Hồ sơ sản xuất và phân phối
- Các khiếu nại và báo cáo tai biến dùng thuốc

1.1.2.2.Thực hành kiểm nghiệm thuốc tốt:

Mục đích cơ bản của GLP là nhằm xây dựng một đơn vị làm công tác kiểm nghiệm đáp ứng đầy đủ mọi yêu cầu của công tác kiểm tra chất lượng thuốc đề ra, để đảm bảo rằng kết quả các phép phân tích thu được có tính chọn lọc cao, chính xác và đúng đắn, có tính pháp lý. Vì vậy, phải tuân thủ những quy định chặt chẽ và được chuẩn hóa cho một cơ sở kiểm nghiệm về các mặt:

- Tổ chức và nhân sự
- Hệ thống chất lượng
- Cơ sở vật chất
- Thiết bị phân tích và hiệu chỉnh thiết bị phân tích
- Thuốc thử và chất đối chiếu
- Tiêu chuẩn chất lượng và phương pháp phân tích
- Mẫu thử
- Thử nghiệm và đánh giá kết quả
- Hồ sơ, tài liệu
- An toàn trong phòng thí nghiệm

1.1.2.3. Thực hành bảo quản thuốc tốt: là những qui định chặt chẽ và nghiêm ngặt cho việc bảo quản nguyên phụ liệu, bao bì, chế phẩm, nhãn thuốc…gồm có:

- Tổ chức và nhân sự
- Nhà kho và phương tiện bảo quản tốt
- Vệ sinh
- Các quy trình bảo quản
- Thuốc trả về
- Gửi hàng (vận chuyển bằng cách gửi hàng)
- Hồ sơ tài liệu

1.1.3. Kiểm tra chất lượng thuốc:

1.1.3.1. Khái niệm:

- Kiểm tra chất lượng thuốc còn gọi là kiểm nghiệm thuốc là tiến hành các phương pháp phân tích để xác định xem MẪU THỬ - THUỐC có đạt tiêu chuẩn qui định không.

Tất cả thuốc và nguyên phụ liệu làm thuốc điều phải được kiểm tra chất lượng, chỉ khi đạt tiêu chuẩn chất lượng mới được pha chế sản xuất và lưu hành.

Vậy kiểm tra chất lượng thuốc là việc sử dụng các phương pháp phân tích: lý học, hóa học, hóa lý, sinh vật…đã quy định để xác nhận một thuốc hay một nguyên liệu có đạt tiêu chuẩn quy định hay không. Kiểm tra chất lượng thuốc nhằm trả lời các câu hỏi:

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

1.1.3.2. Mục tiêu cơ bản của kiểm tra chất lượng:

- Để người sử dụng được dùng thuốc đảm bảo chất lượng, đạt hiệu quả sử dụng cao.
- Phát hiện thuốc giả, thuốc kém chất lượng, thuốc không đạt tiêu chuẩn để xử lý và không cho phép lưu hành trên thị trường.

1.1.3.3. Phân biệt thuốc đạt, không đạt tiêu chuẩn, thuốc kém phẩm chất, thuốc giả:

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

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

- Thuốc kém phẩm chất là thuốc không đạt tiêu chuẩn kỹ thuật mà trước đó nó đã đạt. Các nguyên nhân có thể là:

+ Nguyên phụ liệu không đạt tiêu chuẩn
+ Do tác động của môi trường: nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm…
+ Kỹ thuật sản xuất, bảo quản không đúng, nên thuốc tự biến chất
+ Bao gói không đạt tiêu chuẩn, nên đã đưa tạp chất vào thuốc
+ Hạn dùng đã hết

- Thuốc giả mạo là những sản phẩm được sản xuất dưới dạng thuốc với ý đồ lừa đảo, thuộc một trong những trường hợp sau:

+ Không có hoạt chất
+ Có dược chất nhưng không đúng hàm lượng đăng ký
+ Có dược chất khác với dược chất ghi trên nhãn
+ Mạo tên, kiểu dáng công nghiệp của thuốc đã đăng ký bảo hộ sở hữu công nghiệp của cơ sở sản xuất khác.

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

Nhà nước giao cho Bộ y tế chịu trách nhiệm quản lý toàn diện chất lượng thuốc. Vì vậy hệ thống tổ chức, quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc của ngành y tế

được chia làm 3 phần: hệ thống quản lý chất lượng thuốc, hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc, hệ thống thanh tra dược.

2.1. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc:

***2.1.1. Cục quản lý dược Việt Nam*:**

Là cơ quan được Bộ y tế ủy quyền thực hiện các nhiệm vụ trong lĩnh vực quản lý nhà nước về chất lượng thuốc.

- Xây dựng quy hoạch về quản lý chất lượng thuốc và tổ chức kế hoạch đã được phê duyệt
- Xây dựng các văn bản pháp quy về tiêu chuẩn và chất lượng thuốc để Bộ ban hành, hướng dẫn kiểm tra việc thực hiện các văn bản trên
- Quản lý việc đăng ký tiêu chuẩn cơ sở. Cung cấp thông tin khoa học kỹ thuật
- Chỉ đạo, giám sát hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc trên toàn quốc
- Kiểm tra và cấp giấy chứng nhận đạt tiêu chuẩn "GSP","GLP".
- Bồi dưỡng nghiệp vụ về quản lý chất lượng thuốc, về tiêu chuẩn – đo lường – chất lượng thuốc.
- Phối hợp với ban thanh tra Bộ y tế thực hiện việc thanh tra và xử lý vi phạm.

***2.1.1. Cơ quan quản lý Nhà Nước về chất lượng thuốc ở địa phương*:**

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

- Phổ biến, hướng dẫn và tổ chức thực hiện các văn bản pháp luật tại địa phương.
- Thực hiện chức năng kiểm tra, thanh tra nhà nước về chất lượng thuốc và xử lý vi phạm về chất lượng thuốc trong phạm vi địa phương

2.2. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc:

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

Ở Trung ương là Viện Kiểm Nghiệm Thuốc Quốc Gia (Hà Nội) và Viện Kiểm Nghiệm (TP.HCM): giúp Bộ Y Tế quản lý công tác kiểm tra chất lượng thuốc toàn quốc về mặt kỹ thuật. Có nhiệm vụ:

- Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn Việt Nam về thuốc
- Kiểm tra xác định chất lượng thuốc lưu hành trên thị trường
- Thẩm tra kỹ thuật, giúp Bộ xét duyệt các tiêu chuẩn kiểm nghiệm để xét cấp đăng ký sản xuất và lưu hành thuốc ở Việt Nam
- Phát hành các chất chuẩn và chất đối chiếu dùng trong kiểm nghiệm
- Làm trọng tài về chất lượng khi có tranh chấp khiếu nại về chất lượng thuốc.
- Tham gia đào tạo cán bộ làm công tác kiểm nghiệm
- Tư vấn về chính sách chất lượng quốc gia
- Xây dựng tiêu chuẩn phòng kiểm nghiệm thuốc đạt tiêu chuẩn và giúp đỡ, kiểm tra công nhận các phòng kiểm nghiệm thuốc trong cả nước.
- Kiểm tra việc kiểm nghiệm thuốc theo tiêu chuẩn trong phạm vi toàn quốc

Ở tỉnh thành phố trực thuộc Trung ương là Trung Tâm Kiểm Nghiệm Dược phẩm Mỹ phẩm. Đó là cơ quan trực thuộc Sở y tế, có nhiệm vụ như Viện Kiểm Nghiệm nhưng giới hạn trong phạm vi tỉnh, thành phố.

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

Phải được thực hiện ở tất cả các cơ sở có liên quan đến thuốc. Tùy qui mô lớn hay nhỏ mà lập phòng kiểm nghiệm hoặc tổ kiểm nghiệm.

- Với cơ sở sản xuất, bộ phận tự kiểm tra chất lượng phải có khả năng:

+ Kiểm nghiệm, theo dõi được chất lượng của thuốc trong suốt quá trình sản xuất từ nguyên liệu, bán thành phẩm, thành phẩm.

+ Lập hồ sơ theo dõi từng lô sản xuất.

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

- Với các bệnh viện: phải có bộ phận kiểm nghiệm các thuốc tự pha chế, kiểm tra, kiểm soát chất lượng thuốc.

2.3. Hệ thống thanh tra dược:

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

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1: Thuốc là những sản phẩm có nguồn gốc từ:

a. Động vật, thực vật
b. Động vật, thực vật, vi sinh vật
c. Động vật, thực vật, khoáng vật
d. Động vật, thực vật nhưng chủ yếu là từ thực vật

Câu 2: Chất lượng của một thuốc là:

a. Tổng hợp các tính chất đặc trưng của thuốc đó được thể hiện ở 1 mức độ phù hợp những yêu cầu kĩ thuật đã định trước tùy theo điều kiện xác định về kinh tế, xã hội, kỹ thuật.
b. Tổng hợp các tính chất đặc trưng của thuốc đó được thể hiện ở 1 mức độ phù hợp nhu cầu người tiêu dùng tùy theo điều kiện xác định về kinh tế, xã hội, kỹ thuật.
c. Tổng hợp các đặc tính quan trọng của thuốc đó được thể hiện ở 1 mức độ phù hợp những yêu cầu kĩ thuật đã định trước tùy theo điều kiện xác định về kinh tế, xã hội, kỹ thuật.
d. Cả 3 đều đúng

Câu 3: Thuốc được xem là đạt chất lượng khi:

a. Chứa đúng thành phần đăng kí
b. Chứa đúng hàm lượng đã đăng kí
c. Có độ tinh khiết đạt yêu cầu quy định
d. Đáp ứng đúng nhu cầu người dùng

Câu 4: GLP là:

a. Good Laboratory Pharmacy
b. Good laboratoty Practice
c. Good Laboratoried Pharmacy
d. Good Laboratoried Practice

Câu 5: Thuốc đạt chất lượng khi đảm bảo toàn diện:

a. 5P: GLP, GPP, GSP, GMP, GDP
b. 4P: GLP, GSP, GPP, GDP
c. 5P: GLP, GDP, GKP, GMP, GOP
d. Chỉ cần đạt GPP giúp người tiêu dùng có lựa chọn tốt đẹp nhất

Câu 6: Công tác kiểm tra chất lượng thuốc nhằm trả lời các câu hỏi nào?

Câu 6: Một thuốc đạt tất cả yêu cầu kĩ thuật tiêu chuẩn đã đề ra trước đó, nhưng sau 3 tháng (chưa hết hạn sử dụng) thì một trong các chỉ tiêu không đạt, thuốc bị biến chất. Vậy thuốc gọi là:

a. Thuốc đạt tiêu chuẩn
b. Thuốc không đạt tiêu chuẩn
c. Thuốc giả
d. Thuốc kém phẩm chất

Câu 7: Thuốc X có hoạt chất paracetamol với hàm lượng ghi thấp hơn trên nhãn, có thể nói X là:

a. Thuốc đạt tiêu chuẩn
b. Thuốc không đạt tiêu chuẩn
c. Thuốc giả
d. Thuốc kém phẩm chất

Câu 8: Một thuốc Y ghi trên nhãn có 3 thành phần, nhưng khi kiểm tra thấy có 1 thành phần không đăng kí, vậy Y là:

a. Thuốc đạt tiêu chuẩn
b. Thuốc không đạt tiêu chuẩn
c. Thuốc giả
d. Thuốc kém phẩm chất

Câu 9: Trung tâm kiểm nghiệm thuốc, mỹ phẩm thành phố Cần Thơ thuộc:

a. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc ở địa phương
b. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc trung ương
c. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc địa phương
d. Hệ thống thanh tra dược

Câu 10: Sở Y tế thành phố cần thơ thuộc:

a. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc ở địa phương
b. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc trung ương
c. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc địa phương
d. Hệ thống thanh tra dược

Câu 11: Trung tâm kiểm nghiệm thuốc, mỹ phẩm thành phố Hồ Chí Minh thuộc:

a. Hệ thống quản lý chất lượng thuốc ở địa phương
b. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc trung ương
c. Hệ thống kiểm tra chất lượng thuốc địa phương
d. Hệ thống thanh tra dược

Câu 12: Vì sao thuốc cần được kiểm tra chất lượng một cách chặt chẽ

Câu 13: Viết nguyên từ:

GLP:
GMP:
GDP:
GPP
GSP:

Câu 14: Nêu 4 nguyên nhân làm thuốc kém phẩm chất

Câu 15: Hệ thống quản lý, kiểm tra chất lượng thuốc gồm mấy bộ phận. Kể ra

BÀI 2: CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HÓA VÀ KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN

MỤC TIÊU

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

NỘI DUNG

1. CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HÓA

1.1. Khái niệm

1.1.1. Một số định nghĩa

Tiêu chuẩn hóa là một lĩnh vực hoạt động bao gồm hai nội dung: xây dựng các tiêu chuẩn và áp dụng các tiêu chuẩn đó trong thực tế nhằm đưa các hoạt động xã hội đi vào nếp để đạt được hiệu quả chung có lợi nhất cho mọi người và xã hội.

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

1.1.2. Đối tượng của công tác tiêu chuẩn hóa

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

1.1.3. Các cấp tiêu chuẩn về thuốc

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

- Tiêu chuẩn Việt Nam (Tiêu chuẩn quốc gia, Dược điển Việt Nam)
- Tiêu chuẩn cơ sở do các cơ sở sản xuất biên soạn, có hiệu lực trong phạm vi quy định của các cấp quản lý. Có 2 loại Tiêu chuẩn cơ sở: đối với những sản phẩm lưu hành ngoài thị trường: tiêu chuẩn phải đăng kí với cơ quan có thẩm quyền, với các sản phẩm không lưu hành trên thị trường (bệnh viện) mà chỉ dùng trong đơn vị (bệnh viện) thì tiêu chuẩn do thủ trưởng đơn vị xét duyệt và ban hành**.**

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

1.2. Công tác xây dựng tiêu chuẩn

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

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

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

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

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

1.2.2. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn về yêu cầu kĩ thuật

1.2.2.1. Các loại quy trình về phương pháp thử

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

- Các phép thử định tính: là các phép thử nhằm chứng minh chất cần phân tích có mặt trong mẫu đem thử
- Các phép thử về độ tinh khiết: là các phép thử nhằm chứng minh rằng mẫu đem thử đạt (hay không đạt) về mức độ tinh khiết.
- Các phép thử định lượng: là những phép thử nhằm xác định hàm lượng của mẫu thử (hoặc thành phần chính của mẫu) hay hàm lượng của các hoạt chất có trong mẫu đem thử. Các phép thử này được tiến hành bằng các phương pháp định lượng hóa học, vật lý, hóa lý, sinh học…

1.2.2.2. Các yêu cầu chất lượng đối với một phương pháp thử:

Được thực hiện ở một số điểm chính sau:

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

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

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

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

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

- Có tính thực tế: Phương pháp thử đưa ra phải phù hợp với điều kiện thực tế, có tính khả thi cao (phù hợp với trang thiết bị, máy, kĩ thuật, hóa chất, thuốc thử, trình độ con người…)
- Có tính kinh tế: Phương pháp thử đưa ra ít tốn kém mà vẫn đáp ứng các yêu cầu nêu trên.
- Có tính an toàn cao: an toàn lao động và bảo vệ sức khỏe (ít dùng hóa chất độc hại, tránh được các thao tác kĩ thuật phức tạp, nguy hiểm…

1.3. Giới thiệu Dược điển Việt Nam

1.3.1. Dược điển Việt Nam là một tài liệu bao gồm

- Tập hợp các tiêu chuẩn nhà nước (TCVN) về thuốc (hóa dược và các chế phẩm, huyết thanh và vaccin, dược liệu, chế phẩm đông dược). Mỗi tiêu chuẩn còn được gọi là một chuyên luận.
- DĐVN là bộ tiêu chẩn quốc gia về thuốc qui định về tiêu chuẩn chất lượng thuốc và các phương pháp chung về kiểm nghiệm, là văn bản quy phạm kỹ thuật quan trọng…

1.3.2. DĐVN được gọi tên theo lần xuất bản (giống các nước khác) tuân theo quy tắc lần sau phủ định lần trước đó

- DĐVN I gồm 638 chuyên luận tân dược và 284 chuyên luận đông dược, xuất bản vào các năm 1972, 1977.
- DĐVN II gồm 357 chuyên luận tân dược ,64 chuyên luận đông dược và 32 chuyên luận về vaccine, được xuất bản vào các năm 1983, 1990, 1991, 1994.
- DĐVN III gồm 342 chuyên luận hóa dược, 276 chuyên luận về dược liệu, 37 chuyên luận về chế phẩm đông dược, 47 chuyên luận về chế phẩm sinh học và 500 chuyên luận về hóa chất thuốc thử, được xuất bản vào năm 2002.

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

Dưới đây là một số qui định thường gặp

- Khái niệm "cân chính xác" nghĩa là cân trên cân phân tích có độ nhạy đến 0,1mg (0,0001g). Khái niệm "lấy khoảng" có nghĩa là lấy một lượng với độ chênh không quá ±10% so với yêu cầu. Khái niệm "Đến khối lượng không đổi" nghĩa là xử lý chế phẩm đến khi nào chênh lệch giữa 2 lần kế tiếp nhau <0,5mg.
- Về nhiệt độ: dùng thang độ bách phân, kí hiệu ^{0}C. Khi không ghi cụ thể, quy ước:

Nhiệt độ chuẩn: 20^{0}C
Nhiệt độ thường: 20^{0}C-30^{0}C
Nước ấm: 40 ^{0}C - 50^{0}C
Nước nóng: 70^{0}C - 80^{0}C
Nước cách thủy: 98^{0}C -100^{0}C

Nhiệt độ trong thử nghiệm "mất khối lượng do làm khô", cho phép hiểu là 100^{0}C ± 2^{0}C

Nhiệt độ nơi bảo quản :

Rất lạnh: dưới – 10^{0}C
Lạnh: 2^{0}C - 10^{0}C
Mát: 10^{0}C - 20^{0}C
Nhiệt độ phòng có điều nhiệt: 20^{0}C - 25^{0}C
Nóng: 35^{0}C - 40^{0}C
Rất nóng: trên 40^{0}C

- Quy ước về độ tan

ĐỘ TAN	SỐ ml DUNG MÔI HÒA TAN 1gam CHẤT THỬ

Dễ tan	Dưới 1
Rất tan	từ 1 đến 10
Tan	trên 10 đến 30
Hơi tan	trên 30 đến 100
Khó tan	trên 100 đến 1000
Rất khó tan	trên 1000 đến 10000
Thực tế không tan	trên 10000

- Trong một số dung dịch, nếu không ghi rõ dung môi sử dụng thì phải dùng nước tinh khiết hay nước cất
- Khái niệm "ngay" và "lập tức " nghĩa là phương pháp đó phải thực hiện trong 30 giây sau phương pháp trước đó
- Ethanol không có chỉ dẫn gì khác là ethanol tuyệt đối. Khái niệm "alcol" không có chỉ dẫn gì khác là alcol chứa khoảng 96% (tt/tt) ethanol(C_2H_6O)
- Nồng độ phần trăm không có chỉ dẫn gì coi là cách biểu diễn theo % (kl/tt) (số gam chất hòa tan trong 100ml dung dịch). Còn các trường hợp khác sẽ ghi cụ thể

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN

Kiểm nghiệm thuốc là việc phân tích một mẫu thuốc đại diện cho một lô thuốc bằng các phương pháp lý, hóa, sinh học… đã được tiêu chuẩn hóa rồi được đối chiếu với tiêu chuẩn chất lượng đã qui định để kết luận lô thuốc đó ĐẠT hay KHÔNG ĐẠT tiêu chuẩn, từ đó quyết định lô thuốc đó có được phép lưu hành phục vụ cho mục tiêu điều trị hay không

2.1. Các giai đoạn chính trong công tác kiểm nghiệm

2.1.1. Lấy mẫu kiểm nghiệm

2.1.1.1. Quy định về lấy mẫu

Lấy mẫu là một tập hợp các thao tác kỹ thuật và các thủ tục nhằm thu nhập một lượng thuốc (hay nguyên liệu làm thuốc – gọi chung là thuốc) nhất định tiêu biểu cho thực chất tình trạng chất lượng của lô thuốc dùng cho việc xác định chất lượng thuốc.

2.1.1.2. Một số thuật ngữ có liên quan đến việc lấy mẫu và chế mẫu:

Lô sản xuất: là một lượng thuốc nhất định được sản xuất ra trong một chu kỳ sản xuất,phải đồng nhất và được nhà sản xuất gi trên nhãn các bao gói bằng cùng một kỳ hiệu của lô sản xuất.

Lô đồng nhất: là lô thuốc của cùng nhà sản xuất, cùng ký hiệu của lô sản xuất, cùng loại thuốc, cùng nồng độ, hàm lượng, cùng tình trạng chất lượng, cùng kích cỡ đóng gói.

Đơn vị lấy mẫu: là một phần của lô sản xuất như một số gói, một số hộp hay một số thùng nguyên vẹn hoặc không nguyên vẹn được chọn ra để lấy mẫu.

Mẫu ban đầu: là một lượng thuốc được lấy ra từ một đơn vị lấy mẫu.

Mẫu riêng: là lượng thuốc được tạo thành bằng cách trộn các mẫu ban đầu với nhau.

Mẫu chung: là một lượng thuốc được tạo thành bằng cách trộn lẫn các mẫu riêng với nhau, có thể nghiền trộn với nhau nếu là chất bột rắn, trộn lẫn với nhau nếu là chất lỏng, hoặc có thể đặt cạnh nhau nếu là các đơn vị thuốc đã phân liều.

Mẫu cuối cùng: là một phần của mẫu chung đủ để tạo mẫu phân tích và mẫu lưu.

Mẫu phân tích: là một phần của mẫu cuối cùng dùng để phân tích ở phòng kiểm nghiệm.

Mẫu lưu: là một phần của mẫu cuối cùng được lưu để kiểm nghiệm lại khi cần thiết. Lượng thuốc trong mẫu lưu cũng phải bằng mẫu phân tích.

2.1.1.3. Các điều kiện lưu ý khi lấy mẫu

Các mẫu phân tích và mẫu lưu được cho vào đồ đựng, làm kín lại và dán nhãn. Nhãn phải ghi rõ tên thuốc, tên nhà sản xuất, số lô, số lượng, ngày và nơi lấy mẫu, tên người lấy mẫu phù hợp với biên bản lấy mẫu.

Người lấy mẫu phải tự tay lấy mẫu, đóng gói, niêm phong ghi nhãn, làm biên bản (biên bản và niêm phong phải có chữ ký xác nhận của người lấy mẫu và cơ sở được lấy mẫu) và bảo quản mẫu.

Dụng cụ đồ đựng mẫu phải được sạch khô, không ảnh hưởng đến tính chất lý hóa của mẫu.

Thao tác lấy mẫu phải thận trọng, tỉ mỉ, tránh gây nhiễm. Chú ý quan sát các tình trạng bất thường của sản phẩm và ghi lại trong biên bản.

2.1.1.4. Các trường hợp lấy mẫu

- Lấy mẫu để thanh tra giám sát:

***Đối tượng để lấy mẫu*:** thuốc và các nguyên liệu làm thuốc đang trong quá trình quá trình lưu thông hoặc tồn trữ trong các kho.

Lượng mẫu lấy: 10% số lô sản xuất của các cơ sở trong một năm hoặc lấy theo qui định của Bộ và Sở Y Tế.

Ngoài ra còn lấy mẫu để thanh tra đột xuất trong những trường hợp có thông tin về thuốc kém chất lượng, không an toàn, ít hiệu lực, thuốc giả hoặc có sự khiếu nại của người sử dụng.

Người lấy mẫu:

Hiểu biết về kiểm nghiệm thuốc, nắm được các văn bản, các thủ tục pháp lý và các thao tác kỹ thuật lấy mẫu.

Phải có giấy giới thiệu xuất trình thẻ thanh tra.

Có quyền yêu cầu cơ sở có mẫu thuốc xuất trình các hồ sơ, tài liệu có liên quan đến lô thuốc, đưa ra quyết định về phương án lấy mẫu, số lượng mẫu cần lấy.

Thực hiện dưới sự chứng kiến của cán bộ, của cơ sở được lấy mẫu.

Nơi lấy mẫu:

Ở khu vực riêng đảm bảo vệ sinh (tránh bụi, bẩn) tránh tác đọng của các yếu tố làm thay đổi tính chất của mẫu: nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm… đồng thời không để mẫu tác động đến môi trường, nhất là trường hợp mẫu là những sản phẩm bay hơi độc hại.

Thủ tục:

Lấy mẫu xong, phải niêm phong mẫu. Trường hợp cần thiết, phần còn lại sau khi lấy mẫu cũng phải niêm phong để đề phòng sự tráo thuốc. Trên niêm phong phải có ít nhất chữ ký của ba người trong số các thành viên tham gia và chứng kiến việc lấy mẫu.

Lập biên bảng lấy mẫu, ít nhất ba bản, một bản được lưu tại cơ sở được lấy mẫu, một bản lưu ở cơ quan kiểm nghiệm, một bản lưu ở cơ quan quản lý hoặc thanh tra dược.

- **Lấy mẫu để tự kiểm tra chất lượng:**

Đối tượng để lấy mẫu: nguyên liệu dùng làm thuốc, bao bì đóng gói, sản phẩm trung gian, sản phẩm chưa đóng gói, thành phẩm.

Lượng mẫu được lấy: 100% số lô tại các cơ sở sản xuất, lưu trữ, phân phối.

Người lấy mẫu: cán bộ chuyên môn của phòng KCS (phòng kiểm tra chất lượng sản phẩm) thực hiện với sự chứng kiến của cán bộ bộ phận được lấy mẫu.

Nơi lấy mẫu: nguyên liệu trong phòng lấy mẫu tại kho (được làm sạch trước và sau khi lấy mẫu)

Vật liệu bao bì: tại kho chứa bao bì. Phải ghi lại tình trạng vệ sinh nơi chứa mẫu, hình thức đóng gói bao bì, nhất là các bao bì cấp một không qua khâu rửa hoặc xử lý trước khi đưa vào sản xuất.

Cốm, bán thành phần và thành phẩm: được lấy ngay trên dây chuyền sản xuất.

2.1.1.5 . Trình tự lấy mẫu:

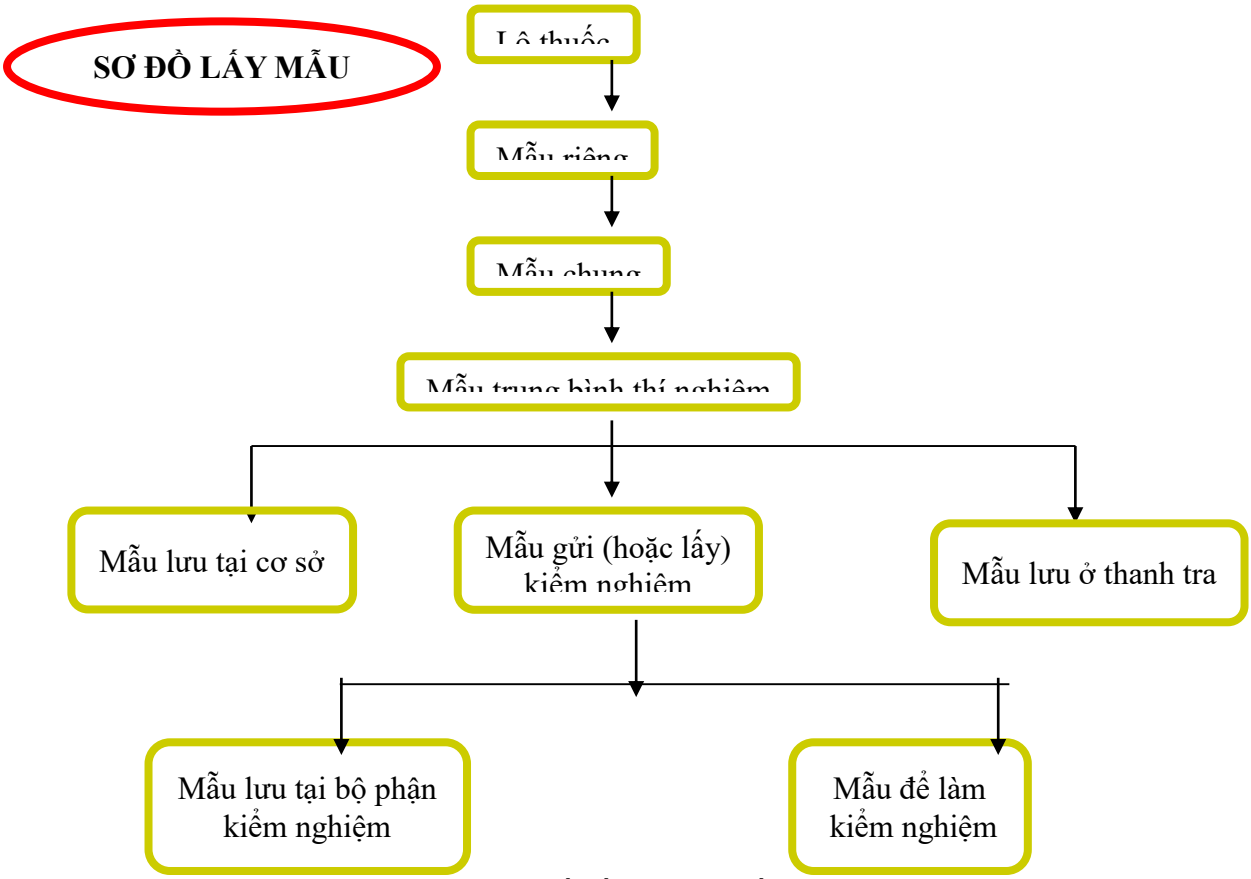
Từ lô sản xuất lấy ra các đơn vị lấy mẫu (bao, thùng…) một cách ngẫu nhiên, mở các đơn vị lấy mẫu đó để lấy các đơn vị ban đầu và làm kính ngay lại các bao gói đã lấy.

Trộn đều các mẫu ban đầu thành những mẫu riêng của từng đơn vị lấy mẫu.

Trộn đều các mẫu riêng thành một mẫu chung.

Từ mẫu chung lấy ra một lượng mẫu cuối cùng. Mẫu này chia làm 2 phần bằng nhau, một để phân tích và một để lưu (trường hợp cơ sở tự kiểm tra, hoặc cơ quan kiểm tra giám sát chất lượng lấy mẫu bình thường), hoặc chia làm 4 phần bằng nhau: một lưu tại cơ sở được lấy mẫu, hai phần do thanh ra viên lấy về lưu tại cơ quan quản lý (trường hợp lấy mẫy thanh tra khi có vấn đề về chất lượng thuốc).

Số lượng mẫu phải đủ để lặp lại các thử nghiệm (ít nhất 3 lần thử) và để lưu mẫu.



Hình 1. Sơ đồ lấy mẫu thuốc.

2.1.1.6. Lấy mẫu cụ thể:

- Lấy mẫu thuốc có phân liều:

Từ lô sản phẩm lấy ra các đơn vị bao gói một cách ngẫu nhiên theo công thức:

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

n : số bao gói phải lấy (để tạo mẫu ban đầu)

N : số đơn vị bao gói cuối cùng (thí dụ đối với các thuốc tiêm: các ống đóng trong hộp giấy, các hộp giấy đòng trong hòm thì đơn vị bao gói cuối cùng là hòm)

Chú ý:

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

Khi N > 100, lưu ý $n_{max} \leq 30$

Khi N < 100, dùng bảng

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

- ***Lấy mẫu sản phẩm là chất rắn (hạt, bột, viên)***

Trường hợp một bao gói: lấy mẫu ban đầu ở 3 vị trí khác nhau: trên, giữa, dưới trong bao gói trộn đều thành mẫu chung. Dàn đều mẫu chung thành một lớp phẳng hình vuông dày không quá 2cm, chia thành 4 phần theo 2 đường chéo, bỏ 2 phần đối diện trộn 2 phần còn lại với nhau rồi lại làm tiếp như trên một hoặc nhiều lần nữa đến khi lượng mẫu còn lại tương ứng với mẫu cuối cùng.

Trường hợp nhiều bao gói: lấy mẫu ban đầu theo công thức

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

- ***Lấy mẫu là sản phẩm lỏng*:**

Trường hợp một bao gói: nếu sản phẩm đồng nhất thì lấy mẫu ở bất kỳ vị trí nào của đồ đựng. Nếu không đồng nhất thì phải trộn đều trước khi lấy mẫu.

Trường hợp nhiều bao gói: lấy mẫu ban đầu theo công thức

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

- ***Lấy mẫu là những sản phẩm thuốc mỡ, bột nhão:*** lấy mẫu như các sản phẩm lỏng, rắn nhưng chú ý khuấy kỹ, trộn đều để được hỗn hợp đồng nhất trước khi lấy.
- ***Lấy mẫu thành phẩm chưa đóng gói lẻ:***

Các thành phẩm loại này thường là thuốc bột, thuốc nước, xiro thuốc, thuốc mỡ, thuốc cốm… hoặc là các thành phẩm thuốc phân liều như thuốc viên thuốc tiêm… chứa trong các bao gói lớn để chuyển đến các cơ sở đóng lẻ.

Nếu lô sản xuất chỉ có 1 - 2 bao gói, thì mở cả hai bao gói.

Nếu lô sản xuất ≥ 3 bao gói thì mở cả 3 bao gói.

Lấy ít nhất 3 mẫu ban đầu ở 3 vị trí khác nhau của mỗi bao gói. Trộn các mẫu ban đầu lại thành mẫu chung. Nếu sản phẩm dạng bột rắn, áp dụng cách giản lược như trên.

2.1.2.Tiến hành kiểm nghiệm

2.1.2.1. Nhận mẫu:

Bộ phận đăng ký mẫu phải kiểm tra mẫu có đủ các yêu cầu sau:

Tình trạng niêm phong, bao bì và có ghi nhãn đủ các thông tin cần thiết như:

Có nhãn gốc

- Nếu sao chép thì ghi rõ: tên thuốc (viết đúng nhãn gốc, nếu đúng là tiếng nước ngoài thì không phiên âm), nơi sản xuất, cỡ mẫu, nồng độ/

hàm lượng, công thức, dung tích, khối lượng, số lượng, số lô, số đăng ký, hạn dùng, điều kiện bảo quản.

- Tên tiêu chuẩn yêu cầu kiểm nghiệm: nếu là nguyên liệu nhập thì thông thường có ghi thuốc theo tiêu chuẩn nào trên nhãn gốc.

2.1.2.2. Kiểm nghiệm, xử lý kết quả

- Chuẩn bị tài liệu: theo TCVN hoặc TC.

- Chuẩn bị dụng cụ, hóa 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 mẫu cần thử.

- Tiến hành các thí nghiệm phân tích theo tiêu chuẩn.

- Người làm kiểm nghiệm phải có cuốn sổ ghi chép đầy đủ các số liệu khi tiến hành thí nghiệm, sổ này gọi là sổ tay kiểm nghiệm viên. Sổ tay kiểm nghiệm viên được coi là chứng từ gốc của các số liệu sau này công bố trên phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm.

- Xử lý các số liệu thực nghiệm để quyết định xem các chỉ tiêu đã thử theo tiêu chuẩn đạt hay không đạt yêu cầu.

2.1.2.3. Viết phiếu trả lời kết quả

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

2.1.2.4. Lưu mẫu kiểm nghiệm tại cơ quan kiểm nghiệm

Mẫu lưu được phân tích lại trường hợp có tranh chấp về kết quả kiểm nghiệm. Mẫu lưu phải được lưu trữ đầy đủ bộ phận đăng ký mẫu và có cùng số đăng ký với mẫu thử. Số lượng mẫu lưu tùy thuộc vào số lần lặp lại thử nghiệm, ít nhất phải đủ cho 3 lần kiểm nghiệm tất cả các chỉ tiêu trong tiêu chuẩn chất lượng.

Khi kết thúc thử nghiệm, tất cả các chai, lọ, hộp, gói đựng mẫu phải được hàn kín ghi ngày bắt đầu lưu và chuyển đến nơi lưu mẫu.

Đối với các cơ sở sản xuất, lưu thông phân phối thuốc, thời gian lưu ít nhất 3 tháng sau khi hết hạn dùng của thuốc.

Đối với các cơ quan kiểm nghiệm, thời gian lưu mẫu không được dưới 2 năm từ ngày lấy mẫu hoặc cơ sở gởi mẫu tới. Khi hết thời gian lưu, cơ quan kiểm nghiệm tổ chức hủy mẫu và lập biên bản hủy mẫu theo đúng qui định.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1: Cấp tiêu chuẩn về thuốc:

a. Gồm 2 cấp: TCVN (tiêu chuẩn Việt Nam) và TCCS (tiêu chuẩn cơ sở), mức chất lượng của TCVN cao hơn TCCS
b. Gồm 3 cấp: TCVN, TCCS, DĐVN (Dược điển Việt Nam), trong đó mức chất lượng của DĐVN là cao nhất
c. Gồm 2 cấp: TCVN (tiêu chuẩn Việt Nam) và TCCS (tiêu chuẩn cơ sở), mức chất lượng của TCVN thấp hơn TCCS
d. Gồm 3 cấp: TCVN, TCCS, DĐVN (Dược điển Việt Nam), trong đó mức chất lượng của DĐVN là thấp nhất

Câu 2: DĐVN IV có hiệu lực từ ngày:

a. 01/09/2009
b. 01/01/2010

c. 01/10/2010
d. 10/01/2010

Câu 3: Có 120 hộp thuốc trong 1 lô thuốc, số hộp thuốc lấy để kiểm nghiệm là:
a. 4 hộp
b. 5 hộp
c. 6 hộp
d. 11 hộp

Câu 4: BYT kí quyết định ban hành DĐVN IV vào ngày:
a. 01/09/2009
b. 01/01/2010
c. 01/10/2010
d. 10/01/2010

Câu 5: Tiêu chuẩn là những quy định……lý trình bày dưới dạng một văn bản hoặc một thể thức nhất định do một cơ quan có thẩm quyền ban hành để bắt buộc áp dụng đối với những nơi có liên quan.
a. Thống nhất và đầy đủ
b. Chính xác và đây đủ
c. Thống nhất và hợp lý
d. Thống nhất và chính xác

Câu 6: Yêu cầu chất lượng đối với một phương pháp thử:
a. 4 yêu cầu: tính tiên tiến, tính kinh tế, tính thực tế, tính an toàn cao.
b. 4 yêu cầu: độ đúng, độ chính xác, độ lặp lại, tính đặc hiệu
c. 8 yêu cầu: tính tiên tiến, tính kinh tế, tính thực tế, tính an toàn cao, độ đúng, độ chính xác, độ lặp lại, tính đặc hiệu
d. 4 yêu cầu: tính đặc hiệu, tính kinh tế, tính thực tế, tính an toàn cao.

Câu 7: Có 50 hộp thuốc trong 1 lô thuốc, số hộp thuốc lấy để kiểm nghiệm là:
a. 2 hộp
b. 3 hộp
c. 4 hộp
d. 5 hộp

Câu 8: Trong trường hợp tự kiểm tra chất lượng thuốc, số lô thuốc cần lấy để kiểm tra là:
a. 10% số lộ
b. 50% số lô
c. 100% số lô
d. Theo công thức n= 0,4 x $\sqrt{N}$

Câu 9: Trường hợp lấy mẫu để kiểm tra giám sát chất lượng, số lô thuốc cần lấy là:
a. 10% số lộ
b. 50% số lô
c. 100% số lô
d. Theo công thức n= 0,4 x $\sqrt{N}$

Câu 10: Nhiệt độ chuẩn quy định trong DĐVN IV là:
a. 20^0C
b. 20-25^0C
c. 25^0C
d. 30^0C

Câu 11: Một số dung dịch không ghi rõ dung môi thì thường sử dụng dung môi là:
a. Nước sinh hoạt

b. Nước máy
c. Nước cất
d. Rượu ethanol

Câu 12: Khái niệm "Đến khối lượng không đổi" nghĩa là xử lý chế phẩm đến khi nào chênh lệch giữa 2 lần kế tiếp nhau:

a. < 1mg
b. < 0,5mg
c. < 0,1g
d. < 5mg

Câu 13: DĐVN IV có:

a. 356 chuyên luận hóa dược, 260 thành phẩm bào chế, 314 dược liệu và thuốc đông dược, 25 vaccin và sinh phẩm y tế
b. 365 chuyên luận hóa dược, 250 thành phẩm bào chế, 310 dược liệu và thuốc đông dược, 25 vaccin và sinh phẩm y tế
c. 350 chuyên luận hóa dược, 260 thành phẩm bào chế, 310 dược liệu và thuốc đông dược, 20 vaccin và sinh phẩm y tế
d. 356 chuyên luận hóa dược, 250 thành phẩm bào chế, 314 dược liệu và thuốc đông dược, 25 vaccin và sinh phẩm y tế

Câu 14: Sổ sách, phiếu kiểm nghiệm phải lưu giữ ít nhất:

a. 2 năm
b. 3 năm
c. 4 năm
d. 5 năm

Câu 15: Chứng từ gốc sau này công bố trên phiếu kiểm nghiệm gọi là:

a. Sổ tay kiểm nghiệm viên
b. Sổ tay quản lý viên
c. Phiếu phân tích
d. Phiếu đánh giá

BÀI 3: PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU, TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

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

NỘI DUNG

1. SAI SỐ TRONG KIỂM NGHIỆM

- Khi tiến hành đo lường thu được các số liệu thực nghiệm, các số liệu này thường khác với giá trị thực của mẩu cần xác định, nói cách khác ta mắc phải sai số trong khi đo.

Giả sử μ là giá trị thực của mẩu đo

x là giá trị đo được của mẩu

Ta gọi | x – μ | = S là độ lệch của phép đo, biểu thị mức độ chênh lệch giữa giá trị đo được và giá trị thực, S càng lớn phép đo mắc sai số càng lớn. Thông thường khi đo lường để thu được giá trị thực nghiệm gần với giá trị thực ta đo nhiều lần $x_1, x_2, ..., x_n$.

(n là số lần đo), sau đó tính gái trị trung bình $\bar{x}$

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

Nhận xét : Khi $n \to \infty$ thì $x \to M$

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

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

+ Sai số tương đối là tỷ số giữa sai số tuyệt đối và giá trị trung bình

$$\frac{\bar{x} - \mu}{\bar{x}}.100\%$$

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

2. PHÂN LOẠI CÁC SAI SỐ

2.1. Sai số thô

Là sai số khi kết quả đo được khác xa với giá trị trung bình hay giá trị thực (μ) của mẫu thử. Nguyên nhân chủ yếu gây nên sai số này là do sự cẩu thả của người làm mẫu hoặc yếu tố khách quan do sự thay đổi đột ngột nào đó của điều kiện thực nghiệm hay các chất có trong mẫu.

+ Cách khắc phục:

Để loại sai số thô cần phải tiến hành phân tích nhiềulần mẫu đo và loại đi những giá trị không hợp lý theo những quy tắc nhất định. Có 2 phương pháp để loại sai số thô PP DIXON: Test Q và PP dung bảng kiểm định T.

2.2. Sai số hệ thống (Systematic Error) được gọi là sai số xác định (Determinate Error)

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

Khi sử dụng các bình định mức 100 ml nhưng trong quá trình chế tạo bình 100ml nhưng thực tế chỉ có 99,90 ml tức là ta luôn luôn mắc phải sai số là: 99,90 ml – 100 ml = - 0,1ml.

Hay khi sử dụng máy đo pH được chuẩn hóa bằng dung dịch đệm chuẩn7,00 nhưng dd đệm chuẩn này thực tế là 6,89 tức là ta mắc phải sai số thừa là : 7,00 - 6,89 = 0,11. Do vậy khi đọc kết quả trên máy là 7,55 nhưng kết quả thực là 7,55 – 0,11 = 7,44.

Vậy sai số hệ thống có thể phát hiện và độ chênh lệch giữa kết quả đo và giá trị thực trong sai số hệ thống đánh giá độ đúng của phép đo.

+ Cách khắc phục:

Loại trừ sai số hệ thống bằng cách hiệu chỉnh lại thiết bị đo, thay hóa chất, thuốc thử đạt tiêu chuẩn quy định, phân tích mẫu chuẩn, mẫu trắng, đặc biệt chú ý yếu tố kỹ năng và tay nghề của người kiểm nghiệm viên.

2.3. Sai số ngẫu nhiên (Random error) là sai số không xác định (Indeterminate Error)

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

Sai số này phát sinh do giới hạn tự nhiên về khả năng của chúng ta khi tiến hành đo lường. sai số này không tuân theo một quy luật nào cả, khi âm khi dương là sai số không hiệu chỉnh được.

Ví dụ: Khi sử dụng bình định mức 200 ml chẳng hạn, do quan sát vạch định mức có lúc nhìn vòng khung ở trên vạch định mức (sai số thừa) có lúc nhìn vòng khung ở dưới vạch định mức (sai số thiếu).

+ Cách khắc phục:

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

3. TÍNH SAI SỐ CỦA KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM:

3.1. Đối với các phép thử nghiệm thông thường

Khi tiến hành các phép thử nghiệm thông thường trong kiểm nghiệm với các quy trình đã ổn định, đã được chuẩn hóa, sai số tương đối cho phép thường $\leq \pm 1\%$ (đối với nguyên liệu hoạt chất chính) và $\leq \pm 2{,}0\%$ (đối với thành phẩm) chúng ta chỉ cần tiến hành thực hiện toàn bộ quy trình từ 2-3 lần và lấy kết quả là giá trị trung bình của 2-3 lần xác định đó.

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

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

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

Các bước chủ yếu xử lý kết quả như sau:

Tính giá trị trung bình:

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

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

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

Trong thống kê S^2 gọi là phương sai.

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

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

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

Bảng 1. Độ hy vọng t_α với α = 0,95 và α = 0,99

K = n - 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	Lớn
t_α với α = 0,95	12,7	4,3	3,2	2,8	2,6	2,5	2,4	2,3	2,2	2,1	2,1	2,0
t_α với α = 0,99	63,7	9,9	5,8	4,6	4,0	3,7	3,5	3,4	3,3	3,2	2,8	2,6

Giá trị thực μ nằm trong khoảng:

$$\boldsymbol{\mu = \bar{x} \pm \frac{t_\alpha \times S}{\sqrt{n}}}$$

Hay

$$\boldsymbol{\mu = \bar{x} \pm \varepsilon}$$

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

Sai số tương đối là

$$\boldsymbol{\pm \frac{\varepsilon}{\bar{x}} \times 100\%}$$

4. PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ MẪU

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

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

4.1. Hòa tan mẫu

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

Đối với chất khó tan trong nước, có thể hòa tan bằng dung dịch acid, dung dịch kiềm, dung dịch đệm, dung dịch của chất oxy hóa khử thích hợp, chuyển tủa khó tan thành tủa dễ hòa tan.

4.2. Phân hủy bằng acid mạnh

Trong quá trình phân tích hủy mẫu có thể diễn ra các phản ứng oxy hóa thủy phân, phá hủy các liên kết hóa học,... Các acid hay dùng trong trong xử lý mẫu là: acid hydrocloric đặc (HCl), acid nitric đặc (HNO_3), acid sulfuric đặc (H_2SO_4), acid percloric ($HClO_4$), hỗn hợp HCl + HNO_3 + $HClO_4$, HNO_3 + H_2SO_4, H_2SO_4 + H_2O_2,.... Có thể thực hiện quá trình xử lý mẫu ở nhiệt độ thường hoặc nhiệt độ cao tùy theo chuyên luận riêng quy định cụ thể.

4.3. Phân hủy mẫu bằng kỹ thuật vi sóng

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

4.4. Phân hủy bằng nhiệt

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

4.5. Xử lý mẫu bằng kỹ thuật tách pha

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

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

5. TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

5.1. Tính toán kết quả kiểm nghiệm

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

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

5.2. Viết phiếu trả lời kết quả kiểm nghiệm

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

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

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

Do vậy, sau khi hoàn thành các thí nghiệm và xử lý số liệu, đánh giá kết quả, kiểm nghiệm viên phải viết vào phiếu trả lời nội bộ (chưa phải phiếu chính thức), ký tên chịu trách nhiệm và đưa cho cấn bộ phụ trách phòng duyệt lại, trước khi đưa

phòng chức năng trình lãnh đạo duyệt lần cuối, sau đó trả lời chính thức bằng phiếu của cơ quan kiểm nghiệm (gọi là Phiếu kiểm nghiệm hay Phiếu phân tích). Câu chữ viết trong phiếu kiểm nghiệm phải rõ ràng, chính xác, gọn, đầy đủ và thống nhất.

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

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

Ví dụ

Công ty CP dược phẩm US_PHARMA gởi mẫu về TT kiểm nghiệm dược phẩm và mỹ phẩm TP.HCM một mẫu kiểm nghiệm : Viên nén PARACETAMOL 500mg , tiến hàn kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn DĐVN IV, kết quả được ghi trong sổ tay kiểm nghiệm viên

TIÊU CHUẨN CHẤT LƯỢNG

Chỉ tiêu	Yêu cầu
1- Tính chất	Viên nén dài màu trắng , một mặt có chữ US, một mặt có số 500.
2- Độ đồng đều khối lượng	± 5,0 % so với khối lượng trung bình viên
3- Định tính	Phải có phản ứng định tính của Paracetamol
4- 4- Aminophenol	Đạt yêu cầu qui định
5- Tạp chất liên quan	Đạt yêu cầu qui định
6- Độ hòa tan	Không được dưới 75% lượng Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan sau 45 phút
7- Định lượng	Đạt từ 95% đến 105% Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với hàm lượng ghi trên nhãn, tính theo khối lượng trung bình viên.

II- PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM

1- Tính chất: Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu

Kết luận:

Đạt [X] Không Đạt [ ]

2- Độ đồng đều khối lượng:

Cân thống kê riêng biệt từng viên của 20 viên bất kỳ. Thu được kết quả như sau:

Số thứ tự viên	**Khối lượng viên (mg)**	**Số thứ tự viên**	**Khối lượng viên (mg)**
1	512.5	**11**	519.5
2	516.5	**12**	521.6
3	518.4	**13**	520.2
4	521.4	**14**	518.2
5	521.7	**15**	519.2
6	516.6	**16**	520.1
7	518.5	**17**	520.6
8	519.3	**18**	520,9
9	519.3	**19**	517.2
10	513.9	**20**	519.3
Khối lượng trung bình của 20 viên			**518.63**
518.63 ± 5.0 (%) có nghĩa KLTB viên nằm trong khoảng [492.7 – 544.56]			

Kết luận: Đạt [X] **Không đạt** [ ]

3- Định tính

A- Phản ứng hoá học và nhiệt nóng chảy

- ***Thuốc thử***

- Dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)
- Toluen (TT)
- Chloroform
- Dung dịch kali dicromat 5 %
- Aceton (TT)
- Methanol (TT)

- ***Tiến hành***

- Cân một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,5 g paracetamol, thêm 30 ml aceton, khuấy kỹ và lọc, làm bay hơi dịch lọc đến khô.
- Lấy 0,1 g cắn, thêm 2 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT), đun nóng trong 1 phút, thêm 10 ml nước cất, để nguội. Thêm 1 giọt dung dịch kali dicromat 5 % (TT)
- ***Yêu cầu:*** xuất hiện màu tím, không chuyển sang màu hồng

Kết luận: Đúng [X] **Không đúng** [ ]

B- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (tiến hành trên cùng 1 bản mỏng với chỉ tiêu ở phần thử tạp chất liên quan)

- Bản mỏng Silicagel GF_{254} đã hoạt hoá ở 105^0C trong 1 giờ
- Dung môi triển khai: Methylen chlorid : methanol theo tỉ lệ (4 : 1)
- Đèn UV 254 nm
- *Dung dịch thử:* Cân 1 lượng bột viên tương ứng với 10 mg Paracetamol hòa tan trong 10 ml methanol (TT), lọc
- *Dung dịch chuẩn*: Hoà 10 mg paracetamol chuẩn trong 10 ml methanol (TT)

- ***Tiến hành***:

- Chấm riêng biệt 20 µl các dung dịch thử và dung dịch chuẩn lên bản mỏng. Triển khai trong hệ dung môi trên đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm
- ***Yêu cầu:*** Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho giá trị Rf và màu sắc tương ứng với vết paracetamol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn

Kết luận: Đạt [X] **Không đạt** [ ]

4- 4- Aminophenol

- **Thuốc thử**

- Methanol
- Acid formic

- **Điều kiện sắc ký**

- Detector: 272 nm
- Cột RP18 (25 cm x 4,6 mm, 5 µm)
- Tốc độ dòng: 1 ml/ phút
- Thể tích tiêm: 20 µl
- Pha động: Dung dịch 0,01M natri butansulfonat trong hỗn hợp gồm 0,4 thể tích acid formic, 15 thể tích methanol, và 85 thể tích nước

- **Tiến hành**

- ***Dung dịch chuẩn***: Dung dịch 4 –aminophenol 0,001 % (kl/tt) trong methanol 15 % (tt/tt)
- ***Dung dịch thử:*** Lắc một lượng bột chế phẩm tương đương với 1,0 g paracetamol với 15 ml methanol (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml, lọc
- Lọc dung dịch thử và dung dịch chuẩn qua màng lọc 0,45 µm
- Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký lỏng cao áp
- ***Yêu cầu:*** Trong sắc ký đồ thu được, diện tích peak tương ứng với 4 –aminophenol trong dung dịch thử không được lớn hơn diện tích peak trong dung dịch chuẩn

Kết luận: Đạt [X] **Không đạt** [ ]

5- Tạp chất liên quan

- **Thuốc thử**

- Toluen (TT)
- Aceton (TT)
- Chloroform (TT)
- Ethanol 96 % (TT)
- Ether ethylic (TT)

- **Điều kiện sắc ký**

- Bản mỏng Silicagel GF_{254} đã hoạt hoá ở 105^0C trong 1 giờ
- Dung môi triển khai: Toluen : Aceton : Chloroform theo tỉ lệ 10 : 25 : 65
- Đèn UV ở bước sóng 254 nm

- **Tiến hành**

- ***Dung dịch (1)*:** Lấy 1 lượng bột viên tương đương với 1 g Paracetamol vào bình định mức 20 ml, thêm chính xác 10 ml ether ethylic (TT), đậy nắp, khuấy từ 30 phút. Để yên cho lắng hoàn toàn
- ***Dung dịch (2)***: Lấy chính xác 2 ml dung dịch (1) pha loãng vừa đủ với 10 ml ethanol 96 % (TT)
- ***Dung dịch (3)*:** Pha dung dịch có chứa 0,005 % (kl/tt) 4' – cloroacetanilid trong ethanol 96 % (TT)
- ***Dung dịch (4)*:** Hoà tan 0,25 g 4' – cloroacetanilid và 0,1 g paracetamol vừa đủ 100 ml với ethanol 96 % (TT)
- Triển khai sắc ký, chấm riêng biệt 200 µl dung dịch (1) và 40 µl các dung dịch (2), (3), (4) lên bản mỏng, triển khai sắc ký khoảng 15 cm, lấy ra để khô, quan sát dưới đèn UV ở bước sóng 254 nm
- ***Yêu cầu:*** Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch (1) tương ứng với vết của 4–cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch (3)
- Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch (2) có giá trị Rf thấp hơn giá trị Rf của 4 – cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch (3)
- Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch (4) có 2 vết tách ra rỏ ràng, vết tương ứng với 4' – cloroacetanilid phải có giá trị Rf cao hơn

Kết luận: Đạt [X] **Không đạt** [ ]

6- Độ hòa tan

- **Thuốc thử**

- Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT): Cân 4,0 g natri hydroxyd hoà trong 1000 ml
- Dung dịch đệm phosphat pH = 5,8 (TT): Cân 6,805 g kali dihydro phosphat khan (KH_2PO_4) và 0,1488 g natri hydroxyd hòa tan trong 1000 ml nước, điều chỉnh pH = 5,8 bằng acid phosphoric hoặc natri hydroxyd.

- **Điều kiện thiết bị**

- Thiết bị: cánh khuấy
- Môi trường hoà tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH = 5,8
- Tốc độ vòng quay: 50 vòng/ phút
- Thời gian khuấy: 45 phút
- Thử trên 6 viên, mỗi viên 1 cốc, khuấy trong thời gian quy định.

- **Tiến hành**

- ***Dung dịch thử*:** Lấy một phần dung dịch của mẫu thử đã được hoà tan, lọc. Hút chính xác 1 ml dịch lọc pha loãng thành 50 ml bằng dung dịch NaOH 0,1 N (TT) (nồng độ 0.011 mg/ml)
- ***Dung dịch chuẩn*:** Cân chính xác khoảng 25 mg Paracetamol chuẩn vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 25 ml dung dịch NaOH 0,1 N (TT), lắc kỹ, thêm dung dịch NaOH 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 1 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng dung dịch NaOH 0,1 N (nồng độ 0.01 mg/ml)
- Đo mật độ quang của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở cực đại 257 nm, mẫu trắng là dung dịch NaOH 0,1 N
- Dựa vào mật độ quang, độ pha loãng, lượng cân của chuẩn và của thử tính toán hàm lượng paracetamol trong 1 viên.

Kết luận: Đạt [X] **Không đạt** [ ]

7- Định lượng

- **Thuốc thử**

- Dung dịch Natri hydroxyd 0,1 N

- **Tiến hành**

- ***Mẫu thử:*** Lấy 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 150 mg paracetamol vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, lắc kỹ 5 phút, thêm 100 ml nước, vừa siêu âm vừa lắc khoảng 20 phút, thêm nước vừa đủ đến vạch. Lọc qua giấy lọc khô, bỏ 20 - 30 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. (nồng độ 0.0075 mg/ml)

- ***Mẫu đối chiếu:*** Cân chính xác khoảng 75 mg Paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm 25 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N , lắc kỹ 5 phút, thêm 50 ml nước, siêu âm 10 phút, điền nước vừa đủ. Lấy chính xác 5 ml dung dịch cho vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ. Lấy chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, thêm nước vừa đủ đến vạch. (nồng độ 0.0075 mg/ml)

- Đo độ hấp thu của các dung dịch này ở bước sóng 257 nm, mẫu trắng là dung dịch natri hydroxyd
0,01 N

- Dựa vào mật độ quang, độ pha loãng, lượng cân của chuẩn và của thử tính toán hàm lượng paracetamol trong 1 viên tính theo khối lượng trung bình viên.

- Nếu không làm mẫu đối chiếu có thể tính kết quả theo A (1%,1cm), lấy 715 là giá trị A (1%, 1cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm

Kết luận: Đạt | 103,56 (%) | **Không đạt** |

SỞ Y TẾ TP. HỒ CHÍ MINH
VIỆN KIỂM NGHIỆM THUỐC
SỐ 200 CÔ BẮC- QUẬN I- TP. HCM

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

PHIẾU KIỂM NGHIỆM
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Mẫu KN: Viên nén PARACETAMOL 500 mg	Nơi SX: Công Ty CP US.PHARMA
Quy cách đóng gói: Lọ 100 viên	**Số lô :** 010611 Hạn dùng**:** 140614
Tài liệu áp dụng: DĐVN IV	**Ngày sản xuất:** 14/06/2011
Người và Nơi gởi mẫu	**Phan A** - Công Ty CP USPHARMA USA
Yêu câu KN: Kiểm tra chất lượng	**Ngày nhận mẫu: 20/06/2011 – Số đăng ký KN 216**
Người nhận mẫu: Trần Thị Dung	
Tình trạng mẫu khi nhận: Thuốc đóng trong lọ nâu, nút kín, ngoài có nhãn, in rõ ràng	

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả

1- Tính chất	Viên nén dài màu trắng , một mặt có chữ US, một mặt có số 500	Đạt
2- Độ đồng đều khối lượng	± 5,0 % so với khối lượng trung bình viên	Đạt
3- Định tính	Chế phẩm phải có phản ứng hóa học của paracetamol	Đúng
4- 4- Aminophenol	Đạt yêu cầu qui định	Đạt
5- Tạp chất liên quan	Đạt yêu cầu qui định	Đạt
6- Độ hòa tan	Không được dưới 75% lượng Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan sau 45 phút	Đạt (99.64% - 102.55%)
7- Định lượng	Đạt từ 95% đến 105% Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với hàm lượng ghi trên nhãn, tính theo khối lượng trung bình viên.	Đạt (102.04%)

Kết luận: Mẫu thuốc đạt tất cả các chỉ tiêu theo DĐVN IV.

Ngày 06 tháng 07 năm 2012

Viện Trưởng VKN

(Ký tên, đóng dấu)

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1: Có mấy loại sai số trong kiểm nghiệm:
a. 3 loại
b. 4 loại
c. 5 loại
d. 6 loại

Câu 2: Sai số gây ra do sự cẩu thả của người làm, gọi là sai số:
a. Sai số ngẫu nhiên
b. Sai số thô
c. Sai số thừa
d. Sai số hệ thống

Câu 3: Sai số nào không thể hiệu chỉnh được:
a. Sai số ngẫu nhiên
b. Sai số thô
c. Sai số hệ thống
d. Cả a, b, c đúng

Câu 4: Sai số nào biết rõ nguyên nhân, tuân theo quy luật nhất định và có thể hồi phục được:

a. Sai số ngẫu nhiên
b. Sai số thô
c. Sai số hệ thống
d. Cả a, b, c đúng

Câu 5: Khi tiến hành thử nghiệm các quy trình đã ổn định, nên tiến hành thử nghiệm:

a. Từ 1-2 lần
b. Từ 2-3 lần
c. Từ 3-4 lần
d. Từ 5-6 lần

Câu 6: Khi tiến hành thử nghiệm quy trình mới nghiên cứu, nên tiến hành:

a. Từ 1-2 lần
b. Từ 2-3 lần
c. Từ 3-4 lần
d. Từ 5-6 lần

Câu 7: Kết quả định lượng chất X_C (g/l) của 5 thí nghiệm ở cùng điều kiện của một mẫu thử là 3,45 3,59 3,11 3,38 3,32
Hỏi kết quả thực của mẫu là bao nhiêu với α= 0,95

Câu 8: Phiếu kiểm nghiệm được định nghĩa là:

a. Là văn bản pháp lý của các tổ chức kiểm tra chất lượng thuốc, xác nhận kết quả KN theo tài liệu kĩ thuật hợp pháp của 1 mẫu thuốc
b. Là văn bản pháp lý xác nhận kết quả phân tích của một hay nhiều tiêu chí trong tiêu chuẩn kĩ thuật của một mẫu thuốc
c. Là chứng từ gốc sau này công bố rộng rãi
d. Là văn bản xác nhận một mẫu thuốc đạt hay không đạt.

Câu 9: Phiếu kiểm nghiệm phải đạt các yêu cầu:

a. Rõ ràng, chính xác, gọn, đầy đủ và thống nhất
b. Đẹp, rõ ràng, chính xác, đầy đủ và thống nhất
c. Rõ ràng, chính xác, đầy đủ và phải có chữ kí của kiểm nghiệm viên
d. Phải đúng những gì ghi trong sổ tay kiểm nghiệm viên nhưng đầy đủ và chính xác hơn

Câu 10: Công thức:

$$\varepsilon = \pm \frac{tS}{\sqrt{n}}$$

Là:

a. Sai số hệ thống
b. Sai số tương đối
c. Sai số tuyệt đối
d. Sai số ngẫu nhiên

Câu 11: Sai số không xác định, không tuân theo quy luật nào cả, gọi là:

a. Sai số ngẫu nhiên
b. Sai số hệ thống
c. Sai số thô

d. Sai số tuyệt đối

Câu 12: Kết quả định lượng chất X_C (g/l) của 5 thí nghiệm ở cùng điều kiện của một mẫu thử là 5,45 5,05 5,11 5,88 5,32

- Tính sai số tương đối của phép định lượng

Câu 13: Nội dung chính của một phiếu kiểm nghiệm gồm:

a. 10 nội dung
b. 12 nội dung
c. 14 nội dung
d. 16 nội dung

Câu 14: Trên phiếu kiểm nghiệm phải có chữ kí và đóng dấu của:

a. Kiểm nghiệm viên
b. Thủ trưởng đơn vị
c. Trưởng phòng kế hoạch tổng hợp
d. Trưởng phòng vật lý-hóa lý

Câu 15: Kết quả định lượng chất X_C (g/l) của 5 thí nghiệm ở cùng điều kiện của một mẫu thử là 1,51 1,55 1,50 1,53

Hỏi kết quả thực của mẫu là bao nhiêu với α= 0,99

BÀI 4: DUNG DỊCH CHUẨN, DUNG DỊCH ION MẪU, THUỐC THỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

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

NỘI DUNG

1. DUNG DỊCH CHUẨN

1.1. Chất đối chiếu

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

Chất đối chiếu 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 đo thể tích, phân tích trọng lượng.
- Các phép thử sinh học.
- Một số phép thử khác có hướng dẫn trong các chuyên luận riêng.

1.2. Cách sử dụng chất đối chiếu

Để đáp ứng mục đích sử dụng, chất đối chiếu phải được bảo quản, theo dõi và sử dụng đúng. Theo qui 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 điều kiện bảo quản đặc biệt khác thì có hướng dẫn trên nhãn. Trước khi mở bao gói để dùng, chất đối chiếu cần được để một thời gian để đạt tới nhiệt độ phòng thí nghiệm.

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

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

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 lượng cân của chất đối chiếu thành chất khan, trừ khi có hướng dẫn khác.

Khi đọc thấy chữ "chuẩn" xuất hiện sau tên chất được ghi trong các phép thử hay phép định lượng, có nghĩa là phải sử dụng chất đối chiếu.

Dược điển VIỆT NAM cho phép sử dụng các chất đối chiếu quốc gia Việt Nam được thiết lập, bảo quản và phân phối tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (48 Hai Bà Trưng, Quận Hoàn Kiếm, TP. Hà Nội) hoặc Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh (200 Cô Bắc, Quận 1, TP. Hồ Chí Minh) 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.

2. CÁC DUNG DỊCH CHUẨN ĐỘ

2.1. Quy định chung

Dung dịch chuẩn độ là dung dịch có nồng độ chính xác biết trước dùng trong phân tích định lượng thể tích.

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

- Nồng độ đương lượng gam (C_N): Số đương lượng gam của chất tan trong 1000 ml dung dịch.

- Nồng độ mol (C_M): Số mol của chất tan trong 1000 ml dung dịch.

Tỷ số giữa nồng độ thực và nồng độ lý thuyết là hệ số hiệu chỉnh K, không được nằm ngoài giới hạn 1,00 ± 0,10. Nồng độ dung dịch chuẩn độ được xác định với số lần chuẩn độ thích hợp và độ lệch chuẩn tương đối của các kết quả thu được không được quá 0,2%.

2.2. Phương pháp chung pha chế các dung dịch chuẩn độ

- Đối với mỗi loại dung dịch chuẩn độ, phương pháp pha chế và chuẩn hoá những dung dịch ở các nồng độ hay được sử dụng nhất sẽ được mô tả dưới đây. Các dung dịch đậm đặc hơn được pha chế và chuẩn hoá bằng cách tăng lượng thuốc thử lên tương ứng. Các dung dịch nước có nồng độ loãng hơn được điều chế bằng cách pha loãng chính xác một dung dịch đậm đặc hơn với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Hệ số hiệu chỉnh của những dung dịch này chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đó dùng để pha loãng. Các dung dịch nước có nồng độ mol nhỏ hơn 0,1 M phải được pha chế với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

- Khi pha chế các dung dịch kém bền vững như kali permanganat, natri thiosulfat, phải dùng nước mới đun sôi để nguội. Đối với dung dịch chuẩn độ được dùng trong định lượng mà điểm tương đương được xác định bằng phương pháp điện hoá thì kỹ thuật xác định điểm tương đương này cũng phải được dùng trong chuẩn hoá dung dịch đó.

Tất cả các dung dịch chuẩn độ phải được pha chế, chuẩn hoá và sử dụng ở nhiệt độ 25 ^{0}C. Nếu nhiệt độ khi định lượng khác với nhiệt độ lúc chuẩn hoá thì thể tích dung dịch chuẩn độ sẽ được hiệu chỉnh lại.

Dưới đây là phương pháp pha chế và chuẩn hoá các dung dịch chuẩn độ được dùng trong Dược điển.

2.2.1. Pha chế từ chất chuẩn độ gốc

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

2.2.2. Pha gần đúng rồi chuẩn hoá bằng chất chuẩn độ gốc hoặc bằng dung dịch chuẩn độ có hệ số K đã biết

Chất chuẩn độ gốc: Các hoá chất loại tinh khiết phân tích dưới đây, sau khi làm khô trong những điều kiện chỉ dẫn, được dùng làm chất chuẩn độ gốc để xác định K của dung dịch chuẩn độ:

Acid benzoic ($C_7H_6O_2$): Để 24 giờ trong bình hút ẩm chứa silicagel khan.

Acid sulfanilic ($C_6H_7NO_3S$): Sấy ở 100 – 105 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Arsen trioxyd (As_2O_3): Để 24 giờ trong bình hút ẩm chứa silicagel khan.

Kali bromat ($KBrO_3$): Sấy ở 180 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$): Sấy ở 150 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Kali hydrophtalat ($C_8H_5O_4K$): Sấy ở 110 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Kali iodat (KIO_3): Sấy ở 130 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Kẽm hạt (Zn): Sử dụng loại có hàm lượng Zn không ít hơn 99,9%.

Natri carbonat khan (Na_2CO_3): Sấy khô ở 270 – 300 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

Natri clorid (NaCl): Nung ở 300 ^{0}C đến khối lượng không đổi.

2.2.3. Pha loãng những dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao

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

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

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

2.2.4. Dùng ống chuẩn

Ống chuẩn pha sẵn chứa lượng hoá chất hay dung dịch hoá chất đủ để pha thành một thể tích dung dịch chuẩn độ quy định. Dùng dung môi pha chế theo chỉ dẫn ghi trên nhãn ống, thu được dung dịch chuẩn độ có K = 1,000.

2. CÁC DUNG DỊCH MẪU

Các dung dịch sau đây được sử dụng làm mẫu so sánh trong các phép thử giới hạn tạp chất:

2.1. Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4

Sấy khô amoni clorid ở nhiệt độ 100 - 105^{0}C đến khối lượng không đổi. Cân chính xác 0,297 g amoni clorid cho vào bình định mức 1000ml, hòa tan và pha loãng bằng nước cất vừa đủ đến vạch định mức, lắc đều.

2.2. Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As

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

Dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As

Pha loãng 1 thể tích dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As (TT) thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

2.3. Dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca

Hoà tan 0,624 g calci carbonat (TT) đã sấy khô ở 100 – 105 ^{O}C đến khối lượng không đổi trong nước có chứa 3 ml dung dịch acid acetic 5 M (TT) và thêm nước vừa đủ 250 ml.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước

Pha loãng 1 thể tích dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT) thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

2.4. Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb

Hoà tan 0,400 g chì (II) nitrat (TT) trong nước vừa đủ 250 ml.

2.5. Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl

Hoà tan 0,0824 g natri clorid (TT) đã sấy khô ở 100 – 105 ^{0}C đến khối lượng không đổi trong nước vừa đủ 100 ml.

2.6. Dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K

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

Dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K

Pha loãng 1 thể tích dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K (TT) thành 20 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K

Pha loãng 1 thể tích dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K (TT) thành 5 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

2.7. Dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4

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

2.8. Dung dịch sắt mẫu 1000 phần triệu Fe

Hoà tan 0,10 g sắt (TT) trong một lượng tối thiểu dung dịch đồng thể tích của acid hydrocloric (TT) với nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

2.9. Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4

Hoà tan 0,181 g kali sulfat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml

3. HÓA CHẤT - THUỐC THỬ - CHỈ THỊ

3.1. Hóa chất

3.1.1. Acid hydrocloric HCl = 36,46.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, bốc khói.

Tỷ trọng ở 20 ^{0}C: Khoảng 1,18 g/ml.

Hàm lượng HCl: 35 - 38% (kl/kl), khoảng 11,5 M

Bảo quản ở nhiệt độ không quá 30^{0}C, trong bao bì bằng polyethylen hoặc vật liệu không phản ứng với acid hydrocloric.

Dung dịch acid hydrocloric xM

Pha loãng 85x ml acid hydrocloric (TT) với nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 25%

Pha loãng 61 ml acid hydrocloric (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 1%

Pha loãng 2,4 ml acid hydrocloric (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

3.1.2. Acid sulfuric H_2SO_4 = 98,08

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, ăn mòn mạnh.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,84 g/ml.

Hàm lượng H_2SO_4: Khoảng 96% (kl/kl).

Dung dịch acid sulfuric xM

Cho cẩn thận 54x ml acid sulfuric (TT) vào đồng thể tích nước, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 50%

Cho từ từ 285 ml acid sulfuric (TT) vào 500 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 38%

Cho từ từ 22 ml acid sulfuric (TT) vào 60 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml.

3.1.3. Acid acetic băng

Acid acetic kết tinh được

CH_3COOH = 60,1

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi hăng cay.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,05 g/ml.

Điểm đông đặc: Khoảng 16 ^{O}C.

Hàm lượng CH_3COOH: Không được nhỏ hơn 98,0% kl/kl.

Dung dịch acid acetic xM

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

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

Pha loãng 30 g *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Hàm lượng CH_3COOH khoảng 29,0 - 31,0%.

Acid acetic loãng (Dung dịch acid acetic 12% - Dung dịch acid acetic 2 M)

Pha loãng 12 g *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Hàm lượng CH_3COOH khoảng 11,5 - 12,5%.

3.1.4. Kali clorid

KCl = 74,55

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali clorid 10%

Hoà tan 10 g kali clorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

3.2. THUỐC THỬ

3.2.1. Thioacetamid

CH_3CSNH_2 = 75,13

Dùng loại tinh khiết hoá học.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước và ethanol, tan ít trong ether.

Điểm chảy: Khoảng 113 ^{O}C.

- Dung dịch thioacetamid 4%

Hoà tan 4 g thioacetamid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

- Dung dịch thioacetamid

Thêm 1 ml hỗn hợp gồm 15 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT), 5 ml nước và 20 ml glycerin (85%) (TT) vào 0,2 ml dung dịch thioacetamid 4% (TT), đun nóng trong cách thủy 20 giây, làm lạnh và dùng ngay.

3.2.2. Thuốc thử Nessler

Hoà tan 10 g kali iodid (TT) trong 10 ml nước, thêm từ từ dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid (TT), khuấy liên tục, cho tới khi xuất hiện tủa đỏ bền vững. Thêm 30g kali hydroxyd (TT), lắc cho tan, thêm 1 ml dung dịch bão hoà thuỷ ngân diclorid (TT). Pha loãng thành 200 ml với nước. Để yên và gạn lấy phần nước trong.

Cho 3 giọt thuốc thử vào 10 ml dung dịch amoni mẫu 2 phần triệu NH_4 (TT), màu vàng cam phải xuất hiện ngay tức khắc.

3.3. Một số chỉ thị màu

3.3.1. Da cam methyl

Helianthin; Natri 4'-dimethylaminoazobenzen-4-sulfonat

$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ = 327,3

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể màu vàng cam.. Dễ tan trong nước nóng, không tan trong ethanol.

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

Dung dịch da cam methyl

Hòa tan 0,1 g da cam methyl (TT) trong 80 ml nước, thêm ethanol 96% (TT) vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thm 0,1 ml dung dịch da cam methyl (TT), dung dịch cũng màu vàng. Khi thêm không quá 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ), màu phải chuyển sang đỏ.

3.3.2. Phenolphtalein

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

$C_{20}H_{14}O_4$ = 318,3

Dng loại tinh khiết hĩa học.

Bột màu trắng hay trắng . Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.

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

Dung dịch phenolphtalein

Hồ tan 0,1 g phenolphtalein (TT) trong 80 ml ethanol 96% (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thm 0,1 ml dung dịch phenolphtalein (TT), dung dịch khơng mu. Khi thêm không quá 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), phải xuất hiện màu hồng.

3.3.3. Tinh bột

Bột rất mịn, không mùi, không vị.

Dùng loại tinh khiết.

Dung dịch hồ tinh bột

Nghiền 1 g tinh bột (TT) với 5 ml nước, rồi vừa đổ vừa khuấy vào 100 ml nước sôi. Đun sôi tiếp cho đến khi thu được chất lỏng chỉ hơi đục.

Pha trước khi dùng.

Độ nhạy: Lấy 5 ml dung dịch hồ tinh bột (TT), pha lõang thành 100 ml với nước, thêm 2 giọt dung dịch iod 0,1 N (CĐ), dung dịch phải có màu xanh lam.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1. Có mấy phương pháp cơ bản để pha dung dịch chuẩn độ?
a. 1
b. 2
c. 3
d. 4
Câu 2. Ưu điểm của phương pháp pha dung dịch chuẩn độ từ ống chuẩn là?
a. Thao tác nhanh hơn
b. Dung dịch tạo thành có nồng độ chính xác
c. Hệ số hiệu chỉnh K của dung dịch bằng 1
d. Tất cả các ý trên đều đúng.
Câu 3. Nhược điểm của phương pháp pha dung dịch chuẩn độ dùng ống chuẩn là:
a. Dung dịch tạo thành có nồng độ không chính xác
b. Thao tác phức tạp hơn các phương pháp khác
c. Giá thành cao hơn
d. Tất cả các ý trên đều đúng.
Câu 4. Hòa tan 0,8g chì (II) nitrat (TT) vào vừa đủ 250ml nước. Nồng độ dung dịch chì mẫu vừa pha được là:
a. 1000 phần triệu chì
b. 2000 phần triệu chì
c. 3000 phần triệu chì
d. 4000 phần triệu chì
Câu 5. Pha 200ml dung dịch NaOH 1N từ NaOH rắn. Khối lượng NaOH cần cân là:
a. 8 g
b. 16 g

c. 4 g
d. 2 g
Câu 6. Pha 200ml dung dịch NaOH 1N từ NaOH rắn. Khối lượng NaOH cân thực tế là 12g. Vậy giá trị của hệ số hiệu chỉnh K là:
a.1,5
b. 0,75
c. 3
d. 6
Câu 7. Vùng chuyển màu của chỉ thị Phenolphtalein trong khoảng pH từ:
a. 3,0 - 4,4
b. 4,4 - 6,2
c. 6,8 - 8,4
d. 8,2 – 10,0
Câu 8. Vùng chuyển màu của chỉ thị đỏ methyl trong khoảng pH từ:
a. 3,1 - 4,4
b. 4,4 - 6,2
c. 6,8 - 8,4
d. 8,2 – 10,0.
Câu 9. Chỉ thị hồ tinh bột dùng trong phép chuẩn độ nào:
a. Phương pháp acid – bazơ
b. Phương pháp định lượng Iod
c. Phương pháp tạo phức
d. Phương pháp kết tủa (định lượng halogen trong phương pháp Mohr).
Câu 10. Pha 1000 ml dung dịch CH_3COOH 2M, thể tích acid acetid băng cần lấy là:
a. 57 ml
b. 114 ml
c. 85 ml
d. 170 ml
Câu 10. Pha 100 ml dung dịch CH_3COOH 2M, thể tích acid acetid băng cần lấy là:
a. 5,7 ml
b. 11,4 ml
c. 8,5 ml
d. 17 ml
Câu 12. Pha 100 ml dung dịch HCl 3M, thể tích acid HCl đậm đặc cần lấy là:
a. 25,5 ml
b. 17 ml
c. 18,9 ml
d. 12 ml.
Câu 13. Pha 200 ml dung dịch KI 10% từ KI rắn, tinh khiết. Khối lượng KI cần lấy là:
a. 10g
b. 20g
c. 40g
d. 80g.
Câu 14. Thuốc thử thioacetamid dùng để xác định giới hạn nồng độ của:
a. Na^+
b. Ca^{2+}
c. Mg^{2+}

d. Pb^{2+}

BÀI 5: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HÓA LÝ TRONG KIỂM NGHIỆM

MỤC TIÊU

1. Trình bày các khái niệm chung về phương pháp tách và sắc kí, ứng dụng của sắc kí lớp mỏng trong kiểm nghiệm.
2. Trình bày được nguyên lí cơ bản của phương pháp đo quang phổ hấp thu UV-VIS và ứng dụng để định tính, định lượng.
3. Trình bày các nguyên tắc của phương pháp đo thế, ứng dụng đo pH và chuẩn độ đo thế.

NỘI DUNG

1. CÁC PHƯƠNG PHÁP TÁCH

1.1. Khái niệm

Các phương pháp tách là nhóm các phương pháp vật lí, hóa học, hóa lý nhằm đưa một hỗn hợp phức tạp gồm nhiều chất thành các hỗn hợp đơn giản và từ đó tách riêng ra từng chất

Hỗn hợp tách có thể đồng nhất hoặc không đồng nhất. Tùy theo hỗn hợp tách là đồng nhất hay không đồng nhất mà lựa chọn phương pháp tách thích hợp.

1.2. Các phương pháp tách thường dùng

1.2.1. Phương pháp lọc

Là dùng để tách pha lỏng ra khỏi pha rắn. Ưu điểm: đơn giản, hiệu quả

Kĩ thuật lọc: có thể lọc ở áp suất thường hay áp suất kém. Vật liệu là: giấy, bông thủy tinh, phễu thủy tinh xốp…

1.2.2. Phương pháp ly tâm

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

1.2.3. Phương pháp chia cắt pha

Là phương pháp nhằm biến một pha thành 2 pha

Có thể thực hiện bằng cách: chọn lọc cơ học, lắng đãi, loại bớt dung môi bằng cách cô hoặc bay hơi…

1.2.4. Phương pháp chiết

Là dùng một dung môi hay hỗn hợp dung môi để tách lấy một hoặc một nhóm chất từ hỗn hợp chất.

Cơ sở của phương pháp là dựa trên sự phân bố của chất tan giữa 2 pha không hòa tan vào nhau. Đại lượng đặc trưng là hệ số phân bố Kp

$$Kp=C_B/C_A$$

Trong đó:

C_B là nồng độ chất tan trong dung môi B

C_A là nồng độ chất tan trong dung môi A

a. Chiết lỏng-lỏng

Có 3 cách:

Chiết đơn: chiết 1 lần, dùng bình lắng gạn, lắc tay hoặc máy. Hiệu suất chiết thấp.

Chiết lặp: sau lần chiết thứ 1, trong dung dịch còn chất tan, thêm dung môi mới chiết tiếp. Nếu cùng một lượng dung môi ta chiết nhiều lần sẽ tốt hơn chiết ít lần. Chiết nhiều lần thường tốn thời gian, thường chọn tối ưu 3 lần. Trong phòng thí

nghiệm có thể chiết liên tục hoặc gián đoạn. Chiết liên tục có ưu điểm tiết kiệm lượng lớn dung môi.

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

b. Chiết lỏng-rắn

Thường có 2 cách:

Dùng pha rắn để chiết lấy chất từ một pha lỏng, chủ yếu nhờ sự hấp phụ

Dùng pha lỏng để chiết lấy các chất từ mẫu phân tích là chất rắn.

2. PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ

2.1. Khái niệm về phương pháp sắc ký

Nhà thực vật học người Nga Mikhail Tsvet (Mikhail Semyonovich Tsvet) phát minh ra kĩ thuật sắc kí vào năm 1903 khi ông đang nghiên cứu về chlorophyll. Chữ sắc trong sắc kí có nghĩa là màu; nó vừa là tên của Tsvet trong nghĩa tiếng Nga, và vừa là màu của các sắc tố thực vật ông phân tích vào lúc bấy giờ. Tên này vẫn tiếp tục được dùng dù các phương pháp hiện đại không còn liên quan đến màu sắc.

Năm 1938 Izmailov và Schraiber lần đầu tiên dùng bột nhôm trải trên lớp kính để phân tích dịch chiết alcaloid từ thực vật.

Năm 1952 Archer John Porter Martin và Richard Laurence Millington Synge được trao giải Nobel Hoá học cho phát minh của họ về sắc kí phân bố.

Kĩ thuật sắc kí phát triển nhanh chóng trong suốt thế kỉ 20. Các nhà nghiên cứu nhận thấy nguyên tắc nền tảng của sắc kí Tsvet có thể được áp dụng theo nhiều cách khác nhau, từ đó xuất hiện nhiều loại sắc kí khác nhau. Đồng thời, kĩ thuật thực hiện sắc kí cũng tiến bộ liên tục, cho phép phân tích các phân tử tương tự nhau.

Sắc ký là qui trình trong đó chất tan được tách riêng ra bởi quá trình *dịch chuyển khác nhau* về động lực học của chúng trong hai hay nhiều pha do khác nhau về *phân bố, hấp phụ, điện tích, kích thước phân tử, độ hòa tan và áp suất hơi*

Sắc ký là một phương pháp phân tách lý - hóa trong đó các chất được tách ra khỏi hỗn hợp dựa trên sự "phân bố" liên tục của chúng giữa 2, một pha không chuyển động (pha tĩnh) và một pha chuyển động (pha động) di chuyển qua pha tĩnh theo một phương nhất định.

2.2. Phân loại

Gồm 2 loại cơ bản

- Sắc ký khí
- Sắc ký lỏng

2.2.1. Sắc ký khí: Pha dộng là một chất khí.

Mẫu phân tích được hóa hơi ở nhiệt độ cao và nhờ có khí chứa trong bơm khí dẫn vào cột phân tách nằm trong buồng điều nhiệt và quá trình phân tích các chất diễn ra ở đây.

Cột sắc ký thòng có đường kính rất nhỏ (vài mm) và xoắn lò xo trong buồng điều nhiệt. Tùy theo pha tĩnh người ta phân ra các loại sắc ký khí khác nhau.

2.2.1.1. Sắc ký khí-rắn

Pha tĩnh là một chất rắn và cơ chế phân tách các chất dựa trên nguyên lý của sắc ký hấp phụ.

2.2.1.2.Sắc ký khí-lỏng:

Pha tĩnh là một chất lỏng và cơ chế phân tách các chất dựa trên nguyên lý của sắc ký phân bố.

Sắc ký khí thường dùng trong phân tích, phát hiện các chất và sử dụng cột sắc ký chuyên dụng. Phương pháp này có ưu điểm là thời gian ngắn, lượng mẫu ít, độ chính xác cao.

2.2.2. Sắc ký lỏng

Pha động là chất lỏng. Có nhiều cách phân loại khác nhau.

2.2.2.1. Dựa trên đặc tính của pha tĩnh (cơ chế của quá trình phân tách), có các loại sắc ký sau:

* Sắc ký hấp phụ: Sự phân tách các chất là do ái lực khác nhau của chất phân tách đối với chất hấp phụ là chất rắn (pha cố định).

* Sắc ký trao đổi ion: Sự phân tách các ion là do các ion đợc phân tách trong dung dịch có ái lực khác nhau với các trung tâm trao đổi ion (nhóm chứa ion) trên chất rắn là pha cố định. Các chất đó gọi là các chất trao đổi ion mà thông thờng nhất là các nhựa trao đổi ion.

Sắc ký trao đổi ion gồm 2 quá trình riêng rẽ:

- Gắn chất phân tích mang điện (hòa tan trong pha động) và ion mang điện tích trái dấu ở pha cố định.

- Đẩy chất phân tích mang điện đợc giữ trên pha tĩnh bằng một dung dịch chứa chất mang điện tích khác (Dung dịch đẩy) có ái lực liên kết ion với pha tĩnh lớn hơn chất phân tích.

* Sắc kí phân bố: Pha tĩnh là một chất lỏng, còn gọi là sắc ký lỏng-lỏng.

• Các chất đợc phân tách dựa trên sự phân bố khác nhau của mỗi chất hòa tan vào 2 pha lỏng không trộn lẫn với nhau. Mỗi chất có hệ số phân bố riêng trong một hệ dung môi nhất định.

K= Cs / Cm.

Cs : nồng độ chất trong pha tĩnh.

Cm: Nồng độ chất trong pha động.

K: Đại lượng đặc trng cho từng chất phụ thuộc vào bản chất chất tan và nhiệt độ.

• K càng lớn, chất di chuyển càng chậm.

* Sắc ký lọc gel: Còn gọi là sắc ký rây phân tử trên cơ sở chất liệu hạt gel xốp với kích thớc hạt gel cũng như lỗ hạt gel có thể tạo ra theo ý muốn.

Trong quá trình sắc ký, các chất được phân tách trên cơ sở kích thước và hình dạng của các phân tử trong mẫu phân tích. Những phân tử lớn của pha lỏng không qua được các lỗ gel nên di chuyển qua các chỗ trống, đường đi ngắn hơn nên di chuyển nhanh ra khỏi cột trước. Các phân tử nhỏ chui qua các lỗ của hạt gel, đường đi vòng vèo, dài hơn nên di chuyển chậm.

* Sắc ký ái lực: Pha cố định là một chất giá có phân tử lớn, trơ, trên đó gắn một chất ái lực sinh học đặc hiệu với một loại cấu tử hòa tan của mẫu phân tích. Ái lực gắn sinh học thường là các phản ứng kiểu enzym- cơ chất, kháng nguyên- kháng thể.

2.2.2.2. Phân loại dựa trên hình dạng pha tĩnh.

* Sắc ký trên giấy: Pha tĩnh thường là nớc đợc giữ ở các hạt celulose của tờ giấy.

* Sắc ký lớp mỏng: Pha tĩnh là chất hấp phụ được hòa thành nhũ dịch sau đó trải lên phiến kính thành một lớp mỏng, rồi sấy khô để hoạt hóa.

* Sắc ký cột: Chất liệu làm pha tĩnh được nhồi vào cột. Tùy loại chất liệu tạo cột mà có tất cả các loại sắc ký theo nguyên lý ở trên. Ngoài ra tùy áp lực trên cột trong qúa trình sắc ký mà phân chia thành:

- Sắc ký cột mở: Cột thủy tinh làm sắc ký không có khả năng chịu lực và hệ thống sắc ký được thông tự nhiên với khí trời.

- Sắc ký lỏng cao áp: Cột sắc ký được làm bằng thủy tinh hoặc bằng thép chịu lực. Pha di động được bơm vào cột với áp lực cao trong hệ thống sắc ký kín.

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

2.3. Giới thiệu phương pháp sắc kí lớp mỏng

2.3.1. Khái niệm

Sắc ký lớp mỏng là một kỹ thuật tách các chất được tiến hành khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh trên đó đã đặt hỗn hợp các chất cần tách.

Pha tĩnh là chất hấp phụ được chọn phù hợp theo từng yêu cầu phân tích, được trải thành lớp mỏng đồng nhất và được cố định trên các phiến kính hoặc phiến kim loại, thường pha tĩnh là silica gel,aluminium oxide, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động là một hệ dung môi đơn hoặc đa thành phần được trộn với nhau theo tỷ lệ quy định trong từng chuyên luận.

2.3.2. Đại lượng đặc trưng

Phương pháp sắc ký lớp mỏng được dùng để định tính, thử tinh khiết và đôi khi để bán định lượng hoặc định lượng hoạt chất thuốc.

Đại lượng đặc trưng cho mức độ di chuyển của chất phân tích là hệ số di chuyển Rf được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử, tính bằng cm.

b là khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi đo trên cùng đường đi của vết, tính bằng cm.

Rf: Chỉ có giá trị từ 0 đến l.

2.3.3. Cách tiến hành

a. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất chính

+ Các chất hấp phụ sử dụng: Silicagel, nhôm oxyd, cellulose, bột polyamid… Chất hấp phụ được trãi dưới dạng bột nhão có chất kết dính thành bản mỏng dính chắc, hoặc dạng bột mịn không có chất kết dính thành bản mỏng dính chắc. Hiện nay trong thực tế nhiều phòng thí nghiệm người ta dùng bản mỏng tráng sẵn: Silicagel G, Silicagel GF254, …

+ Dung môi: Chọn dung môi pha động phụ thuộc vào bản chất chất nghiên cứu. Dung môi có thể là đơn hoặc hỗn hợp chất. Các dung môi phải có độ tinh khiết cao.

+ Bình triển khai: thường bằng thuỷ tinh trong suốt có kích thước phù hợp và có nắp đậy kín.

+ Dụng cụ chấm sắc kí: có thể dùng máy chấm sắc kí, dùng Micropipet nhiều cỡ từ l, 2, 5, 10 đến 20 ml, các ống mao quản hoặc dụng cụ thích hợp.

+Phát hiện: Đèn tử ngoại, phát các bức xạ có bước sóng ngắn 254 nm và bước sóng dài 365 nm, dụng cụ để phun thuốc thử hay máy đo mật độ vết.

b. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị bản mỏng: lựa chọn bản mỏng, lựa chọn chất hấp phụ phù hợp với yêu cầu phân tích, điều chế vữa chất hấp phụ, trãi bản mỏng, làm khô tự nhiên, hoạt hóa bản mỏng.

- Hoạt hóa: Cho các bản mỏng đã khô mặt vào tủ sấy và sấy ở 105 - 110^{o}C trong 30 phút (nếu không có chỉ dẫn ở chuyên luận riêng). Để nguội rồi bảo quản trong bình hút ẩm. Khi dùng, nếu cần thì hoạt hóa lại bằng cách sấy ở 105-110^{0}C trong 1 giờ rồi cạo bỏ một dải mỏng chất hấp phụ dọc hai bên cạnh của tấm kính.

- Chuẩn bị bình khai triển:

Các bình khai triển thường là bình thủy tinh, hình hộp hay hình trụ, có nắp đậy kín, kích thước thay đổi tùy theo yêu cầu của các bản mỏng sử dụng.

Bão hòa hơi dung môi trong bình bằng cách lót giấy lọc xung quanh thành trong của bình, rồi rót một lượng vừa đủ dung môi vào bình, lắc rồi để giấy lọc thấm đều dung môi. Lượng dung môi sử dụng sao cho sau khi thấm đều giấy lọc còn lại một lớp dày khoảng 5 mm đến 10 mm ở đáy bình. Đậy kín nắp bình và để yên 1 giờ ở nhiệt độ 20 - 25^{o}C hoặc tới khi dung môi chạy hết giấy lọc.

- Chấm chất phân tích lên bản mỏng:

Lượng chất hoặc hỗn hợp chất đưa lên bản mỏng có ý nghĩa quan trọng đối với hiệu quả tách sắc ký, đặc biệt ảnh hưởng rất lớn đến trị số Rf. Lượng chất quá lớn làm cho vết sắc ký lớn và kéo dài, khi đó, vết của các chất có trị số Rf gần nhau sẽ bị chồng lấp. Lượng chất nhỏ quá có thể không phát hiện được do độ nhạy của thuốc thử không đủ (thông thường độ nhạy của các thuốc thử trên 0,005 mg). Lượng mẫu thông thường cần đưa lên bản mỏng là 0,1 - 50 mg ở dạng dung dịch trong ether, c1oroform, nước hay dung môi thích hợp khác. Thể tích dung dịch từ 0,001 ml đến 0,005 ml đối với trường hợp đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng điểm và từ 0,1 - 0,2 ml khi đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng vạch như trong trường hợp sắc ký điều chế. Đối với sắc ký điều chế thì lượng chất có thể lên tới 10 - 50 mg. Đối với các dung dịch có nồng độ rất loãng thì có thể làm giàu trực tiếp trên bản mỏng bằng cách chấm nhiều lần ở cùng một vị trí và sấy khô sau mỗi lần chấm.

Đường xuất phát phải cách mép dưới của bản mỏng 1,5cm - 2 cm và cách bề mặt dung môi từ 0,8 - 1 cm. Các vết chấm phải nhỏ, có đường kính 2 - 6 mm và cách nhau 15 mm. Các vết ở bìa phải cách bờ bên của bản mỏng ít nhất 1 cm để tránh hiệu ứng bờ.

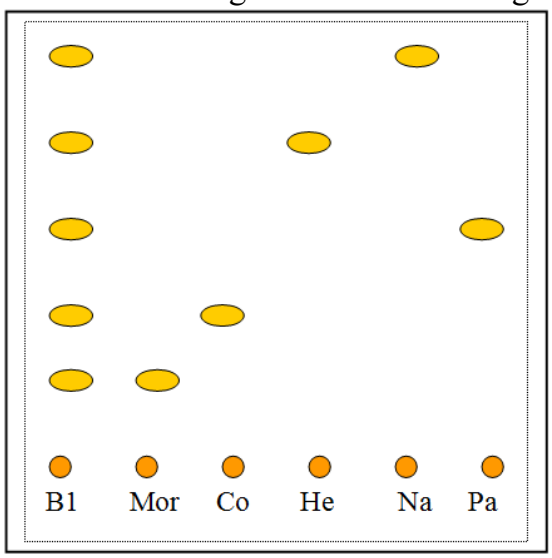
- Triển khai sắc ký: Đặt bản mỏng gần như thẳng đứng với bình triển khai, các vết chấm phải ở trên bề mặt của lớp dung môi khai triển. Đậy kín bình và để yên ở nhiệt độ không đổi. Khi dung môi đã triển khai trên bản mỏng được một đoạn theo quy định trong chuyên luận, lấy bản mỏng ra khỏi bình, đánh dấu mức dung môi, làm bay hơi dung môi còn đọng lại trên bản mỏng rồi hiện vết theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

- Đánh giá: Quan sát các vết xuất hiện, tính giá trị Rf hoặc Rr và tiến hành định tính, phát hiện tạp chất hoặc định lượng như quy định trong chuyên luận riêng.

2.3.4. Ví dụ: Kĩ thuật phát hiện các alkaloid chính của thuốc phiện bằng Sắc ký lớp mỏng.

- Pha dung môi khai triển Toluen- Aceton- Ethanol- Amoniac với tỉ lệ tương đương 45:45:7:3 hoặc Methanol- Aminiac tỉ lệ 49:1. Lắc đều rồi đổ vào bình triển khai (chú ý đổ 1 lượng không quá 1cm chiều cao trong bình triển khai) đậy nắp lại để dung môi hoà trộn đều trước khi đặt bản sắc ký vào ít nhất 15 phút.
- Dùng đầu côn nhỏ chấm khoảng 15µL mẫu thử lên bản mỏng. Đồng thời chấm mẫu chuẩn đối chiếu cách mẫu thử khoảng 1cm. Chú ý chấm cách mép dưới bản mỏng khoảng 1cm và vết chấm càng gọn càng tốt, vừa chấm vừa sấy khô.
- Đặt bản mỏng vào trong bình triển khai đã có sẵn dung môi ở trên. Chờ dung môi ngấm dần lên tới khi cách mép trên 1cm nhấc bản mỏng ra. Có thể để khô tự nhiên hoặc sấy khô.
- Soi qua đèn tử ngoại để nhận biết sơ bộ.
- Phun thuốc thử hiện màu là Dragendoff bằng đầu phun hơi sương. Sau đó tăng độ nhạy bằng acid sulfuric 10%. Để khô tự nhiên hoặc sấy khô.

Kết quả: mẫu thử cho các vết màu vàng cam và có Rf tương đương mẫu chuẩn



Hình ảnh sắc ký đồ của thuốc phiện B1: mẫu thử, Mor: Morphin, Co: Codein, He: Heroin, Na: Nacotin, Pa: papaverin

3. PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THU TỬ NGOẠI KHẢ KIẾN UV-VIS

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến là phương pháp phân tích dựa trên cơ sở sự hấp thu các bức xạ từ vùng tử ngoại (UV) và khả kiến (Vis) của các phân tử chất nghiên cứu.

3.1. Ánh sáng và màu sắc

Các bức xạ điện từ bao gồm: tia X, UV, ánh sáng nhìn thấy, hồng ngoại… có đặc điểm vừa mang tính chất sóng vừa mang tính chất hạt.

- Năng lượng bức xạ được kí hiệu bằng chữ ε: $\boldsymbol{\varepsilon = hf}$

h gọi là hằng số Plăng và được xác định bằng thực nghiệm : $\mathbf{h = 6{,}625.10^{-34}\ Js}$

Ví dụ : Lượng tử năng lượng ứng với ánh sáng vàng (λ = 0,4µm) là ε =2,65.10^{-19} J.

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

$$v = C/\lambda$$

Tùy theo bước sóng λ,ánh sáng được chia thành các vùng, phương pháp phân tích quang phổ hấp thu UV-Vis phân tích trong 2 vùng:

Vùng tử ngoại: 185 – 400nm

Vùng khả kiến: 400 – 760nm

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

3.2.1. Định luật

Chiếu một chùm tia sáng đơn sắc có cường độ I_o qua một dung dịch có chiều dày 1cm, nồng độ C. Sau khi bị hấp thụ, cường độ chùm tia còn lại là I. Ta có:

- Độ truyền qua: $T=I/ I_o$ x 100%
- Mật độ quang: $D=A=E= -lgT = lg (I/ I_o) = K.I.C$ với K là hệ số hấp thu, C là nồng độ dung dịch.

Từ định luật ta rút ra kết luận: nếu dung dịch hấp thu ánh sáng càng nhiều thì độ truyền qua càng ít, mật dộ quang càng cao và ngược lại

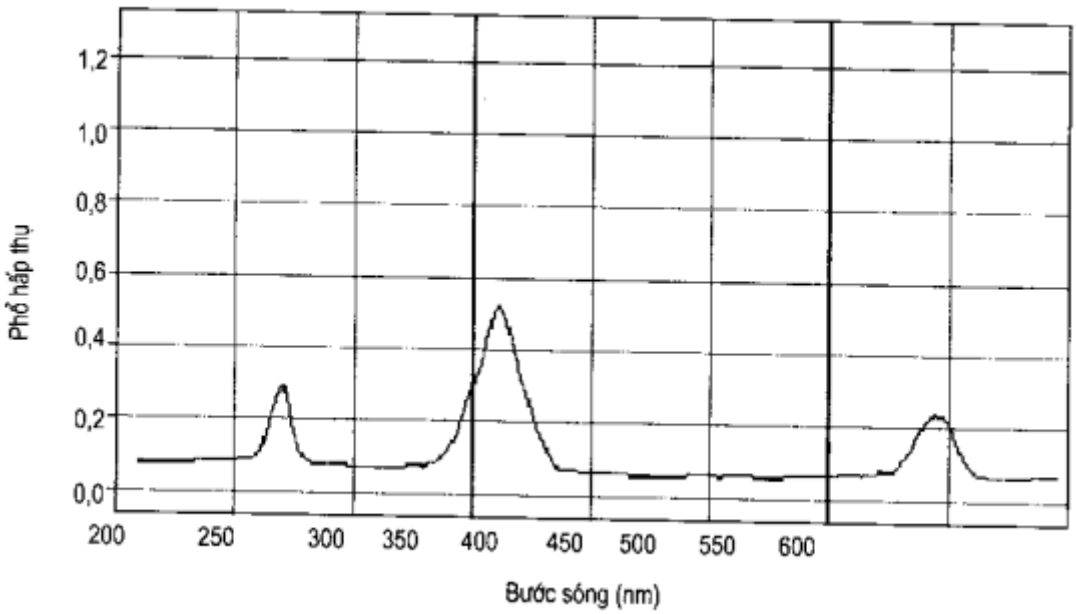
3.2.2. Điều kiện áp dụng định luật

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

3.3. Quang phổ hấp thu UV-Vis và ứng dụng

Là đường biểu diễn sự phụ thuộc của mật độ quang D của chất nghiên cứu vào bước sóng ánh sáng.

Ví dụ: phổ hấp thu của vitaminh B12 có dạng:



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

Ứng dụng

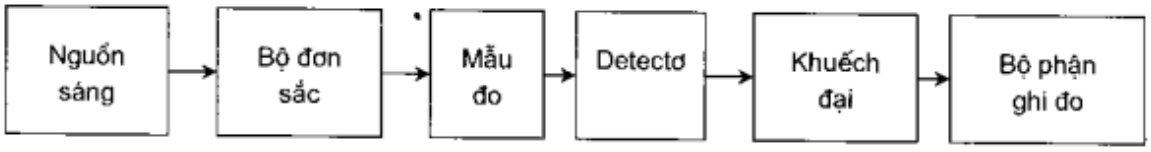
- Hình dạng và đặc biệt những cực đại trên quang phổ hấp thụ UV-Vis là những thông tin về cấu trúc của chất phân tích do đó có thể dùng định tính các chất. Ví dụ dung dịch vitamin B2 có 4 cực đại hấp thu là 223nm, 267nm, 444nm.
- Sử dụng các cực đại, kết hợp dạng phổ ta có thể kiểm tra mức độ tinh khiết hoặc sự phân hủy của chất phân tích. Ví dụ với B2 ta luôn có

D373/D267 = 0,31 – 0,33 và D444/D267 = 0,36 – 0,39

- Độ hấp thu cao hay thấp phụ thuộc vào nồng độ, do đó dựa vào định luật Lambert – Beer để định lượng các chất. Ví dụ: Định tính định lượng B12 bằng phổ UV-Vis.

3.4. Các bộ phận của máy đo quang phổ UV-Vis

Có nhiều loại máy và cấu tạo khác nhau, song đều có các bộ phận chung sau:



- Nguồn sáng

Trong vùng Vis: dùng đèn Wolfram, Halogen

Trong vùng UV: dùng đèn H2 hoặc D2

- Bộ đơn sắc hóa

Nhiệm vụ chủ yếu là tạo ra ánh sáng đơn sắc.

Có thể dùng kính lọc màu hoặc dùng lăng kính (cách tử)

- Mẫu đo

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

- Detector:

Là tên gọi chung của một thiết bị tiếp nhận thông tin dưới dạng một tín hiệu nào đó rồi chuyển hóa thành tín hiệu tương đương giúp người sử dụng nhận biết

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

Tế bào quang điện có hiện tượng mệt mỏi, độ nhạy giảm khi làm việc liên tục do đó không được chiếu ánh sáng liên tục vào tế bào quang điện

- Bộ khuếch đại: làm cho tính hiệu mạnh lên trước khi đưa vào bộ phận ghi đo. Có thể dùng khuếch đại một chiều hoặc xoay chiều.
- Bộ phận ghi đo: tùy theo nhà sản xuất mà có thể là máy đọc, máy ghi, máy hiện số kèm vi tính...

4. PHƯƠNG PHÁP ĐO THẾ

4.1. Khái niệm

Phân tích đo thế là phương pháp xác định *nồng độ* các chất dựa vào sự thay đổi của *thế điện cực* được nhúng vào dung dịch phân tích

4.2. Đại cương

4.2.1. Khái niệm về cặp oxi hóa khử của kim loại

$$M^{n+} + ne \rightleftharpoons M$$

Dạng oxi hóa và dạng khử của cùng một nguyên tố kim loại tạo nên cặp oxi hóa – khử. Một cặp oxi hóa – khử được biểu diễn dưới dạng oxi hóa/khử (Mn+/M). Ví dụ: Cu2+ và Cu tạo thành một cặp oxi hóa – khử Cu2+/Cu

4.2.2. Pin điện hóa

a. Cấu tạo pin điện hóa:

Hai cốc thủy tinh, một cốc chứa 50 ml dung dịch CuSO4 1M, cốc kia chứa 50 ml dung dịch ZnSO4 1M. Nhúng một lá Cu vào dung dịch CuSO4, một lá Zn vào dung dịch ZnSO4. Nối hai dung dịch bằng một hình chữ U đựng dung dịch Na2SO4 (hoặc

KNO3). Ống này được gọi là cầu muối. Thiết bị nói trên được gọi là pin điện hóa vì khi nối hai lá kim loại bằng một dây dẫn sẽ đo được một dòng điện đi từ lá Cu (điện cực +) đến lá Zn (điện cực –)

b. Suất điện động và thế điện cực:

- Sự xuất hiện dòng điện đi từ cực Cu sang cực Zn chứng tỏ rằng có sự chênh lệch điện thế giữa hai điện cực nói trên, tức là trên mỗi điện cực đã xuất hiện một thế điện cực nhất định

- Suất điện động của pin (E) là hiệu của thế điện cực dương (E(+)) và điện cực âm (E(-)). Điện cực dương là điện cực có thế lớn hơn và suất điện động của pin luôn là số dương

E = E(+) – E(-)

- Suất điện động chuẩn của pin (Eo) là suất điện động khi nồng độ ion kim loại ở điện cực đều bằng 1M (ở 25oC)

Eo = Eo(+) – Eo(-) hoặc Eo = Eo catot – Eo anot

- Ví dụ Eo = EoCu2+/Cu – EoZn2+/Zn gọi là suất điện động chuẩn của pin điện hóa Zn – Cu

4.3. Một số điện cực dùng trong đo thế

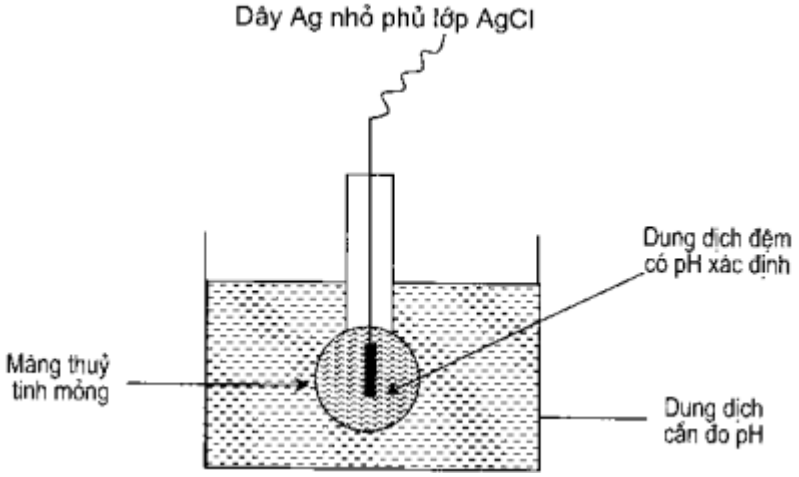
4.3.1. Các điện cực chỉ thị

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

Ví dụ:

Điện cực thủy tinh (chỉ thị cho ion H+ dùng để đo pH)

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



Hình 4: Điện cực thủy tinh

Mạch đo: Ag/AgCl/ dung dịch đệm/màng thủy tinh/dung dịch cần đo

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

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

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

+ Dây Ag nhúng vào dung dịch AgNO3 là chỉ thị cho ion Ag

$$Ag - e = Ag^+ \Rightarrow E_{Ag} = E^{o}_{Ag} + 0{,}059\lg[Ag^+]$$

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

$$Ag^+ + X^- = AgX\downarrow \text{ có } T_{AgX} = [Ag^+]\,[X^-]$$

$$AgX + e = Ag\downarrow + X^-$$

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

4.3.2. Các điện cực so sánh

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

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

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

- Điện cực Calomel: là sợi dây dẫn trơ cắm vào lớp Hg, Hg2Cl2 (Calomel), KCl có nồng độ cố định

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

$$Hg_2^{2+} + 2Cl^- = Hg_2Cl_2\downarrow \text{ có } T_{Hg_2Cl_2} = [Hg_2^{2+}][Cl^-]^2$$

$$Hg_2Cl_2 + 2e = 2Hg\downarrow + 2Cl^-$$

$$E = E^o_{Hg} + \frac{0{,}059}{2}\lg\frac{T_{Hg_2Cl_2}}{[Cl^-]^2} = \text{const}$$

4.3.3. Các điện cực tổ hợp

Để cho gọn và thuận tiện cho người sữ dụng, hiện nay các hãng sản xuất các điện cực tổ hợp là một điện cực kép gồm một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh: Thủy tinh – Calomel; Thủy tinh – Ag/AgCl; Kim loại quý, trơ – Calomel

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

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

4.4.1. Đo pH

- Dùng hệ điện cực: điện cực chỉ là thủy tinh, điện cực so sánh là Calomel
- Máy đo thường có độ nhạy 0,05pH
- Vận hành máy tùy theo sự chỉ dẫn của hãng sản xuất.
- Các bước đo:

+ Thử sơ bộ xem dung dịch cần đo có pH khoảng bao nhiêu.

+ Hiệu chuẩn máy bằng ít nhất 2 dung dịch đệm (thường dùng dung dịch đệm có pH 4 và pH 7 đối với đo dung dịch thử vùng acid; và dung dịch đệm có pH 9 và pH 7 đối với đo dung dịch thử ở vùng kiềm).

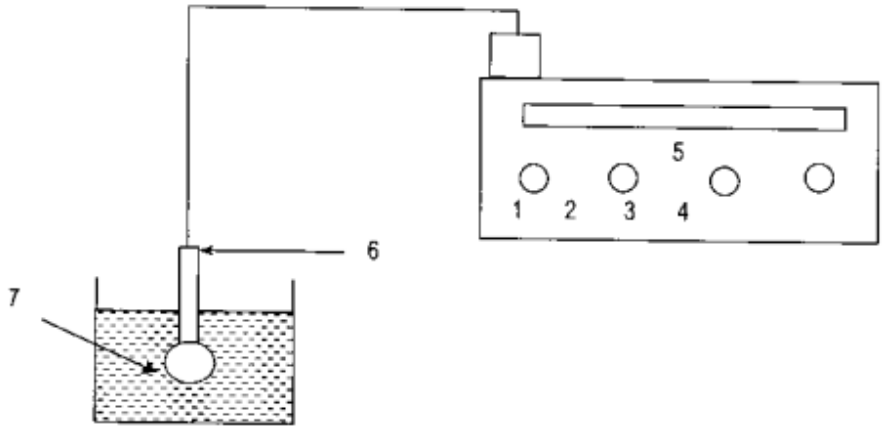
+ Đo pH của dung dịch cần thử.

Lưu ý tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng 20 – 25 độ C

* Ví dụ: dùng máy đo thế để đo pH dung dịch NH4Cl 0,1N

- Nguyên tắc: sử dụng máy đo thế với điện cực chỉ thị là thủy tinh và điện cực so sánh là Calomel (hay Ag/AgCl) hoặc điện cực tổ hợp.

Những núm điều chỉnh chính của máy đo thế pH được thể hiện trên hình:



***Hình 10.* Sơ đồ máy đo pH Jenway (Anh)**

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

- Dụng cụ, hóa chất:

+ Máy đo pH
+ Điện cực thủy tinh, Calomel
+ Cốc để thủy tinh
+ Dung dịch đệm chuẩn pH=7,00; pH=4,00; pH=9,00
+ Chỉ thị màu vạn năng

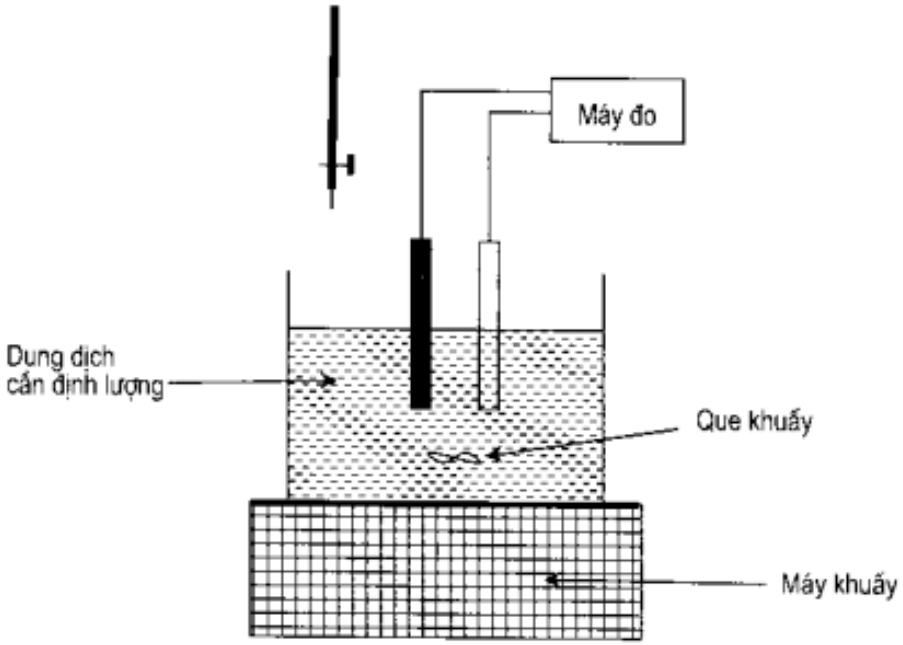
- Tiến hành

+ Điều chỉnh núm 1 để máy ở chế độ đo pH, điều chỉnh núm 2 đến nhiệt độ phù hợp.
+ Dựa vào kiến thức hoặc dùng giấy chỉ thị thử dung dịch cần đo xem pH ở khoảng nào. Tất nhiên dung dịch NH4Cl có tính acid.
+ Chuẩn máy: chọn 2 dung dịch đệm chuẩn pH=7 và pH=4. Rửa điện cực bằng nước cất, thấm khô điện cực bằng khăn mềm. Cho điện cực ngập vào dung dịch đệm 7. Điều chỉnh núm 4 về đúng giá trị 7. Rửa điện cực bằng nước cất, thấm khô điện cực bằng khăn mềm. Cho điện cực ngập vào dung dịch đệm 4. Điều chỉnh núm 3 về đúng giá trị 4.
+ Thay dung dịch đệm bằng dung dịch cần đo, màn hình sẽ chỉ trị số pH của dung dịch NH_4Cl.

Chú ý: mỗi lần thay dung dịch đo, phải nhúng điện cực vào nước cất và lau khô bằng giấy sạch, mềm.

4.4.2. Chuẩn độ đo thế

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



- Cách xác định điểm tương đương:

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

Điểm tương đương ứng với điểm uốn của đường biểu diễn. Từ đó tính kết quả.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Phương pháp tách là: chọn câu Sai
   a. Nhóm các phương pháp vật lí, hóa học, hóa lí
   b. Nhằm tách riêng từng chất từ hỗn hợp đơn giản.
   c. Hỗn hợp tách có thể là dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương
   d. Tùy theo hỗn hợp tách mà có lựa chọn phương pháp tách thích hợp.
2. Phương pháp lọc: Chọn câu Sai
   a. Hỗn hợp tách là hỗn dịch.
   b. Ưu điểm hiệu quả cao, đơn giản
   c. Có thể lọc bằng vật liệu là giấy, phễu thủy tinh xốp
   d. Có thể lọc ở áp suất cao, thấp, áp suất thường.
3. Phương pháp dựa trên sự phân bố của chất tan giữa 2 pha không hòa tan nhau là
   a. Phương pháp lọc
   b. Phương pháp ly tâm
   c. Phương pháp chia cắt pha
   d. Phương pháp chiết
4. Để tiết kiệm dung môi, ta chọn phương pháp chiết nào?
   a. Chiết đơn
   b. Chiết lặp
   c. Chiết lặp theo kiểu liên tục và chiết ngược dòng
   d. Chiết ngược dòng
5. Ông Mikhail Tsvet đã phát minh ra kĩ thuật sắc kí vào năm 1903 khi nghiên cứu
   a. Chlorophyll
   b. Alkaloid

c. Flavonoid
d. Glucosid

6. Kĩ thuật sắc kí tách riêng các chất ra khỏi hỗn hợp do các chất khác nhau về:
   a. Phân bố, hấp thụ, điện tích, kích thước phân tử, độ hòa tan và áp suất hơi
   b. Phân bố, hấp phụ, điện tích, kích thước phân tử, độ tan
   c. Phân bố, hấp phụ, điện tích, kích thước phân tử, độ tan và ái lực liên kết ion.
   d. Phân bố, hấp phụ, điện tích, kích thước phân tử, độ hòa tan và áp suất hơi
7. Sắc kí rây phân tử : chọn câu Sai
   a. Các chất được phân tách trên cơ sở kích thước và hình dạng phân tử.
   b. Theo cơ chế rây cơ học
   c. Phân tử lớn di chuyển ra khỏi cột trước
   d. Dùng trong sinh hóa để tách các protein, các carbohydrat,…
8. Quá trình sắc kí qua lần lượt các giai đoạn:
   a. Đưa mẫu thử lên pha tĩnh, cho pha động chạy qua pha tĩnh, phát hiện các chất và xử lí kết quả.
   b. Cho pha động chạy qua pha tĩnh, đưa mẫu thử lên pha tĩnh, phát hiện các chất và xử lí kết quả.
   c. Chấm sắc kí, triển khai sắc kí, phát hiện các chất và xử lí kết quả.
   d. Triển khai sắc kí, chấm sắc kí, phát hiện các chất và xử lí kết quả.
9. Sắc kí lớp mỏng: Chọn câu Sai
   a. Pha tĩnh thường dùng là Silica gel đã hoạt hóa
   b. Pha động là một hoặc một hỗn hợp dung môi.
   c. Dùng để thử định tính, bán định lượng, thử tinh khiết
   d. Việc lựa chọn dung môi pha động có một quy tắc cụ thể chứ không phải thăm dò.
10. Sắc kí lớp mỏng: Chọn câu Sai
   a. Bình khai triển sắc kí phải có nắp đậy kín
   b. Thường dùng máy chấm sắc kí để chấm sắc kí
   c. Thường phát hiện vết bằng đèn UV, thuốc thử chuyên biệt
   d. Chọn dung môi pha động phụ thuộc vào bản chất chất nghiên cứu
11. Chất phân tích chấm lên bản mỏng: Chọn câu Sai
   a. Lượng chất quá lớn làm cho vết sắc ký lớn và kéo dài
   b. Lượng chất nhỏ quá có thể không phát hiện được do độ nhạy của thuốc thử không đủ
   c. Có thể chấm vạch hoặc chấm điểm.
   d. Dung dịch phải có nồng độ vừa phải vì dung dịch quá loãng thì không thể làm giàu trực tiếp trên bản mỏng.
12. Sắc kí lớp mỏng: Chọn câu Sai
   a. Sấy ở 105 - 110^{o}C trong 30 phút
   b. Dùng giấy lọc để triển khai sắc kí
   c. Bão hòa bình sắc kí kết thúc khi dung môi chạy hết giấy lọc
   d. Lượng chất hoặc hỗn hợp chất đưa lên bản mỏng phải vừa đủ.
13. Triển khai sắc kí lớp mỏng: Chọn câu sai
   a. Các vết chấm phải ở trên mực dung môi
   b. Kết thúc khai triển khi dung môi đã chạy trên bản mỏng được một đoạn theo chuyên luận
   c. Kết thúc khai triển phải đánh dấu mực dung môi
   d. Có thể phát hiện vết trên bản mỏng khi chưa hết dung môi

14. Ánh sáng tím có bước sóng là 0,75µm. Thì năng lượng bức xạ là bao nhiêu?. Biết **h = 6,625.10^{-34} Js**

a. 4,96.10^{-19} J.
b. 2,65. 10^{-19} J.
c. 6,625.10^{-19} J
d. 0,75. 10^{-19} J

15. Từ định luật Lambert-Beer ta rút ra kết luận:

a. Nồng độ dung dịch càng lớn thì độ hấp thu càng cao, độ truyền qua càng ít.
b. Nồng độ dung dịch càng nhỏ thì độ hấp thu càng cao, độ truyền qua càng ít.
c. Nhiệt độ dung dịch càng lớn thì độ hấp thu càng cao, độ truyền qua càng ít.
d. Nhiệt độ dung dịch càng nhỏ thì độ hấp thu càng cao, độ truyền qua càng ít.

16. Máy quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến: Chọn câu Sai

a. Trong vùng Vis: dùng đèn Wolfram, Halogen; trong vùng UV: dùng đèn D2
b. Ánh sáng dùng để đo phải ánh sáng đơn sắc.
c. Máy quang phổ UV-Vis nên làm việc liên tục để tiết kiệm điện.
d. Nếu Cuvet bị trầy xước hay mờ thì không sử dụng để đo được

17. Chức năng của máy đo thế

a. Đo pH
b. Chuẩn độ
c. Đo điện của kim loại
d. Cả a và b đều đúng

18. Mục đích chính của việc biết sơ bộ pH dung dịch cần đo là acid hay base trước khi dùng máy đo thế đo pH là để:

a. Hiệu chuẩn máy.
b. So sánh kết quả đo với nhận định sơ bộ từ trước.
c. Do phải đo bằng điện cực.
d. Không cần thiết phải biết sơ bộ pH dung dịch cần đo.

19. Chọn câu sai

a. pH dung dịch thử acid thì cần dùng dung dịch đệm có pH 4,00 và pH 7,00 để hiệu chỉnh
b. Dựa trên kiến thưc hoặc dùng giấy chỉ thị để thử dung dịch cần đo xem pH ở khoảng nào.
c. Dùng hệ điện cực: điện cực chỉ là thủy tinh, điện cực so sánh là Calomel
d. Có thể dùng một điện cực chỉ thị thích hợp và một điện cực so sánh

20. Chuẩn độ đo thế: chọn câu sai

a. Dùng một điện cực chỉ thị thích hợp và một điện cực so sánh.
b. Điểm tương đương được xác định bằng chỉ thị.
c. Dùng đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa E và thể tích dung dịch chuẩn thêm vào để xác định nồng độ dung dịch cần định lượng.
d. Khuấy dung dịch cần định lượng bằng thiết bị khuấy trong suốt quá trình chuẩn độ.

BÀI 6: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP ĐO LƯỜNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ LÝ HỌC

MỤC TIÊU

1. Trinhg bày được phương pháp xác định giới hạn tạp chất trong thuốc.
2. Trình bày được cách xác định giới hạn tạp chất, tỉ lệ vụn nát trong dược liệu.

NỘI DUNG

1. XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG VÀ TỶ TRỌNG

1.1. Khối lượng riêng

Khái niệm: Khối lượng riêng của một chất ở nhiệt độ t (ρ_t) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t:

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

m: Khối lượng của chất, xác định ở nhiệt độ t.

V: Thể tích chất, xác định ở nhiệt độ t.

Trong hệ đơn vị quốc tế S.I, đơn vị của khối lượng riêng là kg/cm^3. Trong ngành dược thường xác định khối lượng riêng ở nhiệt độ 20 ^{o}C (ρ_{20}) có tính đến ảnh hưởng của sức đẩy của không khí (tức là quy về giá trị xác định trong chân không) và dùng đơn vị kg/l hoặc g/ml.

1.2. Tỷ trọng tương đối

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^{o}C.

1.3. Tỷ trọng biểu kiến

Đại lượng "tỷ trọng biểu kiến" được dùng trong các chuyên luận ethanol, ethanol 96% và loãng hơn..., 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 kg m^{-3} và được tính toán theo biểu thức sau đây:

Tỷ trọng biểu kiến = 997,2 x d_{20}^{20}

Trong đó d_{20}^{20} là tỷ trọng tương đối của chất thử; 997,2 là khối lượng cân trong không khí của 1 m^3 nước, tính bằng kg.

1.4. Xác định tỷ trọng d_{20}^{20} của một chất lỏng

Xác định tỷ trọng của một chất lỏng theo phương pháp được chỉ rõ trong chuyên luận. Nếu chuyên luận không chỉ rõ dùng phương pháp nào để xác định tỷ trọng một chất lỏng, có thể dùng một trong các phương pháp sau đây:

- *Phương pháp dùng picnomet*
- *Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr-Westphal*
- *Phương pháp dùng tỷ trọng kế*

1.4.1. Giới thiệu một phương pháp điển hình phương pháp dùng picnomet:

Cân chính xác picnomet rỗng, khô và sạch. Có khối lượng m_0

Đổ vào picnomet mẫu thử đã điều chỉnh nhiệt độ thấp hơn 20°C, (chú ý không để có bọt khí). Giữ picnomet ở nhiệt độ 20°C trong khoảng 30 phút.

Dùng một băng giấy lọc để thấm hết chất lỏng thừa trên vạch mức, làm khô mặt ngoài của picnomet.

Cân rồi tính khối lượng chất lỏng chứa trong picnomet. Có khối lượng m_2

Tiếp đó đổ mẫu thử đi, rửa sạch picnomet, làm khô bằng cách tráng ethanol rồi tráng aceton, thổi không khí nén hoặc không khí nóng đuổi hết hơi aceton.

Sau đó xác định khối lượng nước cất chứa trong picnomet ở nhiệt độ 20°C như làm với mẫu thử. Có khối lượng m_1

Tỷ số giữa khối lượng mẫu thử và khối lượng nước cất thu được là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

$$d_{20}^{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Phương pháp này cho kết quả với 4 chữ số lẻ thập phân.

1.4.2. Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr-Westphal

Đặt cân trên mặt phẳng nằm ngang. Mắc phao vào đòn cân, đặt phao chìm trong nước cất ở nhiệt độ 20°C và chỉnh thăng bằng bằng các con mã đặt ở các vị trí thích hợp, thu được giá trị M. Lấy phao ra, thấm khô rồi đặt lại phao chìm trong chất lỏng cần xác định tỷ trọng, ở cùng nhiệt độ 20°C, chú ý sao cho phần dây treo chìm trong chất lỏng một đoạn bằng đoạn đã chìm trong nước cất. Chỉnh lại thăng bằng bằng các con mã đặt ở vị trí thích hợp, thu được giá trị M_1.

Tỷ số M_1/M là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

Phương pháp này cho kết quả với 3 chữ số lẻ thập phân.

1.4.3. Phương pháp dùng tỷ trọng kế

Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether.

Dùng đũa thuỷ tinh trộn 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 theo vòng khum dưới của mức chất lỏng.

Đối với chất lỏng không trong suốt, đọc theo vòng khum trên.

Phương pháp này cho kết quả với 2 hoặc 3 chữ số lẻ thập phân.

1.5. Xác định tỷ trọng d_{20}^{20} của mỡ, sáp, nhựa, nhựa thơm

Dùng picnomet:

- Đầu tiên cân chính xác picnomet khô, rỗng sạch ở 20°C (M_1)

- Cân picnomet đổ đầy nước cất ở 20°C (M_4).

- Sau đó đổ nước đi, làm khô picnomet, dùng ống hút hoặc phễu cuống nhỏ, cho vào trong picnomet mẫu thử đã được đun chảy khoảng 1/3-1/2 thể tích của picnomet. Để 1 giờ trong nước nóng, không đậy nút. Làm nguội đến 20°C, đậy nút. Lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_2).

- Cuối cùng thêm nước cất đến đầy, lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_3). Chú ý không được để bọt khí còn lại giữa lớp nước và mẫu thử.

Tính kết quả theo công thức:

$$d_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_1}{(M_4 + M_2) - (M_1 + M_3)}$$

2. XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ pH

2.1. Khái niệm pH:

pH là một số biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của dung dịch nước. Trong thực hành, định nghĩa trên là một định nghĩa thực nghiệm. pH của một dung dịch liên quan với pH của một dung dịch đối chiếu theo biểu thức sau:

$$pH = pH_s - \left[\frac{(E - E_s)}{k}\right]$$

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: Là pH của dung dịch đối chiếu.

k: Hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ ghi ở bảng 6.2.1

Bảng 6.2.1: Giá trị của k ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ	k
15°	0,0572
20°	0,0582
25°	0,0592
30°	0,0601
35°	0,0611

2.2. Máy Đo pH

Trị số pH của một dung dịch được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (thí dụ điện cực calomel bão hòa).

Máy đo là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng. Nó thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy đủ để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V.

Các điện cực thủy tinh phù hợp và các kiểu máy đo pH kể cả máy đo pH hiện số đều phải đáp ứng yêu cầu trên.

Vận hành máy đo pH và hệ thống điện cực tuỳ theo sự chỉ dẫn của hãng sản xuất.

Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 đến 25°C, trừ những trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

2.2.1. Hiệu chuẩn máy

- Dùng dung dịch đệm chuẩn D ghi trong bảng 6.2.2 là chuẩn thứ nhất, đo và chỉnh máy để đọc được trị số pH của chuẩn ghi ở bảng tương ứng với nhiệt độ của dung dịch.

- Dùng một dung dịch đệm chuẩn thứ hai (chọn một trong các dung dịch quy định ghi ở bảng 6.2.2) để chỉnh thang đo.

Trị số pH đo được của dung dịch đệm chuẩn thứ ba, dung dịch có trị số pH nằm giữa trị số pH của đệm chuẩn thứ nhất và thứ hai, phải không được sai khác nhiều hơn 0,05 đơn vị pH so với trị số pH tương ứng ghi trong bảng 6.2.2.

Bảng 6.2.2*:* pH của dung dịch đệm chuẩn ở nhiệt độ khác nhau.

Nhiệt độ	Dung dịch đệm							
t^o	A	B	C	D	E	F	G	H
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
ΔpH/Δt	+ 0,001	- 0,0014	- 0,0022	+ 0,0012	- 0,0028	- 0,0028	- 0,0082	- 0,0096

ΔpH/Δt là độ lệch pH trên 1°C

2.2.2. Phương pháp đo

- Nhúng các điện cực vào trong dung dịch cần khảo sát và đo trị số pH ở cùng nhiệt độ đo của các dung dịch đệm chuẩn khi hiệu chuẩn máy. 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.

Khi đo các dung dịch có pH trên 10,0 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.

- 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 đệm chuẩn ấy lớn hơn 0,05 thì các phép đo phải làm lại.

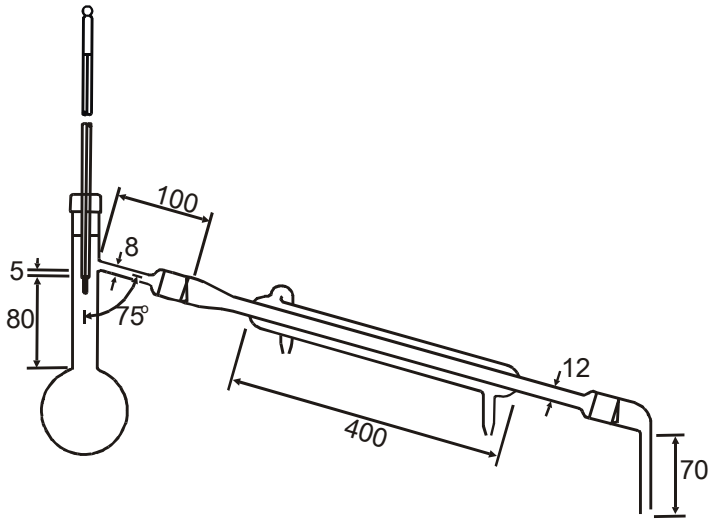
- Các dung dịch đệm chuẩn: tham khảo DĐVN IV

3. XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ SÔI VÀ KHOẢNG CHƯNG CẤT

Nhiệt độ sôi của một chất lỏng là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó áp suất hơi của chất lỏng đạt tới 101,3 kPa.

3.1. Xác định nhiệt độ sôi

3.1.1.Dụng cụ



***Hình 6.8*:** Dụng cụ xác định điểm sôi, khoảng chưng cất (kích thước tính bằng mm).

Bình chưng cất: Bình chưng cất đáy tròn, bằng thuỷ tinh chịu nhiệt có dung tích 50 - 60 ml, cổ bình cao 10 - 12 cm, đường kính trong của cổ bình từ 14 - 16 mm, ở khoảng giữa chiều cao của cổ bình có một ống nhánh dài 10 - 12 cm, đường kính trong 5 mm và tạo với phần dưới của cổ bình một góc 70 - 75°.

Ống ngưng ruột thẳng: Một ống thuỷ tinh thẳng dài 55 - 60 cm, phần được cung cấp nước lạnh dài khoảng 40 cm. Ở cuối ống ngưng lắp một ống nối cong để dẫn chất lỏng cất được vào bình hứng.

Bình hứng: Là một ống đong thích hợp có dung tích 25 - 50 ml, chia độ đến 0,5 ml.

Nguồn nhiệt: có thể điều chỉnh được cường độ đốt nóng, có thể dùng bếp khí đốt, đèn cồn. Khi dùng bếp khí đốt hay đèn cồn phải dùng một lưới thép có phủ chất chịu nhiệt hình vuông, mỗi chiều dài 14 - 16 cm, ở giữa có một lỗ tròn sao cho khi đặt bình cất vào, phần lọt xuống dưới lưới thép có phủ chất chịu nhiệt có dung tích 3 - 4 ml.

Nhiệt kế đã hiệu chuẩn chia độ đến 0,5 °C hoặc tới 0,2 °C. Lắp nhiệt kế ở đúng giữa cổ bình và để đáy của bầu thuỷ ngân ngang với mức thấp nhất của cổ bình.

3.1.2. Cách xác định

Cho vào bình cất 20 ml chất thử, thêm vào bình cất vài viên bi thuỷ tinh hay đá bọt. Đun nóng bình nhanh cho đến sôi. Đọc nhiệt độ khi giọt chất lỏng đầu tiên hứng được.

Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khí quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k\,(101{,}3 - b)$$

Trong đó:

t_1: Nhiệt độ đã được hiệu chỉnh

t_2: Nhiệt độ đọc được ở áp suất b

b: áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa)

k: Hệ số hiệu chỉnh ở bảng dưới đây

Nhiệt độ sôi (°C)	Hệ số hiệu chỉnh
Dưới 100 °C	0,30
Trên 100 °C tới 140 °C	0,34
Trên 140 °C tới 190 °C	0,38
Trên 190 °C tới 240 °C	0,41
Trên 240 °C	0,45

3.2. Xác định khoảng chưng cất

Khoảng chưng cất của một chất lỏng là khoảng nhiệt độ được hiệu chỉnh ở áp suất 101,3 kPa, trong khoảng đó một chất lỏng hay một phần xác định chất lỏng chưng cất được trong điều kiện dưới đây:

3.2.1.Dụng cụ

- Dụng cụ giống như dụng cụ xác định điểm sôi, chỉ khác là bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thuỷ ngân thấp hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm.

- Nhiệt kế được chia vạch tới 0,2°C và có khoảng thang đo được 50 °C. Trong khi chưng cất bình và cổ bình được bảo vệ để tránh gió lùa bằng một tấm màn chắn thích hợp.

- Hứng dịch cất vào một ống đong 50 ml chia độ tới 1 ml. Làm lạnh ống ngưng bằng nước tuần hoàn đối với các chất chưng cất dưới 150 °C

3.2.2.Cách xác định

- Cho vào bình cất 50 ml chất lỏng thử nghiệm, thêm vài viên đá bọt.

- Đun bình sao cho chất lỏng sôi nhanh và ghi nhiệt độ tại đó giọt chất lỏng đầu tiên cất được nhỏ vào ống đong.

- Điều chỉnh nguồn nhiệt để có tốc độ cất 2-3 ml/phút và ghi lại nhiệt độ mà tất cả chất thử hay một phần quy định chất thử ở 20^0C được chưng cất hết.

- Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khí quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k\,(101{,}3-b)$$

Trong đó:

t_1: Nhiệt độ đã được hiệu chỉnh

t_2: Nhiệt độ đọc được ở áp suất b

b: áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa)

k: Hệ số hiệu chỉnh ở bảng trong mục xác định điểm sôi, nếu không có hệ số nào khác được quy định trong chuyên luận riêng.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1: Định nghĩa khối lượng riêng:
a) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t
b) 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.
c) là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng
d) được biểu thị bằng đơn vị kg m^{-3} tính theo công thức 997,2 x d_{20}^{20}

Câu 2: Định nghĩa tỷ trọng tương đối
a) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t
b) 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.
c) là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng
d) được biểu thị bằng đơn vị kg m^{-3} tính theo công thức 997,2 x d_{20}^{20}

Câu 3: Tỷ trọng biểu kiến:
a) 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.
b) là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng
c) được biểu thị bằng đơn vị kg m^{-3} tính theo công thức 997,2 x d_{20}^{20}
d) b và c đúng

Câu 4: Xác định tỷ trọng của một chất lỏng theo phương pháp được chỉ rõ trong chuyên luận. Nếu chuyên luận không chỉ rõ dùng phương pháp nào để xác định tỷ trọng một chất lỏng, có thể dùng phương pháp nào sau đây
a) Phương pháp dùng picnomet
b) Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr-Westphal
c) Phương pháp dùng tỷ trọng kế
d) Một trong 3 phương pháp trên

Câu 5: Người ta xác định tỷ trọng ở 20^0C của xiro ho bằng picnomet, kết quả thu được như sau

Khối lượng của picnomet 10,0625 gam
Khối lượng của picnomet chứa đầy xiro 21,4280 gam
Khối lượng của picnomet chứa đầy nước 20,0831 gam
Hãy tính tỷ trọng của chế phẩm.
a) 1,134
b) 1,458
c) 1,543
d) Tất cả sai

Câu 6: Máy Đo pH, *chọn phát biểu sai*
a) Trị số pH của một dung dịch được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (thí dụ điện cực calomel bão hòa).

b) Máy đo là một điện thế kế có trở kháng đầu vào nhỏ hơn 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng. Nó thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy đủ để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,5 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,03 V.

c) Các điện cực thủy tinh phù hợp và các kiểu máy đo pH kể cả máy đo pH hiện số đều phải đáp ứng yêu cầu trên.

d) Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 đến 25^{o}C, trừ những trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

Câu 7: Hiệu chuẩn máy Đo pH.

a) Dùng dung dịch đệm chuẩn D ghi trong bảng 6.2.2 là chuẩn thứ nhất, đo và chỉnh máy để đọc được trị số pH của chuẩn ghi ở bảng tương ứng với nhiệt độ của dung dịch.

b) Dùng một dung dịch đệm chuẩn thứ hai (chọn một trong các dung dịch quy định ghi ở bảng 6.2.2) để chỉnh thang đo.

c) Trị số pH đo được của dung dịch đệm chuẩn thứ ba, dung dịch có trị số pH nằm giữa trị số pH của đệm chuẩn thứ nhất và thứ hai, phải không được sai khác nhiều hơn 0,05 đơn vị pH so với trị số pH tương ứng ghi trong bảng 6.2.2.

d) Cả a b c

Câu 8: Dụng cụ Xác định nhiệt độ sôi và Xác định khoảng chưng cất bao gồm các dụng cụ sau, ngoại trừ
a) Bình chưng cất, Ống ngưng ruột thẳng
b) Bình nón
c) Bình hứng, Nguồn nhiệt
d) Nhiệt kế đã hiệu chuẩn chia độ đến 0,5 ^{o}C hoặc tới 0,2 ^{o}C

Câu 9: Nhiệt độ sôi của một chất lỏng là nhiệt độ……., tại đó áp suất hơi của chất lỏng đạt tới ……. Điền vào dấu ba chấm. Chọn câu đúng nhất.
a) chưa hiệu chỉnh, 101,3 kPa.
b) đã hiệu chỉnh, 101,3 kPa.
c) đã hiệu chỉnh, 100,0 kPa.
d) đã hiệu chỉnh, 101,3 Pa.

Câu 10: Cách tiến hành xác định khoảng chưng cất khác với xác định nhiệt độ sôi ở điểm nào

a) bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thuỷ ngân cao hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm.

b) bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thuỷ ngân thấp hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm.

c) bình cất có dung tích 250 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thuỷ ngân thấp hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm.

d) bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thuỷ ngân ngang bằng thành dưới của ống nhánh 5 mm.

BÀI 7: XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU

MỤC TIÊU

1. Trình bày được phương pháp xác định: khối lượng riêng, tỷ trọng, chỉ số khúc xạ, góc quay cực và góc quay cực riêng, nhiệt độ nóng chảy.

2. Biết cách thử độ rã và độ hòa tan của viên nén, viên nang.

NỘI DUNG

1. THỬ GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT TRONG THUỐC

1.1. Thử giới hạn Amoni

Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận

1.1.1. Phương pháp A

Mẫu thử: Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận với 14 ml nước trong một ống nghiệm kiềm hóa nếu cần bằng dung dịch natri hydroxyd 2M (TT), thêm nước vừa đủ 15 ml. Thêm 0.3 ml thuốc thử Nessler (TT), lắc đều rồi để yên 5 phút.

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

So sánh màu tạo thành trong ống thử với mẫu chuẩn được chuẩn bị đồng thời. Khi so màu, quan sát theo dọc trục ống nghiệm trong ánh sáng khuếch tán trên nền trắng. Màu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu.

1.1.2. Phương pháp B

Cho một lượng theo chỉ dẫn chế phẩm thử đã nghiền mịn vào một bình 25 ml có nút đậy bằng polyethylen và hòa tan hoặc phân tán trong 1 ml nước. Thêm 0,3 g magnesi oxyd nặng (TT). Đậy bình ngay sau khi đã đặt xuống dưới nắp polyethlen một mẩu giấy tẩm mangan bạc (TT) rộng 5 mm đã được làm ẩm bằng vài giọt nước. Lắc xoay tròn bình, tránh chất lỏng bắn lên và để yên ở 40^0C trong 30 phút.

Màu xám nếu xuất hiện trên mẫu giấy mangan bạc ở bình thử không được đậm hơn ở bình mẫu được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện với lượng dung dịch amoni mẫu đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, 1 ml nước và 0,3 magnesi oxyd nặng (TT).

1.2. Thử giới hạn Arsen

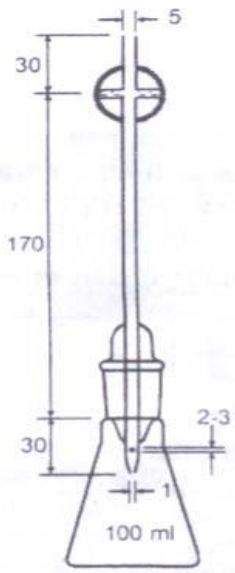
Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận. Chỉ giới thiệu phương pháp A

1.2.1. Phương pháp A

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

Cách đầu ống 15 mm 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 30 mm, có cùng đường kính và cũng có 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 hai dây lò xo.



Hình 7.4. 2. 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 hai ống thủy tinh, giữ chặt 2 ống thủy tinh bằng 2 dây lò xo.

Cho vào bình nón một lượng chế phẩm thử theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Hòa tan hoặc pha loãng với nước thành 25 ml. Thêm 15 ml acid hydrocloric (TT), 0,1 ml $SnCl_2$(TT) và 5 ml dung dịch kali iodid 20% (TT). Để yên 15 phút rồi thêm 5 g 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 mẫu 1 phần triệu As hòa loãng với nước thành 25ml thay thế 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.

1.3. Thử giới hạn Calci

Thêm 1 ml dung dịch amoni oxalat 4% (TT) vào 0,2 dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96%.

Sau 1 phút, thêm hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid axetic 2M (TT) và 15 ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận và lắc.

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

- Yêu cầu: Độ đục trong ống thử phải không đậm hơn độ đục chuẩn.

1.4. Thử giới hạn Clorid

Mẫu thử: Chuẩn bị dung dịch thử như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, pha loãng với nước đến 15 ml. Thêm 1 ml dung dịch acid nitric 2M (TT) và 1ml dung dịch bạc nitrat 2% (TT). Để yên 5 phút, tránh ánh sáng. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục chuẩn được chuẩn bị đồng thời, quan sát dọc theo trục ống nghiệm trong ánh sáng khuếch tán trên nền đen. Độ đục trong ống thử không được lớn hơn độ đục chuẩn.

Mẫu chuẩn: Chuẩn bị trong cùng điều kiện với ống thử, nhưng thay dung dịch thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl và 5 ml nước.

1.5. Kim loại nặng: gồm 5 phương pháp

Có thể dùng một trong các phương pháp đó nhưng tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Giới thiệu phương pháp 1.

1.5.1. Phương pháp 1

Lấy 12 ml dung dịch chế phẩm thử được pha chế như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, thêm 2 ml dung dịch đệm acetat pH 3,5. Lắc đều. Thêm 1,2 ml dung dịch thioacetamid (TT), lắc ngay rồi để yên 2 phút.

Chuẩn bị đồng thời ống chuẩn dùng hỗn hợp 10 ml dung dịch ion chì mẫu 1 phần triệu Pb hoặc 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 mẫu chuẩn có màu nâu nhạt khi được so sánh với ống trắng được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, dùng 10 ml nước và 2 ml dung dịch chế phẩm thử.

1.6. Thử giới hạn sắt

Hòa tan một lượng chế phẩm thử quy định trong nước rồi pha loãng với nước tới 10 ml hoặc lấy 10 ml 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 0,1 ml acid mercaptoacetic (TT).

Lắc đều, kiềm hóa bằng dung dịch amoniac 10M (TT) và pha với nước tới 20 ml. 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.

2. XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT LẪN TRONG DƯỢC LIỆU

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...

2.1.Cách xác định

Cân 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.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

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

a: Khối lượng tạp chất tính bằng gam

p: Khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

2.2. Ghi chú

Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất.

Tỷ lệ tạp chất được tính 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): 10 g.
Hạt và quả nhỏ: 20 g.
Dược liệu thái thành lát: 50 g.

3. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ VỤN NÁT CỦA DƯỢC LIỆU

Cân một lượng dược liệu nhất định (p gam) đã được loại 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%) (từ kết quả trung bình của ba lần thực hiện) theo công thức:

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

Ghi chú:

Lượng dược liệu lấy để thử (tuỳ theo bản chất của dược liệu) từ 100 đến 200 g.

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

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

4. XÁC ĐỊNH TRO SULFAT

Áp dụng một trong các phương pháp sau đây nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn khác. giới thiệu phương 1

+ Phương pháp 1

Nung một chén sứ hoặc chén platin tới đỏ trong 10 phút, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân.

Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt trong chuyên luận riêng thì cho 1 g mẫu thử vào chén nung, làm ẩm với acid sulfuric (TT), đốt cẩn thận rồi lại làm ẩm với acid sulfuric (TT) và nung ở khoảng 800 ^{0}C.

Làm nguội rồi cân. Nung lại 15 phút, làm nguội rồi cân nhắc lại.

Lặp lại quá trình này cho đến khi đến khối lượng không đổi

Nếu cắn tro sulfate kiểm chỉ tiêu kim loại nặng thì nung mẩu ở nhiệt độ 500 - 600^0 C

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1. Dung dịch mẫu chuẩn ở chỉ tiêu thử giới hạn amoni (phương pháp A) nên chọn nồng độ ion amoni ……?
a. 10 phần triệu
b. 1 phần triệu
c. 5 phần triệu
d. 1 phần trăm

Câu 2. Dung dịch mẫu thử ở chỉ tiêu thử giới hạn amoni (phương pháp A) cần kiềm hóa phải dung dung dịch ……
a. Kali hydroxyd 1M
b.Natri hydroxyd 0,2M
c. Natri hydroxyd 2M
d. Natri hydroxyd 5M

Câu 3. Dung dịch mẫu ở chỉ tiêu thử giới hạn arsen, hút chính xác 1ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As pha loãng với...

a. Nước vừa đủ 25ml
b. Acid hydrocloric vừa đủ 15ml
c. Acid hydrochloric (TT) vừa đủ 15ml
d. Tất cả đều sai
Câu 4. Nồng độ dung dịch calci mẫu ở chỉ tiêu thử giới hạn calci ?
a. 1 phần triệu Ca
b. 10 phần triệu Ca
c. 100 phần triệu Ca
d. 15 phần triệu Ca
Câu 5. Nếu cắn tro sulfate kiểm chỉ tiêu kim loại nặng thì nung mẩu ở nhiệt độ là tốt nhất.
a.Ở nhiệt độ 500 - 600^0 C
b. Ở nhiệt độ 450 - 600^0 C
c. Ở nhiệt độ 800^0 C
d. Khoảng 600^0 C
Câu 6. Khi xác định chỉ tiêu tro sulfate, nung một chén sứ hoặc chén platin tới đỏ trong thời gian bao lâu, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân.
a. Khoảng 30 phút
b. Từ 15 phút đến 60 phút
c. Khoảng 10 phút
d. Các phương án đều sai
Câu 7: Lượng dược liệu lấy để thử tỷ lệ vụn nát của dược liệu nhưng tuỳ theo bản chất của dược liệu mà lấy.
a. Từ 30 g đến 100 g
b. Từ 100 g đến 150 g
c. Từ 100 g đến 200 g
d. Từ 50 g đến 200 g
Câu 8. Xác định chỉ tiêu kim loại nặng được DĐVN IV chia thành bao nhiêu phương pháp ?
a. Hai phương pháp
b. Ba phương pháp
c. Một phương pháp
d. Năm phương pháp
Câu 9. Chỉ tiêu kim loại nặng được DĐVN IV chia thành nhiều phương pháp khác nhau, khi chuyên luận riêng không quy định kiểm nghiệm viên ?
a. Tùy ý chọn phương pháp phù hợp điều kiện phòng thí nghiệm
b. Chọn phương pháp nào đơn giản, giảm độc hại môi trường
c. Chọn phương pháp theo chuyên luận riêng quy định sẵn
d. Dùng phương pháp 1 để kiểm nghiệm
Câu 10. Khi so sánh màu dung dịch trong 2 ống nghiệm ta cần lưu ý đến yếu tố nào của 2 ống nghiệm ?
a. Ống nghiệm phải lành lặn
b. Ống nghiệm phải làm bằng thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt
c. Ống nghiệm có kích cỡ bằng nhau, đường kính trong như nhau
d. Cả 2 phương án b,c đều đúng

BÀI 8: KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT VÀ THUỐC CỐM

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc bột, thuốc cốm.
2. Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
3. Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc bột.

NỘI DUNG

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT

1.1. ĐỊNH NGHĨA

Thuốc bột là dạng thuốc rắn, gồm các hạt nhỏ, khô tơi, có độ mịn xác định, có chứa một hay nhiều loại dược chất.

Ngoài dược chất, thuốc bột cũng có thể thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược hút, tá dược màu, tá dược điều hương, vị ...

Thuốc bột có thể dùng để uống, để pha tiêm hay để dùng ngoài.

1.2. CÁC YÊU CẦU CHẤT LƯỢNG CHUNG

1.2.1. Tính chất

Cách thử: trải một lượng bột vừa đủ, được phân tán đều trên một tờ giấy trắng mịn.Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên.

Yêu cầu: Bột phải khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

1.2.2. Độ ẩm

- Xác định độ ẩm thuốc bột theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6 – DĐVN IV) như sấy trong tủ sấy ở áp suất thường, áp suất giảm, làm khô trong bình hút ẩm(có chất hút ẩm như phosphor pentoxyd, silicagel v.v.....)

+ Dụng cụ để chứa mẫu sấy thường là chén sấy có nút mài dành riêng cho kiểm nghiệm thuốc.

- Hoặc Phương pháp định lượng nước bằng thuốc thử Karl fisher (Phụ lục 10.3 – DĐVN IV), tuỳ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng mà tiến hành thực hiện.

+ Dụng cụ xác định hàm lượng nước bằng phương pháp Karl fisher dùng máy Karl fisher để phân tích.

Lưu ý : Thuốc bột hàm lượng nước không được quá 9,0%, trừ các chỉ dẫn khác.

1.2.3. Độ mịn

Nếu không có chỉ dẫn khác, độ mịn của thuốc bột được xác định qua phép **thử cỡ bột và rây** .

+ Cách tiến hành: chọn cỡ rây theo chỉ dẫn của chuyên luận riêng (nếu chuyên luận riêng không quy định , cân lượng mẫu thử theo từng cỡ bột đã quy định sẵn. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 20 phút (ít nhất 30 phút) tùy thuộc cỡ bột và rây tới khi xong. Khi rây, tránh kéo dài thời gian vì sẽ làm tăng độ mịn của bột**.** Cân đúng số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

- Các cỡ bột được quy định dựa vào các số của rây.
- Trừ khi có chỉ dẫn khác, khi quy định dùng một rây để xác định cỡ bột thì không được có dưới 97% khối lượng thuốc bột qua được cỡ rây đó.

- Khi quy định dùng hai rây để xác định cỡ bột thì để một rây lên trên rây kia và tiến hành rây; không được có dưới 95% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây cao hơn và không được quá 40% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây thấp hơn.

Người ta dùng những ký hiệu sau đây để quy định các cỡ bột:

+ Đối với bột thô (1400/ 355) là bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 1400 và không quá 40% qua được rây số 355

+ Đối với bột nửa thô (710/ 250) là bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 710 và không quá 40% qua được rây số 250.

+ Đối với bột nửa mịn (355/ 180) là bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 355 và không quá 40% qua được rây số 180.

+ Đối với bột mịn (180/ 125) là bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 180 và không quá 40% qua được rây số 125.

+ Đối với bột rất mịn (125/ 90) là bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 125 và không quá 40% qua được rây số 90.

Bảng quy định cỡ rây để xác định độ mịn của thuốc bột

Cỡ bột	Dùng 1 rây	Dùng 2 rây
+ Đối với bột thô	1400	1400/ 355
+ Đối với bột nửa thô	710	710/ 250
+ Đối với bột nửa mịn	355	355/ 180
+ Đối với bột mịn	180	180/ 125
+ Đối với bột rất mịn	125	125/ 90

Quy định lượng mẫu thử dựa vào cỡ bột:

- Đối với bột thô hoặc nửa thô thì lấy 25 g tới 100 g bột để thử. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 20 phút và rây tới khi xong. Cân đúng số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

- Đối với bột nửa mịn, mịn hay rất mịn thì tiến hành như bột thô, nhưng mẫu bột lấy để thử không quá 25 g và lắc rây ít nhất 30 phút rồi rây tới khi xong.

Trường hợp phải rây những chất có dầu hay những bột khác có xu hướng bít mắt rây thì trong quá trình rây thỉnh thoảng chải cẩn thận mắt rây, tách rời những đống tụ lại khi rây.

Bảng 3.5. Cỡ rây (kim loại)

Số rây*	Cỡ mắt rây (mm)	Đường kính sợi dây (mm)
2000	2,000	0,900
1400	1,400	0,710
710	0,710	0,450

500	0,500	0,315
355	0,355	0,224
250	0,250	0,160
180	0,180	0,125
150	0,150	0,100
125	0,125	0,090
90	0,090	0,063
75	0,075	0,050
45	0,045	0,032

* Số rây biểu thị kích thước đo bằng μm của mắt rây.

Những quy định mắt rây bằng sợi kim loại chủ yếu được lựa chọn từ trong tiêu chuẩn ISO 565 - 1975.

Ghi chú: Đối với dược liệu có khi cần dùng các cỡ rây to hơn so với bảng cỡ rây trên, trong trường hợp này chỉ cần nêu rõ kích thước của cỡ mắt rây.

- Thuốc bột phải đạt độ mịn quy định trong chuyên luận.

Ví dụ: Kiểm tra độ mịn của thuốc bột uống Acetylcysteine 200mg. Dùng 2 rây 1400/355.

Tiến hành thử:

Đặt rây số 1400 lên trên rây số 355. Cân một lượng 30.576 gam bột thuốc Acetylcysteine 200mg dàn đều lên rây số 1400, tiến hành rây, rây ít nhất 20 phút, cân lượng bột còn lại trên rây 1400 là 0,117 gam bột thuốc, lượng bột qua rây (dưới rây) 355 là 6.477 gam.

- Vậy lượng bột thuốc qua rây 1400 là : (30,576 -0,117)/30,576 = 99,62 (%) > 95,0(%)

- Vậy lượng bột thuốc qua rây 355 là : 6.477/30,576 = 21.16 (%)≤ 40(%)

Vậy bột thuốc Acetylcysteine 200mg đạt về chỉ tiêu độ mịn.

1.2.4. Độ đồng đều hàm lượng

- Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho thuốc bột để uống, để tiêm được trình bày trong các đơn vị đóng gói 1 liều, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2% (kl/kl) so với khối lượng bột đóng gói trong 1 liều.

- Phép thử này không áp dụng cho chế phẩm đa liều, thuốc truyền tĩnh mạch không phân liều, chế phẩm chứa vitamin, nguyên tố vi lượng và các trường hợp khác được phép miễn trừ.

- Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, phép thử độ đồng đều hàm lượng được tiến hành trên 10 đơn vị đóng gói nhỏ nhất, lấy ngẫu nhiên. được tiến hành theo phép thử định lượng và hàm lượng dược chất đạt trong giới hạn qui định. Kết quả được đánh giá theo phương pháp sau:

Áp dụng cho thuốc nang, thuốc bột không dùng pha tiêm, thuốc cốm

+ Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 %, hoặc có một hay nhiều đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Nếu hai hoặc ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85% đến 115 %, nhưng ở trong giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá ba trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

1.2.5. Độ đồng đều khối lượng

Những thuốc bột không qui định 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 dược chất đã được thử độ đồng đều hàm lượng mới không thử độ đồng đều khối lượng.

Khi khối lượng trung bình bằng hay nhỏ hơn 40 mg, chế phẩm không phải thử độ đồng đều khối lượng, nhưng phải thử độ đồng đều hàm lượng.

+ Cách tiến hành: Lấy 5 đơn vị đóng gói bất kỳ, nhỏ nhất, cân từng đơn vị đó, cắt mở gói, lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch bột thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng vỏ gói. Khối lượng thuốc trong gói là hiệu số giữa khối lượng 1 gói và khối lượng vỏ gói. Tiến hành tương tự với 4 đơn vị còn lại. Tính khối lượng của thuốc trong từng gói. Nếu có một đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn Bảng 1, tiến hành thử lại với năm đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Không được có quá một đơn vị trong tổng số 10 đơn vị đem thử có khối lượng nằm ngoài giới hạn qui định. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 1 dưới đây:

Bảng 1

Dạng bào chế	Khối lượng ghi trên nhãn (KLN)	% chênh lệch so với KLN
Thuốc bột	Nhỏ hơn hoặc bằng 0,50 g	± 10
	Lớn hơn 0,50 g và bằng 1,50 g	± 7
	Lớn hơn 1,50g và bằng 6,00 g	± 5
	Lớn hơn 6,00 g	± 3

Khi không có chỉ dẫn riêng, độ chênh lệch được tính theo tỷ lệ phần trăm so với khối lượng trung bình bột thuốc trong một đơn vị đóng gói.

1.2.6. Định tính

Tiến hành theo từng chuyên luận riêng và phải có phản ứng đặc trưng của hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.7. Định lượng

Cân 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ được khối lượng a (g), cắt mở gói, lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch bột thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng 5 vỏ gói b(g). Vậy khối lượng trung bình bột thuốc trong gói là M = (a - b)/5. Tiến hành định lượng theo chuyên luận riêng. Tính hàm lượng hoạt chất so với hàm lượng ghi trên

nhãn, tính theo khối lượng trung bình bột thuốc trong gói.và giới hạn cho phép về hàm lượng hoạt chất đối với thuốc bột và thuốc cốm tuân theo bảng sau:

Bảng 11.1.2: Giới hạn cho phép nồng độ, hàm lượng thuốc

Loại thuốc	Lượng hoạt chất ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép (%)
Thuốc bột, Thuốc cốm.....	Mọi hàm lượng	± 10%

1.2.8. Giới hạn nhiễm khuẩn: cách thực hiện ở bài "Kiểm Nghiệm Vi Sinh Vật"

Các thuốc bột có nguồn gốc dược liệu, nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, phải đáp ứng yêu cầu Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

Ví dụ: Kiểm tra chất lượng Thuốc bột uống MEKOFIXIM 100 mg (Cefixim 100mg)

TIÊU CHUẨN CHẤT LƯỢNG

Chỉ tiêu	Yêu cầu
1- Tính chất	Chế phẩm có dạng màu trắng, hơi vàng, mùi đặc trưng, vị ngọt.
2- Độ đồng đều khối lượng	± 7.0 % so với khối lượng trung bình gói
3- Hàm lượng nước	Không được quá 9 %
4- Độ mịn	Không được dưới 97 % phân tử qua rây số 1400
5- Định tính	Chế phẩm phải có phép thử định tính của Cefixim
6- Định lượng	Đạt từ 90 % - 110 % Cefixim ($C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$) so với lượng ghi trên nhãn, tính theo khối lượng trung bình bột thuốc trong gói.

PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM

1. Tính chất: Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2. Độ đồng đều khối lượng: Tiến hành theo DĐVN IV, phụ lục 11.3.

3. Hàm lượng nước

Cân chính xác khoảng 0,2 g bột thuốc. Tiến hành theo DĐVN IV, phụ lục 10.6 "

4. Độ mịn: Tiến hành theo DĐVN IV, phụ lục "

5. Định tính

- Theo định lượng bằng sắc ký lỏng cao áp

- Trong phần định lượng, peak chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của peak chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

6. Định lượng

- Thực hiện bằng phương pháp HPLC

- **Thuốc thử**

- Acetonitril (HPLC)

- Dung dịch tetrabutylammonium hydroxyd 12,5% trong nước

- Acid phosphoric

- Dung dịch natri hydroxyd (TT)

-Dung dịch tetrabutylammonium hydroxyd pH = 7,0: Pha loãng 20.8 ml dung dịch tetrabutylammonium hydroxyd 12.5% với 1000 ml nước, điều chỉnh về pH = 7,0 bằng dung dịch acid phosphoric 1,5 M

- Dung dịch đệm pH = 7,0: Lấy 6,8 ml acid phosphoric cho vào 300 ml nước, điều chỉnh về pH = 7 bằng natri hydroxyd 10 N, pha loãng với nước thành 1000 ml

- **Điều kiện sắc ký**

- Detector: 254 nm

- Cột Lichrosorb: RP18 (250 x 4,6, 10 µm hoặc 5 µm)

- Tốc độ dòng: 1,5 ml/phút

- Thể tích tiêm: 20 µl

- Pha động: Dung dịch Tetrabutyammonium hydroxyd pH = 7 : Acetonitril theo tỉ lệ (70 : 30). Có thể điều chỉnh tỉ lệ pha động nếu cần. Lọc qua giấy lọc 0,45 µm, siêu âm đuổi khí 15 phút

- **Tiến hành**

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg Cefixim chuẩn, cho vào bình định mức 50 ml, hoà tan hoàn toàn bằng dung dịch đệm pH = 7, thêm dung dịch đệm vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 5 ml dung dịch này pha loãng vừa đủ với dung dịch đệm pH = 7 thành 25 ml

- Dung dịch thử: Cân và xác định khối lượng trung bình 5 gói, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc đã nghiền mịn tương đương 100 mg Cefixim cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch đệm pH = 7, vừa lắc vừa siêu âm cho tan (khoảng 30 phút), thêm pH = 7 vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc bỏ từ 20 -30 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 5 ml dịch lọc này pha loãng vừa đủ với dung dịch đệm pH = 7 thành 50 ml

- Lọc dung dịch chuẩn và thử qua màng lọc 0,45 µm. Lần lượt tiêm các dung dịch này vào hệ thống sắc ký

- Dựa vào diện tích peak dung dịch chuẩn và dung dịch thử, khối lượng cân chuẩn và thử, độ pha loãng chuẩn và thử, hàm lượng nguyên trạng. Tính (%) hàm lượng Cefixim so với hàm lượng trên nhãn tính theo khối lượng trung bình gói

1.3. Các loại thuốc bột

1.3.1. Thuốc bột để uống

Thuốc bột để uống có thể dùng nuốt trực tiếp hoặc được sử dụng sau khi đã hòa tan hay phân tán trong nước hoặc chất lỏng thích hợp. Thuốc bột để uống phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột. Ngoài ra thuốc bột sủi bọt phải đạt yêu cầu sau:

- Độ tan

Cho một lượng bột tương ứng với một liều vào một cốc thuỷ tinh chứa 200 ml nước ở 15 - 25^{o}C, xuất hiện nhiều bọt khí bay ra. Khi hết bọt khí, thuốc phải tan hoàn toàn. Thử như vậy với 6 liều đơn. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu mỗi liều thử đều tan trong vòng 5 phút, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

1.3.2. Thuốc bột dùng ngoài

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

Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột, ngoài ra phải đạt các chỉ tiêu riêng.

1.3.3.Thuốc bột để pha tiêm

Phải đáp ứng yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm, tiêm truyền dạng bột (Phụ lục 1.19).

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC CỐM

2.1. Định nghĩa

Thuốc cốm hay thuốc hạt là dạng thuốc rắn có dạng hạt nhỏ xốp hay sợi ngắn xốp, thường dùng để uống với một ít nước hay một chất lỏng thích hợp, hoặc pha thành dung dịch, hỗn dịch hay siro.

Thuốc cốm chứa một hoặc nhiều dược chất, ngoài ra có thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược dính, tá dược điều hương vị, tá dược màu...

2.2. Các yêu cầu chất lượng chung

2.2.1. Tính chất

Thuốc cốm phải khô, có dạng hạt nhỏ xốp hay sợi ngắn xốp, đồng đều về kích thước hạt, màu sắc, không có hiện tượng hút ẩm, không bị mềm và biến màu.

Cách tiến hành: Trải một lượng bột vừa đủ một lớp mỏng trên tờ giấy trắng mịn. Quan sát bằng mắt thường dưới ánh sáng tự nhiên.

Đánh giá: chế phẩm đạt yêu cầu nếu đạt như mô tả

2.2.2. Độ ẩm

Xác định nước trong các thuốc cốm nói chung theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6), trong các thuốc cốm chứa tinh dầu theo phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13).

Các thuốc cốm có độ ẩm không quá 5,0%, trừ các chỉ dẫn khác.

2.2.3. Độ đồng đều khối lượng

Thuốc cốm không quy định thử độ đồng đều về hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng.

Cách tiến hành: Lấy ngẫu nhiên 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất, cân từng đơn vị, đánh số theo thứ tự, thao tác tiếp theo như phần **Độ đồng đều khối lượng** của Thuốc bột.

Tính được lượng thuốc trong từng đơn vị đóng gói trên nằm trong giới hạn ± 5% so với khối lượng ghi trên nhãn.

Đánh giá: nếu 1đơn vị lệch ra ngoài giới hạn trên thì thử lại 5 đơn vị khác bất kỳ, nếu có quá 1 đơn vị không đạt thì kết luận lô thuốc không đạt chỉ tiêu **Độ đồng đều khối lượng**

2.2.4. Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho các thuốc cốm đóng gói một liều, có chứa một hoặc nhiều dược chất, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2% (kl/kl) so với khối lượng cốm trong 1 liều.

Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, phép thử độ đồng đều hàm lượng được tiến hành trên 10 đơn vị đóng gói nhỏ nhất, lấy ngẫu nhiên. Được tiến hành theo phép thử định lượng và hàm lượng dược chất đạt trong giới hạn qui định.

Kết quả được đánh giá:

+ Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 %, hoặc có một hay nhiều đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Nếu hai hoặc ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85% đến 115 %, nhưng ở trong giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá ba trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

2.2.5. Định tính

Tiến hành theo chuyên luận riêng. Thuốc cốm phải có những phản ứng đặc trưng của hoạt chất có trong chế phẩm.

2.2.6. Định lượng

Cân 5 đơn vị đóng gói nhỏ nhất bất kỳ được khối lượng a (g), cắt mở gói, lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch bột thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng 5 vỏ gói b(g). Vậy khối lượng trung bình thuốc trong gói là M = (a - b)/5. Tiến hành định lượng theo chuyên luận riêng. Tính hàm lượng hoạt chất theo hàm lượng ghi trên nhãn theo khối lượng trung bình bột thuốc trong gói và giới hạn cho phép về hàm lượng hoạt chất đối với thuốc bột và thuốc cốm tuân theo bảng sau:

Bảng 11.1.2: Giới hạn cho phép nồng độ, hàm lượng thuốc

Loại thuốc	Lượng hoạt chất ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép (%)
Thuốc bột, Thuốc cốm.....	Mọi hàm lượng	± 10%

2.2.7. Độ rã

Cho một lượng cốm đóng gói trong một đơn vị phân liều vào cốc chứa 200 ml nước ở 15 - 25 ^{o}C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Cốm được coi là rã hết nếu hoà tan hoặc phân tán hết trong nước. Thử với 6 liều, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi liều rã trong vòng 5 phút, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

2.2.8.Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu chung của thuốc cốm và theo chuyên luận riêng.

2.3.Bảo quản

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

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1. Thuốc bột tồn tại ở dạng gì ?
a. Dạng lỏng
b. Dạng khô
c. Dạng dung dịch
d. Dạng rắn
Câu 2. Trong thuốc bột ngoài dược chất (hoạt chất), cũng có thể thêm các tá dược như tá……., tá dược màu, tá dược điều hương, vị.
a. Tá dược độn, Tá dược hút
b. Tá dược độn, tá dược trơn
c. Tá dược độn, vị hương
d. Tá dược hút, tá dược hương thơm
Câu 3. Đối với thuốc bột xác định độ ẩm của nó có thể dùng một trong các phương pháp nào
a. PP mất KL do làm khô
b. PP Karl fisher
c. PP bay hơi bằng nhiệt độ
d. Cả a và b đều đúng
Câu 4. Chọn cỡ rây thích hợp (khi dùng 2 rây) để xác định độ mịn của bột thuốc đối với dạng bột thô ?
a. 1400/ 355
b. 355/255
c. 710/255
d. 1400/180
Câu 5. Chọn cỡ rây thích hợp (khi dùng 1 rây) để xác định độ mịn của bột thuốc đối với dạng bột thô ?
a. 1400
b. 710
c. 355
d. 1500
Câu 6. Chọn cỡ rây thích hợp (khi dùng 1 rây) để xác định độ mịn của bột thuốc đối với dạng bột nữa thô ?
a. 355
b. 710
c. 350
d. 250

Câu 7. Chọn cỡ rây thích hợp (khi dùng 2 rây) để xác định độ mịn của bột thuốc đối với dạng bột rất mịn ?
a. 125/ 90
b. 125/ 80
c. 255/180
d. 355/125
Câu 8. Chọn cỡ rây thích hợp (khi dùng 1 rây) để xác định độ mịn của bột thuốc đối với dạng bột rất mịn ?
a. 90
b. 180
c. 125
d.1250
Câu 9. Đối với bột thô hoặc nửa thô thì lấy bao nhiêu lượng bột thuốc để thử độ mịn. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn trong thời gian bao nhiêu…… và rây tới khi xong.
a. Từ 25g tới 50g và ít nhất 20 phút

b. Từ 25 g tới 100 g và ít nhất 30 phút
c. Từ 25 g tới 100 g và ít nhất 20 phút
d. Chính xác 25 g và ít nhất 20 phút
Câu 10. Đối với bột nửa mịn, mịn hay rất mịn thì lấy bao nhiêu lượng bột thuốc…….. để thử độ mịn. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn trong thời gian bao nhiêu…… và rây tới khi xong.
a. Không quá 25 g và ít nhất 30 phút

b. Đúng 50 g và ít nhất 30 phút
c. Khoảng 30 g và 30 phút
d. Cả a và c đều đúng
Câu 11. Khi tiến hành rây nên lắc rây như thế nào cho đúng kỹ thuật ?
a. Lắc rây theo chiều xoay vòng tròn
b. Lắc rây theo chiều ngang quay tròn
c. Lắc rây nghiên một góc 60^0 , rây đến hết
d. Cả a,b,c đều sai
Câu 12. Khi xác định độ mịn của thuốc bột nên tránh…….rây bột thuốc. Vì tăng độ mịn của thuốc.
a. Lắc rây xoay chéo
b. Kéo dài thời gian rây
c. Lắc rây mạnh, lắc thật lâu
d. Cả a,b,c đều sai

Câu 13. Các cỡ bột được quy định dựa vào các số của rây. Nếu số rây càng lớn thì cỡ mắt rây…….và kéo theo đường kính sợi dây…….

a. Càng nhỏ và càng lớn

b. Càng lớn và càng nhỏ

c. Càng nhỏ và càng nhỏ

d. Càng lớn và càng lớn
Câu 14. Theo DĐVN IV thì cỡ mắt rây và đường kính sợi dây được quy định bởi đơn vị tính……. ?

a. mm
b. m
c. dm
d. cm

Câu 15. Phép thử độ đồng đều hàm lượng được tiến hành theo phép thử…….để xác định hàm lượng của từng đơn vị đóng gói?
a. Định tính
b. Đo quang
c. Sắc khí lỏng
d. Định lượng

Câu 16. Đối với thuốc bột nếu khối lượng ghi trên nhãn (KLN) lớn hơn 0,50g thì (%) chênh lệch so với KLN là bao nhiêu……...
a. ± 7,5(%)
b. ± 5,0 (%)
c. ± 7,0 (%)
d. ± 10,0 (%)

Câu 17. Chọn lô thuốc không đạt chỉ tiêu độ ẩm.Thuốc cốm paracetamol 150 mg, khi kiểm tra độ ẩm trên 4 lô thuốc khác nhau thì thu được 4 kết quả hàm ẩm tương ứng như sau:
a. Lô 010212- hàm lượng ẩm đạt 3,88%
b. Lô 020212- hàm lượng ẩm đạt 4,32%
c. Lô 020212- hàm lượng ẩm đạt 3,78 %
d. Lô 040212- hàm lượng ẩm đạt 5,62%

Câu 18. Khi tiến hành xác định độ ẩm trong các thuốc cốm nói chung ta có thể áp dụng phương pháp (pp) nào. Tùy theo bản chất của chế phẩm.
a. PP xác định mất khối lượng do làm khô hay pp cất với dung môi
b. PP xác định mất khối lượng do làm khô hoặc pp Karl Fisher
c. PP cất với dung môi hay xác định hàm lượng nước bằng thuốc thử Karl Fisher
d. Cả a,b,c đều đúng

Câu 19. Khi thực hiện chỉ tiêu "độ đồng đều khối lượng" của thốc cốm, ta thử bao nhiêu đơn vị đóng gói nhỏ nhất.
a. 10 đơn vị
b. 5 đơn vị
c. 20 đơn vị
d. Nhỏ hơn 10 đơn vị

Câu 20. Thuốc cốm Cefixim 50mg, khi định lượng thì hàm lượng cefixim của thuốc đạt trong khoảng giới hạn nào, tính theo khối lượng trung bình gói, so với hàm lượng ghi trên nhãn.
a. Hàm lượng từ 95% - 105%
b. Hàm lượng từ 90% - 110%
c. Hàm lượng từ 85% - 115%
d. Hàm lượng từ 75% - 125%

BÀI 9: KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG VÀ VIÊN NÉN

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc viên nang, viên nén.
2. Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
3. Trình bày được ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc viên nang, viên nén.

NỘI DUNG

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG

1.1. Định nghĩa

Thuốc nang là dạng thuốc uống chứa một hay nhiều dược chất trong vỏ nang với nhiều hình dạng và kích thước khác nhau.

Vỏ nang được làm chủ yếu từ gelatin hoặc polyme như HPMC... Ngoài ra trong vỏ nang còn chứa các tá dược khác như chất hóa dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc chứa trong nang có thể là dạng rắn (bột, cốm, pellet...) hay lỏng, nửa rắn (hỗn dịch, nhũ tương, bột nhão...).

1.2. Các yêu cầu chất lượng chung

1.2.1. Tính chất

Đạt theo yêu cầu của từng chuyên luận riêng mô tả.

- Cách đánh giá:

+ Hình dạng: hình trụ dài hai đầu tròn (dạng nhộng) đối với viên nang cứng hoặc hình tròn, hình giọt nước, hình trứng với viên nang mềm.

+ Kích thước: tùy theo cỡ nang

+ Màu sắc, mùi vị: tùy theo nhà sản xuất và hoạt chất đựng trong nang.

1.2.2. Độ đồng đều hàm lượng

Nếu không có chỉ dẫn khác, yêu cầu này áp dụng cho các thuốc nang có chứa một hoặc nhiều dược chất, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2% (kl/kl) so với khối lượng thuốc trong 1 nang. Đối với nang có từ 2 dược chất trở lên, chỉ thử độ đồng đều hàm lượng với thành phần nào có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên.

Yêu cầu này không áp dụng cho các nang thuốc chứa nhiều vitamin và các nguyên tố vi lượng.

Thực hiện trên 10 viên riêng lẽ bất kỳ, cho toàn bộ lượng bột thuốc trong một nang tiến hành định lượng theo phương pháp ở mục ĐỊNH LƯỢNG, **Kết quả được đánh giá:**

+ Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 %, hoặc có một hay nhiều đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

+ Nếu hai hoặc ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85% đến 115 %, nhưng ở trong giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá ba trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

1.2.3. Độ đồng đều khối lượng

- Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá hai đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch so với khối lượng trung bình quy định trong bảng 11.3.1 và không được có đơn vị nào có khối lượng vượt gấp đôi giới hạn đó.

Khi khối lượng trung bình bằng hay nhỏ hơn 40 mg, chế phẩm không phải thử độ đồng đều khối lượng, nhưng phải thử độ đồng đều hàm lượng.

Nếu phép thử độ đồng đều hàm lượng đó được tiến hành với tất cả các dược chất có trong nang thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Cân khối lượng của một nang .Với viên nang cứng, tháo rời hai nửa vỏ nang, dùng bông lau sạch vỏ và cân khối lượng của vỏ. Với viên nang mềm, cắt mở nang, bóp hết thuốc ra, dùng ethanol hay ether hoặc dung môi hữu cơ thích hợp rửa vỏ nang, để khô tự nhiên cho đến khi hết mùi dung môi, cân khối lượng của vỏ nang. Khối lượng thuốc trong nang là hiệu số giữa khối lượng nang thuốc và khối lượng vỏ nang.

Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 11.3.1. Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đơn liều

Dạng bào chế	**Khối lượng trung bình (KLTB)**	**% Chênh lệch so với KLTB**
Thuốc nang cứng/mềm	Nhỏ hơn 300 mg Bằng hoặc lớn hơn 300 mg	± 10 ± 7,5

1.2.4. Định tính

Tiến hành theo chuyên luận riêng, có phản ứng đặc trưng của hoạt chất có trong chế phẩm.

1.2.5. Định lượng

Xác định khối lượng trung bình trên 20 viên, trộn đều và nghiền mịn lượng bột trong 20 viên. Tiến hành định lượng theo chuyên luận riêng, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo quy định bảng 2.

Bảng 2: Giới hạn cho phép nồng độ, hàm lượng thuốc

Loại thuốc	Lượng hoạt chất ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép (%)
Thuốc viên nén Thuốc nang	Tới 50 mg Trên 50 mg-100 mg Trên 100 mg	± 10% ± 7,5% ± 5%

1.2.5. Tạp chất (nếu có)

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

1.2.6. Độ rã (Phụ lục 11.6)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước làm môi trường thử, thời gian rã phải trong vòng 30 phút. Nếu thử trong môi trường nước không đạt, thay nước bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1N (TT) hoặc dịch dạ dày giả (TT).

Nếu nang nổi trên mặt nước, có thể dùng singer để giữ viên thuốc nằm dưới mặt nước.

1.2.7. Độ hòa tan

Các thuốc nang có yêu cầu thử độ hòa tan sẽ có qui định cụ thể trong chuyên luận riêng. Thử trên 6 viên. Không yêu cầu thử độ tan rã đối với thuốc nang đó thử độ hòa tan.

1.3. Các loại viên nang

1.3.1. Thuốc nang cứng

Vỏ nang cứng gồm nắp nang và thân nang hình trụ lồng khít vào nhau bằng khớp trên vỏ nang hoặc được hàn kín sau khi đóng thuốc. Thuốc đóng trong nang thường ở dạng rắn (bột, hạt...). Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện riêng.

1.3.2. Thuốc nang mềm

Thuốc nang mềm là một khối mềm chứa dược chất và tá dược đóng trong vỏ kín với nhiều hình dạng và kích cỡ khác nhau. Vỏ nang mềm làm bằng hỗn hợp gelatin, chất hoá dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc đóng trong nang mềm thường ở dạng lỏng, dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương. Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện đồng thời.

Thuốc nang mềm dùng để uống hoặc để đặt.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang mềm phải đạt các yêu cầu sau:

1.3.3 Thuốc nang tan trong ruột

Thuốc nang tan trong ruột là các nang cứng hay nang mềm có vỏ nang hoặc hạt đóng nang ró trong dịch ruột. Đối với các thuốc nang đóng hạt được bao tan ở ruột phải tiến hành thử độ hoà tan để kiểm tra sự giải phóng dược chất theo Phụ lục 11.4 và theo chuyờn luận riờng.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang tan trong ruột phải đáp ứng được các yêu cầu:

1.3.4. Thuốc nang tác dụng kéo dài

Thuốc nang tác dụng kéo dài là thuốc nang cứng hay nang mềm, trong đó vỏ nang hay thuốc trong nang (hoặc cả 2) được bào chế để dược chất giải phóng kéo dài. Phải thử độ hòa tan theo yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng.

1.4. Bảo quản

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

Ví dụ: Kiểm tra chất lượng Viên nang US.FACLOR 250 mg (Cefaclor 250 mg)

1- Mục đích

Kiểm nghiệm viên nang US.FACLOR 250 mg nhằm đảm bảo chất lượng thành phẩm trước khi xuất kho

2- Phạm vi áp dụng

- Phòng kiểm tra chất lượng

3- Trách nhiệm

- Kiểm nghiệm viên phải thực hiện đúng quy trình kiểm nghiệm.
- Phụ trách phòng kiểm nghiệm có trách nhiệm kiểm tra và đảm bảo quy trình được tuân thủ.

4- Nội dung

TIÊU CHUẨN CHẤT LƯỢNG

Chỉ tiêu	Yêu cầu
1- Tính chất	Viên nang cứng số 2, trắng-tím, có in số 250. Bột thuốc màu trắng ngà, mùi đặc trưng.
2- Độ đồng đều khối lượng	± 10% so với khối lượng trung bình bột thuốc trong nang.
3- Hàm lượng nước	Không được quá 8.0 %
4- Định tính	Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của cefaclor
5- Độ hòa tan	Không được dưới 80 % lượng cefaclor được hòa tan sau 30 phút.
6- Định lượng	Đạt từ 95.0% – 105.0 % cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) so với hàm lượng ghi trên nhãn tính theo khối lượng trung bình bột thuốc trong nang.

PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM

1- Tính chất: Thử bằng cảm quan chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2- Độ đồng đều khối lượng: Tiến hành theo phụ lục 11.3 – DĐVN IV

3- Hàm lượng nước:

- Cân chính xác khoảng 0.3 g chế phẩm. Tiến hành theo phụ lục 10.3 - **Định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fischer– DĐVN IV**

4- Định tính

4.1- Phản ứng hóa học

- Cân một lượng bột thuốc trong nang tương đương với 0.3 g cefaclor khan, hòa tan với 100 ml nước. Lọc và pha lõang 1 ml dịch lọc thành 100 ml với nước. Phổ hấp thu của dung dịch thu được ở dãi sóng 190 nm đến 310 nm có cực đại hấp thu ở 264 nm.

4.2- Sắc ký lỏng cao áp: ở mục định lượng bằng HPLC

- Trong phần định lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

5- Độ hòa tan

- **Điều kiện thiết bị**

- Thiết bị: kiểu cánh khuấy
- Môi trường: 900 ml nước
- Tốc độ quay: 50 vòng/phút
- Thời gian: 30 phút

- **Tiến hành**

- **Dung dịch thử:** sau thời gian thử nghiệm, lọc dung dịch sau khi hòa tan. Hút 5 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch, trộn đều. (0.0277 mg/ml)

- **Dung dịch chuẩn**: Cân chính xác khoảng 27 mg chuẩn Cefaclor cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan với nước, thêm nước vừa đủ đến vạch. Hút 5 ml dịch lọc trên vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch. (0.027 mg/ml)

- Đo độ hấp thu của dung dịch thử và chuẩn ở bước sóng 264 nm, sử dụng nước làm mẫu trắng.

- Dựa vào độ hấp thu của dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng % cefaclor hòa tan từ mỗi viên.

6- Định lượng

- Phương pháp HPLC

- **Giai đoạn thành phẩm, đóng nang**

- **Điều kiện sắc ký**

- Cột sắc ký: Hypersil ODS (4.6 mm x 15 cm x 5 µm)
- Tốc độ dòng: 1.2 ml/phút
- Detector: 254 nm
- Buồng tiêm mẫu: 20 µl

- **Pha động**: Dung dịch kali dihydrophosphate 0.05 M pH 3.5 (điều chỉnh bằng acid phosphoric 25 %) – Methanol – Acetonitril (tỉ lệ 865 : 45 : 90)

- **Tiến hành**

- **Dung dịch thử**: Cân và xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong 20 nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác 1 lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 120 mg cefaclor vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm cho tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 5 ml dịch lọc pha loãng thành 100 ml với pha động, lọc qua giấy lọc 0.45 µm. (0.06 mg/ml)

- **Dung dịch chuẩn**: Cân chính xác khoảng 30 mg cefaclor chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan hòa tòan, thêm pha động đến vạch. Hút chính xác 2 ml dung dịch trên pha lõang thành 20 ml với pha động, lọc qua giấy lọc 0.45 µm. (0.06 mg/ml)

- Lần lượt tiêm dung dịch chuẩn và thử vào hệ thống sắc ký, RSD của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2.0 %

- Dựa vào diện tích pic của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, khối lượng cân, hàm lượng chuẩn, tính hàm lượng (%) cefaclor theo hàm lượng ghi trên nhãn, tính theo khối lượng bột thuốc trong nang

$$X\% = \frac{S_t \cdot m_c \cdot C \cdot D_t \cdot M_v \cdot 100\%}{S_c \cdot m_t \cdot Dc \cdot HLTN}$$

Trong đó:

- St, Sc : Diện tích đáp ứng của đỉnh trong dung dịch thử và dung dịch chuẩn đối chiếu.
- m_t : Khối lượng (g) của chất thử.
- m_c : Khối lương (mg) của chất chuẩn đối chiếu.
- C: Hàm lượng nguyên trạng của chất chuẩn.
- Dt, Dc : Độ pha loãng của dung dịch thử và dung dịch chuẩn đối chiếu.
- M_v: khối lượng trung bình bột thuốc trong nang.
- HLTN: hàm lượng ghi trên nhãn (mg).

2. KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NÉN

2.1. Định nghĩa

Viên nén là dạng thuốc rắn, mỗi viên là một đơn vị phân liều, dùng để uống, nhai, ngậm, đặt hoặc hòa với nước để uống, để súc miệng, để rửa.... Viên nén chứa một hoặc nhiều dược chất, có thể thêm các tá dược độn, tá dược rã, tá dược dính, tá dược trơn, tá dược bao, tá dược màu... được nén thành khối hình trụ dẹt; thuôn (caplet) hoặc các hình dạng khác. Viên có thể được bao.

2.2. Các yêu cầu chất lượng chung

2.2.1. Tính chất

Viên rắn, hai mặt nhẵn, trên mặt có thể có rãnh, chữ hoặc ký hiệu, cạnh và thành viên lành lặn. Viên không bị gãy vỡ, bở vụn trong quá trình bảo quản, phân phối và vận chuyển.

2.2.2. Định tính

Tiến hành theo chuyên luận riêng, có phản ứng đặc trưng của hoạt chất có trong chế phẩm.

2.2.3. Độ rã

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, viên nén phải đạt yêu cầu về độ rã qui định trong Phụ lục 11.6 Phép thử độ rã của viên nén và viên nang.

Viên nén và viên bao đã thử độ hoà tan thì không phải thử độ rã.

2.2.4. Độ đồng đều khối lượng

Thử theo Phụ lục 11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng. Viên nén và viên bao đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá hai đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch so với khối lượng

trung bình quy định trong bảng 11.3.1 và không được có đơn vị nào có khối lượng vượt gấp đôi giới hạn đó.

Tiến hành giống như phần " Độ Đồng Đều Khối Lượng Viên Nang "

Bảng 11.3.1. Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đơn liều

Dạng bào chế	Khối lượng trung bình (KLTB)	% chênh lệch so với KLTB
Viên nén Viên bao phim	Nhỏ hơn hoặc bằng 80 mg Lớn hơn 80 mg và nhỏ hơn 250 mg Bằng hoặc lớn hơn 250 mg	± 10 ± 7,5 ± 5

2.2.5. Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nếu không có chỉ dẫn khác, viên nén có hàm lượng hoạt chất dưới 2 mg hoặc dưới 2% (kl/kl) phải thử độ đồng đều hàm lượng. Đối với viên nén có từ 2 dược chất trở lên, chỉ áp dụng yêu cầu này với thành phần có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên.

Cách tiến hành như bài " Kiểm Nghiệm Thuốc Viên nang " Cách đánh giá chế phẩm được áp dụng như sau:

Áp dụng cho thuốc viên nén,viên nén bao phim

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu hàm lượng của từng đơn vị nằm trong giới hạn 85 % đến 115 % của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 %, hoặc có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Nếu có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85% đến 115% của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

2.2.6. Độ hòa tan

Yêu cầu được chỉ ra trong chuyên luận riêng. Phương pháp thử được ghi trong chuyên luận Phép thử độ hoà tan của viên nén và viên nang, Phụ lục 11.4.

2.2.7. Định lượng

Xác định khối lượng trung bình trên 20 viên,(nếu viên bao đã loại bỏ lớp bao phim), nghiền thành bột mịn, trộn đều lượng bột trong 20 viên. Tiến hành định lượng theo chuyên luận riêng, hàm lượng của từng hoạt chất trong chế phẩm phải nằm trong giới hạn cho phép theo quy định bảng 2.

Bảng 2: Giới hạn cho phép nồng độ, hàm lượng thuốc

Loại thuốc	Lượng hoạt chất ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép (%)
Thuốc viên nén Viên nang	Tới 50 mg Trên 50 mg-100 mg Trên 100 mg	± 10% ± 7,5% ± 5%

Thử theo qui định trong chuyên luận riêng.

2.3. Bảo quản – Ghi nhãn

Thuốc viên nén phải đựng trong bao bì kín, chống ẩm và chống va chạm cơ học.

Ghi nhãn theo qui định. Nếu là viên bao cần phải ghi rõ: Bao đường, bao phim hay bao tan trong ruột.

2.4. Các loại viên nén

2.4.1. Viên nén không bao

Ví dụ: Viên nén Cetirizin 10mg
Viên nén Lysozym 90mg

2.4.2. Viên sủi bọt

Ví dụ: Viên nén sủi Efferalgan 180 mg
Viên nén sủi Mutivitamin

2.4.3. Viên bao

Ví dụ: Viên bao phim PARA – IBU
Viên bao phim Clarithromycin 250mg

2.4.4. Viên bao tan trong ruột

Ví dụ: Viên nén Aspirin pH8 500mg
Viên nén Diclofenac 75 mg

2.4.5. Viên ngậm

Ví dụ: Viên nén Adalat 5mg
Viên nén alpha chymotrypsin

2.4.6. Viên nén tan trong nước

Viên nén tan trong nước là viên nén không bao hòa tan trong nước. Dung dịch sau khi hoà tan phải trong suốt hoặc hơi đục nhẹ.

Ví dụ: Viên nén Hydrite

2.4.7. Viên nén phân tán trong nước

2.4.8. Viên nén phân tán trong miệng

2.4.9. Viên nén tác dụng kéo dài

<u>Ví dụ:</u> Kiểm tra chất lượng viên nén ACE - PADOL 500 mg
TIÊU CHUẨN CHẤT LƯỢNG

Chỉ tiêu	Yêu cầu
1- Tính chất	Viên nén dài màu hồng , một mặt có chữ ACE, một mặt có số 500.
2- Độ đồng đều khối lượng	± 5 % so với khối lượng trung bình viên
3- Định tính	Phải có phản ứng định tính của Paracetamol
4- 4- Aminophenol	Đạt yêu cầu qui định
5- Tạp chất liên quan	Đạt yêu cầu qui định
6- Độ hòa tan	Không được dưới 75% lượng Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan sau 45 phút

7- Định lượng	Đạt từ 95% đến 105% Paracetamol $C_8H_9NO_2$ so với hàm lượng ghi trên nhãn, tính theo khối lượng trung bình viên.

PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM

1- Tính chất: Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu

2- Độ đồng đều khối lượng: Tiến hành theo phụ lục 11.3 – DĐVN IV

3- Định tính

3.1- Phản ứng hoá học và nhiệt nóng chảy

- **Thuốc thử**

- Dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)
- Toluen (TT)
- Chloroform
- Dung dịch kali dicromat 5 %
- Aceton (TT)
- Methanol (TT)

- **Tiến hành**

- Cân một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,5 g paracetamol, thêm 30 ml aceton, khuấy kỹ và lọc, làm bay hơi dịch lọc đến khô.

- Lấy 0,1 g cắn, thêm 2 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT), đun nóng trong 1 phút, thêm 10 ml nước cất, để nguội. Thêm 1 giọt dung dịch kali dicromat 5 % (TT)

- Yêu cầu: xuất hiện màu tím, không chuyển sang màu hồng

3.2- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (tiến hành trên cùng 1 bản mỏng với chỉ tiêu ở phần thử tạp chất liên quan)

- Bản mỏng Silicagel GF_{254} đã hoạt hoá ở 105^0C trong 1 giờ
- Dung môi triển khai: Methylen chlorid : methanol theo tỉ lệ (4 : 1)
- Đèn UV 254 nm
- Dung dịch thử: Cân 1 lượng bột viên tương ứng với 10 mg Paracetamol hòa tan trong 10 ml methanol (TT), lọc
- Dung dịch chuẩn: Hoà 10 mg paracetamol chuẩn trong 10 ml methanol (TT)

- **Tiến hành**:

- Chấm riêng biệt 20 µl các dung dịch thử và dung dịch chuẩn lên bản mỏng. Triển khai trong hệ dung môi trên đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm

- Yêu cầu: Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho giá trị Rf và màu sắc tương ứng với vết paracetamol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn

4- 4- Aminophenol

- **Thuốc thử**

- Methanol
- Acid formic

- **Điều kiện sắc ký**

- Detector: 272 nm
- Cột RP18 (25 cm x 4,6 mm, 5 µm)
- Tốc độ dòng: 1 ml/ phút

- Thể tích tiêm: 20 µl
- Pha động: Dung dịch 0,01M natri butansulfonat trong hỗn hợp gồm 0,4 thể tích acid formic, 15 thể tích methanol, và 85 thể tích nước

- **Tiến hành**

- **Dung dịch chuẩn**: Dung dịch 4 –aminophenol 0,001 % (kl/tt) trong methanol 15 % (tt/tt)
- **Dung dịch thử:** Lắc một lượng bột chế phẩm tương đương với 1,0 g paracetamol với 15 ml methanol (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml, lọc
- Lọc dung dịch thử và dung dịch chuẩn qua màng lọc 0,45 µm
- Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký lỏng cao áp
- **Yêu cầu:** Trong sắc ký đồ thu được, diện tích peak tương ứng với 4 –aminophenol trong dung dịch thử không được lớn hơn diện tích peak trong dung dịch chuẩn

5- Tạp chất liên quan

- **Thuốc thử**

- Toluen (TT)
- Aceton (TT)
- Chloroform (TT)
- Ethanol 96 % (TT)
- Ether ethylic (TT)

- **Điều kiện sắc ký**

- Bản mỏng Silicagel GF_{254} đã hoạt hoá ở 105^0C trong 1 giờ
- Dung môi triển khai: Toluen : Aceton : Chloroform theo tỉ lệ 10 : 25 : 65
- Đèn UV ở bước sóng 254 nm

- **Tiến hành**

- **Dung dịch (1):** Lấy 1 lượng bột viên tương đương với 1 g Paracetamol vào bình định mức 20 ml, thêm chính xác 10 ml ether ethylic (TT), đậy nắp, khuấy từ 30 phút. Để yên cho lắng hoàn toàn
- **Dung dịch (2**): Lấy chính xác 2 ml dung dịch (1) pha loãng vừa đủ với 10 ml ethanol 96 % (TT)
- **Dung dịch (3):** Pha dung dịch có chứa 0,005 % (kl/tt) 4' – cloroacetanilid trong ethanol 96 % (TT)
- **Dung dịch (4):** Hoà tan 0,25 g 4' – cloroacetanilid và 0,1 g paracetamol vừa đủ 100 ml với ethanol 96 % (TT)
- Triển khai sắc ký, chấm riêng biệt 200 µl dung dịch (1) và 40 µl các dung dịch (2), (3), (4) lên bản mỏng, triển khai sắc ký khoảng 15 cm, lấy ra để khô, quan sát dưới đèn UV ở bước sóng 254 nm
- **Yêu cầu:** Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch (1) tương ứng với vết của 4–cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch (3)
- Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch (2) có giá trị Rf thấp hơn giá trị Rf của 4 – cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch (3)
- Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch (4) có 2 vết tách ra rỏ ràng, vết tương ứng với 4' – cloroacetanilid phải có giá trị Rf cao hơn

6- Độ hòa tan

- **Thuốc thử**

- Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT): Cân 4,0 g natri hydroxyd hoà trong 1000 ml

- Dung dịch đệm phosphat pH = 5,8 (TT): Cân 6,805 g kali dihydro phosphat khan (KH_2PO_4) và 0,1488 g natri hydroxyd hòa tan trong 1000 ml nước, điều chỉnh pH = 5,8 bằng acid phosphoric hoặc natri hydroxyd.

- **Điều kiện thiết bị**

- Thiết bị: cánh khuấy
- Môi trường hoà tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH = 5,8
- Tốc độ vòng quay: 50 vòng/ phút
- Thời gian khuấy: 45 phút

- **Tiến hành**

- **Dung dịch thử:** Lấy một phần dung dịch của mẫu thử đã được hoà tan, lọc. Hút chính xác 1 ml dịch lọc pha loãng thành 50 ml bằng dung dịch NaOH 0,1 N (TT) (nồng độ 0.011 mg/ml)

- **Dung dịch chuẩn**: Cân chính xác khoảng 25 mg Paracetamol chuẩn vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 25 ml dung dịch NaOH 0,1 N (TT), lắc kỹ, thêm dung dịch NaOH 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 1 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng dung dịch NaOH 0,1 N (nồng độ 0.01 mg/ml)

- Đo mật độ quang của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở cực đại 257 nm, mẫu trắng là dung dịch NaOH 0,1 N

- Dựa vào mật độ quang, độ pha loãng, lượng cân của chuẩn và của thử tính toán hàm lượng paracetamol trong 1 viên.

7- Định lượng

- **Thuốc thử**

- Dung dịch Natri hydroxyd 0,1 N

- **Tiến hành**

- **Mẫu thử:** Lấy 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 150 mg paracetamol vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, lắc kỹ 5 phút, thêm 100 ml nước, vừa siêu âm vừa lắc khoảng 20 phút, thêm nước vừa đủ đến vạch. Lọc qua giấy lọc khô, bỏ 20 - 30 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. (nồng độ 0.0075 mg/ml)

- **Mẫu đối chiếu:** Cân chính xác khoảng 75 mg Paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm 25 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N , lắc kỹ 5 phút, thêm 50 ml nước, siêu âm 10 phút, điền nước vừa đủ. Lấy chính xác 5 ml dung dịch cho vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ. Lấy chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N, thêm nước vừa đủ đến vạch. (nồng độ 0.0075 mg/ml)

- Đo độ hấp thu của các dung dịch này ở bước sóng 257 nm, mẫu trắng là dung dịch natri hydroxyd
0,01 N

- Dựa vào mật độ quang, độ pha loãng, lượng cân của chuẩn và của thử tính toán hàm lượng paracetamol trong 1 viên tính theo khối lượng trung bình viên.
- Nếu không làm mẫu đối chiếu có thể tính kết quả theo A (1%,1cm), lấy 715 là giá trị A (1%, 1cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1. Hãy cho biết thành phần chủ yếu để tạo nên vỏ nang ?
a. Gelatin
b. Polyme
c. Hydro polymethylen
d. Gelatin hoặc polyme
Câu 2. Chọn câu sai. Thuốc chứa trong nang có thể là .. ..
a. Dạng rắn (bột, cốm, pellet...)
b. Dạng lỏng
c. Dạng nửa rắn (hỗn dịch, nhũ tương, bột nhão...).
d. Dạng rắn duy nhất không tồn tại dạng nào khác
Câu 3. Nếu phép thử "Độ đồng đều hàm lượng" được tiến hành với tất cả các dược chất có trong nang thì .....
a. Hàm lượng các dược chất phải nằm trong bảng giới hạn quy định
b. Không phải thử độ đồng đều khối lượng.
c. Không thử chỉ tiêu định lượng
d. Thử chỉ tiêu định tính
Câu 4. Viên nang cứng Amoxcilin 500mg (KLTB viên = 638mg) thì giới hạn cho phép về % chênh lệch so với KLTB viên là?
a. ± 8,5%
b. ± 15%
c. ± 7,5%
d. ± 5%
Câu 5. Thử chỉ tiêu "Độ đồng đều khối lượng" của viên nang thì ta tiến hành trên ...
a. 10 viên nang
b. 30 viên cứng
c. 20 viên nang mềm
d. 20 viên nang

Câu 6. Đối với nang chứa 1 dược chất thì chỉ tiêu thử "Độ đồng đều hàm lượng" tiến hành thử khi ?
a. Khi dược chất có hàm lượng dưới 2 mg
b. Khi dược chất có hàm lượng dưới 2% (kl/kl) so với KL thuốc trong 1 nang.
c. Khi dược chất có hàm lượng dưới 2 mg và dưới 2% (kl/kl) so với KL thuốc trong 1 nang.
d. Cả A và B đều đúng
Câu 7. Yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" không áp dụng cho các nang thuốc chứa thành phần nào?
a. Vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6
b. Duy nhất các khoáng chất
c. Các nguyên tố kim loại.

d. Nhiều vitamin và các nguyên tố vi lượng.

Câu 8. Thử chỉ tiêu "Độ đồng đều hàm lượng" của viên nang thì ta tiến hành trên.....

a. 10 viên nang

b. 5 viên

c. 20 viên nang

d. Tất cả đều đúng

Câu 9. Đánh giá chỉ tiêu " Định Lượng" viên nang Ampicilin 500mg thì hàm lượng của hoạt chất Ampicilin phải đạt trong giới hạn ?

a. Từ 90,0% - 110,0%
b. Từ 85,0% - 115,0%
c. Từ 95,0% - 105,0%
d. Từ 92,5% - 107,5%

Câu 10. Đánh giá chỉ tiêu " Định Lượng" viên nang Cefixim 50mg thì hàm lượng của hoạt chất Cefixim phải đạt trong giới hạn ?

a. Từ 90,0% - 110,0%
b. Từ 90,0% - 100,0%
c. Từ 95,0% - 105,0%
d. Từ 75,0% - 125,0%

Câu 11. Khi "Định Lượng" viên nén bao phim Ibuprofen 400mg thì % chênh lệch về hàm lượng hoạt chất Ibuprofen phải đạt giới hạn nào?

a. ± 5,0,0%

b. ± 10,0%

c. ± 7,5%

d. ± 5,5%

Câu 12. Khi "Định Lượng" viên nén Lysozym 90 mg thì % chênh lệch về hàm lượng hoạt chất lysozym phải đạt giới hạn ?

a. ± 10,0%

b. ± 15,0%

c. ±7,5%

d. ± 5,0%

Câu 13. Đánh giá chỉ tiêu "Định Lượng" viên nén bao phim Cefaclor 375mg thì hàm lượng của hoạt chất Cefaclor phải đạt trong khoảng giới hạn nào ?

a. Từ 92,5% - 107,5%

b. Từ 95,0% - 105,0%

c. Từ 75,0% - 125,0%

d. Từ 90,0% - 115,0%

Câu 14. Đánh giá chỉ tiêu " Định Lượng" viên nén bao đường Thiamin nitrat 250mg thì hàm lượng của hoạt chất Thiamin nitrat phải đạt trong khoảng giới hạn nào ?

a. Từ 95,0% - 105,0%

b. Từ 90,0% - 110,0%

c. Từ 85,0% - 115,0%

d. Từ 90,0% - 105,0%

Câu 15.Viên nén DOMEPHA 500mg (cephalexin 500mg), số lô 030614, khối lượng trung bình viên 650mg. Giới hạn cho phép về khối lượng là ?

a. ± 5%

b. ± 15%

c. ±7.5%

d. ± 10%

Câu 16. Hãy kể tên các loại viên nén có trên thị trường thuốc của chúng ta hiện nay ?

Câu 17. Hãy kể tên 5 loại thuốc thuộc viên nang cứng hiện có trên thị trường thuốc?

Câu 18. Hãy kể tên 5 loại thuốc thuộc viên nang mềm hiện có trên thị trường thuốc?

Câu 19. Khi kiểm tra chất lượng viên nén hay viên nang, nếu có 1 chỉ tiêu không đạt thì ta kết luận viên nén hay viên nang đó về mặt chất lượng như thế nào ?

Câu 20. Thử độ hòa tan của của viên nén hay viên nang nói chung, ta tiến hành trên bao nhiêu viên? Giả sử viên thuốc nổi trên mặt dung dịch thử ta phải dùng dụng cụ gì để giúp viên thuốc chìm xuống theo đúng quy định như kiểm nghiệm thuốc mà Bộ Y Tế quy định.

BÀI 10: KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LỎNG

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, xirô thuốc.
2. Giải thích và đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên.
3. Trình bày được các ví dụ về kiểm nghiệm các dạng bào chế thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, sirô thuốc.

NỘI DUNG

Thuốc tiêm

Định nghĩa và phân loại

Yêu cầu kĩ thuật của thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, bột pha tiêm hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền.

Bảo quản và các chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt

Định nghĩa

Yêu cầu kĩ thuật, đóng gói, nhãn, bảo quản và các chế phẩm

Thuốc nhỏ mũi

Định nghĩa

Yêu cầu kĩ thuật , đóng gói, nhãn, bảo quản và các chế phẩm

Sirô thuốc

Định nghĩa

Phương pháp điều chế

Yêu cầu kĩ thuật , đóng gói, nhãn, bảo quản và các chế phẩm

Dung dịch thuốc

Định nghĩa

Phương pháp điều chế

Yêu cầu kĩ thuật, đóng gói, nhãn, bảo quản, các chế phẩm

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC TIÊM

1.1. Định nghĩa và phân loại

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền là những chế phẩm thuốc vô khuẩn dùng để tiêm hoặc tiêm truyền vào cơ thể.

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được phân thành 3 loại:

+ Thuốc tiêm (dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương).
+ Thuốc tiêm truyền (dung dịch nước hay nhũ tương dầu trong nước).
+ Bột pha tiêm hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay tiêm truyền.

1.2. Thuốc tiêm: yêu cầu kĩ thuật và phương pháp thử

Thuốc tiêm là các dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương vô khuẩn, để tiêm vào cơ thể bằng các đường tiêm khác nhau.

Thuốc tiêm phải đạt các yêu cầu chất lượng sau đây:

1.2.1. Cảm quan

Màu sắc: Không màu hoặc có màu của hoạt chất (theo chuyên luận riêng).

Trạng thái phân tán: Thuốc tiêm hỗn dịch có thể lắng cặn nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải giữ được sự đồng nhất trong thời gian đủ để lấy

đúng liều thuốc. Kích thước của phần lớn (trên 90%) các tiểu phân hoạt chất phải dưới 15 µm, không quá 10% số tiểu phân kích thước 15 - 20 µm và hầu như không có tiểu phân kích thước 20 - 50 µm.

Thuốc tiêm nhũ tương phải không có bất kỳ biểu hiện nào của sự tách lớp.

1.2.2. Độ trong

Thuốc tiêm dạng dung dịch phải trong suốt và không có các tiểu phân không tan khi kiểm tra bằng mắt thường ở điều kiện quy định (Phụ lục 11.8).

1.2.3. Độ vô khuẩn

Thuốc tiêm phải vô khuẩn (phụ lục 13.7 DĐVN IV)

1.2.4. Nội độc tố

Phép thử nội độc tố vi khuẩn thực hiện khi có yêu cầu được quy định trong chuyên luận riêng (Phụ lục 13.2 DĐVN IV).

Khi đã thử nội độc tố vi khuẩn thì không phải thử chất gây sốt, trừ khi có quy định khác.

1.2.5. Chất gây sốt

- Phải không có chất gây sốt.
- Phép thử này được thực hiện trong 2 trường hợp sau:

+ Thuốc tiêm đơn liều có thể tích nhỏ hơn 15ml nếu trên nhãn có ghi "không có chất gây sốt" và không có quy định thử nội độc tố.

+ Thuốc tiêm đơn liều có thể tích từ 15ml trở lên và không có qui định thử nội độc tố, trừ những chỉ dẫn riêng.

1.2.6. Thể tích

Thuốc tiêm được để căng bằng tới nhiệt độ phòng và được phân tán đồng nhất trước khi thử.

Cách thử: Dùng bơm tiêm sạch, khô, dung tích không lớn hơn 2,5 lần so với thể tích cần đo, có gắn kim tiêm thích hợp. Lấy thuốc vào bơm tiêm sao cho thuốc trong bơm tiêm không có bọt khí và trong kim tiêm chứa đầy thuốc tiêm. Lần lượt lấy hết thuốc trong từng ống để đo theo cách đó.

Thuốc tiêm đơn liều:

+ Thuốc tiêm có thể tích không lớn hơn 5ml: .

Lấy 6 ống (1 ống tráng bơm tiêm, 5 ống để thử)

Kết quả: Thể tích mỗi ống phải từ 100 – 115% của thể tích ghi trên nhãn.

+ Thuốc tiêm có thể tích lớn hơn 5ml :

Lấy 5 ống (1 ống tráng bơm tiêm,4 ống để thử)

Kết quả: Thể tích mỗi ống phải từ 100 – 110% của thể tích ghi trên nhãn

Thuốc tiêm nhiều liều: phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1

1.2.7. Độ đồng đều hàm lượng

Áp dụng đối với thuốc tiêm hỗn dịch đơn liều có hàm lượng hoạt chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2% so với khối lượng thuốc thì phải đáp ứng yêu cầu về độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Nếu có nhiều thành phần hoạt chất, yêu cầu này chỉ áp dụng cho thành phần hoạt chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2% so với khối lượng thuốc.

Không áp dụng với thuốc tiêm chứa các vitamin và nguyên tố vi lượng

1.2.8. Các yêu cầu kĩ thuật khác

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

1.3. Thuốc tiêm truyền: yêu cầu kĩ thuật và phương pháp thử

Thuốc tiêm truyền là dung dịch nước hoặc nhũ tương dầu trong nước vô khuẩn, không có chất gây sốt, không có nội độc tố vi khuẩn, thường đẳng trương với máu, dùng để tiêm truyền tĩnh mạch với thể tích lớn và tốc độ chậm.

Thuốc tiêm truyền phải đạt các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm và các yêu cầu sau đây:

1.3.1. Độ trong

Dung dịch tiêm truyền: phải đạt quy định về độ trong của thuốc tiêm khi kiểm tra bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục B) và phải đáp ứng các yêu cầu về số lượng và giới hạn kích thước các tiểu phân không quan sát được bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục A).

Nhũ tương tiêm truyền: không được có dấu hiệu của sự tách lớp. Đường kính của phần lớn (80%) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1µm và không có giọt có đường kính lớn hơn 5µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

1.3.2. Thể tích

Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.

1.3.3. Chất gây sốt

Không được có (Phụ lục 13.4). Chỉ không phải thử chất gây sốt nếu đã có quy định thử nội độc tố vi khuẩn, trừ những chỉ dẫn khác.

1.3.4. Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy đin h trong chuyên luận riêng.

1.4. Bột pha tiêm hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền

Bột pha tiêm hay bột để pha thuốc tiêm (bao gồm cả các chế phẩm đông khô) hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền là những chế phẩm vô khuẩn, phải pha với một thể tích quy định của một chất lỏng vô khuẩn thích hợp ngay trước khi dùng.

Sau khi pha, chúng phải tuân theo các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền và yêu cầu dưới đây:

1.4.1. Độ đồng đều khối lượng

Những thuốc bột không qui định 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 dược chất đã được thử độ đồng đều hàm lượng mới không thử độ đồng đều khối lượng.

1.4.2. Độ đồng đều hàm lượng

Bột để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền có hàm lượng dược chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2% so với khối lượng thuốc hoặc có khối lượng thuốc bằng hay nhỏ hơn 40 mg thì phải đáp ứng yêu cầu độ đồng đều về hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Phương pháp thử: Loại bỏ hết nhãn, rữa sạch và làm khô bên ngoài, loại bỏ hết các nút và cân ngay khối lượng cả vỏ và thuốc. Lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch, nếu cần rửa với nước, sau đó với ethanol 96%, sấy ở 100 - 105°C trong 1 giờ. Nếu vỏ không chịu được nhiệt độ này, làm khô ở nhiệt độ thích hợp tới khối lượng của thuốc. Hiệu giữa 2 lần cân là khối lượng của thuốc. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc.

Đánh giá: Tất cả các đơn vị phải có khối lượng nằm trong khoảng 100 – 110% so với khối lượng trung bình

1.4.3. Chất gây sốt - nội độc tố vi khuẩn

Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng yêu cầu đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

1.4.4. Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

1.5. Đóng gói, nhãn, bảo quản

Đồ đựng của thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (chai, lọ, ống, túi…) làm từ các vật liệu trong suốt để có thể kiểm tra được bằng mắt thuốc chứa bên trong. Đồ đựng không được tương tác về vật lý hay hóa học với thuốc chứa bên trong và phải đạt các chỉ tiêu chất lượng quy định trong các Phụ lục 17.1, 17.3.2.

Nhãn thuốc tiêm phải ghi theo quy chế. Nhãn không được che kín đồ đựng để có thể kiểm tra thuốc bên trong.

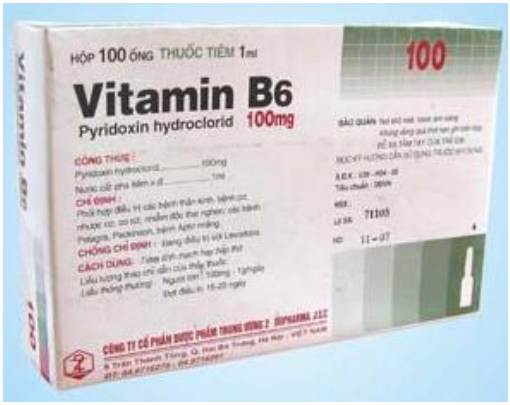
Đối với bột pha tiêm và dung dịch đậm đặc để pha thuốc thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền thì phải ghi rõ loại dung môi và lượng dung môi dùng để pha thuốc trước khi dùng, ghi rõ điều kiện bảo quản và thời gian sử dụng. Nếu có ống dung môi kèm theo thì trên ống phải có nhãn ghi rõ thành phần và thể tích dung môi.

1.6. Một số chế phẩm

- Bột pha tiêm MEPRONEM: Meropenem 1g
- Thuốc tiêm Vitamin B6 100mg/1ml

Pyridoxin hydroclorid ..... 100 mg
Dinatri edetat.....1 mg
Nước cất pha tiêm..... vừa đủ 1ml.

- Thuốc tiêm truyền: Glucose Intravenuos Infusion 50g/l, 100g/l, 250g/l…



2. THUỐC NHỎ MẮT

2.1. Định nghĩa

Thuốc nhỏ mắt là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch vô khuẩn của một hay nhiều hoạt chất, dùng để nhỏ vào mắt. Chế phẩm cũng có thể được bào chế dưới dạng khô (bột, bột đông khô, viên nén) vô khuẩn, được hòa tan hoặc phân tán vào một chất lỏng vô khuẩn thích hợp khi dùng.

2.2. Yêu cầu chung

Pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn. Các dụng cụ, thiết bị và đồ đựng dùng trong pha chế - sản xuất phải sạch và vô khuẩn.

Dung môi: thường là nước tinh khiết hoặc các dung dịch nước thích hợp hoặc là dầu thực vật như để pha thuốc tiêm.

Thành phần: có thể có thêm các tá dược, để điều chỉnh độ đẳng trương, độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH nhưng không được ảnh hưởng xấu đến tác dụng của thuốc và không kích ứng đối với mắt ở nồng độ sử dụng trong chế phẩm.

Chế phẩm nhiều liều phải cho thêm chất sát khuẩn với nồng độ thích hợp, trừ khi tự chế phẩm có đủ tính chất sát khuẩn. Chất sát khuẩn phải không tương kỵ với các thành phần khác có trong chế phẩm và phải duy trì được hiệu quả sát khuẩn trong thời gian sử dụng chế phẩm kể từ lần mở nắp đầu tiên.

Không được thêm chất sát khuẩn hoặc chất chống oxy hoá vào các thuốc nhỏ mắt dùng cho phẫu thuật ở mắt. Các thuốc nhỏ mắt này phải pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn và đóng gói một liều.

Không được cho thêm chất màu vào chỉ với mục đích nhuộm màu chế phẩm.

2.3. Yêu cầu chất lượng

2.3.1. Độ trong (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần B)

Dung dịch thuốc nhỏ mắt phải trong suốt, không có các tiểu phân quan sát được bằng mắt thường

Hỗn dịch nhỏ mắt có thể lắng đọng khi để yên nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải duy trì được sự phân tán đồng nhất đó trong khi nhỏ thuốc để sử dụng đúng liều.

2.3.2. Kích thước tiểu phân (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần A)

Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch phải đạt yêu cầu của phép thử sau: Lắc mạnh và chuyển một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 10 µg pha rắn vào buồng đếm hoặc lên một phiến kính thích hợp và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp. Không được có quá 20 tiểu phân có kích

thước lớn hơn 25 µm và không có quá 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 50 µm, không có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn 90 µm.

2.3.3. Thử vô khuẩn

Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

2.3.4. Giới hạn cho phép về 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 (Phụ lục 11.1).

2.3.5. Các yêu cầu kỹ thuật khác

Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.

Đối với dạng chế phẩm khô, dùng để pha thuốc nhỏ mắt trước khi dùng, sau khi pha phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt.

Đối với chế phẩm đóng liều đơn phải đáp ứng các yêu cầu về phép thử độ đồng đều hàm lượng hoặc độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.2 hoặc 11.3), trừ khi có chỉ dẫn khác.

Đối với các dung dịch dùng để rửa mắt, ngâm mắt hoặc để thấm vào băng mắt, nhất thiết phải là các dung dịch đẳng trương với dịch nước mắt và phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt. Thuốc rửa mắt dùng trong phẫu thuật hoặc trong điều trị sơ cứu về mắt, không được chứa chất sát khuẩn, phải pha chế vô khuẩn và đóng gói một liều. Thuốc rửa mắt đóng nhiều liều phải có chất sát khuẩn ở nồng độ thích hợp và không đóng gói quá thể tích 200 ml cho một đơn vị đóng gói nhỏ nhất.

2.4. Đóng gói, nhãn, bảo quản

Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải đủ trong để kiểm tra độ trong của dung dịch hay độ đồng nhất của hỗn dịch nhỏ mắt khi quan sát bằng mắt thường. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải vô khuẩn và không có tương tác về mặt vật lý hay hoá học với thuốc và phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.3.3

Ghi nhãn: Nhãn thuốc nhỏ mắt phải ghi theo quy chế. Nhãn phải ghi tên chất sát khuẩn có trong chế phẩm. Đối với đơn vị đóng gói nhiều liều, trên nhãn phải ghi rõ thời gian sử dụng tính từ khi thuốc được sử dụng lần đầu, sau thời gian đó thuốc còn lại phải bỏ đi, thường không quá 4 tuần, trừ khi có chỉ dẫn khác.

2.5. Một số chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt: Osla, Natri Clorid 0.9%, V.ROHTO.

3. THUỐC NHỎ MŨI VÀ THUỐC XỊT MŨI DẠNG LỎNG

3.1.Định nghĩa

Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng là các dung dịch, nhũ tương hay hỗn dịch dùng để nhỏ hoặc bơm xịt vào trong hốc mũi để gây tác dụng tại chỗ hay toàn thân.

Thuốc nhỏ mũi thường được đóng vào lọ chứa đa liều có gắn bộ phận nhỏ giọt thích hợp. Thuốc xịt mũi dạng lỏng được đóng vào trong lọ chứa có gắn bộ phận phun hoặc đóng vào lọ dưới áp suất cao có hoặc không có van phân liều. Kích thước các giọt thuốc khi phun ra phải cho phép thuốc bám được vào trong hốc mũi.

3.2.Yêu cầu kĩ thuật

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Chế phẩm không được gây kích ứng và gây ảnh hưởng đến chức năng của màng nhày và hệ lông trong mũi.

Khi bảo quản, các chế phẩm dạng nhũ tương có thể có hiện tượng tách pha; dạng hỗn dịch có thể có hiện tượng lắng cặn xuống đáy lọ nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc để phân chia liều được chính xác.

Chế phẩm dạng hỗn dịch phải kiểm soát kích thước thích hợp của các tiểu phân tùy theo mục đích sử dụng.

Đồ đựng thuốc nhỏ mũi phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.1 hoặc 17.3.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mũi được cung cấp dưới dạng đơn liều và các thuốc xịt mũi phân liều có tác động toàn thân, phải đáp ứng các yêu cầu của các thử nghiệm sau:

3.2.1. Độ đồng đều khối lượng

- Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng dung dịch phải đáp ứng yêu cầu của thử nghiệm sau:

Cân riêng từng lượng thuốc được lấy cẩn thận ra từ 10 lọ và xác định khối lượng trung bình thuốc trong lọ. Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10% và không có đơn vị nào lệch hơn 20% so với khối lượng trung bình của thuốc.

- Thuốc xịt mũi phân liều dạng dung dịch phải đáp ứng yêu cầu của thử nghiệm sau:

Xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 giây, xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lập lại quy trình này 3 lần nữa. Cân khối lượng của lọ thuốc, xịt bỏ một liều và cân khối lượng còn lại của lọ thuốc. Tính chênh lệch giữa hai khối lượng. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc xịt khác. Chế phẩm đạt yêu cầu của thử nghiệm nếu không có quá 2 giá trị lệch hơn 25% và không có giá trị nào lệch hơn 35% so với giá trị trung bình.

3.2.2. Độ đồng đều hàm lượng

Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương phải đáp ứng thử nghiệm sau: Lấy hết thuốc trong mỗi lọ ra và xác định hàm lượng riêng của thuốc trong từng lọ. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.2.

3.2.3. Độ đồng đều phân liều

Thuốc xịt mũi phân liều dạng hỗn dịch hay nhũ tương phải đáp ứng theo thử nghiệm sau:

+ Dùng một dụng cụ có khả năng giữ lại số lượng thuốc vừa phun ra khỏi bộ phận phun. Lắc lọ thuốc trong 5 giây và xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 giây, lắc trong 5 giây và xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lặp lại quy trình này 3 lần nữa. Sau 2 giây, xịt một liều thuốc vào trong dụng cụ tiếp nhận. Tráng dụng cụ tiếp nhận nhiều lần để thu hồi lại liều thuốc. Xác định hàm lượng của hoạt chất trong nước tráng. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc khác.

+ Nếu không có chỉ dẫn khác, chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá một hàm lượng vượt ngoài giới hạn 75% - 125% và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65% - 135% so với hàm lượng trung bình. Nếu có 2 hoặc 3 giá trị vượt qua giới hạn 75% - 125% nhưng vẫn nằm trong giới hạn 65% - 135%, lặp lại thử nghiệm với 20 lọ thuốc nữa. Chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá 3 trong số 30 hàm lượng vượt ra ngoài giới hạn 75% - 125% và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65% - 135% so với giá trị trung bình.

3.2.4. 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 (Phụ lục 11.1).

3.2.5. Giới hạn nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6.

3.3.Bảo quản

Đối với các thuốc vô khuẩn, bảo quản thuốc trong chai lọ vô khuẩn, kín, có niêm bảo đảm.

Các thuốc xịt mũi được đóng vào các lọ dưới áp suất cao phải được để nơi mát, xa nguồn nhiệt.

Nhãn phải ghi tên của chất bảo quản.

3.4.Một số chế phẩm

Thuốc nhỏ mũi: Nước biển sâu Xisat, Nasoline 0,05%, Rhinex.

4. SIRÔ THUỐC

4.1. Định nghĩa

Sirô thuốc là dung dịch uống chứa nồng độ cao đường trắng (sucrose) hay các loại đường khác trong nước tinh khiết, có chứa các dược chất hoặc các dịch chiết từ dược liệu.

Sirô cũng được dùng để chỉ các chế phẩm lỏng sệt hay hỗn dịch của thuốc trong đó có chứa đường trắng, các loại đường khác hay những tác nhân gây ngọt. Sirô cũng bao gồm những chế phẩm được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất.

4.2. Phương pháp điều chế

Tùy theo tính chất của dược chất, sirô được điều chế bằng cách hòa tan, nhũ hóa hay trộn đều dược chất hay dung dịch thuốc vào trong dung dịch của đường trắng, của các loại đường khác hay của tác nhân gây ngọt, hoặc trong sirô đơn. Lọc đối với sirô dạng dung dịch.

Sirô có thể được điều chế dưới dạng bột hay cốm khô được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất.

Có thể cho thêm chất bảo quản, chất làm thơm, chất ổn định chế phẩm… với nồng độ thích hợp như ethanol, glycerin…

Điều chế sirô trong môi trường sản xuất có cấp độ sạch theo quy định.

4.3. Yêu cầu chất lượng

- Hàm lượng: Sirô đơn điều chế với đường trắng có nồng độ là 64% (kl/kl).
- Tính chất: Sirô phải trong (nếu dạng dung dịch), không có mùi lạ, bọt khí hoặc có sự biến chất khác trong quá trình bảo quản.
- Nồng độ hoạt chất, pH, tỷ trọng, độ nhiễm khuẩn và các chỉ tiêu khác: Đạt theo quy định trong các chuyên luận riêng.
- Bột hoặc cốm để pha sirô*:* Phải đáp ứng yêu cầu chung của dạng Thuốc bột (Phụ lục 1.7) hoặc Thuốc cốm (Phụ lục 1.8).

4.4. Bảo quản

Đựng trong chai lọ khô sạch, đậy nút kín, để nơi mát.

4.5. Một số chế phẩm

Siro thuốc: Euvilen, siro Decolgen, Ích Nhi

5. DUNG DỊCH THUỐC

5.1. Định nghĩa

Dung dịch thuốc là những chế phẩm lỏng trong suốt chứa một hoặc nhiều dược chất hoà tan, tức phân tán dưới dạng phân tử, trong một dung môi thích hợp (nước, ethanol, glycerin, dầu…) hay hỗn hợp nhiều dung môi trộn lẫn với nhau. Do các phân tử trong dung dịch phân tán đồng nhất, nên các dung dịch thuốc đảm bảo sự phân liều đồng nhất khi sử dụng và độ chính xác cao khi pha loãng hoặc khi trộn các dung dịch với nhau.

Các dược chất trong dung dịch thường không ổn định về mặt hóa học so với dạng rắn.

Các dung dịch thuốc thường cần bao bì lớn và có khối lượng lớn hơn so với dạng thuốc rắn.

5.2. Phương pháp điều chế

Dung dịch thuốc thường được điều chế bằng cách hòa tan dược chất vào trong dung môi. Có thể cho thêm các tá dược với nồng độ thích hợp để ổn định dược chất (chống oxy hóa, chống thủy phân…), làm tăng độ tan hay để bảo quản thuốc.

Phân loại:

Theo đường sử dụng: dung dịch uống và dung dịch dùng tại chỗ.

Theo hệ thống dung môi và chất tan: dung dịch nước, dung dịch cồn.

Các dung dịch dùng để tiêm hoặc nhỏ mắt được quy định riêng trong chuyên luận thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (Phụ lục 1.19), thuốc nhỏ mắt (Phụ lục 1.14).

5.3. Yêu cầu chất lượng

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của từng loại thuốc và theo chuyên luận riêng.

5.4. Bảo quản

Các dung dịch, đặc biệt là các dung dịch chứa dung môi dễ bay hơi, phải bảo quản trong bao bì kín, để nơi mát. Cần xem xét để sử dụng các bao bì tránh ánh sáng khi sự biến đổi hóa học do ánh sáng có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của thuốc.

5.5. Chế phẩm

Cồn Iod 5% , Cồn 70, 90, thuốc rửa phụ khoa povidon 10%, nước oxy già…

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được phân thành **mấy loại** ?

a. 1 loại

b. 2 loại

c. 3 loại

d. 4 loại

2. Chế phẩm nào sau đây **không** thử đồng đều về hàm lượng:

a. Thuốc tiêm đơn liều dạng lỏng Vitamin B6.
b. Thuốc tiêm hỗn dịch đơn liều có hàm lượng hoạt chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2% so với khối lượng thuốc.
c. Thuốc tiêm đã đạt chỉ tiêu đồng đều về khối lượng.
d. Cả a và c.

3. Thử nghiệm **chất gây sốt** của thuốc tiêm trong trường hợp nào?

a. Thuốc tiêm đơn liều có thể tích nhỏ hơn 15ml nếu trên nhãn có ghi "không có chất gây sốt".
b. Thuốc tiêm đơn liều có thể tích nhỏ hơn 15ml và trên nhãn có ghi "không có chất gây sốt" và không có quy định thử nội độc tố
c. Thuốc tiêm đơn liều có thể tích từ 15ml trở lên và không có qui định thử nội độc tố, trừ những chỉ dẫn riêng
d. Cả b, c đều đúng

4. Tại sao nhãn thuốc tiêm không được che kín đồ đựng thuốc tiêm ?

a. Để tiết kiệm vật liệu làm nhãn.
b. Để kiểm tra bằng mắt thường chất lượng thuốc bên trong.
c. Để nhãn không tương tác nhiều về vật lý hay hóa học với thuốc chứa bên trong.
d. Cả a và b.

5. Quy trình rữa sạch vỏ thuốc tiêm truyền trong thử đồng đều về hàm lượng lần lượt là:

a. Nước – ethanol 70%
b. Ethanol 70% – nước
c. Ethanol 96%– nước
d. Nước – ethanol 96%

6. Khi nào chế phẩm thuốc tiêm **không** cần thử đồng đều khối lượng:

a. Thuốc bột pha tiêm có khối lượng trung bình không lớn hơn 40mg
b. Đã đạt đồng đều về hàm lượng
c. Cả a và b đều đúng
d. Cả a và b đều sai

7. Thuốc nhỏ mắt dùng cho phẫu thuật ở mắt **không** được có chất nào ?

a. Chất chỉ đơn thuần để tạo màu cho chế phẩm.

b. Chất ổn định.

c. Chất chống oxy hoá.

d. Cả a và c.

8. Thuốc nhỏ mắt **dạng nào** phải thử chỉ tiêu về giới hạn kích thước tiểu phân ?

a. Hỗn dịch

b. Dung dịch

c. Nhũ tương

d. Cả a và b

9. Chế phẩm nào sau đây thường được đóng vào lọ chứa đa liều có gắn bộ phận nhỏ giọt thích hợp:

a. Thuốc tiêm

b. Thuốc nhỏ mắt

c. Thuốc nhỏ mũi

d. Cả b và c

10. Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng dung dịch đạt yêu cầu về đồng đều khối lượng khi

a. Không có đơn vị nào lệch hơn 20% so với khối lượng trung bình của thuốc.

b. Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10% và không có đơn vị nào lệch hơn 20% so với khối lượng ghi trên nhãn của thuốc.

c. Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10%

d. Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10% và không có đơn vị nào lệch hơn 20% so với khối lượng trung bình của thuốc.

11. Thuốc xịt mũi phân liều dạng dung dịch đạt đồng đều về khối lượng khi

a. Không có quá 2 giá trị lệch hơn 25% và không có giá trị nào lệch hơn 35% so với giá trị trung bình.

b. Không có quá 2 giá trị lệch hơn 25% và không có giá trị nào lệch hơn 35% so với giá trị ghi trên nhãn.

c. Không có quá 2 giá trị lệch hơn 35% và không có giá trị nào lệch hơn 25% so với giá trị ghi trên nhãn

d. Không có giá trị nào lệch hơn 35% so với giá trị trung bình

12. Đâu là siro thuốc

a. Siro đơn chứa dược chất làm thuốc.

b. Siro đơn chứa dịch chiết dược liệu.
c. Siro đơn chứa hỗn dịch thuốc.
d. Tất cả đều đúng.

13. Thuốc tiêm đơn liều dạng lỏng Vitamin B6 100mg đóng lọ 1ml thì có **giới hạn cho phép về thể tích** là bao nhiêu ?

a. 1ml – 1,5ml
b. 1ml – 1,15ml
c. 1ml – 1,1ml
d. 9,85ml – 1,15ml

14. Thuốc tiêm đơn liều dạng lỏng Vitamin B6 100mg đóng lọ 1ml thì cần **thử mấy lọ** và lấy kim tiêm để thử có **dung tích tối đa** là bao nhiêu ?

a. Thử 5 lọ, kim tiêm 2.5ml
b. Thử 6 lọ, kim tiêm 2.5ml
c. Thử 5 lọ, kim tiêm 1.5ml
d. Thử 6 lọ, kim tiêm 1.5ml

15. Dịch truyền Ginger Lactac đóng chai 500ml thì có **giới hạn cho phép về thể tích** là bao nhiêu ?

a. 500ml – 525ml
b. 500ml – 512,5ml
c. 487,5ml – 512,5ml
d. Không cần thử thử giới hạn về thể tích.

16. **Độ trong** của nhũ tương tiêm truyền được quy định thế nào ?

a. Đường kính của phần lớn (80%) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1 µm và không có giọt có đường kính lớn hơn 5 µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng.
b. Đường kính của phần lớn (90%) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1 µm và không quá 5% các giọt có đường kính lớn hơn 5 µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng
c. Đường kính của phần lớn (80%) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1 µm và không quá 5% các giọt có đường kính lớn hơn 5 µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng
d. Đường kính của phần lớn (90%) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1 µm và không có giọt có đường kính lớn hơn 5 µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

17. Thể tích thuốc nhỏ mắt phải nằm trong giới hạn là bao nhiêu khi thử đồng đều về thể tích

a. 90 - 110% so với thể tích trung bình.

b. 90 - 110% so với thể tích ghi trên nhãn.

c. 100 - 110% so với thể tích trung bình.

d. 100 - 110% so với thể tích ghi trên nhãn.

18. Thuốc xịt mũi dạng dung dịch Xisat 70ml thì thể tích phải nằm trong giới hạn bao nhiêu ?

a. 7ml – 7,7ml

b. 6,3ml – 7ml

c. 6,3ml – 7,7ml

d. 6,7ml – 7,7ml

19. Thử đồng đều về phân liều cho chế phẩm thuốc xịt mũi dạng dung dịch Xisat 70ml dùng bao nhiêu đơn vị ?

a. 10

b. 20

c. 30

d. Không có quy định thử đồng đều phân liều

20. Thử đồng đều về phân liều cho thuốc xịt mũi thì tối đa sử dụng bao nhiêu đơn vị

a. 10

b. 20

c. 30

d. 40

BÀI 11: KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ, THUỐC KEM

MỤC TIÊU

1. Xác định các chỉ tiêu kiểm nghiệm thuốc mỡ, kem.
2. Nêu một vài ví dụ về thuốc mỡ, thuốc kem.

NỘI DUNG

1. THUỐC MỠ

1.1. Định nghĩa

Thuốc mỡ là dạng thuốc có thể chất mềm dùng để bôi để bôi lên da hay niêm mạc nhằm bảo vệ da hay đưa thuốc thấm qua da.

Tùy theo cách phối hợp và sử dụng tá dược, thuốc mỡ được chia ra 3 loại:

+ Thuốc mỡ thân dầu

Thuốc mỡ thân dầu có thể hút (hấp phụ) một lượng nhỏ nước hoặc dung môi phân cực. Tá dược điển hình gồm: nhóm hydrocarbon no dầu, mỡ có từ động vật, thực vật, glycerid bán tổng hợp, sáp và polyalkylsiloxan lỏng.

+ Thuốc mỡ thân nước

Thuốc mỡ thân nước có thể trộn lẫn với nước. Tá dược thường dùng là polyethylen glycol (macrogol, carbowax).

+ Thuốc mỡ nhũ hoá thân nước

Thuốc mỡ nhũ hoá thân nước có thể hút được một lượng lớn nước và chất lỏng phân cực để tạo thành nhũ tương nước-dầu (N/D) hoặc dầu-nước (D/N), tùy thuộc vào bản chất chất nhũ hoá có trong thành phần tá dược.

1.2. Yêu cầu kĩ thuật

1.2.1. Độ đồng nhất

Cách thử: Lấy 4 đơn vị đóng gói, mỗi đơn vị khoảng 0,02 - 0,03 g, trải đều chế phẩm trên 4 phiến kính. Đậy mỗi phiến kính bằng một phiến kính thứ 2 và ép mạnh cho tới khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2 cm.

Đánh giá: quan sát vết thu được bằng mắt thường (cách mắt khoảng 30 cm), ở 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phân. Nếu có các tiểu phân nhìn thấy ở trong phần lớn số các vết thì phải làm lại với 8 đơn vị đóng gói. Trong số các tiêu bản này, các tiểu phân cho phép nhận thấy, không được vượt quá 2 tiêu bản.

1.2.2. Độ đồng đều khối lượng

Đạt yêu cầu phép thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3).

1.2.3. Độ nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu Phép thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6) .

1.2.4. Các yêu cầu kĩ thuật khác

Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.

*** Thuốc mỡ tra mắt**

Thuốc mỡ tra mắt là những chế phẩm thuốc mỡ dùng cho mắt, chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan hoặc phân tán trong tá dược, được xếp vào nhóm các chế phẩm vô khuẩn. Tá dược và dược chất dùng cho thuốc mỡ tra mắt phải không bị phân hủy khi tiệt khuẩn bằng nhiệt.

Ngoài các yêu cầu của thuốc mỡ nói chung, thuốc mỡ tra mắt phải đạt các yêu cầu sau:

Thử vô khuẩn

Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Các phần tử kim loại

Cách thử: trừ trường hợp có chỉ dẫn riêng, lấy 10 tuýp thuốc, bóp hết thuốc chứa bên trong vào từng đĩa Petri riêng có đường kính 6 cm, đáy bằng, không có các vết xước và các phần tử lạ nhìn thấy được. Đậy các đĩa, đun nóng đến 80 - 85 ºC 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 đặt ở góc 45° so với mặt phẳng của bản soi. Quan sát và đếm các phần tử kim loại sáng bóng, lớn hơn 50 µm ở bất kỳ kích thước nào.

Đánh giá: Không được có quá một tuýp trong 10 tuýp thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 tuýp. Nếu chế phẩm không đạt ở lần thử thứ nhất, làm lại lần thử thứ hai với 20 tuýp thuốc khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu nếu không có quá 3 tuýp chứa quá 8 phần tử trong mỗi tuýp và tổng số không quá 150 phần tử trong 30 tuýp thử.

Giới hạn kích thước các phần 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. Không được có phần tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn 75 µm.

1.3. Đóng gói, nhãn, bảo quản

Đựng trong lọ, tuýp kim loại, sứ, thủy tinh hoặc chất dẻo không được ảnh hưởng tới chất lượng của thuốc và phải đảm bảo nút kín. Nút đậy phải hạn chế tối đa sự nhiễm khuẩn.

Nhãn: ngoài những qui định chung cần ghi rõ thêm:

+ Thời hạn dùng thuốc.
+ Điều kiện bảo quản
+ Khi cần thiết, thuốc phải được tiệt trùng.

Bảo quản: để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

1.4. Một số chế phẩm

Thuốc Bepanthen 30g, ACobeta-S, Chloram H, Thuốc mỡ Dep…

2. KEM

2.1. Định nghĩa

Kem là chế phẩm mềm, nhớt đồng nhất thường bao gồm một hoặc nhiều hoạt chất hòa tan hay phân tán trong một hoặc hỗn hợp tá dược. Các tá dược này thường ở dạng nhũ tương dầu/nước, hoặc nước/dầu. Thường dùng trên da hay màng nhày nhằm mục đích bảo vệ, điều trị hay phòng bệnh. Kem bôi da thường có thể chất mềm và mịn.

Kem có thể chứa các chất bảo quản kháng khuẩn thích hợp cho dù các hoạt chất hay tá dược đã có tính kháng khuẩn. Nếu sữ dụng cho vết thương diện rộng thì thuốc phải được tiệt trùng. Một số chất phụ gia khác: chất chống oxi hóa, chất ổn định, làm đặc.

Bình thường kem không được pha loãng. Tuy nhiên, trong một số trường hợp cần thiết có thể pha loãng được. Khi pha loãng cần chú ý tránh nhiễm khuẩn thuốc, pha bằng phương pháp thích hợp, tránh dùng nhiệt. Thuốc pha loãng chỉ được dùng trong 2 tuần.

2.2. Yêu cầu kĩ thuật

Nói chung yêu cầu kĩ thuật của kem giống như với thuốc mỡ.

2.3. Đóng gói, nhãn, bảo quản

Đóng gói: trong các đồ chứa thích hợp có nút kín nhất là kem chứa nước hay các hoạt chất dễ bay hơi. Đồ chứa phải giảm tối thiểu sự nhiễm bẩn bởi vi sinh vật. Thường thuốc được chứa trong các tuýp hay lọ bằng kim loại hay nhựa.

Nhãn: ngoài những qui định chung cần ghi rõ thêm:

+ Thời hạn dùng thuốc.
+ Điều kiện bảo quản.
+ Khi cần thiết, thuốc phải được tiệt trùng.

Bảo quản: không quá 25 °C và không được làm lạnh.

2.4. Một số chế phẩm

Kem trị nấm da CLOTRIMAZOL 1%, kem bôi da Newneo, kem bôi da NEWGI 5, kem trắng da cao cấp NHƯ HOA....

KEM BÔI DA CLOTRIMAZOL 1%

Là một dẫn chất tổng hợp của Imidazole. Có khả năng ức chế sự phát triển của hầu hết các vi nấm gây bệnh ở người như: Trychophyton rubrum, Trychophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum, Mycrosporum canis, Cadida species...

Chỉ định: Điều trị lác(hắc lào), lang ben, nấm kẽ, nấm móng, nấm tóc và các loại nấm ngoài da khác.

Chống chỉ định: Dị ứng với bất cứ thành phần nào của thuốc.

Tác dụng phụ: Có thể xuất hiện phản ứng dị ứng thoáng qua: ban, ngứa, nổi mề đay. Trong những trường hợp này phải ngừng sử dụng và hỏi ý kiến bác sĩ.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Dựa theo cách phối hợp và sử dụng tá dược, thuốc mỡ được chia ra mấy loại:

a. 1

b. 2

c. 3

d. 4

2. Thuốc mỡ thân dầu thì tá dược thuộc loại:

a. Thân dầu

b. Thân nước

c. Cả thân dầu và thân nước

d. Macrogol

3. Thử độ đồng nhất cho thuốc mỡ, đạt yêu cầu khi không quá bao nhiêu tiêu bản nhận thấy các tiểu phân khi quan sát được bằng mắt thường trong số 4 tiêu bản:

a. 1

b. 2

c. 3

d. 4

4. Phép thử độ đồng nhất cho thuốc mỡ thử tối đa bao nhiêu đơn vị

a. 4

b. 6

c. 8

d. 12

5. Thuốc mỡ khi thử độ nhiễm khuẩn thì phải qua bước nào

a. Tìm chất ức chế trong thuốc

b. Đưa chất ức chế vào trong môi trường thử

c. Đưa chất khử khuẩn vào thuốc

d. Tìm chất ức chế trong môi trường thử

6. Thuốc mỡ bình thường phải thử bao nhiêu đơn vị cho yêu cầu về đồng đều khối lượng

a. 2

b. 3

c. 4

d. 5

7. Thuốc mỡ tra mắt khác gì so với thuốc mỡ thông thường

a. Có thêm yêu cầu thử các phần tử kim loại

b. Thuốc mỡ tra mắt phải vô khuẩn

c. Cả a và b đều đúng

d. Cả a và b đều sai

8. Thuốc mỡ tra mắt cần thử thêm yêu cầu nào so với thuốc mỡ thông thường

a. Độ nhiễm khuẩn, phần tử kim loại, giới hạn kích thước tiểu phân

b. Độ nhiễm khuẩn, độ đồng đều khối lượng, giới hạn kích thước tiểu phân

c. Thử vô khuẩn, phần tử kim loại, giới hạn kích thước tiểu phân

d. Thử vô khuẩn, độ đồng đều khối lượng, giới hạn kích thước tiêu phân

9. Thử phần tử kim loại cho thuốc mỡ tra mắt đạt khi có kết quả:

a. Không được có quá 1 tuýp trong 10 tuýp thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 tuýp.

b. Không có quá 3 tuýp chứa quá 8 phần tử trong mỗi tuýp và tổng số không quá 150 phần tử trong 10 tuýp thử.

c. Không được có quá 3 tuýp trong 10 tuýp thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 tuýp

d. Không có quá 3 tuýp chứa quá 8 phần tử trong mỗi tuýp và tổng số không quá 100 phần tử trong 10 tuýp thử

10. Thử tối đa là bao nhiêu đơn vị trong phép thử phần tử kim loại

a. 10

b. 20

c. 30

d. 40

11. Phép thử các phân tử kim loại cho thuốc mỡ tra mắt phải quan sát các phân tử kim loại có kich thước là bao nhiêu

a. Lớn hơn 50 μm

b. Nhỏ hơn 50 μm

c. Từ 50 đến 100 μm

d. Bất kì kích thước nào

12. Thuốc mỡ tra mắt đạt phép thử giới hạn kích thước tiểu phân khi:

a. Không được có phần tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn 75 μm

b. Không quá 25% phân tử có kích thước nhỏ hơn 25μm và không có phần tử nào có kích thước lớn hơn 55μm

c. Không có quá 25% phân tử có kích thước nhỏ hơn 25μm

d. Không được có phân tử nào có kích thước lơn hơn 55μm

13. Nút của thuốc mỡ phải kín là chủ yếu nhằm mục đích

a. Hạn chế nhiễm khuẩn

b. Tránh nhiễm bụi bẩn từ bên ngoài

c. Đảm bảo chất lượng thuốc

d. Tất cả đều đúng

14. % chênh lệch so với khối lượng nhãn cho thuốc mỡ Bepanthen 30g khi thử đồng đều khối lượng là

a. 5

b. 8

c. 10

d. 15

15. Thuốc kem sau pha loãng chỉ được dùng tối đa tới

a. 2 ngày

b. 7 ngày

c. 10 ngày

d. 14 ngày

16. Tuýp nhôm có ưu điểm hơn tuýp nhựa ở

a. Vật liệu nhôm không ảnh hưởng nhiều đến chất lượng thuốc kem so với nhựa

b. Hạn chế khoảng không sau mỗi lần dùng nên tránh nhiễm khuẩn

c. Cả a và b đều đúng

d. Cả a và b đều sai

17. Kem trị nấm da CLOTRIMAZOL 1% khi thử độ đồng nhất thì phải thử tối đa bao nhiêu đơn vị

a. 4

b. 6

c. 8

d. 12

18. Khi làm lại với 8 tiêu bản trong thử độ đồng nhất của kem, có 3 nhận thấy có tiểu phân thì

a. Đạt

b. Không đạt

c. Làm thêm với 8 tiêu bản nữa

d. Không kết luận được

19. Khoảng giới hạn của kem trị nấm da CLOTRIMAZOL 1% lọ 6g khi thử đồng đều khối lượng là bao nhiêu

a. 5,4 – 6,6

b. 5,1 – 6,9g

c. 5,52 – 6, 48g

d. 5,7 – 6,3g

20. Kem dùng cho vết thương diện rộng thì

a. Phải được tiệt trùng

b. Phải được pha loãng

c. Phải dùng trong 2 tuần

d. Phải thêm chất sát khuẩn

BÀI 12: KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử để đánh giá chất lượng thuốc hoàn, rượu thuốc, cao thuốc.
2. Đánh giá được kết quả kiểm nghiệm đối với một mẫu kiểm nghiệm thành phẩm cụ thể của các dạng bào chế trên

NỘI DUNG

1. KIỂM NGHIỆM THUỐC HOÀN

1.1 Khái niệm

Thuốc hoàn là dạng thuốc rắn, hình cầu, được bào chế từ bột hoặc cao dược liệu với các loại tá dược thích hợp, thường dùng để uống.

1.2 Phân loại và Phương pháp điều chế

1.2.1 Phân loại

Trong Y học cổ truyền, tuỳ theo tá dược dính sử dụng mà người ta chia ra các loại hoàn như sau:

Thuỷ hoàn: Là hoàn được điều chế với tá dược dính là nước, rượu, dấm, dịch chiết dược liệu bằng phương pháp bồi viên và thường là hoàn nhỏ (khối lượng viên dưới 0,5g).

Hồ hoàn: Là hoàn dùng hồ tinh bột làm tá dược dính, điều chế bằng phương pháp chia viên hay bồi viên, thường là hoàn nhỏ.

Mật hoàn: Là hoàn bào chế với tá dược dính là mật ong. Mật được luyện thành châu, trộn với bột thuốc khi còn nóng và bào chế hoàn bằng phương pháp chia viên. Hoàn mật thường gọi là "tễ", khối lượng có thể đến 12 gam, có thể chất nhuận dẻo.

Lạp hoàn: lạp hoàn được điều chế với sáp ong bằng cách đun chảy và vê viên ở nhiệt độ gần nhiệt độ đông rắn của sáp, thường có khối lượng từ 0,3- 0,5 gam.

1.2.2 Phương pháp điều chế

Thuốc hoàn được điều chế bằng 2 phương pháp: Chia viên và bồi viên.

Phương pháp chia viên: Áp dụng khi dùng các tá dược dính có độ nhớt cao như mật, hồ, sáp. Bột thuốc được trộn với tá dược dính ở nhiệt độ thích hợp thành khối bánh viên đồng nhất rồi chia viên bằng bàn hay máy chia viên.

Phương pháp bồi viên: Áp dụng cho các tá dược có độ dính thấp như nước, dịch chiết dược liệu, hồ loãng, sirô hay mật ong pha loãng. Tá dược dính lỏng và bột thuốc được bồi dần từng lớp lên nhân đã gây sẵn kết hợp với sấy cho đến khi viên đạt kích thước yêu cầu.

Thuốc hoàn có thể được bao bằng các lớp áo khác nhau để bảo quản hay tăng giá trị thẩm mỹ, viên hoàn mềm thường được đóng trong vỏ sáp.

1.3 Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.

1.3.1 Hình thức:

Hoàn phải tròn, đều, đồng nhất về hình dạng, màu sắc khi bảo quản, có mùi đặc trưng của dược liệu. Hoàn mềm phải nhuận, dẻo.

1.3.2 Hàm ẩm:

Hoàn mật ong, hoàn chứa cao đặc: không quá 15%. Hoàn nước có kết hợp sirô, mật ong: không quá 12%. Hoàn nước và hoàn hồ: Không quá 9% (hoàn sáp không xác định hàm ẩm).

Tiến hành theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6) hoặc Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13).

1.3.3 Độ rã:

Chỉ áp dụng cho hoàn cứng: Viên rã trong vòng 1 giờ (riêng hoàn hồ trong vòng 2 giờ, hoàn sáp thử theo viên bao tan trong ruột).

Tiến hành theo Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6).

1.3.4 Độ đồng đều khối lượng:

a) Đối với hoàn uống theo số viên:

Cân 10 viên, xác định khối lượng từng viên. Sự chênh lệch khối lượng của từng viên so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1, trong đó, không được có quá 2 viên vượt giới hạn cho phép và không được có viên nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 1:

Khối lượng trung bình 1 viên	**Giới hạn cho phép**
Từ 0,05 g đến 1,5 g	± 12 %
Trên 1,5g đến 5g	± 10 %
Trên 5,0g đến 9,0 g	±7 %
Trên 9,0 g	±5 %

b) Đối với hoàn uống theo gam:

Cân 10 phần, mỗi phần 10 viên, xác định khối lượng trung bình chung. Sự chênh lệch khối lượng của từng phần so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 2, trong đó, không được có quá 2 phần vượt giới hạn cho phép và không được có phần nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 2:

Khối lượng trung bình 1 phần	**Giới hạn cho phép**
Từ 0,05 g đến 0,1 g	± 12 %
Trên 0,1 g đến 1,0 g	± 10 %
Trên 1,0 g	±7 %

c) Đối với đơn vị đóng gói đã chia liều:

Lấy 10 gói, cân từng gói. Sự chênh lệch khối lượng của từng gói so với khối lượng trên nhãn phải nằm trong giới hạn ở Bảng 3, trong đó, không được có quá 2 gói vượt giới hạn cho phép và không được có gói nào gấp đôi giới hạn đó.

Bảng 3

Khối lượng trên nhãn	Giới hạn cho phép
Từ 0,5 g trở xuống	± 12%
Trên 0,5 g đến 1,0 g	± 11%
Trên 1,0 g đến 2,0 g	±10%
Trên 2,0 g đến 3,0 g	± 8%
Trên 3,0 g đến 6,0 g	± 6%
Trên 6,0 g đến 9,0 g	±5%
Trên 9,0 g	±4%

1.3.4 Định tính:

Định tính theo các phương pháp quy định trong tiêu chuẩn hoặc dược điển, thuốc hoàn phải cho các phản ứng của hoạt chất có trong chế phẩm.

1.3.5 Định lượng:

Đáp ứng theo quy định trong chuyên luận riêng.

1.3..6 Độ nhiễm khuẩn:

Thuốc hoàn phải đạt yêu cầu về độ nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

2 KIỂM NGHIỆM CAO THUỐC

2.1 Định nghĩa

Cao thuốc là chế phẩm được 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.

Các dược liệu trước khi chiết xuất được xử lý sơ bộ (sấy khô và chia nhỏ đến kích thước thích hợp). Đối với một số dược liệu đặc biệt có chứa men làm phân hủy hoạt chất cần phải diệt men trước khi đưa vào sử dụng bằng cách dùng hơi cồn sôi, hơi nước sôi hoặc bằng phương pháp thích hợp khác.

Cao thuốc được chia làm 3 loại:

Cao lỏng: Là chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu sử dụng trong đó cồn và nước đóng vai trò dung môi chính (hay chất bảo quản hay cả hai).

Nếu không có chỉ dẫn khác, quy ước 1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu dùng để điều chế cao thuốc.

Cao đặc: Là khối đặc quánh. Hàm lượng dung môi sử dụng còn lại trong cao không quá 20%.

Cao khô: Là khối hoặc bột khô, đồng nhất nhưng rất dễ hút ẩm. Cao khô không được có độ ẩm lớn hơn 5%

2.2 Yêu cầu chất lượng: Đạt các yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng và đạt các yêu cầu chung sau đây:

2.2.1 Độ tan:

Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã sử dụng để điều chế cao.

2.2.2 Độ trong, mùi vị, độ đồng nhất và màu sắc:

Cao thuốc phải đúng màu sắc đã mô tả trong chuyên luân riêng, có mùi và vị đặc trưng của dược liệu sử dụng. Ngoài ra, cao lỏng còn phải đồng nhất, không có váng thuốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Cách tiến hành: Lấy riêng phần phía trên của chai thuốc chỉ để lại khoảng 10 - 15 ml. Chuyển phần còn lại trong chai vào một bát sứ men trắng, nghiêng bát cho chúng chảy trên thành bát tạo thành một lớp dễ quan sát. Quan sát dưới ánh sáng tự nhiên, thuốc phải đạt các yêu cầu quy định. Nếu không đạt phải thử lại lần hai với chai khác, nếu không đạt coi như lô thuốc không đạt chỉ tiêu này.

2.2.3 Mất khối lượng do làm khô (nếu không có chỉ dẫn khác):

Cao đặc không quá 20%.

Cao khô không quá 5%.

2.2.4Hàm lượng cồn:

Đạt 90 - 110% lượng ethanol ghi trên nhãn (áp dụng cho cao lỏng và cao đặc).

2.2.5 Kim loại nặng:

Đáp ứng yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng.

2.2.6 Dung môi tồn dư:

Nếu điều chế với dung môi không phải là cồn, nước hay hỗn hợp cồn - nước, dư lượng dung môi sử dụng phải đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 10.14 Xác định dung môi tồn dư.

2.2.7 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật:

Đáp ứng yêu cầu quy định trong Phụ lục 12.17 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật.

2.2.8 Giới hạn nhiễm khuẩn:

Đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn

3 KIỂM NGHIỆM RƯỢU THUỐC.

3.1 Định nghĩa

Rượu thuốc là dạng thuốc lỏng dùng để uống hay đôi khi dùng ngoài, được điều chế bằng cách ngâm dược liệu (thảo mộc hoặc động vật) trong rượu trắng hoặc ethanol loãng trong một thời gian nhất định (tuỳ theo quy định của từng công thức) rồi gạn hoặc lọc lấy dịch trong. Hàm lượng ethanol trong rượu thuốc không quá 45%

3.2 Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.

3.2.1 Màu sắc:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Cách tiến hành: Lấy ở 2 chai rượu trong mỗi lô sản xuất, mỗi chai 5 ml, 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 chuyên luận riêng.

3.2.2 Mùi vị:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Rượu thuốc có thể có mùi thơm của dược liệu, có vị ngọt do thêm đường hoặc mật ong.

3.2.3 Độ trong và độ đồng nhất:

Rượu thuốc phải trong, đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có váng mốc. Hút 5 ml rượu thuốc ở vị trí cách đáy chai khoảng 2 cm, cho vào ống nghiệm (thủy tinh không màu, dung tích 10 - 20 ml), 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 thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.

3.2.4 Hàm lượng ethanol:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Xác định hàm lượng ethanol theo Phụ lục 10.12.

3.2.5 Tỷ trọng:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận. Xác định tỷ trọng theo Phụ lục 6.5.

3.2.6 Độ lắng cặn:

Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận.

Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu (thể tích 500ml, nếu không có qui định khác), 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 1 ml) có nút. Lấy phần rượu trong đã hút xiphông để tráng chai, đổ vào ống đong rồi thêm rượu thuốc vừa đủ 25 ml hoặc 50 ml. Để lắng 48 giờ, đọc kết quả trên vạch chia của ống đong. Mỗi loại rượu phải đạt được 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...

3.2.7 Cắn sau khi sấy khô:

Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận. Tiến hành theo 1 trong 2 phương pháp sau đây:

Phương pháp 1: Áp dụng với các rượu thuốc có chứa đường hoặc mật ong.

Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào cốc miệng rộng, bốc hơi đến khô trên cách thuỷ, chiết bằng ethanol tuyệt đối bằng cách thêm vào cắn lần lượt, 4 lần, mỗi lần 10ml ethanol tuyệt đối, dùng đũa thuỷ tinh khuấy kỹ, lọc. Gộp các dịch lọc vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thuỷ đến khô, sấy cắn ở 105^{o}C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cắn thu được.

Phương pháp 2: Áp dụng với các rượu thuốc không chứa đường hoặc mật ong.

Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thuỷ đến khô, sấy cắn ở 105^{o}C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cắn thu được.

3.2.8 Sai số thể tích:

Theo yêu cầu và cách thử ở Phụ lục 11.1.

3.2.9 Methanol:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Xác định theo Phụ lục 10.13.

3.2.19. Định tính, định lượng và các chỉ tiêu khác:

Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1: "Tễ" là tên gọi khác của
a) Thủy hoàn
b) Mật hoàn
c) Hồ hoàn
d) Tất cả đều sai

Câu 2: Quy định giới hạn cho phép về hàm ẩm trong hoàn mật ong, hoàn chứa cao đặc theo DĐVN IV, chọn câu đúng nhất.
a) không quá 9%.
b) không quá 12%.
c) không quá 15%.
d) không quá 18%.

Câu 3: Quy định giới hạn cho phép về hàm ẩm trong hoàn nước có kết hợp sirô, mật ong theo DĐVN IV, chọn câu đúng nhất.
a) không quá 9%.
b) không quá 12%.
c) không quá 15%.
d) không quá 18%.

Câu 4: Quy định giới hạn cho phép về hàm ẩm trong hoàn nước và hoàn hồ theo DĐVN IV, chọn câu đúng nhất.
a) không quá 9%.
b) không quá 12%.
c) không quá 15%.
d) không quá 18%.
Câu 5: Phương pháp xác định hàm ẩm đối với thuốc hoàn theo DĐVN IV:
a) Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6)
b) Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13)
c) Một trong hai phương pháp trên
d) Một phương pháp khác.
Câu 6. Quy định về thời gian rã cho phép đối với hoàn cứng theo DĐVN IV.
a) Viên rã trong vòng 2 giờ
b) Viên rã trong vòng 1 giờ
c) Viên rã trong vòng 30 phút
d) Tùy theo tiêu chuẩn cơ sở của nhà sản xuất.
Câu 7. Trong phép thử Độ đồng đều khối lượng đối với *hoàn uống theo số viên*, nếu khối lượng trung bình của 1 viên là 3g, chênh lệch khối lượng của từng viên so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn:
a) ± 12 %
b) ± 10 %
c) ± 7 %
d) ± 5 %
Câu 8. Trong phép thử Độ đồng đều khối lượng đối với *hoàn uống theo gam*, nếu khối lượng trung bình của 1 phần là 2g, chênh lệch khối lượng của từng phần so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn:
a) ± 12 %
b) ± 10 %
c) ± 7 %
d) ± 5 %
Câu 9. Trong phép thử Độ đồng đều khối lượng đối với *đơn vị đóng gói đã chia liều*, Lấy 10 gói, cân từng gói. Sự chênh lệch khối lượng của từng gói so với khối lượng trên nhãn phải nằm trong giới hạn quy định, trong đó, không được có quá ..... gói vượt giới hạn cho phép và không được có gói nào gấp đôi giới hạn đó. Chọn giá trị điền vào chỗ trống.
a) 1
b) 2
c) 3
d) Tất cả đều sai
Câu 10: Theo DĐVN IV cao thuốc được chia làm mấy loại loại.
a) 1
b) 2
c) 3
d) 4
Câu 11: Theo DĐVN IV(nếu không có chỉ dẫn khác), giới hạn hàm lượng nước đối với cao *đặc* không quá:
a) 5%
b) 10%

c) 15%
d) 20%
Câu 12: Theo DĐVN IV(nếu không có chỉ dẫn khác), giới hạn hàm lượng nước đối với cao *khô* không quá:
a) 5%
b) 10%
c) 15%
d) 20%
Câu 13: *Cao lỏng* là chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu sử dụng trong đó cồn và nước đóng vai trò dung môi chính (hay chất bảo quản hay cả hai). Nếu không có chỉ dẫn khác, quy ước 1 ml cao lỏng tương ứng với bao nhiêu gam dược liệu dùng để điều chế cao thuốc.
a) 0,5 gam
b) 1 gam
c) 2 gam
d) 4 gam
Câu 14: Hàm lượng cồn trong cao lỏng và cao đặc theo DĐVN IV.
a) Đạt 95 - 105% lượng ethanol trung bình
b) Đạt 95 - 105% lượng ethanol ghi trên nhãn
c) Đạt 90 - 110% lượng ethanol trung bình
d) Đạt 90 - 110% lượng ethanol ghi trên nhãn
Câu 15: Theo quy định hàm lượng ethanol trong *rượu thuốc* không được quá
a) 25%
b) 35%
c) 45%
d) 50%

BÀI 13: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC TRONG KIỂM NGHIỆM THUỐC

MỤC TIÊU

1. Trình bày được phương pháp làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật và nêu được các phương pháp khử trùng.

2. Trình bày được mục đích, nguyên tắc, phương pháp thử chất gây sốt, độ vô khuẩn và giới hạn nhiễm khuẩn của vi sinh vật và thử độ vô trùng.

NỘI DUNG

1. YÊU CẦU CƠ BẢN CỦA PHÒNG THÍ NGHIỆM VI SINH VẬT

1.1 Quy tắc an toàn trong phòng kiểm nghiệm vi sinh vật

Cán bộ làm việc tại phòng kiểm nghiệm vi sinh vật phải có đủ kiến thức và kinh nghiệm về công tác kiểm nghiệm vi sinh và phải tuân theo các quy tắc an toàn trong khi làm việc.

1.1.1 Yêu cầu về phòng kiểm nghiệm vi sinh vật

Diện tích làm việc, các khu vực trong phòng được phân chia và bố trí phù hợp, khoảng cách làm việc hợp lý để hạn chế tối đa sự di chuyển trong phòng. Hệ thống chiếu sáng đầy đủ, hệ thống thông khí để tránh sự đóng bụi và lan truyền vi sinh vật,... Khu vực thao tác nuôi cấy nên lắp đèn tử ngoại để tiệt trùng không khí và không gian thao tác. Chú ý tránh hoặc không dùng quạt trong phòng kiểm nghiệm vi sinh, tránh đổ môi trường hóa chất trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời.

1.1.2 Các quy tắc an toàn trong phòng kiểm nghiệm vi sinh vật

Không ăn uống hút thuốc trong phòng kiểm nghiệm, trong khi làm việc mặc áo blouse, mang khẩu trang khi thao tác với vi sinh vật. Trước khi bắt đầu thí nghiệm phải sát trùng mặt bàn, sát trùng tay bằng cồn 70^0 hoặc dung dịch chất tiệt khuẩn khác, để khô. Sau khi hoàn thành công việc tiến hành sát trùng như trên.

Phải ghi chú tên vi sinh vật, ngày tháng thử nghiệm lên tất cả các hộp Petri, ống nghiệm môi trường nuôi cấy.

Tất cả các chất thải rắn môi trường chứa hoặc nhiễm vi sinh vật cần được hấp khử trùng trước khi thải đi.

Dụng cụ, bình chứa nhiễm vi sinh vật cần được ngâm vào dung dịch chất tiệt khuẩn (nước Javel) trước khi rửa và tái sử dụng.

1.2 Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ bằng thủy tinh: ống nghiệm, đĩa petri, đèn cồn, cốc thủy tinh, bình cầu đáy bằng và tròn, bình tam giác, các loại ống đong, ống hút.

Que cấy: que cấy vòng, que cấy móc.

Màng lọc vô trùng: kích thước lỗ lọc 0,2µm nhỏ hơn đường kính vi khuẩn.

Thiết bị: nhiệt kế, máy đo pH, tủ sấy, tủ ấm, máy lắc, bể điều nhiệt, tủ lạnh, đèn tử ngoại (UV), nồi hấp, kính hiển vi, bình ủ kị khí,...

Tủ cấy vô trùng: không khí trong tủ cấy vô trùng được cung cấp qua hệ thống lọc không khí. Đèn tử ngoại có tác dụng khử trùng bề mặt bàn thao tác trong tủ cấy và bề mặt các dụng cụ thiết bị khác. Trước khi sử dụng tủ cấy vô trùng cần bật đèn tử ngoại trước 30 phút. Khi bắt đầu thao tác, tắt đèn tử ngoại và bật hệ thống lọc không khí.

1.3 Kỹ thuật cơ bản trong phân tích kiểm nghiệm vi sinh vật

1.3.1 Phương pháp pha chế môi trường

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật thông thường có chứa đầy đủ các thành phần về nguồn carbon, đạm, chất khoáng, các yếu tố sinh trưởng... ngoài ra còn chứa một lượng nước cần thiết (khoảng 70-85%) có pH xác định thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật. Trong một số trường hợp có thể thêm các chất kháng sinh, các chất ức chế sinh trưởng của một số vi sinh vật theo yêu cầu mục tiêu thử nghiệm,...

Môi trường nuôi cấy thường được phân loại dựa vào tính chất vật lý môi trường và chia thành 3 dạng: lỏng (liquid media), rắn (solid media), và bán rắn (semisolid media).

Hiện nay, nhiều hãng sản xuất môi trường chuyên nghiệp đã sản xuất các dạng môi trường đông khô. Các môi trường được điều chế từ các hóa chất tổng hợp tinh khiết với hàm lượng chính xác định.

Trong thử nghiệm vi sinh, chất lượng môi trường đóng vai trò quan trọng, vì vậy việc pha chế môi trường cần được thực hiện chính xác, cẩn thận. Cách pha chế như sau:

+ Để chuẩn bị môi trường cần phải cân đong chính xác trên cân phân tích như các thành vi lượng

+ Với môi trường lỏng: cân các thành phần, hòa tan vào trong nước.

+ Với môi trường rắn: bổ sung thêm chất làm rắn như thạch, đồng thời phải gia nhiệt để làm tan môi trường.

+ Yêu cầu môi trường phải trong để dễ quan sát, trường hợp cần thiết phải lọc qua giấy lọc, gạc hoặc than hoạt. Tùy theo đối tượng yêu cầu thử nghiệm, môi trường được điều chỉnh đến pH quy định bằng HCl 1N hoặc NaOH 1N. Môi trường được khử trùng ở nhiệt độ và thời gian thích hợp phụ thuộc vào thành phần của môi trường. Với các môi trường bình thường, thường khử trùng ở 121^0C trong 15-20 phút.

Môi trường đông khô: được pha chế đơn giản bằng cách phối hợp một lượng cần thiết môi trường khô vào nước, điều chỉnh pH, đóng ống và khử trùng. Trong nhiều trường hợp không cần điều chỉnh pH.

Các ống nghiệm đựng môi trường phải sạch và không có bụi. Trường hợp đặc biệt phải rửa ống nghiệm bên trong bằng nước ấm và xà phòng có thể sử dụng chổi cọ ống nghiệm. Xả lại 2 lần nước, lần đầu bằng nước máy, lần sau bằng nước cất để loại trừ xà phòng còn sót lại. Úp ngược ống nghiệm trên giá để tự khô, chú ý không lau bằng khăn.

Khi phân môi trường ra dụng cụ chứa cần chú ý chỉ dùng một phần của dụng cụ chứa. Thông thường với các bình chứa như bình cầu, bình tam giác chỉ đổ 1/3 đến ½ dung tích, đóng 5ml môi trường lỏng vào ống nghiệm, 5 – 7ml đối với ống thạch nghiêng.

1.3.2 Các kỹ thuật khử trùng dụng cụ và môi trường

Có nhiều phương pháp khử trùng vi sinh vật: bằng tác nhân lý hóa như nhiệt độ, bức xạ, lọc,... tác nhân khử trùng được chọn tùy mục đích và vật liệu khử trùng.

a) Tiệt trùng bằng nhiệt

Nhiệt độ cao có thể diệt được vi sinh vật do tác dụng làm enzym của vi sinh vật bị biến tính, làm mất nước và oxy hóa tế bào.

Tiệt trùng bằng nhiệt khô

Tiệt trùng bằng nhiệt khô được thực hiện trong tủ sấy có gắn thiết bị đối lưu không khí để đảm bảo sự phân phối nhiệt đồng đều trong toàn bộ khoang tiệt trùng. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt trùng bằng nhiệt khô là sấy ở nhiệt độ tối thiểu 160 ^oC trong ít nhất 2 giờ.

Trong quá trình tiệt trùng phải tiến hành theo dõi nhiệt độ bên trong tủ sấy. Nhiệt độ thường được đo bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của tủ sấy. Phải ghi chép và lưu trữ thông số nhiệt độ của mỗi chu trình tiệt trùng.

Dụng cụ thủy tinh bền với nhiệt nên thường được khử trùng bằng phương pháp sấy 180^0C trong 2 giờ trong tủ sấy. Dụng cụ thủy tinh cần gói kín trong giấy hoặc giấy nhôm.

Tiệt trùng bằng nhiệt ẩm

Phương pháp tiệt trùng bằng nhiệt ẩm được tiến hành trong một thiết bị chuyên dùng gọi là nồi hấp, tác nhân tiệt trùng là hơi nước bão hòa dưới áp suất cao. Đây là phương pháp ưu tiên chọn lựa, khi có thể, nhất là đối với các dung dịch nước. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt trùng bằng nhiệt ẩm là đun nóng ở 121 ^oC trong ít nhất 15 phút để diệt tế bào sinh dưỡng hoặc hấp bằng hơi nước ở 1atm, 121 ^0C trong 15 – 30 phút để tiệt trùng hoàn toàn.

Trong quá trình tiệt trùng, phải theo dõi và ghi chép lại nhiệt độ và áp suất bên trong nồi hấp. Nhiệt độ thường được theo dõi bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của nồi hấp. Thông số vận hành của mỗi chu trình tiệt trùng được ghi lại dưới dạng biểu đồ nhiệt độ - thời gian, hay bằng một cách thích hợp khác.

b) Tiệt trùng bằng phương pháp lọc

Phương pháp lọc thường được dùng để tiệt trùng các dung dịch kém bền nhiệt, không thể tiệt trùng trong bao bì cuối. Nguyên tắc của phương pháp là dẫn dung dịch cần tiệt trùng qua vật liệu lọc có khả năng giữ vi khuẩn. Vật liệu lọc thường dùng là các màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,22 µm hay nhỏ hơn, có khả năng giữ lại 100% vi khuẩn *Pseudomonas diminuta*

Cần có biện pháp thích hợp để tránh sự hấp thu hoạt chất trên màng lọc, cũng như để tránh sự thôi tạp chất từ màng lọc vào dịch lọc.

Trước khi lọc phải kiểm tra để đảm bảo màng lọc không bị rách trong quá trình lắp ráp và tiệt trùng hệ thống lọc, sau khi lọc xong cũng phải kiểm tra tính toàn vẹn của màng lọc bằng phương pháp thích hợp

c) Tiệt trùng bằng bức xạ

Phương pháp này được tiến hành bằng cách cho sản phẩm trong bao bì cuối tiếp xúc với bức xạ ion hóa. Hai nguồn bức xạ ion hóa thường dùng là : tia γ phát ra từ nguồn phóng xạ thích hợp (ví dụ đồng vị phóng xạ Cobalt 60), và chùm electron

năng lượng cao được gia tốc bởi máy gia tốc electron. Ngoài ra còn có tia tử ngoại được dùng để khử trùng các buồng pha chế, tủ cấy vi sinh vật; trong trường hợp này chú ý đèn tử ngoại phải trực tiếp, thẳng góc với nơi làm thí nghiệm, công suất và số lượng đèn phù hợp với diện tích buồng cấy. đèn tử ngoại ít có tác dụng với nấm, do đó muốn khử trùng buồng pha chế cần phối hợp thêm hóa chất để diệt nấm.

d) Tiệt trùng bằng hóa chất.

Nhiều hóa chất có thể kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật. Ethylen oxyd, triethylen glycol,… được sử dụng để khử trùng, ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Sử dụng dung dịch Cloramin B, Cloramin T 2% hoặc dung dịch phenol 0,5% để xử lý buồng vô khuẩn. Tiệt khuẩn không khí bằng dung dịch formaldehyd (500ml cho 1 lít nước).

1.3.3 Các kỹ thuật thao tác vô trùng.

Trong kiểm nghiệm vi sinh vật, các chủng vi sinh vật cần được cấy vào nhiều môi trường khác nhau để tăng sinh, khảo sát đặc tính sinh trưởng của vi sinh vật, các thử nghiệm sinh hóa,… Việc cấy chủng cần chú ý thực hiện để không đưa các vi sinh vật khác vào hay vi sinh vật nhiễm vào môi trường, vì vậy các thao tác cần hết sức cẩn thận để loại trừ các vi sinh vật gây nhiễm. Để đảm bảo được trạng thái vô trùng trước khi sử dụng, môi trường và các dụng cụ cần được khử trùng thích hợp.

Các thao tác vô trùng được thực hiện trong không gian vô trùng được tạo ra bởi ngọn lửa đèn cồn, hoặc trong tủ cấy vô trùng. Ngoài ra người tiến hành thử nghiệm cần mang găng tay hoặc sát trùng tay với cồn 70^0 hoặc dung dịch tuyệt khuẩn, đồng thời sát trùng mặt bàn thao tác. Sau khi thực hiện xong công việc cấy chủng lại tiến hành sát trùng tay, mặt bàn tương tự như trên.

Khử trùng que cấy: đốt nóng đỏ đầu que cấy trong ngọn lửa và đốt nhẹ phần cán. Cầm thẳng đứng que cấy lên cho nóng đều, mở nút bông và đưa ngay que cấy đã khử trùng vào dụng cụ chứa giống. áp đầu que cấy vào đầu ống nghiệm, bình chứa hoặc đặt nhẹ lên phần môi trường không chứa vi sinh vật để làm nguội que cấy trước khi cấy vi sinh vật.

Chuẩn bị ống thạch nghiêng và đổ đĩa:

+ Ống thạch nghiêng: Ngay sau khi khử trùng, đặt đầu các ống nghiệm đựng môi trường rắn cao để tạo độ nghiêng sao cho chiều dài của môi trường trong ống không quá 2/3 chiều cao ống, thạch không được chạm vào nút bông. Để nguội.

+ Đổ đĩa: Đổ ở nhiệt độ 45 – 550C, vừa hạn chế sự ngưng tụ hơi nước trên nắp đĩa petri, vừa tạo được bề mặt môi trường phẳng. đổ đĩa trong tủ cấy vô trùng, bề dày môi trường trong đĩa là 3 – 4 mm.

1. THỬ GIỚI HẠN NHIỄM KHUẨN

Thử giới hạn nhiễm khuẩn nhằm đánh giá số lượng vi khuẩn hiếu khí, nấm, mốc có khả năng sống lại được và phát hiện các vi khuẩn chỉ điểm y tế có trong thuốc.
Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn. Trong khi làm thí nghiệm, chú ý không đưa chất khử khuẩn vào mẫu thử.
Thử nghiệm được áp dụng cho tất cả các dược phẩm gồm cả nguyên liệu và thành phẩm của các thuốc không tiệt khuẩn trong quá trình sản xuất.

1.1.Thử nghiệm sơ bộ

- Tìm chất ức chế có trong thuốc:

Thử nghiệm giới hạn nhiễm khuẩn sẽ không có giá trị nếu chất ức chế có trong thuốc cản trở đến khả năng phát hiện các vi khuẩn. Vì vậy cần làm thí nghiệm kiểm tra trước bằng cách lấy dung dịch chế phẩm đã được pha ở nồng độ thích hợp vào môi trường chọn lọc cho *Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus, Pseudomonas aeruginosa,* rồi cấy vào đó 1ml canh khuẩn 24 h tuổi đã pha loãng với dung dịch đệm phosphat pH 7,2 ít nhất tới 10^{-3} các vi khuẩn tương ứng. Nếu vi khuẩn không mọc, thí nghiệm cần thay đổi bằng cách:

1. Giữ nguyên lượng chất mang thử nhưng tăng thể tích môi trường.
2. Cho vào môi trường một lượng vừa đủ chất khử hoạt tính thích hợp.
3. Phối hợp cách làm (1) và (2) để vi khuẩn mang cấy có thể mọc được.

- Tuỳ theo thành phần và nồng độ của mẫu thử, có thể thêm vào môi trường để trung hoà chất ức chế các loại sau: lecithin đậu tương 0,5 %, polysorbat 20: 4 %.

Làm lại thí nghiệm với điều kiện chất ức chế trong lượng mẫu mang kiểm tra đã được trung hoà.

1.2.Môi trường

Môi trường nuôi cấy có thể pha theo cách dưới đây hoặc có thể dùng môi trường khô do các hãng sản xuất môi trường vi sinh vật cung cấp. Các môi trường tự pha chế phải hấp tiệt khuẩn bằng nồi hấp ở nhiệt độ 115°C trong 30 phút trừ khi có những chỉ dẫn riêng đối với loại môi trường đặc biệt.

Thạch dùng cho pha chế môi trường có độ ẩm dưới 15%. Nước và các chất dùng trong các công thức phải tinh khiết.

Môi trường thạch casein đậu tương

Casein pancreatic	15,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	15,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	5,0 g
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: 7,3 $\pm$ 0,2

Môi trường thạch thường

Pepton	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	15 - 20 g
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn	7,4 $\pm$ 0,2

Môi trường thạch Sabouraud

Glucosa	40,0 g
Casein pancreatic	5,0 g
Pepton	5,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Hoà tan, đun sôi cho tan hoàn toàn.

pH sau khi tiệt khuẩn : 5,6 $\pm$ 0,2

Môi trường lỏng casein đậu tương

Casein pancreatic	17,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Bột đậu tương thuỷ phân bởi papain	3,0 g
Glucose	2,5 g
Natri clorid	5,0 g
Nước	1000 ml

Hoà tan các chất rắn vào nước đun nóng nhẹ để tan hoàn toàn. Để nguội dung dịch ở nhiệt độ phòng, phân chia vào các bình thích hợp đó tiệt khuẩn. pH sau khi tiệt khuẩn:7,3 $\pm$ 0,2.

1.3.Chuẩn bị thí nghiệm

1.3.1.Lấy mẫu:

Đối với các thử nghiệm dưới đây, mỗi thử nghiệm lấy 10ml hoặc 10g chế phẩm.

1.3.2.Cách thử nghiệm:

Một mẫu chế phẩm cần xác định giới hạn vi khuẩn phải thực hiện đầy đủ các thử nghiệm sau:

Đếm tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được, tính ra số lượng vi khuẩn, nấm mốc có trong 1g hoặc 1ml chế phẩm.

Thử nghiệm tìm những vi khuẩn gây bệnh sau:

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Salmonella

Escherichia coli

1.3.3.Chuẩn bị mẫu

Chế phẩm mang thử nghiệm trong quá trình hoà tan hoặc nhũ hoá phải đảm bảo không làm thay đổi chủng loại vi khuẩn, nấm mốc có trong thuốc. Để có một dung dịch hoặc nhũ dịch thích hợp cho thử nghiệm, tiến hành như sau:

Đối với chế phẩm rắn, hoà tan trực tiếp hoặc nghiền mịn chế phẩm trong bình với dung môi hoặc chất nhũ hoá thích hợp.

Đối với chế phẩm ở dạng lỏng như dung dịch thực, nhũ dịch trong nước, chất rắn hòa tan dễ dàng và hoàn toàn trong nước..., dùng dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc dung dịch natri clorid 0,9% để hoà loãng.

Những chế phẩm lỏng không thể hoà lẫn trong nước như dầu, kem hoặc sáp: Chế tạo nhũ dịch bằng cách thêm một lượng vừa đủ tác nhân nhũ hoá vô khuẩn thích hợp như các loại polysorbat. Dùng phương pháp khuấy trộn cơ học hoặc đồng thời làm ấm bằng nhiệt nhưng không được vượt quá 45^{o}C để có nhũ dịch chế phẩm đồng nhất.

Các chế phẩm ở dạng khí dung - lỏng: Làm lạnh bình để các khí hoá lỏng rồi mở nắp để lấy một lượng thích hợp mang thử.

1.4.Tiến hành

1.4.1.Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí: có 3 phương pháp

a) Phương pháp đĩa thạch

b) Phương pháp pha loãng trong ống nghiệm

c)Phương pháp màng lọc:

- Đếm tổng số vi khuẩn hiếu khí:

Đối với chế phẩm hoà tan tốt hoặc tạo thành dung dịch hơi đục, dùng phương pháp đĩa thạch. Còn các chế phẩm khác dùng phương pháp hoà loãng trong ống nghiệm.
Hoà tan hoặc làm nhũ hoá 10 g hoặc 10 ml chế phẩm vừa đủ trong 100 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc trong 100 ml dung môi thích hợp với từng loại chế phẩm, để được dung dịch chế phẩm có độ pha loãng ở tỷ lệ 1/10. Đối với những chế phẩm dạng nhầy không thể lấy chính xác bằng pipet ở tỷ lệ 1/10, có thể pha loãng tiếp để lấy được chính xác, nghĩa là có thể pha loãng đến tỷ lệ 1/50 hoặc 1/100 v.v...
Thực hiện thử nghiệm phát hiện chất ức chế trước khi xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí. Chế phẩm đã pha loãng phải cho ngay vào môi trường nuôi cấy mà không được để quá 1 giờ.
Dung dịch đệm pH 7,2: Hoà 34g kali dihydrophosphat (KH_2PO_4) vào khoảng 500 ml nước cất trong bình định mức 1000 ml. Điều chỉnh pH tới 7,2 $\pm$ 0,1 bằng cách thêm dung dịch natri hydroxyd 2%. Thêm nước cất tới vạch. Trộn đều, phân chia vào các bình, tiệt khuẩn, bảo quản ở lạnh. Khi dùng, hoà loãng với nước cất theo tỷ lệ 1: 800 và tiệt khuẩn.

+ Phương pháp đĩa thạch

Hoà loãng chế phẩm sao cho khi cấy 1 ml dịch chế phẩm vào môi trường trong một hộp Petri, số khuẩn lạc mọc khoảng 30 đến 300 khuẩn lạc. Lấy dung dịch có độ pha loãng cuối cùng cho vào 2 hộp Petri, mỗi hộp 1ml. Thêm vào mỗi hộp 15 - 20 ml môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường thạch thường đã đun chảy và để nguội đến 45^{o}C. Đậy hộp, trộn đều bằng cách xoay qua, xoay lại. Sau đó để yên cho thạch đông cứng ở nhiệt độ phòng. Lật ngược hộp, mang ủ ở 35^{o}C từ 24 - 48 h. Sau thời gian ủ, kiểm tra vi khuẩn mọc ở đĩa, đếm số lượng khuẩn lạc. Lấy giá trị của đĩa có số lượng khuẩn lạc lớn nhất mà số khuẩn lạc trong đĩa không lớn hơn 300 và tính ra số lượng khuẩn lạc trong 1g hoặc 1ml chế phẩm. Nếu thấy không có khuẩn lạc mọc ở đĩa có độ pha loãng 1/10 thì kết luận chế phẩm có ít hơn 10 khuẩn lạc trong 1 g hoặc 1 ml.

1.4.2. Thử nghiệm tìm các vi khuẩn

a)Tìm Staphylococcus aureus và Pseudomonas aeruginosa

b) Tìm Salmonella và Escherichia coli

c) Phát hiện Enterobacteria và các vi khuẩn Gram âm khác

Chỉ trình bày tìm Staphylococcus aureus và Pseudomonas aeruginosa

+ Tìm Staphylococcus aureus và Pseudomonas aeruginosa

Cho chế phẩm vào 100 ml môi trường lỏng casein đậu tương, ủ ở 35 - 37^{0}C, kiểm tra vi khuẩn mọc ở môi trường. Nếu thấy mọc, dùng que cấy lấy môi trường, cấy lên đĩa thạch Vogel - Johnson (hoặc thạch Baird - Parker hoặc thạch manitol - muối) và môi trường thạch cetrimid. Đậy đĩa, lật ngược hộp Petri, mang ủ. Sau khi ủ kiểm tra nếu không thấy có những khuẩn lạc với đặc tính như ghi trong bảng 2 và bảng 3 (nêu ở phần sau) đối với từng môi trường đã sử dụng thì chế phẩm không có *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*. Nếu thấy có khuẩn lạc nghi ngờ thì tiếp tục làm các phản ứng sinh hoá của *Staphylococcus aureus* hoặc *Pseudomonas aeruginosa* như sau:

**Phản ứng coagulase* (đối với *Staphylococcus aureus):*

Dùng que cấy chuyển khuẩn lạc nghi ngờ đặc trưng từ mặt thạch Vogel-Johnson (hoặc thạch Baird - Parket, hoặc thạch manitol - muối) thêm vào từng ống nghiệm, mỗi ống 0,5 ml huyết tương thỏ hoặc ngựa. Đem ủ 37^{o}C, kiểm tra các ống sau 3 giờ

ủ rồi tiếp tục ủ thêm 24h. Nếu thấy có đông huyết tương (ở bất kỳ mức độ nào), chế phẩm có *Staphylococcus aureus*.

Bảng 2: Đặc điểm hình thái của Staphylococcus aureus trên các môi trường lựa chọn

Môi trường	Thạch Vogel - Johnson	Thạch manitol - muối	Thạch Baird - Parker
Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Màu đen được bao bọc bằng một vùng vàng	Khuẩn lạc màu vàng cùng với một vùng vàng xung quanh	Khuẩn lạc màu đen bóng, viền quanh bằng một vùng sáng rõ 2 - 5 mm

***Phản ứng oxydase và sinh sắc tố (** đối với *Pseudomonas aeruginosa):*

Lấy những khuẩn lạc nghi ngờ đặc trưng từ mặt môi trường thạch cetrimid cấy ria trên mặt môi trường thạch Pseudomonas phát hiện Fluorescin và môi trường Pseudomonas phát hiện Pyocyanin trong hộp Petri. Nếu nhiều khuẩn lạc cần được cấy truyền, có thể chia bề mặt hộp thành bốn phần, mỗi phần cấy một loại khuẩn lạc lựa chọn. Đậy và lật ngược hộp môi trường đã cấy truyền và ủ ở 35 $\pm$ 2^{o}C ít nhất 3 ngày kiểm tra đường cấy dưới ánh sáng đèn tử ngoại. Kiểm tra các đĩa để xác định có khuẩn lạc đặc trưng theo bảng 3 hay không. Xác nhận bất kỳ khuẩn lạc nghi ngờ nào mọc trên một hoặc nhiều môi trường. Phát hiện *Pseudomonas aeruginosa* bằng phản ứng oxydase: Nhỏ ngay lên khuẩn lạc hoặc chuyển khuẩn lạc lên một mẩu (hoặc một khoanh) giấy đã tẩm trước N - dimethyl - phenylen diamin dihydroclorid. Nếu thấy hiện màu đỏ hồng chuyển sang màu tím, chế phẩm có *Pseudomonas aeruginosa*. Có thể xác định *Pseudomonas aeruginosa* bằng các phép thử sinh hoá và nuôi cấy thích hợp khác.

Bảng 3. Đặc điểm hình thái của Pseudomonas aeruginosa trên các môi trường lựa chọn

Môi trường	Thạch cetrimid	Thạch Pseudomonas để phát hiện Fluorescin	Thạch Pseudomonas để phát hiện Pyocyanin
Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Màu lục nhạt thông thường	Không màu đến màu vàng nhạt	Màu vàng nhạt
Huỳnh quang ở ánh sáng tia cực tím	Màu lục	Màu hơi vàng	Màu xanh nước biển
Phản ứng oxydase	Dương tính	Dương tính	Dương tính
Nhuộm Gram	Trực khuẩn Gram âm	Trực khuẩn Gram âm	Trực khuẩn Gram âm

1.4.3.Đếm tổng số nấm, mốc, và men

Dùng phương pháp đĩa thạch tương tự như đếm tổng số vi khuẩn hiếu khí, nhưng sử dụng môi trường thạch Sabouraud hoặc môi trường thạch - khoai tây- glucose, ủ các đĩa ở nhiệt độ ở 20 - 25^{o}C, theo dõi trong 5 ngày.

Thử nghiệm thứ nhất dùng cho những sản phẩm qui định không có *Clostridia*. Thử nghiệm thứ hai là bán định lượng đối với *Clostridium perfringens* áp dụng với những sản phẩm có tiêu chuẩn về số lượng *Clostridium perfringens.*

Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng thử giới hạn nhiễm khuẩn cho các loại thuốc có quá trình sản xuất không tiệt khuẩn như sau:

Bảng 7. Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Mức	Loại chế phẩm	Yêu cầu
1	Các chế phẩm dùng cho bỏng và các vết loét sâu	Không có các vi khuẩn có thể sống lại trong 1 g (ml) mẫu thử
2	Các chế phẩm dùng tại chỗ như chữa xưng tấy, tổn thương, và các màng nhầy (mũi, họng, tai, âm đạo ...)	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 100 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có *Enterobacteria, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*, nấm và mốc trong 1 g (ml)
3	Các chế phẩm dùng tại chỗ cho da như kem bôi, nước thơm, dầu, dung dịch, bột...	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 500 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có *Enterobacteria, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*, nấm và mốc trong 1 g (ml)
4	Các chế phẩm dùng uống; qua trực tràng; thấm qua da.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 10^4 trong 1 g (ml) Tổng số *Enterobacteria* không quá 500 trong 1 g (ml) Nấm và mốc không quá 100 trong1 g (ml) Không được có Salmonella trong 10 g(ml) Mẫu không có *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*. trong 1g(ml)
5	Các chế phẩm có chứa các nguyên liệu có nguồn gốc thực vật, động vật không thể xử lý theo qui trình làm giảm lượng vi khuẩn.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được 5.10^4 trong 1 g (ml) Nấm và mốc không quá 500 trong 1 g (ml) Tổng số *Enterobacteria* không quá 500 trong1 g (ml) Không được có Salmonella trong 10 g(ml) Mẫu không có *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* trong 1g(ml)

2. THỬ VÔ KHUẨN

2.1.Qui 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 điều kiện vô khuẩn như trong buồng thổi khí vô khuẩn hoặc trong buồng sạch để mẫu thử không bị 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 khuẩn, nhiệt độ cao ...). Các dụng cụ, dung môi, môi trường nuôi cấy phải được diệt khuẩn trước khi dùng.

2.2.Phương pháp thử

2.2.1.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 vi sinh vật 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.

Chọn một trong hai phương pháp thử thường dùng là phương pháp màng lọc hoặc phương pháp cấy trực tiếp. Khi tiến hành thử phải làm sạch bề ngoài của ống (hoặc chai, lọ, bình ...) đựng chế phẩm bằng một chất sát khuẩn thích hợp. Sau đó lấy một lượng chế phẩm đủ dùng theo qui định, cấy trực tiếp vào môi trường **(nếu theo phương pháp cấy trực tiếp) hoặc theo phương pháp màng lọc**: Đem chế phẩm sau khi đã được hoà loãng với dung môi thích hợp lọc qua màng lọc, rồi cắt các màng lọc thành miếng nhỏ đem nhúng vào môi trường, ủ môi trường đã cấy chế phẩm hoặc cấy màng lọc trong thời gian qui định.

2.2.2.Chuẩn bị môi trường và dung môi

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).

Môi trường thioglycolat không có thạch (dùng cho thử nghiệm những chế phẩm đặc hoặc đặc sền sệt dạng cao).

Môi trường Soybean - casein (để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc)

Cả hai loại môi trường trên phải được pha chế và kiểm tra chất lượng theo đúng qui định ở mục "Cách pha chế và kiểm tra chất lượng các môi trường" trước khi dùng.

Dung môi dùng để hoà loãng

Khi những mẫu thử không ở dạng dung dịch lỏng, cần hoà loãng để thử nghiệm. Chỉ được dùng làm dung môi hoà loãng là một chất lỏng bất kỳ không có tính kháng khuẩn và không tác động đến độ xốp của màng lọc. Thường dùng các dung môi sau đây:

Dung môi A: Hoà tan 1 g pepton vào nước cho vừa đủ 1 lít. Lọc (hoặc ly tâm) cho trong. Điều chỉnh pH bằng 7,1 ± 0,2. Đựng vào nhiều bình, mỗi bình khoảng 100 ml. Hấp ở 121^0 C trong 18 - 20 phút.

Dung môi B: Như dung môi A, nhưng thêm 1 ml polysorbat 80 cho 1 lít dung môi, dùng để hoà loãng những chế phẩm thử có lecithin.

Dung môi C: isopropyl myristat

Dùng để pha loãng những chế phẩm dạng dầu hay dung dịch dầu

2.2.3.Cách pha chế và kiểm tra chất lượng các môi trường

- Môi trường để phát hiện các vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí

+ M*ôi trường thioglycolat không có thạch*

Dùng cho thử nghiệm những chế phẩm đục hoặc đặc sền sệt dạng cao.

L. Cystin	0,50 g
Natri clorid	2,50 g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6.H_2O$)	5,50 g
Cao men bia (có khả năng tan trong nước)	5,00 g
	15,0 g
Casein pancreatic	0,50 g
Natri thioglycolat (hoặc acid thioglycolic 0,3 g)	10 ml
Resazurin (dung dịch 1% mới pha)	1000 ml
Nước cất	

pH sau khi tiệt khuẩn: 7,1± 0,2

Cho tất cả các thành phần trên vào một dụng cụ thích hợp, đun cách thuỷ, khuấy đều đến khi thành dung dịch, dùng dung dịch natri hydroxyd 1N điều chỉnh để cho pH sau khi tiệt khuẩn đạt 7,1 ± 0,2. Có thể lọc (nếu cần). Phân chia vào các ống nghiệm (hoặc bình) thích hợp. Hấp tiệt khuẩn 121^{0}C trong khoảng 18 - 20 phút. Sau khi tiệt khuẩn đem làm nguội nhanh tới 25^{0}C, môi trường không được đun nóng trở lại.

- ***Môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm***

+ Môi trường Soybean - casein

Casein pancreatic	17,0 g
Bột papaic soybean	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat (K_2HPO_4)	2,5 g
	2,5 g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6.H_2O$)	1000 ml
Nước cất	

pH sau khi tiệt khuẩn: 7,3 ± 0,2

Hoà 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 (nếu cần) cho pH sau khi tiệt khuẩn khoảng 7,1 đến 7,5. Lọc (nếu cần) để cho môi trường trong. Phân chia vào những dụng cụ thích hợp, hấp tiệt khuẩn ở 121^{0}C trong khoảng 20 phút.

- Kiểm tra chất lượng môi trường

a) Độ vô khuẩn:

Lấy ngẫu nhiên một vài ống (hoặc bình) môi trường mới sản xuất, đem ủ ở nhiệt độ 30 - 35^{0}C trong 4 ngày đối với những loại môi trường dùng nuôi cấy vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí; ủ ở nhiệt độ 20 - 25^{0}C trong ít nhất 7 ngày đối với những loại môi trường dùng nuôi cấy vi khuẩn, nấm mốc. Các loại môi trường phải không được có vi khuẩn, nấm mốc mọc.

b) Khả năng dinh dưỡng:

Cấy vào môi trường dùng để thí nghiệm khoảng 100 tế bào sống của những loại vi khuẩn sau:

Loại hiếu khí dùng *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Loại vi khuẩn hiếu khí có nha bào dùng *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Loại vi khuẩn kỵ khí dùng *Clostridium sporogenes* ATCC 9404.

Loại nấm dùng *Candida albicans* ATCC 10231.

Aspergillus niger ATCC 16404

Mỗi loại chủng chỉ thị được cấy vào loại môi trường tương ứng, rồi mang ủ ở nhiệt độ thích hợp cho từng loại ít nhất *3 ngày đối với vi khuẩn và ít nhất 5 ngày đối với nấm mốc*. Trên mỗi loại môi trường, sau thời gian ủ đều phải thấy vi khuẩn mọc tốt.

c) Kiểm tra tác dụng ức chế ở mẫu mang thử:

Một số chế phẩm do yêu cầu của sản xuất hoặc ở những chế phẩm mới người ta đã cho thêm chất bảo quản. Loại chế phẩm này có ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn, nấm mốc, nên cần phải kiểm tra tác dụng ức chế của chúng đối với vi khuẩn nấm mốc.

Đối với vi khuẩn kỵ khí

Dùng 4 ống môi trường phát hiện vi khuẩn kỵ khí. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chứng này 100 nha bào vi khuẩn kỵ khí *Clostridium sporogenes* ATCC 9404 (khoảng 0,1 ml nhũ dịch nha bào đã pha loãng thích hợp). Hai ống còn lại cấy vào mỗi ống một lượng bằng nhau chế phẩm cần kiểm tra, rồi cũng cấy vào mỗi ống 100 nha bào *Clostridium sporogenes* ATCC 9404. Đem ủ tất cả các ống ở 30 - 35^{0}C ít nhất 7 ngày.

Đối với vi khuẩn hiếu khí

Dùng 4 ống môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chứng này 100 tế bào vi khuẩn hiếu khí *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (khoảng 0,1 ml nhũ dịch tế bào đã pha loãng thích hợp). Hai ống còn lại cấy vào mỗi ống một lượng bằng nhau chế phẩm cần kiểm tra, và cũng cấy vào mỗi ống 100 tế bào *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Đem ủ tất cả các ống ở 30 - 35^{0}C ít nhất 7 ngày.

Đối với nấm mốc

Dùng 4 ống môi trường phát hiện nấm, mốc. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chứng này 100 tế bào nấm *Candida albicans* ATCC 10231. Hai ống dùng kiểm tra, cấy vào mỗi ống 100 tế bào nấm *Candida albicans* ATCC 10231 và một lượng chế phẩm bằng nhau. Đem ủ tất cả các ống ở 20 - 25^{0}C ít nhất 7 ngày.

Đánh giá kết quả:

Nếu trong thời gian ủ, vi khuẩn, nấm mốc mọc tốt, (dễ dàng và phong phú), đối với từng loại, mọc giống nhau giữa ống kiểm tra và ống chứng: Mẫu thử không có tác dụng ức chế.

Nếu trên các ống môi trường có cấy mẫu thử, vi khuẩn, nấm, mốc mọc yếu, chậm phát triển hoặc không phát triển so với ống chứng vẫn mọc tốt: Mẫu thử có tác dụng ức chế. Phải loại bỏ tác dụng ức chế.

Tác dụng ức chế của mẫu thử có thể loại bỏ được một cách có kết quả bằng cách cấy truyền nhắc lại trên một loạt môi trường mới hoặc lọc qua màng lọc vi khuẩn.

3. PHÉP THỬ CHẤT GÂY SỐT

Phép thử được xác định bằng cách đo sự tăng thân nhiệt thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch dung dịch vô khuẩn của chất cần kiểm tra.

3.1.Lựa chọn động vật thí nghiệm

Dùng thỏ trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống, cân nặng không dưới 1,5kg, nuôi dưỡng bằng thức ăn không có chứa kháng sinh và thỏ không có dấu hiệu giảm cân trong quá trình thử nghiệm. Không dùng để thử nghiệm nếu:
(a) Thỏ mới được dùng thử chất gây sốt có kết quả âm tính trong vòng 3 ngày trước đó, hoặc
(b) Thỏ đã được dùng thử chất gây sốt có kết quả dương tính trong vòng 3 tuần.

3.2.Khu vực lưu giữ động vật
Thỏ được nuôi giữ riêng từng con trong khu vực yên tĩnh, có nhiệt độ ổn định. Cho thỏ nhịn ăn từ đêm trước khi thử, không cho uống nước trong quá trình thử. Tiến hành phép thử trong phòng yên tĩnh, không có tiếng ồn, nhiệt độ phòng chênh lệch không quá 3^{o}C so với khu vực nuôi giữ, hoặc thỏ phải được lưu giữ ở điều kiện phòng thí nghiệm trong khoảng ít nhất 18 giờ trước khi thử nghiệm.

3.3.Dụng cụ, bơm và kim tiêm: Tất cả các dụng cụ, bơm và kim tiêm phải được rửa sạch và tráng nước cất, sấy ở nhiệt độ 250^{o}C trong 30 phút hoặc 200^{o}C trong 1 giờ.

3.4.Hộp/ giá giữ thỏ: Các hộp/ giá giữ thỏ cho trường hợp đo nhiệt độ bằng thiết bị điện được thiết kế để giữ ở cổ con vật nhưng không được chật quá, phần cơ thể còn lại được thoải mái để thỏ có thể ngồi ở tư thế bình thường. Không giữ thỏ bằng các loại kẹp hoặc giá có thể gây đau hoặc khó chịu cho con vật. Thỏ phải được cho vào hộp hoặc giá ít nhất 1 giờ trước khi thử và giữ ở đó trong suốt quá trình thử nghiệm.

4.5.Nhiệt kế: Nhiệt kế hoặc thiết bị điện dùng để ghi nhiệt độ có độ chính xác 0,1^{o}C và được đưa vào trực tràng của thỏ với độ sâu 5cm. Độ sâu của nhiệt kế trong trực tràng phải giống nhau giữa các thỏ. Nếu dùng thiết bị điện, đầu đo nhiệt độ phải được đặt trong trực tràng trong suốt quá trình thử.

4.6.Thử nghiệm sơ bộ
Chỉ nên tiến hành thử sơ bộ với những thỏ lần đầu tiên được dùng thử chất gây sốt. Trong vòng một đến 3 ngày trước khi kiểm tra mẫu thử, tiêm tĩnh mạch tai 10ml/ kg thỏ dung dịch natri clorid 0,9% không có chất gây sốt, đã làm ấm đến khoảng 38^{o}5 trước khi tiêm. Ghi nhiệt độ thỏ, bắt đầu ít nhất 90 phút trước khi tiêm và tiếp tục trong 3 giờ sau khi tiêm. Không dùng những thỏ có nhiệt độ thay đổi quá 0,6^{o}C vào thử nghiệm chính thức.

4.7.Thử nghiệm chính thức

Mỗi mẫu được thử trên một nhóm 3 thỏ.

Chuẩn bị và tiêm mẫu thử: Mẫu thử có thể được hòa tan trong một dung môi không có chất gây sốt, dung dịch natri clorid 0,9% hoặc một chất lỏng được qui định trong chuyên luận riêng. Làm ấm dung dịch thử lên khoảng 38^{o}5 trước khi tiêm. Tiêm chậm dung dịch thử vào tĩnh mạch tai thỏ trong khoảng thời gian không quá 4 phút, trừ khi có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng. Lượng mẫu thử được tiêm sẽ thay đổi tùy theo chế phẩm cần kiểm tra và được qui định trong chuyên luận riêng. Thể tích tiêm trong khoảng 0,5 – 10ml/ kg thể trọng thỏ.

Theo dõi nhiệt độ và xác định đáp ứng

Ghi nhiệt độ thỏ 30 phút một lần, ít nhất 90 phút trước khi tiêm và tiếp tục 3 giờ sau khi tiêm. Theo dõi nhiệt độ trước khi tiêm, không dùng vào thử nghiệm nếu:

- Thỏ có chênh lệch nhiệt độ ≥ 0,2^{o}C giữa 2 lần ghi liên tiếp, hoặc

- Thỏ có nhiệt độ ban đầu cao hơn 39º8 hoặc thấp hơn 38ºC, hoặc
- Nhiệt độ của 3 thỏ trong cùng nhóm khác nhau quá 1ºC.

"Nhiệt độ ban đầu" của mỗi thỏ là trung bình của 2 giá trị nhiệt độ ghi được cách nhau 30 phút, xác định trong khoảng 40 phút ngay trước khi tiêm dung dịch thử. "Nhiệt độ tối đa" của mỗi thỏ là nhiệt độ cao nhất ghi được cho thỏ đó trong vòng 3 giờ sau khi tiêm. Chênh lệch giữa "nhiệt độ ban đầu" và "nhiệt độ cao nhất" được gọi là đáp ứng. Khi chênh lệch là âm, kết quả được coi là đáp ứng bằng 0.

Đánh giá kết quả:

Đầu tiên thử trên một nhóm 3 thỏ, tùy thuộc vào kết quả thu được, thử thêm lần lượt từng nhóm 3 thỏ khác cho đến khi tổng cộng 4 nhóm, nếu cần. Nếu tổng đáp ứng của nhóm đầu tiên không vượt quá số ghi trong cột 2 của bảng dưới đây, thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu tổng đáp ứng vượt quá số ghi trong cột 2 nhưng không vượt quá số ghi trong cột 3 thì lặp lại phép thử trên nhóm khác như đã nêu ở trên. Nếu tổng các đáp ứng lớn hơn số ghi trong cột 3 thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Số thỏ	Mẫu thử đạt nếu tổng đáp ứng không vượt quá	Mẫu thử không đạt nếu tổng đáp ứng vượt quá
3	1,15	2,65
6	2,80	4,30
9	4,45	5,95
12	6,60	6,60

Những thỏ có nhiệt độ tăng cao quá 1,2ºC thì loại và không bao giờ dùng lại cho phép thử chất gây sốt.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Câu 1. KIM TIỀN THẢO(chai 30 viên bao đường) kiểm vi sinh ở chỉ tiêu thử giới hạn nhiễm khuẩn, theo quy định của DĐVN IV, KIM TIỀN THẢO phải đạt ở mức 5 ?

a.Đúng b.Sai

Câu 2. Viên nang mềm VINA$_{GẮC}$(chai/100 viên nang) kiểm vi sinh ở chỉ tiêu thử**giới hạn nhiễm khuẩn, theo quy định của DĐVN IV** VINA$_{GẮC}$**phải đạt ở mức 4 ?**

a.Đúng b.Sai

Câu 3. Kem bôi ngoài da MEDEROM,(tuyp/15gam) thử giới hạn nhiễm khuẩn quy định phải đạt chỉ tiêu vi sinh theo DĐVN IV ?

a.Đúng b.Sai

Câu 4. Dầu gió Trường Sơn thử **giới hạn nhiễm khuẩn quy định phải đạt mức 6 theo quy đinh của DĐVN IV ?**

a.Đúng b.Sai

Câu 5. Kem dưỡng da Olay_Matic thử **giới hạn nhiễm khuẩn quy định phải đạt độ vô khuẩn theo quy định DĐVN IV ?**

a.Sai b. Đúng

Câu 6. Dung dịch CỒN BORIC 3%phải đạt độ **nhiễm khuẩn quy định của DĐVN IV ?**

a.Đúng b.Sai

Câu 7. Thuốc HẢI CẨU HOÀN giới hạn vi sinh phải đạt theo tổng số vi khuẩn hiêu khí **mà DĐVN IV quy định phải đạt trước khi xuất xưởng ?**

a.Đúng b.Sai

Câu 8. Thỏ đạt những tiêu chí : khỏe mạnh, trưởng thành, nặng không dưới 1,5 kg, không bị giảm cân, thức ăn không chứa kháng sinh.

a.Đúng b.Sai

Câu 9. Con bạch tuột thường dùng để thử chỉ tiêu " Chất gây sốt'' đối với thuốc tiêm và thuốc tiệm truyền theo DĐVN IV quy định rõ ?

a.Đúng b.Sai

Câu 10. Trước khi thỏ được đưa vào thử nghiệm , thỏ được giữ ở khu vực im lặng, có nhiệt độ 30^0C, không khí trong lành và cho thỏ nghe nhạc cổ điển .

a.Đúng b.Sai

Câu 11. Thử " Chất gây sốt " chính xác thỏ phải nhịn ăn từ đêm trước khi thử, trong suốt quá

a.Đúng b.Sai

Câu 12. Thử " Chất gây sốt " chính xác thỏ phải nhịn ăn từ đêm trước khi thử, trong suốt quá

a.Đúng b.Sai

Câu 13. Thỏ mới được dùng thử chất gây sốt có kết quả.....trong vòng .....trước đó thì không dùng để thử nghiệm.

Câu 14. Thỏ đã được dùng thử chất gây sốt có kết quả ..... trong vòng .....?

Câu 15.Tất cả các dụng cụ, bơm và kim tiêm tham gia trong quá trình thử "Chất gây sốt " phải được rửa sạch và tráng nước cất nhiều lần vàsấy ở nhiệt độ. 250^{o}C.....trước khi sử dung nó.

Câu 16.Các dụng cụ, bơm và kim tiêm phải được rửa sạch và tráng nước cất và sấy nhiệt độ .....trong thời gian 360 giây trước khi sử dụng nó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược Điển Viện Nam IV (DĐVN IV) – năm 2009 - Bộ Y Tế .

2. Giáo Trình Kiểm Nghiệm Thuốc của Trường Đại Học Y Dược TP. Hồ Chí Minh (2008).

3. Giáo Trình Kiểm Nghiệm Thuốc của Nhà Xuất Bản Giáo Dục Việt Nam (CN. Trần Tích - Chủ biên).

4. DƯỢC ĐIỂN ANH (British Pharmacopoeia 2010).

5. DƯỢC ĐIỂN MỸ (USP 32)….

6. Giáo trình kiểm nghiệm thuốc và mỹ phẩm – Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

ĐÁP ÁN CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Bài 1: ĐẠI CƯƠNG VỀ CÔNG TÁC KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC, MỸ PHẨM

Câu 1. c	Câu 2.a	Câu 3. d
Câu 4.a	Câu 5. a	Câu 6. d
Câu 7. b	Câu 8.c	Câu 9. c
Câu 10.a	Câu 11.b	

Bài 2: CÔNG TÁC TIÊU CHUẨN HÓA VÀ KIỂM NGHIỆM THUỐC THEO TIÊU CHUẨN

Câu 1. c	Câu 2.b	Câu 3...
Câu 4.a	Câu 5. c	Câu 6. a
Câu 7...	Câu 8.c	Câu 9. a
Câu 10.a	Câu 11.c	Câu 12.b
Câu 13.a	Câu 14.b	Câu 15.a

Bài 3: PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU, TÍNH TOÁN VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

Câu 1. a	Câu 2.b	Câu 3.a
Câu 4.c	Câu 5.b	Câu 6.d
Câu 7...	Câu 8.a	Câu 9. a
Câu 10.d	Câu 11.a	

Bài 4: DUNG DỊCH CHUẨN, DUNG DỊCH ION MẪU, THUỐCTHỬ, CHỈ THỊ MÀU THƯỜNG DÙNG TRONG KIỂM NGHIỆM

Câu 1.d	Câu 2.d	Câu 3.c
Câu 4.b	Câu 5.a	Câu 6.a
Câu 7.d	Câu 8.a	Câu 9. b
Câu 10.b	Câu 11.b	Câu 12.a
Câu 13.b	Câu 14.a	

Bài 5: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HÓA LÝ TRONG KIỂM NGHIỆM

Câu 1.b	Câu 2.a	Câu 3.d
Câu 4.c	Câu 5.a	Câu 6.d
Câu 7.d	Câu 8.c	Câu 9.d
Câu 10.b	Câu 11.d	Câu 12.b
Câu 13.d	Câu 14.a	Câu 15.a
Câu 16.c	Câu 17.d	Câu 18.a
Câu 19.d	Câu 20.b	

Bài 6: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP ĐO LƯỜNG XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ LÝ HỌC

Câu 1.d	Câu 2.a	Câu 3.a
Câu 4.d	Câu 5.a	Câu 6.b
Câu 7.d	Câu 8.b	Câu 9.b
Câu 10.b		

Bài 7:XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤTTRONG THUỐC VÀ TRONG DƯỢC LIỆU

Câu 1. b	Câu 2.b	Câu 3.a
Câu 4. b	Câu 5. a	Câu 6.c
Câu 7.c	Câu 8.d	Câu 9.d
Câu 10.d		

Bài 8: KIỂM NGHIỆM THUỐC BỘT VÀ THUỐC CỐM

Câu 1. d	Câu 2. a	Câu 3. d
Câu 4. a	Câu 5. a	Câu 6. b
Câu 7. a	Câu 8. c	Câu 9. c
Câu 10. a	Câu 11. b	Câu 12. b
Câu 13. d	Câu 14. a	Câu 15. d
Câu 16. a	Câu 17. d	Câu 18. a
Câu 19. b	Câu 20. b	

Bài 9: KIỂM NGHIỆM THUỐC VIÊN NANG VÀ VIÊN NÉN

Câu 1. d	Câu 2. d	Câu 3. b
Câu 4. c	Câu 5. d	Câu 6. c
Câu 7. d	Câu 8. a	Câu 9. c
Câu 10. a	Câu 11. a	Câu 12. c
Câu 13. b	Câu 14. a	Câu 15. c

Bài 10: KIỂM NGHIỆM CÁC DẠNG THUỐC LỎNG

Câu 1. c	Câu 2. a	Câu 3. d
Câu 4. b	Câu 5. d	Câu 6. c
Câu 7. d	Câu 8. d	Câu 9. d
Câu 10. d	Câu 11. a	Câu 12. d
Câu 13. b	Câu 14. b	Câu 15. A
Câu 16. a	Câu 17. b	Câu 18. a
Câu 19. a	Câu 20.c	

Bài 11: KIỂM NGHIỆM THUỐC MỠ, THUỐC KEM

Câu 1. c	Câu 2. a	Câu 3. a
Câu 4. c	Câu 5. a	Câu 6. d
Câu 7. c	Câu 8. c	Câu 9. a
Câu 10.c	Câu 11. a	Câu 12. a
Câu 13. d	Câu 14. b	Câu 15. d
Câu 16. c	Câu 17. c	Câu 18. b
Câu 19. b	Câu 20.a	

Bài 12: KIỂM NGHIỆM THUỐC ĐÔNG DƯỢC

Câu 1. b	Câu 2. c	Câu 3. b
Câu 4.a	Câu 5. c	Câu 6. b
Câu 7. b	Câu 8.c	Câu 9. b
Câu 10. c	Câu 11. d	Câu 12.a
Câu 13. b	Câu 14. d	Câu 15. c

BÀI 13: MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP SINH HỌCTRONG KIỂM NGHIỆM THUỐC

Câu 1.a	Câu 2. b	Câu 3. b
Câu 4.b	Câu 5.a	Câu 6. a
Câu 7. b	Câu 8.a	Câu 9. b
Câu 10.b	Câu 11. b	Câu 12.b