



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

Έλεγχος Ποιότητας Φαρμάκων

Ενότητα 4: Έλεγχοι καθαρότητας

Κουμπάρης Μιχαήλ

Τμήμα Χημείας

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΕΛΕΓΧΟΙ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ (1)

- Με αυτούς διαπιστώνεται η **καθαρότητα** του φαρμάκου με δοκιμασίες για την ύπαρξη **προσμείξεων**, δηλ. ουσιών που προβλέπεται να συνυπάρχουν στην πρώτη ύλη ως:
 - Υπολείμματα αντιδραστηρίων παρασκευής.
 - Παραπροϊόντων.
- Ιδιαίτερα ελέγχεται η παρουσία προσμείξεων που δύνανται να έχουν επιβλαβή ενέργεια.
- Οι προσμείξεις διακρίνονται σε:
 - Προσμείξεις που επιτρέπονται σε ανεκτά όρια.
 - Προσμείξεις που η παρουσία τους είναι ανεπίτρεπτη.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ (2)

- Ειδικότερα οι Έλεγχοι Καθαρότητας περιλαμβάνουν:
 1. pH
 2. Εμφάνιση διαλύματος
 3. Απορρόφηση
 4. Ειδική στροφή
 5. Οξύτητα
 6. Συγγενείς ουσίες
 7. Αριθμοί
 8. Τέφρα
 9. Απώλεια κατά την ξήρανση
 10. Βαρέα μέταλλα
 11. Έλεγχοι Ορίων ανόργανων ιόντων
 12. Έλεγχος Ορίων υπολειμμάτων διαλυτών



1. Έλεγχος pH (1)

- Καθορισμένη ποσότητα ουσίας (π.χ. 0,1 g) διαλύεται ή αναμειγνύεται με ορισμένο όγκο νερού ελεύθερου διοξειδίου του άνθρακα.
- Μετρείται το pH ποτενσιομετρικά με pHμετρο – ηλεκτρόδιο υάλου.
- Το pH πρέπει να βρίσκεται σε ορισμένα όρια.
- π.χ. η ΕΦ για την οξυτετρακυκλίνη απαιτεί: 0,1 g ουσίας εναιωρείται σε 10 mL νερού και πρέπει να έχει pH 4,5 – 7,5.
- Έτσι ελέγχεται η **ύπαρξη όξινων και αλκαλικών προσμείξεων.**



1. Έλεγχος pH (2)

- Το pHμετρο πρέπει να έχει αναγνωσιμότητα $\pm 0,05$ μονάδες pH ή $\pm 0,003$ V.
- Απαιτείται ρύθμιση του pHμέτρου με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα αναφοράς:
 - pH 1,67 (τετραοξαλικό κάλιο) έως
 - pH 10,12 ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$).
- Η ΕΦ περιγράφει επακριβώς την παρασκευή των ρυθμιστικών διαλυμάτων αναφοράς.



1. Έλεγχος pH (3)

- Η θερμοκρασία βαθμονόμησης πρέπει να είναι 20 - 25 °C.
- Εάν η μέτρηση του pH στο διάλυμα ελέγχου γίνει σε διαφορετική θερμοκρασία απαιτείται διόρθωση θερμοκρασίας με τη χρήση ειδικού τύπου.
- Τα σύγχρονα pHμετρα διαθέτουν αισθητήρα θερμοκρασίας και κάνουν αυτόματα τη διόρθωση της κλίσεως του ηλεκτροδίου.



2. Εμφάνιση διαλύματος(1)

- Ορισμένη ποσότητα διαλύεται σε ορισμένο όγκο διαλύτη και ελέγχεται η **διαύγεια** και ο **βαθμός οπαλισμού**.
- Ένα διάλυμα θεωρείται **ΔΙΑΥΓΕΣ**, αν η διαύγεια του είναι ίδια με αυτή του νερού ή του διαλύτη που χρησιμοποιείται κατά την εξέταση του ή αν δεν παρουσιάζει μεγαλύτερο οπαλισμό από το **εναιώρημα αναφοράς I**.



2. Εμφάνιση διαλύματος(2)

- Τα **εναιωρήματα αναφοράς** παρασκευάζονται από πρότυπο εναιώρημα (**θειικής υδραζίνης – εξαμεθυλενοτετραμίνης**) με αραιώση με νερό.
- Εναιώρημα αναφοράς I 5% (V/V) προτύπου εναιωρήματος
- Εναιώρημα αναφοράς IV 50% “ “ “
- Η εξέταση γίνεται σε παρόμοιους δοκιμαστικούς σωλήνες από άχρωμη διαφανή, ουδέτερη ύαλο με επίπεδη βάση διαμέτρου 15 -25 mm.
- Η εξέταση γίνεται σε διάχυτο φως ημέρας.



2. Εμφάνιση διαλύματος(3)

Παράδειγμα:

- για την καρβιδόπα, 0,25 g διαλύονται σε 25 mL HCl 1 N.
- Το διάλυμα είναι διαυγές.
- Έτσι εξετάζεται η **απουσία προσμείξεων αδιάλυτων στο διαλύτη** του ελέγχου.



2. Εμφάνιση διαλύματος(4)

Βαθμός χρωματισμού υγρών και διαλυμάτων.

- Εξετάζεται το υγρό με σύγκριση με νερό ή διαλύτη ή διάλυμα αναφοράς σε σωλήνες ορισμένης διαμέτρου, σε διάχυτο φως ημέρας έναντι λευκού πεδίου, με οριζόντια (Μέθοδος I) ή κάθετη παρατήρηση (Μέθοδος II).
- Ένα διάλυμα θεωρείται «**άχρωμο**» αν έχει εμφάνιση νερού ή διαλύτη ή δεν είναι εντονότερα χρωματισμένο από το **διάλυμα αναφοράς** B9.



2. Εμφάνιση διαλύματος(5)

- Για τα διαλύματα αναφοράς χρωματισμού χρησιμοποιούνται 3 διαλύματα – αντιδραστήρια:
 - Κίτρινο διάλυμα: FeCl_3 σε HCl
 - Κόκκινο διάλυμα: CoCl_2 σε HCl
 - Κυανό διάλυμα: CuSO_4 σε HCl
- Παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα αναφοράς με ανάμειξη σε ορισμένες αναλογίες:
- Β(καστανό),
- ΒΥ (καστανό-κίτρινο),
- ΓΥ (πράσινο – κίτρινο),
- R (κόκκινο).
- Υπάρχουν 9 πρότυπα Β (καστανό) και από 7 των άλλων αποχρώσεων.



3. Απορρόφηση (1)

- Ορισμένη ποσότητα διαλύεται σε καθορισμένο όγκο διαλύτη.
- Ακολουθεί η αναγκαία αραίωση.
- Υπολογίζεται η **ειδική απορρόφηση** $A_{1cm}^{1\%}$ σε ορισμένο μήκος κύματος και πρέπει να έχει ορισμένη τιμή (εντός ορισμένων ορίων).

$$A_{1cm}^{1\%} = \frac{10 \times \varepsilon}{M_r}$$

(όπου ε η **μοριακή απορροφητικότητα** και M_r η σχετική μοριακή μάζα του φαρμάκου)

$$A = A_{1cm}^{1\%} \times C_g / 100mL$$

$$A_{1cm}^{1\%} = A / (C_g / 100mL)$$



3. Απορρόφηση (2)

Παράδειγμα: για την πρεδνιζόνη 50,0 mg ουσίας διαλύονται σε 100 mL αλκοόλης.

- 1 mL αραιώνεται στα 50ml με αλκοόλη (0,001 g/100mL).
- Η ειδική απορρόφηση στο $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$ 240 nm είναι 405 – 435, υπολογισμένη με αναγωγή στην ξηρανθείσα ουσία.
- Μερικές φορές απαιτείται μέτρηση της $A_{1cm}^{1\%}$ στο $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$ και $\lambda_{\epsilon\lambda\alpha\chi}$.



4. Ειδική στροφή (1)

Παράδειγμα: για τη χυμοθρυψίνη η ειδική απορρόφηση στο $\lambda_{\text{μεγ}}$ στα 281 nm έχει τιμή 18,5-22,5, ενώ στο $\lambda_{\text{ελαχ}}$ στα 250 nm είναι <8.

- Ειδική στροφή $[\alpha]_D^{20}$ μιας ουσίας, που βρίσκεται σε διάλυμα είναι η γωνία, εκφρασμένη σε μοίρες (ο), του επιπέδου του πολωμένου φωτός στο εξεταζόμενο διάλυμα, για το μήκος κύματος της D-γραμμής του νατρίου ($\lambda=589,3$ nm) σε θερμοκρασία 20 °C, υπολογισμένη για στιβάδα 1 δεκατόμετρου διαλύματος με περιεκτικότητα 1 g/mL.
- Έχει μονάδες: $[(^\circ)\cdot\text{mL}\cdot\text{dm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}]$.



4. Ειδική στροφή (2)

Παράδειγμα: για τη δραστική ουσία καρβιδόπα: 0,250 g ουσίας διαλύονται τελείως με βοήθεια λουτρού υπερήχων σε διάλυμα χλωριούχου αργιλίου και το διάλυμα αραιώνεται στα 25,0 mL με ίδιο διάλυμα.

- Η ειδική στροφή είναι $-22,5^{\circ}$ έως $-26,5^{\circ}$ υπολογισμένη με αναφορά στη ξηρανθείσα ουσία.
- Η μέτρηση γίνεται με το πολωσίμετρο, με ακρίβεια αναγνώσεως $0,01^{\circ}$.
- Η κλίμακα ελέγχεται με **πρότυπα πλακίδια χαλαζία**.



4. Ειδική στροφή (3)

- Η γραμμικότητα της κλίμακας μπορεί να ελεγχθεί με χρήση διαλυμάτων **σακχαρόζης**.
- Προσδιορίζεται το μηδέν του πολωσίμετρου (για υγρά φάρμακα με το σωλήνα άδειο, για στερεά γεμάτο διαλύτη).
- Μετρείται η γωνία στροφής του πολωμένου φωτός (α).
- Για υγρά: $[\alpha]_D^{20} = [\alpha / (l \times \rho_{20})]$, όπου
 l = μήκος σωλήνα σε dm και
 ρ_{20} = πυκνότητα
- Για στερεά: $[\alpha]_D^{20} = [100 \alpha / (l \times C)]$, όπου
 C = συγκέντρωση % μ/ο ή μ/μ



Προσδιορισμός Ειδικής Στροφής

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{cl}$$

$[\alpha]$ = observed rotation

t = temperature

λ = wavelength of emitted light

α = observed rotation degrees

c = concentration in g/mL

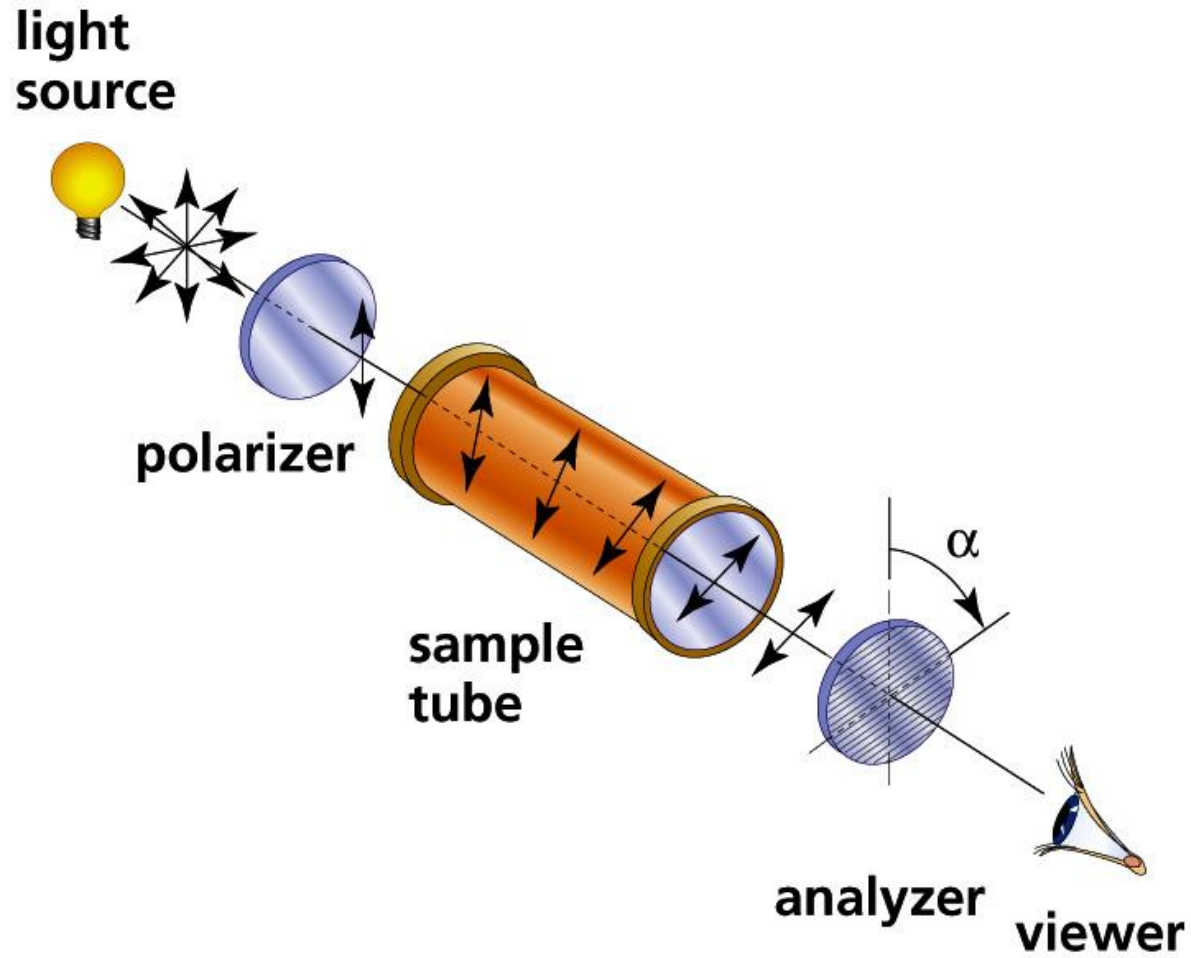
l = pathlength (length of tube in decimeters)



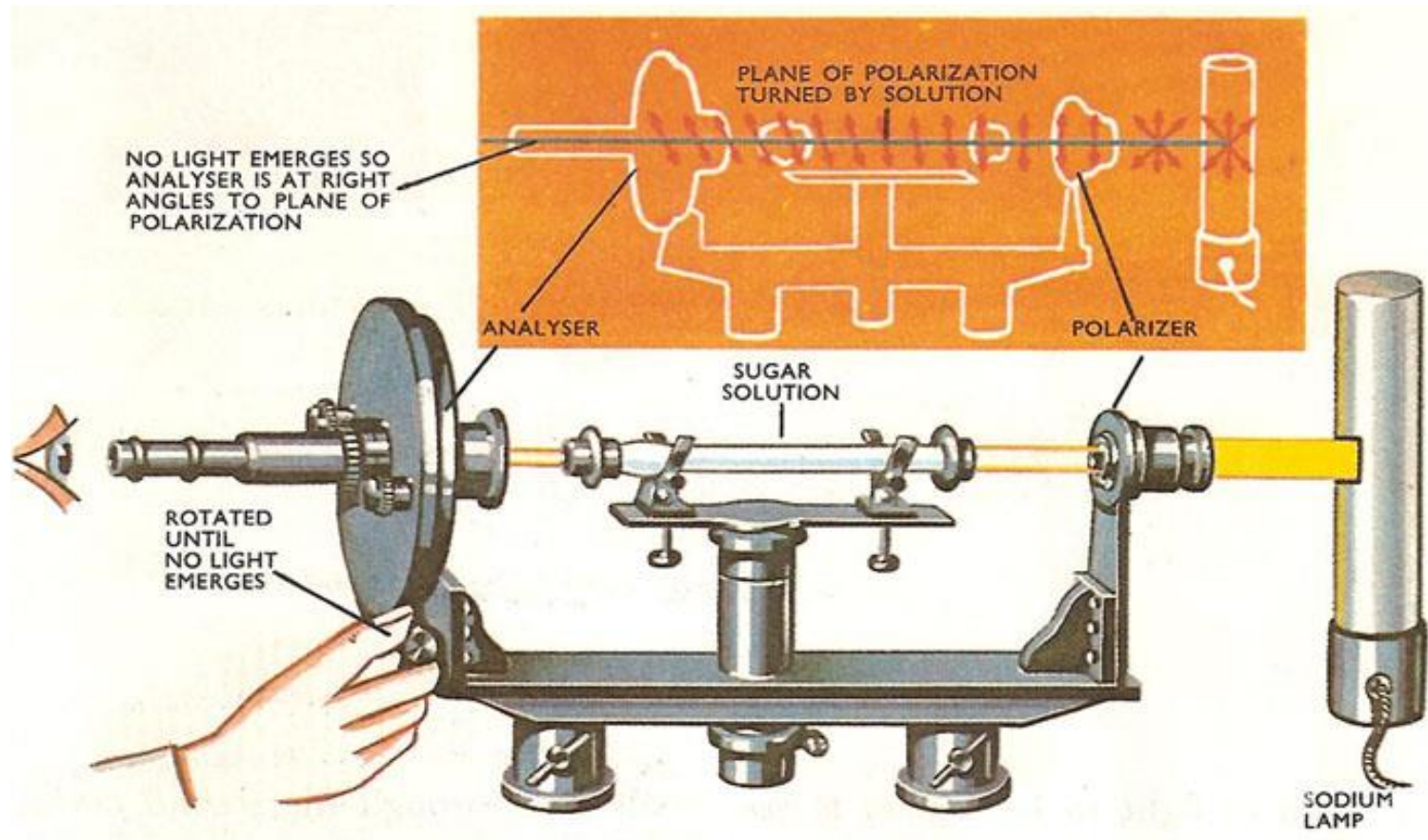
Πολωσίμετρο (Polarimeter)



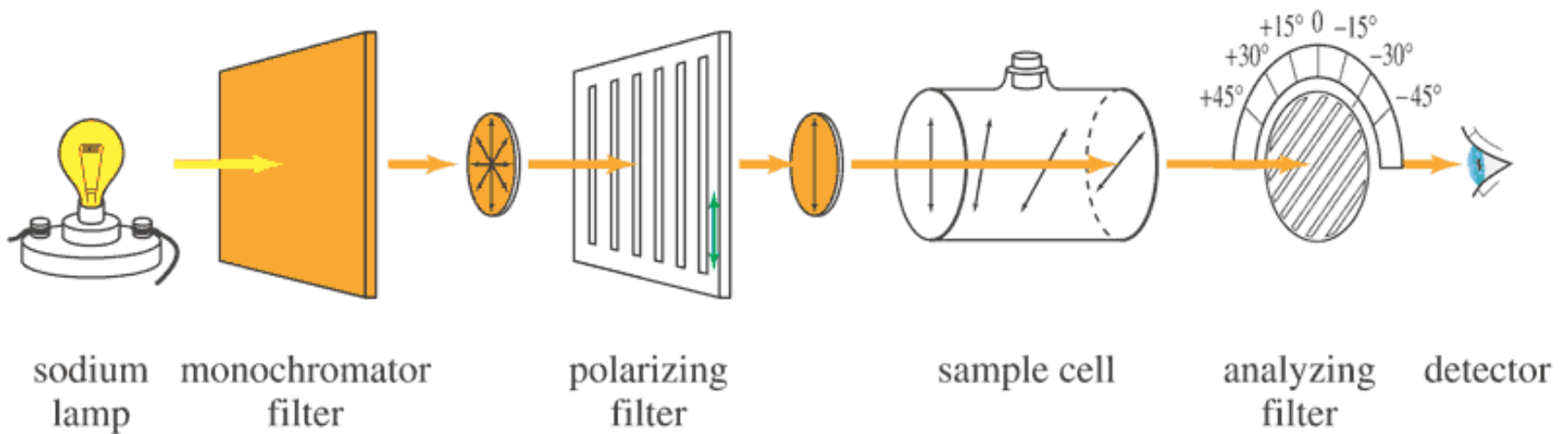
Οπτικά Μέρη Πολωσιμέτρου



Αρχή Λειτουργίας Πολωσιμέτρου



Αρχή πολωσιμέτρου



5. Οξύτητα (1)

Ελέγχεται η ύπαρξη όξινων ευδιάλυτων ουσιών.

Παράδειγμα:

- Για το προβενεσίδιο (R-COOH) αδιάλυτο στο νερό, σε 2,0 g ουσίας προστίθενται 100 mL νερού, το διάλυμα θερμαίνεται 30 min σε υδατόλουτρο.
- Συμπληρώνεται στον αρχικό όγκο, ψύχεται και διηθείται.
- Σε 50 mL από το διήθημα προστίθεται 0,1 mL φαινολοφθαλεΐνης.
- Για την αλλαγή χρώματος του δείκτη δεν απαιτούνται περισσότερα από 0,5 mL NaOH 0,1 N.
- Επομένως ελέγχεται **όριο 0,05 mmol** ισχυρού ευδιάλυτου οξέος σε 2,0 g φαρμάκου.



5. Οξύτητα (2)

- Για την υδροχλωρική προπρανολόλη:
- 0,20 g ουσίας διαλύονται σε νερό κι ο όγκος συμπληρώνεται στα 20 mL.
- Προστίθεται 0,2 mL διαλύματος ερυθρού μεθυλίου και 0,2 mL HCl 0,01 N.
- Το διάλυμα γίνεται ερυθρό (επιτρέπει **αλκαλικές ουσίες 0,002 mmol**).
- Προστίθενται 0,04 mL NaOH 0,01N.
- Το διάλυμα γίνεται κίτρινο.
- Επιτρέπει $0,004 - 0,002 \text{ mmol HCl} = 0,002 \text{ mmol}$ **όξινων προσμείξεων**).



6. Συγγενείς Ουσίες (1)

Ελέγχεται η ύπαρξη συγγενών ουσιών, δηλ. προσμείξεων που είναι παραπροϊόντα της συνθέσεως. Ο έλεγχος γίνεται συνήθως με HPLC.

Παράδειγμα: Στο φάρμακο καρβιδόπα ελέγχεται η ύπαρξη **μεθυλοδόπα** και **μεθυλοκαρβιδόπα** με HPLC.

- Διάλυμα ελέγχου: 0,100 g ουσίας σε 100 mL 0,1 N HCl.
- Διάλυμα αναφοράς (α): 5 mg μεθυλοκαρβιδόπα ΧΟΑ + 5 mg μεθυλοδόπα ΧΟΑ σε 100 mL 0,1 N HCl.
- Διάλυμα αναφοράς (β): 5 mg καρβιδόπα ΧΟΑ + 5 mg μεθυλοδόπα ΧΟΑ σε 100 mL HCl 0,1 N.



6. Συγγενείς Ουσίες (2)

HPLC:

- Στήλη: οκτυλοσιλυλιωμένο πήγμα οξειδίου πυριτίου 5μm.
- Κινητή φάση: CH₃OH (2 όγκοι) = KH₂PO₄ 1,4% (18 όγκοι).
- Εισάγονται 20 μL από κάθε διάλυμα.
- Ο έλεγχος είναι αξιόπιστος εάν ο συντελεστής διαχωρισμού R_s μεταξύ καρβιδόπα και μεθυλοδόπα (διάλυμα αναφοράς β) είναι μεγαλύτερος του 4,0.



6. Συγγενείς Ουσίες (3)

$$R_s = \frac{1,18(t_{Rb} - t_{Ra})}{b_{0,5a} + b_{0,5b}}$$

t_{Rb} και t_{Ra} : χρόνοι ανασχέσεως και $t_{Rb} > t_{Ra}$

$b_{0,5a}$ και $b_{0,5b}$: αντίστοιχα ημιεύρη κορυφών



6. Συγγενείς Ουσίες (4)

- Αν στο χρωματογράφημα του διαλύματος ελέγχου υπάρχουν κορυφές που αντιστοιχούν στο μεθυλοδόπα και το μεθυλοκαρβιδόπα, οι επιφάνειές τους δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερες από τις επιφάνειες των αντιστοίχων κορυφών στο χρωματογράφημα του διαλύματος (α).
- Επομένως τα όρια των δυο προσμείξεων είναι:
$$5 \text{ mg}/100 \text{ mg} = 5\%$$
- Σημειώνεται ότι τα όρια περιεκτικότητας του καρβιδόπα είναι 98,5% - 101%, διότι οι προσμείξεις συμπροσδιορίζονται.



6. Συγγενείς Ουσίες (5)

Έλεγχος συγγενών ουσιών νιτροφουράλης με HPLC για:

A) (5-νιτρο-2-φουρυλ)μεθυλενο-διοξεικό

B) 5 – νιτρο -2 – φουραλδεΐδη – αζίνη

- Διάλυμα ελέγχου: 0,100 g ουσίας σε 100 mL κινητής φάσης (ακετονιτρίλιο 40 – H₂O 60).
- Διάλυμα αναφοράς (α): 10 mg A διαλύονται σε 20 mL κινητής φάσης και 1 mL αραιώνεται στα 100 mL (0,005 mg/mL).
- Διάλυμα αναφοράς (β): 10 mg νιτροφουράλης ΧΟΑ + 10 mg νιτροφουραντοΐνης ΧΟΑ (εσωτερικό πρότυπο) σε 100 ml κινητής φάσης.
5 ml αραιώνονται στα 100 ml (0,005 mg/mL).



6. Συγγενείς Ουσίες (6)

- 20 μL διαλύματος αναφοράς (α) εισάγονται στην HPLC.
- Ρυθμίζεται η ευαισθησία ώστε το ύψος της κύριας κορυφής (πρόσμειξη A) δεν είναι μικρότερο του 50% πλήρους κλίμακας (full scale).
- 20 μL διαλύματος αναφοράς (b) εισάγονται στην HPLC.
- Ο έλεγχος δεν είναι αξιόπιστος εάν $R < 2$.
- Εισάγονται 20 μL διαλύματος ελέγχου (για χρόνο 10 φορές το t_R νιτροφουράλης που είναι 3 min).
- Η επιφάνεια κάθε κορυφής, εκτός της κύριας κορυφής (της νιτροφουράλης) δεν είναι μεγαλύτερη από την επιφάνεια της κύριας κορυφής του χρωματογραφήματος του διαλύματος αναφοράς (α) (δηλ. της πρόσμειξης A).



6. Συγγενείς Ουσίες (6)

- Επομένως ελέγχεται κάθε πρόσμειξη να είναι μικρότερη από:

$$\frac{0,005 \text{ mg/mL}}{1 \text{ mg/mL}} \times 100 = 0,5\%$$

- Οι επιφάνειες όλων των κορυφών πλην της κύριας δεν είναι μεγαλύτερες από το διπλάσιο της κύριας κορυφής του χρωματογραφήματος του διαλύματος αναφοράς (α).
- Επομένως οι ολικές προσμείξεις είναι <1%.
- Απόρριψη κάθε κορυφής με επιφάνεια μικρότερη 0,05 φορές της κύριας κορυφής του διαλύματος αναφοράς (α).



Terbinafine Hydrochloride

The following chromatogram is shown for information and is not published in the European Pharmacopoeia.

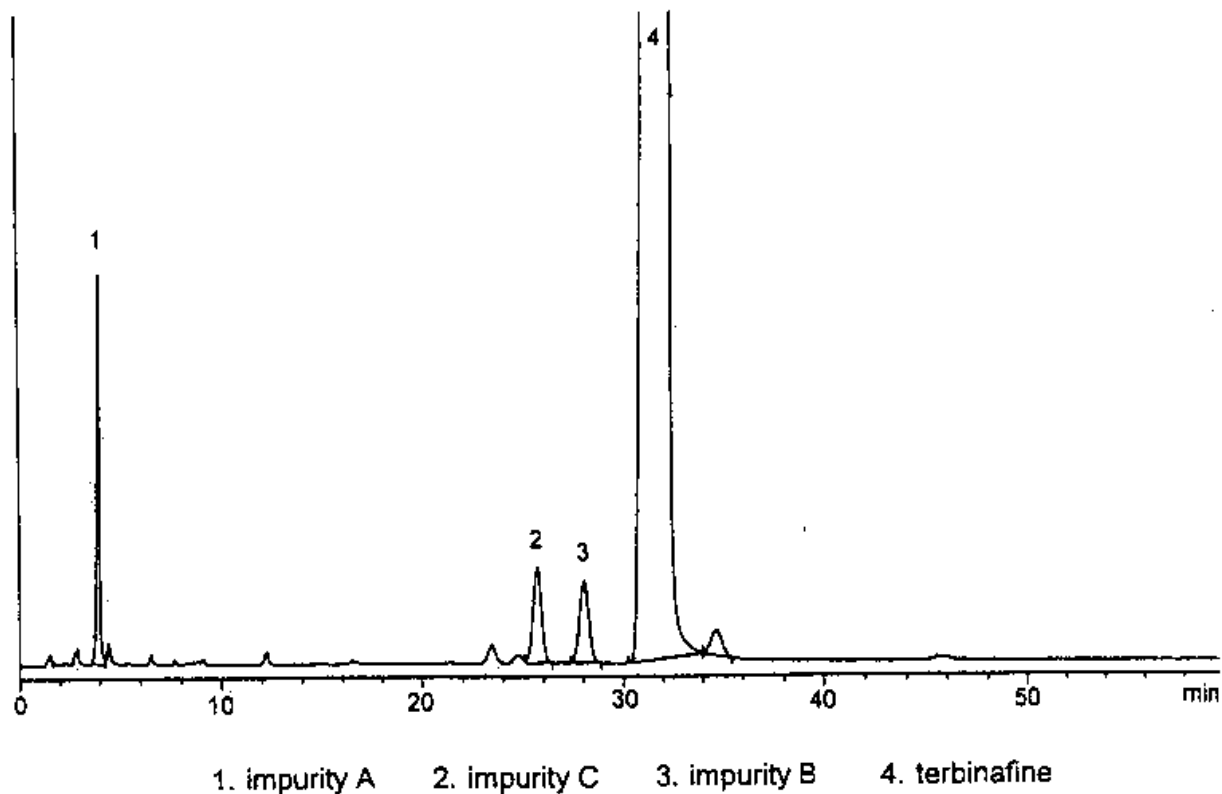


Figure 1734.-1. – *Chromatogram for the test for related substances of terbinafine hydrochloride: test solution spiked with impurities A, B, C (0.1 per cent)*



Terbinafine Hydrochloride

The following chromatogram is shown for information and is not published in the European Pharmacopoeia.

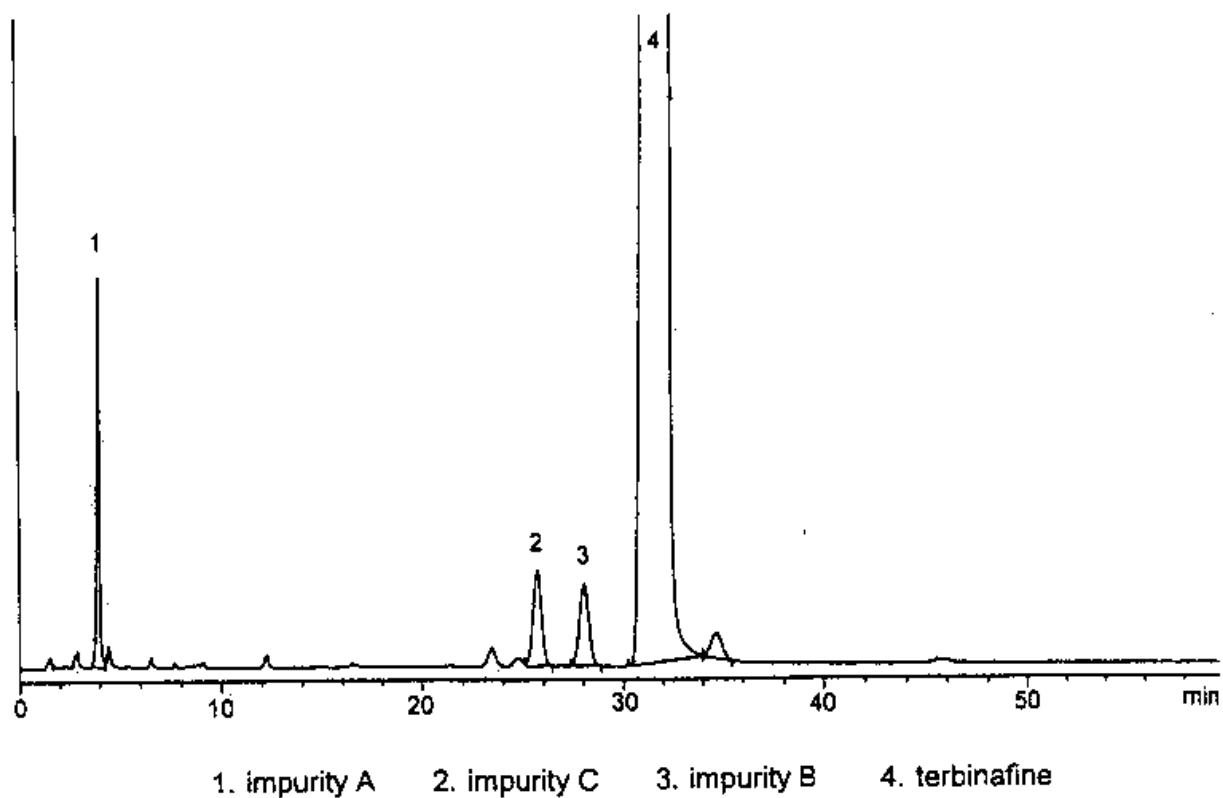


Figure 1734.-1. – *Chromatogram for the test for related substances of terbinafine hydrochloride: test solution spiked with impurities A, B, C (0.1 per cent)*



6. Συγγενείς Ουσίες (7)

Έλεγχος με TLC (1)

Παράδειγμα: για τη μεθανοσουλφονική φαιντολαμίνη (Phentolamine Mesilate) ελέγχεται η παρουσία της πρόσμειξης.

- Διάλυμα ελέγχου: 0,100 g ουσίας σε 5 mL αλκοόλης (20 mg/ml).
- Διάλυμα αναφοράς (α): 0,5 mL διαλύματος ελέγχου αραιώνεται στα 100 ml με αλκοόλη (0,1 mg/ml).
- Διάλυμα αναφοράς (β): 5 ml διαλύματος αναφοράς (α) αραιώνονται στα 10 ml με αλκοόλη (0,05 mg/ml).



6. Συγγενείς Ουσίες (8)

Έλεγχος με TLC (2)

- 10 μl των διαλυμάτων τοποθετούνται σε πλάκα TLC.
- Ανάπτυξη σε 15 cm με διαλύτη αναπτύξεως 5 μέρη π. NH₃ – 15 μέρη ακετόνης – 85 μέρη μεθυλοαιθυλοκετόνης.
- Ξήρανση στον αέρα, ψεκασμός με ιωδοβισμούθικό κάλιο.
- Καμία κηλίδα του χρωματογραφήματος ελέγχου, εκτός από την κύρια κηλίδα, δεν είναι εντονότερη από την κηλίδα στο χρωματογράφημα του διαλύματος (α):
- Όριο

$$\frac{0,1 \text{ mg/mL}}{20 \text{ mg/mL}} \times 100 = 0,5\%$$



6. Συγγενείς Ουσίες (9)

Έλεγχος με TLC (3)

- Η κηλίδα του χρωματογραφήματος του διαλύματος αναφοράς (α) είναι εντονότερη από εκείνη του διαλύματος αναφοράς (β)
- δηλ. η τεχνική μπορεί να ανιχνεύσει πρόσμειξη:

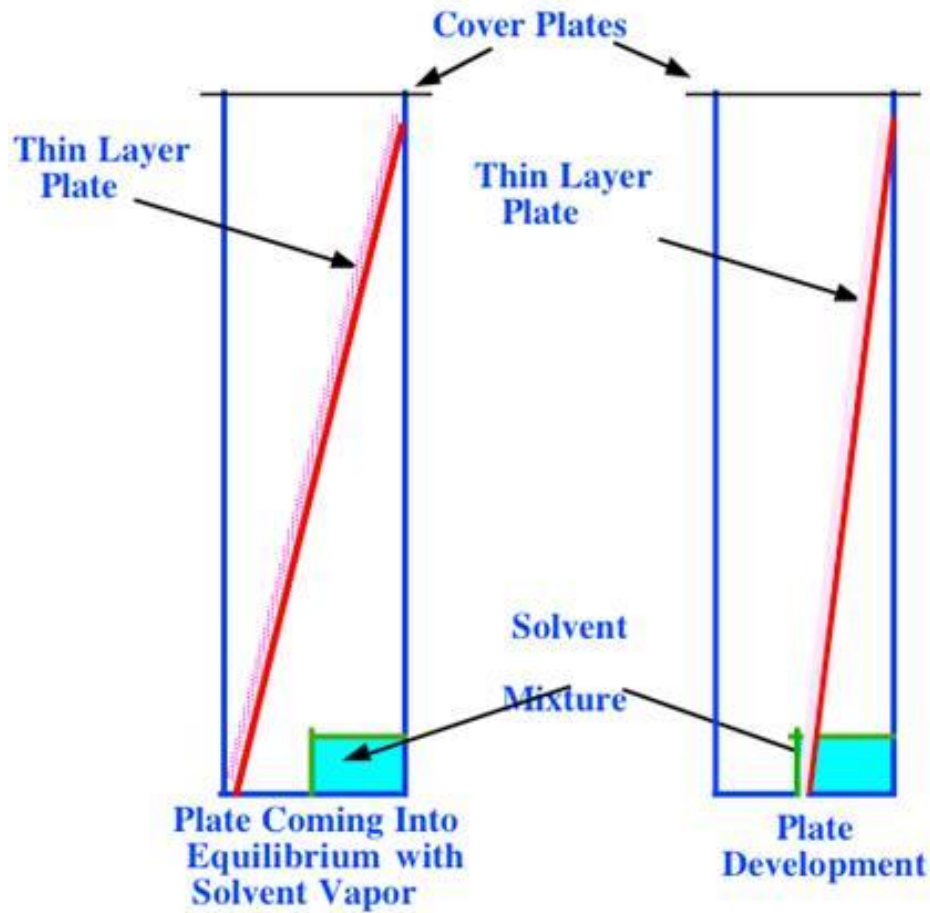
$$\frac{0,05 \text{ mg/mL}}{20 \text{ mg/mL}} \times 100 = 0,15\%$$



Εξοπλισμός για TLC



Εξισορρόπηση και Ανάπτυξη TLC



6. Συγγενείς Ουσίες (10)

Έλεγχος με GLC(1)

- Παρασκευάζονται:
 - Διάλυμα ελέγχου της ουσίας, π.χ. 1,5 g σε 10 mL διαλύτη (150 mg/mL)
 - Διάλυμα αναφοράς: 1 mL του διαλύματος ελέγχου αραιώνεται στα 200 mL (0,75 mg/mL)
- Χρωματογράφιση στη GLC
- Υπολογίζεται το άθροισμα των επιφανειών όλων των κορυφών εκτός του φαρμάκου και του διαλύτη
- Καμμιά κορυφή δεν πρέπει να έχει επιφάνεια μεγαλύτερη της κορυφής του φαρμάκου στο διάλυμα αναφοράς
- δηλ. όριο

$$\frac{0,75\text{mg/mL}}{150\text{mg/mL}} \times 100 = 0,5\%$$



6. Συγγενείς Ουσίες (11) Έλεγχος με GLC (2)

- Το άθροισμα των κορυφών των προσμείξεων να είναι μικρότερο του διπλάσιου της επιφάνειας της κορυφής του φαρμάκου στο διάλυμα αναφοράς,
δηλ. <math><1\%</math>.



6. Συγγενείς Ουσίες (12)

Έλεγχος Ισομερών (1)

- Για παράδειγμα η κιτρική ταμοξυφαίνη είναι το (Z) – ισομερές (ισοδύναμο του cis – σε απλές περιπτώσεις).
- Ελέγχεται η πρόσμειξη σε (E) – ισομερές (ισοδύναμο του trans – σε απλές περιπτώσεις) με HPLC με στατική φάση φαινυλιωμένο οξείδιο πυριτίου.
- Παρασκευάζονται:
 - Διάλυμα ελέγχου: 30,0 mg ουσίας σε 50,0 mL κινητής φάσης.
 - Διάλυμα αναφοράς: 30,0 mg ταμοξυφαίνης κιτρικής ΧΟΑ σε 50,0 mL κινητής φάσης.



6. Συγγενείς Ουσίες (12)

Έλεγχος Ισομερών (2)

- Εκτελούνται 5 χρωματογραφήσεις του διαλύματος αναφοράς.
- Η πρώτη κορυφή ανήκει στο E – ισομερές. Ο λόγος του χρόνου κατακράτησης $t_{R,E} / t_{R,Z} \leq 0,93$. RSD% < 3% για την κύρια κορυφή.
- Στο χρωματογράφημα διαλύματος ελέγχου προσδιορίζονται οι επιφάνειες των κορυφών των E και Z- ισομερών.
- Όριο < 1%

$$\%E = \frac{AreaE}{AreaE + AreaZ} \times 100$$



6. Συγγενείς Ουσίες (13)

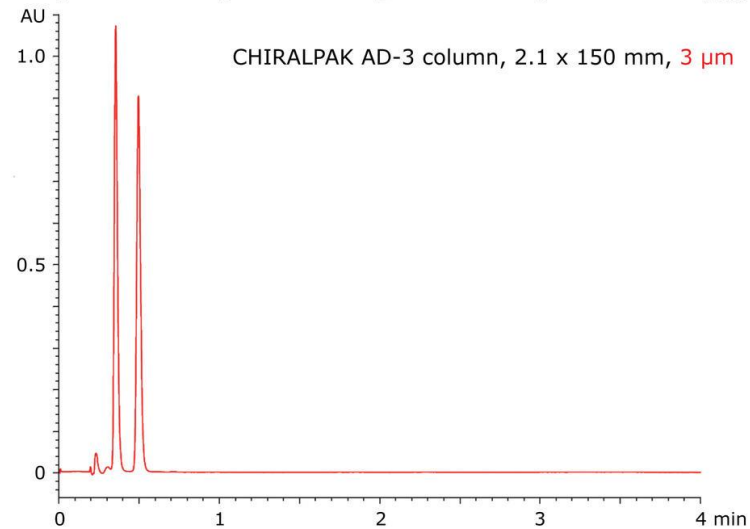
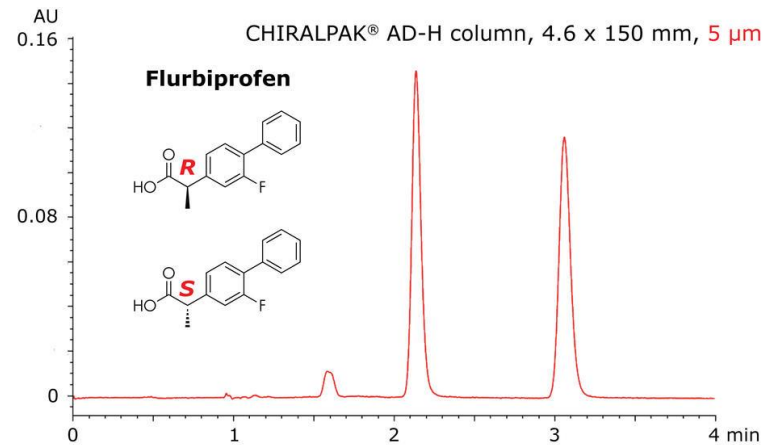
Έλεγχος Ισομερών (3)

Εναντιομερή: έχουν διαφορετική φαρμακολογική δράση και ελέγχονται.

- Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με τη **χειρόμορφη χρωματογραφία** HPLC (Chiral Chromatography).
- Πολλές στήλες HPLC παρουσιάζουν εκλεκτικότητα στις χειρόμορφες ενώσεις.



Διαχωρισμός Εναντιομερών με HPLC



ΑΡΙΘΜΟΙ (1)

Αριθμός Οξέων (1)

Αριθμός οξέων I_A είναι ο αριθμός που εκφράζει σε mg την ποσότητα υδροξειδίου του καλίου που απαιτείται για να εξουδετερώσει τα ελεύθερα οξέα σε 1 g της εξεταζόμενης ουσίας.

- Για τον προσδιορισμό του m γραμμάρια της ουσίας (5-10 g για λίπη, 1-5 g για ρητίνες – αιθέρια έλαια και 1 g για οποιοδήποτε οξύ) διαλύονται σε 50 mL μίγματος ίσων όγκων αλκοόλης και αιθέρα που προηγουμένως έχουν εξουδετερωθεί με KOH 0,1 N με δείκτη φαινολοφθαλεΐνης.
- Το μίγμα ογκομετρείται με KOH 0,1 N μέχρι το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλεΐνης να παραμείνει για 15 s.



ΑΡΙΘΜΟΙ (2)

Αριθμός Οξέων (2)

- 1ml 0,1 N KOH \equiv 0,1 mmol KOH \equiv 5,610 mg
- Ο προσδιορισμός του I_A βοηθά στον έλεγχο ταυτότητας και καθαρότητας κηρών. Η τιμή του I_A στους κηρούς είναι μεγάλη λόγω μεγάλου αριθμού ελευθέρων οξέων. Σε λίπη με μεγάλη τιμή I_A σημαίνει προχωρημένη υδρόλυση των γλυκεριδίων και είναι κριτήριο καθαρότητας.
- Εάν καταναλωθούν n ml προτύπου βάσεως τότε:

$$I_A = \frac{5,610n}{m}$$



ΑΡΙΘΜΟΙ (3)

Αριθμός Σαπωνοποίησης (1)

I_s : είναι ο αριθμός που εκφράζει σε mg την ποσότητα KOH που απαιτείται για να εξουδετερώσει τα ελεύθερα οξέα και να σαπωνοποιήσει τους εστέρες που περιέχονται σε 1 g ουσίας.

- Καθορισμένη ποσότητα ουσίας m γραμμάρια (συνήθως 2,0 g) φέρεται σε φιάλη 250 ml προστίθενται 25,0 ml αλκοολικού διαλύματος KOH 0,5 N και λίγα υάλινα σφαιρίδια και το μίγμα θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα για 30 min.
- Προστίθεται 1 ml φαινολοφθαλεΐνης και η περίσσεια του KOH ογκομετρείται με HCl 0,5 N (έστω n_1 ml).
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός με ίδιες συνθήκες οπότε καταναλώνονται n_2 ml οξέος.



ΑΡΙΘΜΟΙ (4)

Αριθμός Σαπωνοποίησης (2)

- Ο αριθμός σαπωνοποίησης υπολογίζεται από τον τύπο:

$$I_S = \frac{28,05(n_2 - n_1)}{m}$$

- 1ml 0,5 N KOH \equiv 0,5 mmol \equiv 28,05 mg KOH
- Ο αριθμός σαπωνοποίησης είναι **μέτρο των τριγλυκεριδίων** με μέσο μοριακό βάρος.
- Μεγάλο I_S σημαίνει περιεκτικότητα σε χαμηλά λιπαρά οξέα και αντίστροφα.
- Ο προσδιορισμός του I_S χρησιμεύει στον **έλεγχο ταυτότητας** και **καθαρότητας των λιπών και κηρών**.



ΑΡΙΘΜΟΙ (5)

Αριθμός Εστέρων (1)

I_E : εκφράζει σε mg την ποσότητα ΚΟΗ που απαιτείται για τη σαπωνοποίηση των εστέρων που περιέχονται σε 1 g ουσίας.

- Υπολογίζεται από τον αριθμό σαπωνοποίησης I_S και αριθμό οξέων I_A .

$$I_E = I_S - I_A$$



ΑΡΙΘΜΟΙ (6)

Αριθμός Υδροξυλίων (1)

I_{OH} : εκφράζει σε mg την ποσότητα KOH που απαιτείται για την εξουδετέρωση του οξέος που δεσμεύεται κατά την ακυλίωση με 1 g ουσίας.

- **Μέθοδος A:** Σε φιάλη ακετυλίωσης 150 ml με ψυκτήρα αέρα φέρεται ποσότητα m γραμμαρίων (0,5 – 2,0 g ανάλογα με αναμενόμενο I_{OH} 950 - 10, αντίστοιχα).
- Προστίθεται ποσότητα οξικού ανυδρίτη (15 – 5 ml) και η φιάλη θερμαίνεται σε υδρόλουτρο για 1h.
- Μετά από ψύξη το περιεχόμενο ογκομετρείται με αλκοολικό διάλυμα KOH 0,5 N με δείκτη φαινολοφθαλεΐνης.
- Καταναλώνονται n_1 ml.
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός με ίδιες συνθήκες (κατανάλωση n_2 ml).

$$I_{OH} = \frac{28,05(n_2 - n_1)}{m} + I_A$$



ΑΡΙΘΜΟΙ (7)

Αριθμός Υδροξυλίων (2)

- **Μέθοδος Β:** Ποσότητα m γραμμαρίων φέρονται σε κωνική φιάλη και προστίθεται προπιονικός ανυδρίτης.
- Αφήνεται σε ηρεμία 2 h.
- Το περιεχόμενο μεταφέρεται σε κωνική φιάλη που περιέχει 25 ml διαλύματος ανιλίνης που περιέχει 0,9% μ/ο κυκλοεξάνιο και 30 ml παγόμορφο οξικό οξύ.
- Προστίθεται δείκτης κρυσταλλικό ιώδες και ογκομετρείται με 0,1 N HClO_4 μέχρι σμαραγδοπράσινο χρώμα (n_1 ml).
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός με ίδιες συνθήκες (n_2 ml).
- Προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε νερό (Υ%).
- I_{OH} (διορθωμένη) = $I_{\text{OH}} - 31,1 \text{ Υ}$.

$$I_{\text{OH}} = \frac{6,610(n_1 - n_2)}{m}$$



ΑΡΙΘΜΟΙ (8)

Αριθμός Ιωδίου (1)

I_1 , είναι ο αριθμός που εκφράζει σε g την ποσότητα του αλογόνου, υπολογισμένου σε ιώδιο, που μπορεί να δεσμευθεί από 100 g ουσίας στις καθορισμένες συνθήκες.

- Ποσότητα m γραμμαρίων της ουσίας (0,10 – 1,0 g) ανάλογα με την αναμενόμενη τιμή I_1 (>100 - <20, αντίστοιχα) φέρεται σε στεγνή φιάλη 250 ml με εσφυρισμένο πώμα, και διαλύεται σε 15 ml χλωροφορμίου.
- Προστίθενται αργά 25,0 ml διαλύματος βρωμιούχου ιωδίου.
- Πωματίζεται η φιάλη και παραμένει στο σκοτάδι 30 min.



ΑΡΙΘΜΟΙ (9)

Αριθμός Ιωδίου (2)

- Προστίθενται 10 ml KI 10% μ/ο και 100 ml H₂O. Ακολουθεί ογκομέτρηση με θειοθειϊκό νάτριο 0,1 N μέχρι να εξαφανισθεί σχεδόν το κίτρινο χρώμα.
- Προστίθεται άμυλο και συνεχίζεται η ογκομέτρηση μέχρι εξαφανίσεως του χρώματος (n_1 ml).
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός με ίδιες συνθήκες (n_2 ml).

$$I_I = \frac{1,269(n_2 - n_1)}{m}$$



ΑΡΙΘΜΟΙ (10)

Αριθμός Υπεροξειδίων (1)

Ip, εκφράζει σε **meq ενεργού οξυγόνου** την ποσότητα υπεροξειδίων που περιέχονται σε 1000 g ουσίας (λίπους ελαίου ή άλλης ουσίας).

- Ισοούνται με τα ml θειοθειικού νατρίου 0,01 N που απαιτούνται για την αναγωγή του ιωδίου που απελευθερώνεται από το ιωδιούχο κάλιο κατά την προσθήκη 1 g της ουσίας.



ΑΡΙΘΜΟΙ (11)

Αριθμός Υπεροξειδίων (2)

- m γραμμάρια της ουσίας (συνήθως 5,00 g) τοποθετούνται σε κωνική φιάλη 250 ml με εσφυρισμένο πώμα.
- Προστίθενται 30 ml μίγματος παγόμορφου οξικού οξέος (3): Χλωροφορμίου (2), αναδεύεται προς διάλυση, προστίθεται 0,5 ml κορεσμένο KI.
- Προστίθενται 30 ml H₂O.
- Ογκομέτρηση με Na₂S₂O₃ 0,01 N μέχρι σχεδόν να εξαφανισθεί το κίτρινο χρώμα.
- Προστίθεται άμυλο και ογκομέτρηση μέχρι εξαφανίσεως του χρώματος (n₁ ml).



ΑΡΙΘΜΟΙ (12)

Αριθμός Υπεροξειδίων (3)

- Τυφλός προσδιορισμός (n_2 ml) όχι μεγαλύτερος από 0,1 ml.

$$I_p = \frac{10(n_1 - n_2)}{m}$$

- Ο I_p δίνει πληροφορίες για τη **νωπότητα** ενός λίπους ή ελαίου.
- Κατά το τάγγισμα λίπους δημιουργούνται μετά από αυτοξείδωση υπεροξειδικές ενώσεις.
- Αυτές διασπώνται περαιτέρω σε αλδεΐδες και οξέα που δίνουν την τυπική οσμή του ταγγίσματος ενός χαλασμένου λίπους.



ΑΡΙΘΜΟΙ (13)

Ασαπωνοποίηση (1)

- Εφαρμόζεται στις μη πτητικές στους 100 – 105 °C ουσίες, που λαμβάνονται εκχυλίζοντας με οργανικό διαλύτη την εξεταζόμενη ουσία μετά τη σαπωνοποίηση της.
- Το αποτέλεσμα υπολογίζεται ως επί % μ/μ.
- Καθορισμένη ποσότητα ουσίας m γραμμαρίων θερμαίνεται με 50 ml αλκοολικού ΚΟΗ 2 Μ σε φιάλη με ψυκτήρα για 1 h.
- Το μίγμα ψύχεται, μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη με 100 ml H₂O.



ΑΡΙΘΜΟΙ (14)

Ασαπωνοποίηση (2)

- Εκχυλίζεται με αιθέρα, ο οποίος στη συνέχεια αποστάζεται και το υπόλειμμα ζυγίζεται (α γραμμάρια).

$$\% \text{ Ασαπωνοποίηση} = \frac{\alpha \times 100}{m}$$

- Το υπόλειμμα διαλύεται σε αλκοόλη και ογκομετρείται με 0,1 N αιθανολικό NaOH.
- Εάν ο όγκος είναι μεγαλύτερος των 2 ml ο διαχωρισμός των στοιβάδων κατά την εκχύλιση ήταν ατελής και τα ασαπωνοποίηση λανθασμένα.
- Επανάληψη δοκιμασίας.



ΤΕΦΡΑ (1)

Είναι τα μη πτητικά συστατικά που παραμένουν μετά την πλήρη καύση μιας οργανικής ουσίας ή μιας δρόγης.

- Η τέφρα αποτελεί **κριτήριο καθαρότητας** πρώτων υλών οργανικών φαρμάκων και κονιοποιημένων δρογών.
- Ο προσδιορισμός της τέφρας αποσκοπεί στον έλεγχο:
 - Απουσίας (μέχρι ορισμένου ορίου) κάθε ανόργανης ύλης σε ένα οργανικό φάρμακο.
 - Απουσίας (μέχρι ορισμένου ορίου) κάθε ανόργανης ύλης σε δρόγη λόγω ειδικής κατεργασίας, τρόπου συλλογής (άμμος, χώματα), ή νοθείας με υλικά πυριτικής προέλευσης.



ΤΕΦΡΑ (2)

- Υπάρχουν 4 τιμές τέφρας για την κάλυψη όλων των περιπτώσεων ελέγχου καθαρότητας:
 1. Ολική Τέφρα
 2. Θεϊκή Τέφρα
 3. Τέφρα Αδιάλυτη στο HCl οξύ
 4. Τέφρα υδατοδιαλυτή



ΤΕΦΡΑ (3)

Ολική Τέφρα (1)

Προσδιορισμός:

- 1,00 g (εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά) ουσίας ή κονιοποιημένης φυτικής δρόγης, απλώνεται ομοιόμορφα σε χωνευτήριο οξειδίου του πυριτίου ή λευκοχρύσου γνωστού βάρους.
- Ακολουθεί ξήρανση στους 100 °C – 105 °C επί 1 h και πύρωση μέχρι σταθεράς μάζας σε ηλεκτρικό κλίβανο σε θερμοκρασία 600 ± 25 °C.
- Ψύξη σε ξηραντήρα.
- Όχι ανάφλεξη κατά την πύρωση.



ΤΕΦΡΑ (4)

Ολική Τέφρα (2)

- Εάν παραμείνουν μαύρα υπολείμματα, παραλαβή με θερμό ύδωρ, διήθηση με διηθητικό χάρτη, πύρωση υπολείμματος.
- Συνένωση τέφρας με διήθημα, εξατμηση μέχρι ξηρού, πύρωση μέχρι σταθερού βάρους, ζύγιση.
- Υπολογισμός %.
- Δεν πρέπει να υπερβαίνει ορισμένα όριο.
- π.χ. Καρυόφυλλου άνθος: < 7,0 %



ΤΕΦΡΑ (5)

Θειική Τέφρα (1)

Είναι το ποσοστό των μη πτητικών ουσιών που παραμένουν μετά την πύρωση της εξεταζόμενης ουσίας, αφού πρώτα υγρανθεί με H_2SO_4 (9,8 % m/v).

Προσδιορισμός:

- Η ουσία φέρεται σε χωνευτήριο οξειδίου του πυριτίου ή λευκοχρύσου, γνωστού βάρους.
- Προστίθενται 2,0 ml αραιού H_2SO_4 (9,8 % m/v).
- Θερμαίνεται κατ' αρχάς ήπια σε υδατόλουτρο, μετά σε γυμνή φλόγα και τέλος στους 600 °C.
- Αποτέφρωση όλων των μαύρων σωματιδίων και ψύξη.



ΤΕΦΡΑ (6)

Θειική Τέφρα (2)

- Προσθήκη σταγόνων αρ. H_2SO_4 , πύρωση, ψύξη.
- Προσθήκη σταγόνων διαλύματος $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, εξάτμιση – αποτέφρωση – πύρωση μέχρι σταθερού βάρους.
- Ζύγιση και % υπολογισμός.
- Δεν πρέπει να υπερβαίνει ορισμένο όριο.
- Πλεονεκτεί έναντι της ολικής τέφρας διότι προσδιορίζονται και τα πτητικά άλατα (K_2CO_3 , NaCl , KCl) τα οποία κατά την προσθήκη H_2SO_4 μετατρέπονται σε θειικά άλατα μη πτητικά.
- Τα αποτελέσματα είναι πλέον επαναλήψιμα διότι τα θειικά άλατα είναι σταθερά σε υψηλή θερμοκρασία.
- Αποτελεί τον κυριότερο έλεγχο τέφρας της ΕΦ .



ΤΕΦΡΑ (7)

Θειική Τέφρα (3)

Παραδείγματα:

- Παρακεταμόλη: όχι περισσότερη από 0,1 %. Προσδ. σε 1,0 g ουσίας
- Σαλικυλικό οξύ: όχι περισσότερο από 0,1%. Προσδ. σε 2,0 g ουσίας
- Τετρακυκλίνη HCl: όχι περισσότερη από 0,5 %. Προσδ. σε 1,0 g ουσίας
- Τριαμκινολόνη: όχι περισσότερο από 0,2 % Προσδ. σε 1,0 g ουσίας
- Υδροξυπροπυλοκυτταρίνη: < 0,5 %, m= 1,0 g ουσίας
- Γλυκόρριζα: < 10,0 %, m = 1,0 g κόνεως
- Φραγκούλης φλοιός: < 8,0 %, m = 1,0 g δρόγης



ΤΕΦΡΑ (8)

Τέφρα Αδιάλυτη στο HCl (1)

- Είναι το υπόλειμμα που λαμβάνεται μετά από εκχύλιση της θεικής ή ολικής τέφρας με HCl πυκνό, υπολογισμένο με αναφορά σε 100 g δρόγης.
- Μας δίνει πληροφορίες για το ποσοστό σκόνης και άμμου που περιέχεται στη δρόγη, αφού τα άλλα υπολείμματα της δρόγης είναι συνήθως διαλυτά στο HCl.



ΤΕΦΡΑ (9)

Τέφρα Αδιάλυτη στο HCl (2)

Προσδιορισμός:

- Στο χωνευτήριο που περιέχει το υπόλειμμα της θεικής ή ολικής τέφρας, προστίθενται 15 ml νερού και 10 ml π. HCl.
- Το μείγμα βράζεται ήπια και διηθείται μετά ψύξη.
- Το υπόλειμμα εκπλένεται με θερμό νερό μέχρι ουδέτερης αντίδρασης διηθήματος.
- Ξήρανση, πύρωση μέχρι σκοτεινής ερυθροπύρωσης, ψύξη σε ξηραντήρα, ζύγιση, μέχρι σταθερού βάρους ± 1 mg.
- Υπολογισμός %.



ΤΕΦΡΑ (10)

Τέφρα Αδιάλυτη στο ΗCl (3)

Παραδείγματα:

- Ευθαλείας φύλλα: < 4 %
- Βαλεριανής ρίζα: $\leq 7\%$
- Δακτυλίτιδας πορφύρας: <5%
- Μίνθης πιπερώδους φύλλο: $\leq 1,5 \%$



ΤΕΦΡΑ (11)

Τέφρα Υδατοδιαλυτή

- Η ολική τέφρα βράζεται με νερό, διηθείται, το υπόλειμμα πλένεται, ξηραίνεται και πυρώνεται σε 450 °C.
- Η διαφορά βάρους υπολείμματος από αρχική τέφρα αντιστοιχεί στην **υδατοδιαλυτή τέφρα**.



ΑΠΩΛΕΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΞΗΡΑΝΣΗ (1)

- Ορίζεται ως η % μ/μ ελάττωση της μάζας όταν η ουσία ξηρανθεί (απαλλαγεί από ύδωρ και άλλες πτητικές ουσίες.)

Μέθοδος:

- Προκαθορισμένη ποσότητα ουσίας τοποθετείται σε φιαλίδιο ζύγισης προζυγισμένο.
- Η ουσία ξηραίνεται μέχρι σταθερής μάζας ή για καθορισμένο χρόνο, ακολουθώντας μια από τις παρακάτω πορείες:



ΑΠΩΛΕΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΞΗΡΑΝΣΗ (2)

- α) «**σε ξηραντήρα**»: υπεράνω P_2O_5 , ατμοσφαιρική πίεση θερμοκρασία δωματίου.
- β) «**υπό κενό**»: υπεράνω P_2O_5 , πίεση 1,5 – 2,5 KPa, θερμοκρασία δωματίου.
- γ) «**υπό κενό σε καθορισμένα όρια θερμοκρασίας**»: υπεράνω P_2O_5 , πίεση 1,5 – 2,5 KPa, σε όρια θερμοκρασίας που καθορίζονται από τη μονογραφία.
- δ) «**σε κλίβανο**» σε καθορισμένα όρια θερμοκρασίας.
- ε) «**υπό υψηλό κενό**» υπεράνω P_2O_5 , υπό πίεση $< 0,1$ KPa, σε θερμοκρασία καθοριζόμενη από τη μονογραφία.

$$1 \text{ atm} = 101325 \text{ (N/m}^2\text{)} \text{ ή Pa}$$

$$1 \text{ atm} = 101 \text{ KPa}$$



ΑΠΩΛΕΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΞΗΡΑΝΣΗ (3)

Παραδείγματα:

- Βεκλομεθαζόνη διπροπιονική: Όχι μεγαλύτερη από 0,5%. Ο προσδιορισμός γίνεται σε 1,000 g ουσίας με ξήρανση στους 100 °C – 105 °C για 3h.
- Ιοσκυαμίνη θειική: Από 2,0 – 5,5 %. Ο προσδιορισμός γίνεται σε 0,500 g ουσίας με ξήρανση στους 100 – 105 °C επί 20 h.
- Στρεπτοκινάση: Όχι μεγαλύτερη από 4,0%. Προσδιορισμός με ξήρανση για 24 h υπεράνω P₂O₅ υπό πίεση < 2,7 Pa (0,02 Torr).



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (1)

- Στις περιπτώσεις που το μόνο πτητικό συστατικό είναι το νερό, ο προσδιορισμός γίνεται με την ημιμίκρο-ποσοτική μέθοδο Karl – Fischer.
- Είναι ταχεία και απαιτεί μικρή ποσότητα δείγματος.
- Θεωρείται ειδική μέθοδος προσδιορισμού ύδατος στις φαρμακευτικές ουσίες.

Αρχή μεθόδου: το δείγμα διαλύεται σε μεθανόλη άνυδρη (ή άλλο διαλύτη που καθορίζεται στη μονογραφία) και γίνεται ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα Karl – Fischer (ιωδοθειώδες) μέχρι το αμπερομετρικό τελικό σημείο.



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (2)

Παρασκευή Ιωδοθειώδους αντιδραστηρίου

- Σε ειδική συσκευή (παραμένει κλειστή και ξηρή): 700 ml άνυδρης πυριδίνης + 700 ml μονομεθυλαιθέρα αιθυλενογλυκόλης, προστίθενται με συνεχή ανάδευση 220 g λεπτοκονιοποιημένου ιωδίου ξηραμένου.
- Το ιώδιο διαλύεται με ανάδευση και το διάλυμα ψύχεται στους $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Προστίθεται γρήγορα με ανάδευση 190 g υγρού SO_2 .
- Η θερμοκρασία δεν πρέπει να ξεπεράσει τους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Το μίγμα ψύχεται.
- I_2 : πυριδίνη: SO_2
1 : 10 : 3 (mole/ratio).



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (3)

Τιτλοδότηση: ποσότητα ύδατος φέρεται σε 20 ml άνυδρης μεθανόλης και ογκομετρείται με το αντιδραστήριο Karl – Fischer με αμπερομετρικό τελικό σημείο.

- Υπολογίζεται το ισοδύναμο σε νερό ($\text{mg H}_2\text{O/mL}$ αντιδραστηρίου).
- Ελάχιστο ισοδύναμο 3,5 mg/mL .
- Η μεθανόλη είναι απαραίτητη για τη δέσμευση του προϊόντος και την ποσοτική αντίδραση.



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (4)

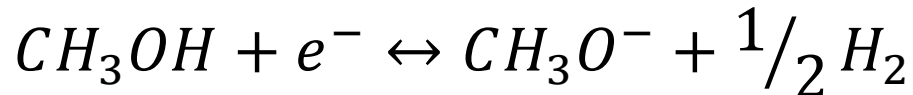
- Τελικό σημείο: Αμπερομετρικά ή διποτενσιομετρικά
Αμπερομετρικά: Κατάλληλο κύκλωμα παρέχει μεταβλητό δυναμικό και αποτελείται από ποτενσιόμετρο 2000 Ω συνδεδεμένο με ηλεκτρικό στοιχείο 1,5 V.
- Το δυναμικό ρυθμίζεται ώστε το αρχικό ρεύμα που διέρχεται από τα ηλεκτρόδια λευκοχρύσου να είναι χαμηλό (μέτρηση σε μικροαμπερόμετρο σε σειρά).
- Όταν προστίθεται αντιδραστήριο η βελόνα του μικροαμπερομέτρου αποκλίνει, αλλά επιστρέφει αμέσως στην αρχική της θέση.
- Στο τελικό σημείο παρατηρείται απόκλιση που παραμένει για 30 s τουλάχιστον.



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (5)

Διποτενσιομετρικά (bipotentiometric): πολλά pH – μετρα έχουν διποτενσιομετρική έξοδο για 2 ηλεκτρόδια Pt.

- Το όργανο διατηρεί σταθερό ρεύμα (5 ή 10 μA) μεταξύ των ηλεκτροδίων.
- Όταν τα ηλεκτρόδια βρίσκονται σε διάλυμα που περιέχει I_2 και I^- (πριν από Τ.Σ.), το ρεύμα των 5 ή 10 μA επιτυγχάνεται με μικρό V που δείχνει το pHμετρο.
- Στο Τ.Σ. το I_2 καταστρέφεται και για να διατηρηθεί το ρεύμα των μA αυξάνει το δυναμικό της καθόδου.



- Η απότομη μεταβολή του δυναμικού που φαίνεται στο pHμετρο δείχνει το Τ.Σ.



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (6)

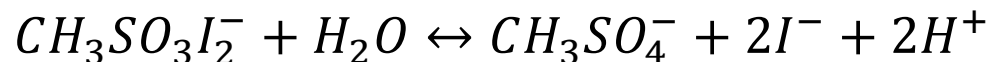
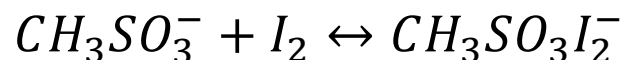
Διποτενσιομετρική ογκομέτρηση: η μέτρηση του δυναμικού μεταξύ των δυο ηλεκτροδίων μεταξύ των οποίων ρέει σταθερό ρεύμα.

- Συσκευή ογκομετρήσεως: Δοχείο ογκομέτρησης 60 ml, συνδεδεμένο με 2 ηλεκτρόδια λευκοχρύσου, σωλήνα εισόδου N_2 , πώμα προσαρμογής άκρου προχοΐδας, σωλήνα αερισμού προστατευμένο με ξηραντική ουσία.
- Η εξεταζόμενη ουσία φέρεται από πλευρικό στόμιο που κλείνει με εσφυρισμένο πώμα.
- Ανάδευση μαγνητικά ή με ρεύμα ξηρού N_2 .



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (7)

- Τα αντιδραστήρια και τα διαλύματα προστατεύονται από υγρασία για να παραμείνουν άνυδρα.
- Το ιωδοθειώδες αντιδραστήριο προστατεύεται από το φως.
- Στο εμπόριο κυκλοφορούν διάφορα είδη ιωδοθειώδους αντιδραστηρίου, όπου αντί πυριδίνης περιέχουν βασικές ενώσεις, π.χ. CH_3COONa (pyridine – free Karl – Fischer reagents).
- Αυτά πρέπει να ελέγχονται για το εξεταζόμενο φάρμακο για να ελεγχθεί η στοιχειομετρία και η απουσία ασυμβατότητας.
- π.χ. παρουσία CH_3COONa σε μεθανόλη:



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (8)

Μέθοδος Α (άμεση ογκομέτρηση)

- Ογκομέτρηση 20 ml άνυδρης μεθανόλης.
- Προσθήκη καθορισμένης ποσότητας ουσίας.
- Ογκομέτρηση ουσίας μέχρι Τ.Σ.

Μέθοδος Β (επανογκομέτρηση)

- Ογκομέτρηση 10 ml άνυδρης μεθανόλης.
- Προσθήκη καθορισμένης ουσίας.
- Προσθήκη περίσσειας ιωδοθειώδους αντιδραστηρίου (περίσσεια περίπου 1 ml).
- Άφεση για ορισμένο χρονικό διάστημα.
- Επανογκομέτρηση περίσσειας με άνυδρη μεθανόλη που περιέχει 0,25% μ/ο ύδατος.



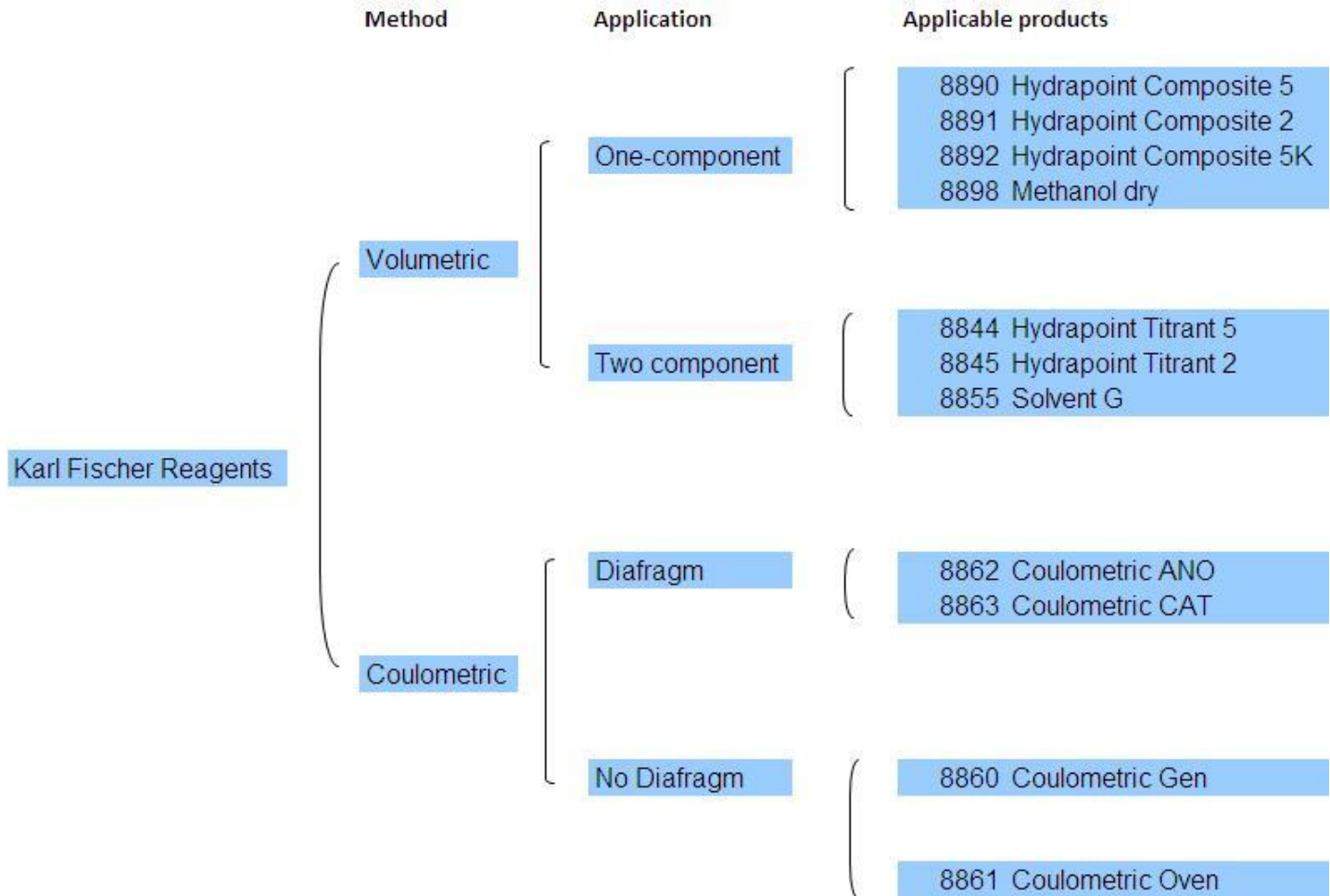
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ (9)

Παραδείγματα:

- Αμιλορίδιο HCl ($C_6H_9Cl_2N_7O \cdot 2H_2O$)
Νερό: 11,0 – 13, 0, ο προσδ. γίνεται σε 0,200 g ουσίας.
Θεωρητική τιμή H_2O : 11,9%
- Βακλοφαίνη ($C_{10}H_{12}ClNO_2$)
Νερό: όχι περισσότερο από 1%, ο προσδ. γίνεται σε 1,000 g ουσίας.
- Βαρβαρίνη νατριούχος ($C_{19}H_{15}NaO_4$)
Νερό: όχι περισσότερο από 4,0%. Ο προσδιορισμός γίνεται σε 0,750 g ουσίας.
- Βαρβαρίνη νατριούχος, ένωση εγκλίσεως
Νερό: όχι περισσότερο από 0,1%. Ο προσδιορισμός γίνεται σε 2,500 g ουσίας.



Αντιδραστήρια Karl-Fischer



Σύστημα Ογκομετρήσεων Karl-Fischer



Κουλομετρικός Προσδιορισμός Karl-Fischer

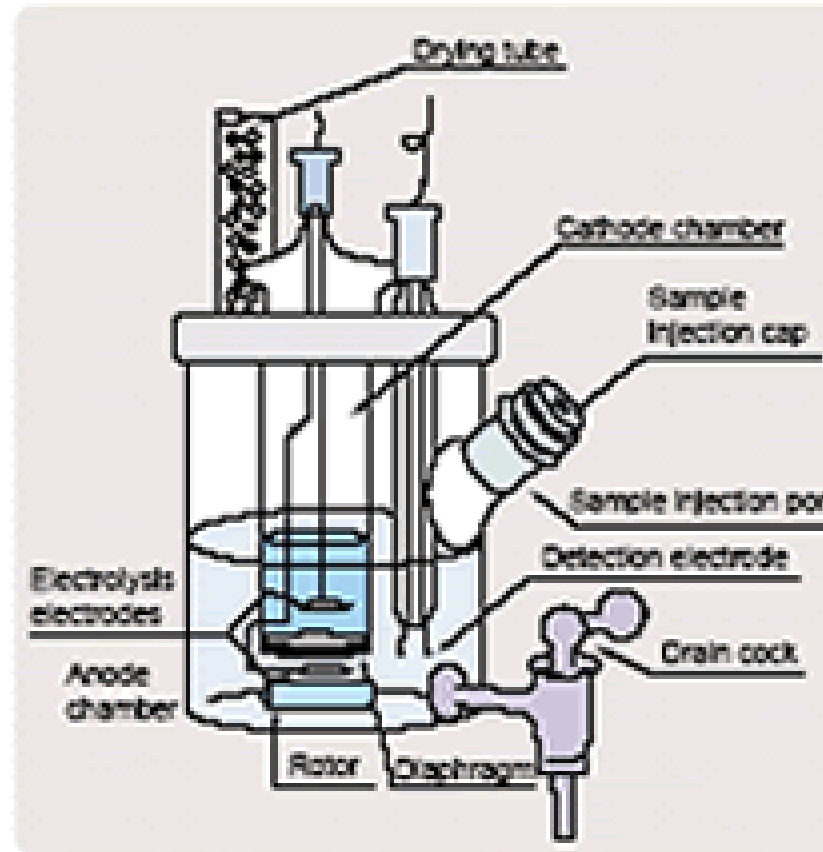


Figure 1 : Electrolysis cell of Coulometric Moisture Meter



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (1)

- Ελέγχεται η παρουσία βαρέων μετάλλων, τα οποία με το H_2S (θειοακεταμίδιο) παρέχουν καστανό χρώμα (Ag, Pb, Hg, Cu, Fe, Co, Ni, Sn, Bi).
- Το όριό τους ελέγχεται με σύγκριση του χρώματος τους προς το χρώμα που δίνει πρότυπο διάλυμα Pb.
- Υπάρχουν 5 μέθοδοι:

Μέθοδος Α: (για ουσίες ευδιάλυτες στο H_2O , βαρέα μέταλλα ιόντων)

- Διάλυμα ελέγχου: 12 ml διαλύματος ουσίας σε νερό + 2 ml ρυθμιστικού pH 3,5 + 2 ρυθμιστικού pH 3,5 ($\text{CH}_3\text{COO}^- / \text{CH}_3\text{COOH}$) + 1,2 ml CH_3CSNH_2 .



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (2)

- Διάλυμα προτύπου: 10 ml Pb (1 ή 2 ppm) + 2 ml διαλύματος δείγματος + 2 ml ρυθμιστικού pH 3,5 + 1,2 ml CH₃CSNH₂.
- Το καστανό χρώμα που εμφανίζεται στο διάλυμα ελέγχου δεν πρέπει να είναι εντονότερο από εκείνο του προτύπου.

Μέθοδος Β: (για ουσίες δυσδιάλυτες στο H₂O, βαρέα μέταλλα ιόντων)

- Όπως η μέθοδος Α μόνο που η ουσία (αδιάλυτη στο νερό) διαλύεται σε οργανικό διαλύτη που περιέχει μικρή ποσότητα νερού, π.χ. διοξάνιο με 15% H₂O ή ακετόνη με 15% H₂O.
- Το πρότυπο Pb παρασκευάζεται στον ίδιο διαλύτη.



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (3)

Μέθοδος Γ: (για βαρέα μέταλλα υπό μορφή ενώσεων)

- Η εξεταζόμενη ουσία (<2 g) φέρεται σε χωνευτήριο οξειδίου του πυριτίου μαζί με διάλυμα MgSO_4 σε αραιό H_2SO_4 και το μίγμα θερμαίνεται και ακολούθως πυρώνεται ($800\text{ }^\circ\text{C}$).
- Το λευκό ή ανοιχτό τεφρό υπόλειμμα διυγραινεται πάλι με H_2SO_4 , εξατμίζεται και πυρώνεται.
- Παραλαβή με αραιό HCl , εξουδετέρωση με NH_3 , ρύθμιση του pH, αραιώση.
- Εφαρμογή μεθόδου Α.
- Το πρότυπο Pb υφίσταται ίδια διαδικασία πυρώσεως.



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (4)

Μέθοδος Δ:

- Πύρωση ουσίας σε χωνευτήριο οξειδίου πυριτίου με 0,5 g MgO στους 800 °C.
- Παραλαβή με HCl, ρύθμιση pH με NH₃ και CH₃COOH αραίωση και εφαρμογή μεθόδου Α.
- Παρασκευή προτύπου Pb με ίδιες συνθήκες.



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (5)

Μέθοδος Ε:

- Ποσότητα ουσίας διαλύεται σε H_2O και διηθείται μέσω συσκευής που διαθέτει ηθμό προκαταρκτικής διήθησης και ηθμό μεμβράνης.
- Μετά την προκαταρκτική διήθηση προστίθενται τα αντιδραστήρια ρυθμιστικού pH 3,5 και CH_3CSNH_2 και διηθείται το ίζημα, οπότε στον ηθμό σχηματίζεται κηλίδα που το χρώμα της συγκρίνεται με αυτό προτύπου Pb (1ppm) που γίνεται με ίδιο τρόπο.



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (6)

Παραδείγματα

Αιθαμβουτόλη HCl: 2,0 g ουσίας ανταποκρίνονται στον έλεγχο Γ του ορίου βαρέων μετάλλων (10 ppm).

- Το πρότυπο παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας 2 ml διαλύματος μολύβδου (10 ppm).



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (7)

CaCO_3 : 12 ml διαλύματος ελέγχου (5,0 g + 80 ml CH_3COOH αραίωση στα 100 ml), ανταποκρίνονται στον έλεγχο Α του ορίου βαρέων μετάλλων (**20 ppm**).

- Το πρότυπο παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας πρότυπο διάλυμα Pb (1 ppm).

$$\frac{1 \text{ mg/L Pb}}{50.000 \text{ mg/L}} \times 10^6 = \mathbf{20 \text{ ppm}}$$



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (8)

Γλυκερόλη: 6 mL διαλύματος ελέγχου (58 g διαλύονται στα 100 mL με H₂O) αραιώνονται μέχρι 15 mL με νερό.

- 12 mL διαλύματος ανταποκρίνονται στον έλεγχο A του ορίου βαρέων μετάλλων (5 ppm).

- Υπολογισμός Ορίου:

$$\frac{1 \text{ mg/L Pb}}{580.000 \text{ mg/L} \times (6/15)} \times 10^6 = 4,3 = 5 \text{ ppm}$$



ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ (9)

Πρωταμίνη HCl:

- 1,0 g ανταποκρίνεται στον έλεγχο Δ του ορίου βαρέων μετάλλων (20 ppm).
- Το πρότυπο παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας 2 ml προτύπου διαλύματος Pb (10 ppm).



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (1)

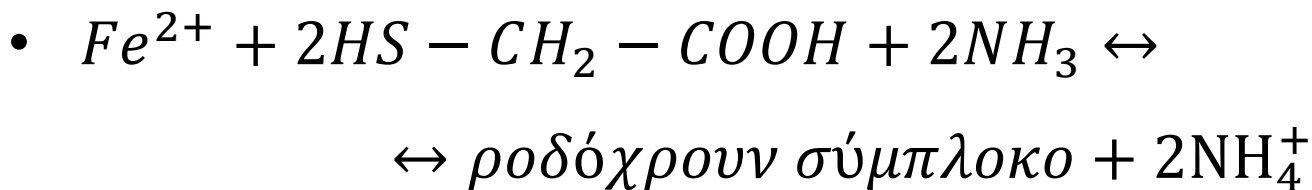
- Συγκρίνονται χρώματα και ιζήματα που λαμβάνονται από **υγροχημικές αντιδράσεις** ποιοτικής ανάλυσης μεταξύ διαλύματος ελέγχου και προτύπων διαλυμάτων.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (2)

Σίδηρος (1)

- Ποσότητα εξεταζόμενης ουσίας διαλύεται σε νερό και αραιώνεται στα 10 ml ή χρησιμοποιώντας 10 ml του διαλύματος που αναφέρεται σε μονογραφία.
- Προστίθεται διάλυμα κιτρικού οξέος 20 % (για να μην καθιζάνει ο Fe^{2+}) και 0,1 ml θειογλυκολικού οξέος.
- Ανάμειξη, αλκαλοποίηση με NH_3 και αρραίωση στα 20 ml.
- Το παραγόμενο ρόδινο χρώμα δεν πρέπει να είναι εντονότερο από αυτό του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (3)

Σίδηρος (2)

Παράδειγμα: Έλεγχος ορίου Fe στην αλανίνη

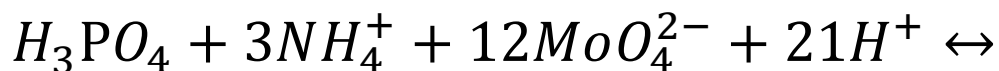
- 1,0 g ουσίας διαλύεται σε διαχωριστική χοάνη σε 10 ml αραιού HCl.
- Το διάλυμα εκχυλίζεται 3 φορές με 10 ml μεθυλοϊσοβουτυλενοκετόνης κάθε φορά.
- Κάθε ανακίνηση διαρκεί 3 min.
- Στις ενωμένες οργανικές στιβάδες προστίθενται 10 ml H₂O, ανακίνηση για 3 min.
- Η υδατική στιβάδα ανταποκρίνεται στον έλεγχο ορίων για το σίδηρο (10 ppm).



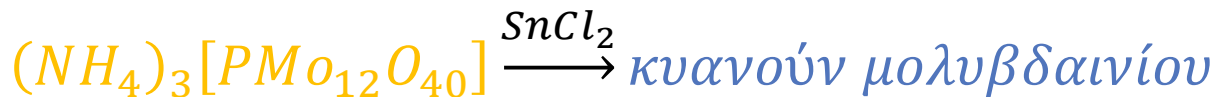
ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (4)

Φωσφορικά

- Σε 100 ml διαλύματος ελέγχου προστίθενται 4 ml σουλφομολυβδαινικού αντιδραστηρίου (μολυβδαινικό αμμώνιο σε H_2SO_4).
- Το διάλυμα ανακινείται και προστίθεται 0,1 ml $SnCl_2$.
- Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζεται πρότυπο χρησιμοποιώντας 2 ml προτύπου 5 ppm (PO_4) και 98 ml H_2O .
- Μετά από 10 min συγκρίνονται τα χρώματα 20 ml από κάθε διάλυμα:



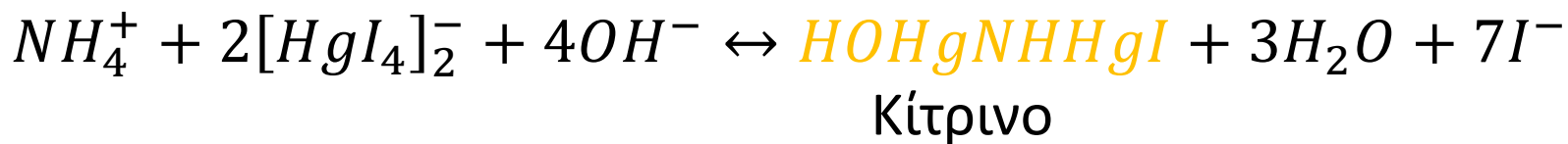
Κίτρινο



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (5)

Αμμώνιο

- Ποσότητα ουσίας διαλύεται σε 14 ml νερού, αλκαλοποίηση με NaOH, αραίωση στα 15 ml.
- Προσθήκη 0,3 ml τετραϊωδοϋδραργυρικού καλίου (αντιδραστήριο Nessler).
- Παρασκευάζεται πρότυπο με ανάμειξη 10 ml προτύπου 1 ppm NH_4^+ με 5 ml H_2O και 0,3 ml αντιδρ. Nessler.
- Το κίτρινο χρώμα του ελέγχου όχι εντονότερο του προτύπου.

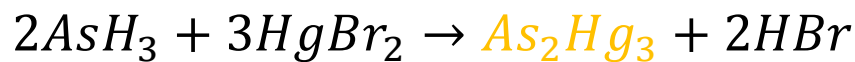
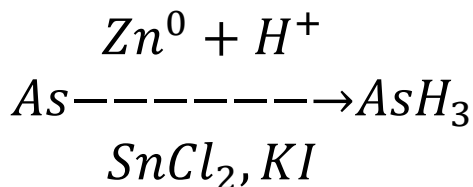


ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (6)

Αρσενικό (1)

Μέθοδος Α: Χρησιμοποιείται ειδική συσκευή κωνικής φιάλης με εσφυρισμένο πώμα που φέρει σωλήνα γεμάτο από βαμβάκι με $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$.

- Στο άνω άκρο του σωλήνα στηρίζεται χάρτης εμποτισμένος με HgBr_2 .
- Στην κωνική φιάλη προστίθεται η ποσότητα της εξεταζόμενης ουσίας μαζί με HCl , SnCl_2 , KI και Zn^0 .
- Η παραγόμενη αρσίνη AsH_3 ανέρχεται και σχηματίζει κίτρινη κηλίδα.



κίτρινο



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (6)

Αρσενικό (2)

- Παρασκευάζεται πρότυπο με ίδιο τρόπο χρησιμοποιώντας 1 ml προτύπου διαλ. As (1 ppm) αραιωμένο στα 25 ml.
- Μετά από 2h, η κίτρινη κηλίδα από το διάλυμα ελέγχου δεν πρέπει να είναι εντονότερη από εκείνη του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (7)

Αρσενικό (3)

Μέθοδος Β: Ποσότητα ουσίας + 4 ml HCl + 5 mg KI + 3 ml υποφωσφορώδους αντιδραστηρίου (Na_3PO_2).

- Το μίγμα θερμαίνεται επί 15 min.
- Παρασκευάζεται πρότυπο με 0,5 ml προτύπου 10 ppm.
- Το χρώμα του διαλύματος ελέγχου όχι εντονότερο προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (8)

Αρσενικό (4)

Παράδειγμα: Έλεγχος As στο NaCl

- 20 g NaCl διαλύονται στα 100 ml.
- 5 ml διαλύματος ανταποκρίνονται στον έλεγχο A του ορίου για αρσενικό (1 ppm)
- Υπολογισμός Ορίου:

$$\frac{1\text{mL} \times 1\ \mu\text{g}/\text{mL As}}{5\text{mL} \times \frac{20 \times 10^6\ \mu\text{g}}{100\text{mL}}} \times 10^6 = 1\text{ppm}$$

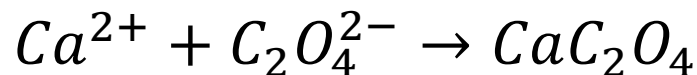


ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (9)

Ασβέστιο

- Σε 0,2 ml αλκοολικού διαλύματος Ca (100 ppm) προστίθεται 1 ml διαλύματος $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$.
- Μετά από 1 min προστίθεται μίγμα αποτελούμενο από 1 ml αρ. CH_3COOH και 15 ml διαλύματος που περιέχει την ουσία που εξετάζεται.
- Παρασκευάζεται πρότυπο με ίδιο τρόπο χρησ. μίγμα 10 ml προτύπου διαλύματος Ca^{2+} (10 ppm), 1 ml αρ. CH_3COOH και 5 ml H_2O .

- Ο οπαλισμός



στο διάλυμα ελέγχου μετά από 15 min, όχι εντονότερος από εκείνον του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (10)

Χλωριούχα (1)

- Σε 15 ml του διαλύματος ελέγχου προστίθεται 1 ml αρ. HNO_3 και το μίγμα αποχύνεται μονομιάς σε δοκ. σωλήνα που περιέχει 1 ml AgNO_3 .
- Παρασκευάζεται πρότυπο με ίδιο τρόπο, χρησιμοποιώντας 10 ml προτύπου (5 ppm Cl) και 5 ml H_2O .
- Οι σωλήνες εξετάζονται πλάγια έναντι μαύρου πεδίου.
- Ο οπαλισμός



μετά από 5 min στο διάλυμα ελέγχου και με προστασία από το φως, δεν πρέπει να είναι εντονότερος από εκείνον του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (10)

Χλωριούχα (2)

Παράδειγμα: Έλεγχος ορίου χλωριούχων στην προποξυφυλλίνη

- 2,5 ml διαλύματος ελέγχου (2,5 g σε 50 ml νερού) αραιώνονται στα 15 ml με νερό.
- Το διάλυμα ανταποκρίνεται στον έλεγχο ορίου για τα χλωριούχα (400 ppm)
- Υπολογισμός ορίου:

$$\frac{10\text{mL} \times 5 \mu\text{g/mL}}{2,5\text{mL} \times \frac{2,5 \times 10^6 \mu\text{g}}{50\text{mL}}} \times 10^6 = 400\text{ppm}$$



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (11)

Φθοριούχα (1)

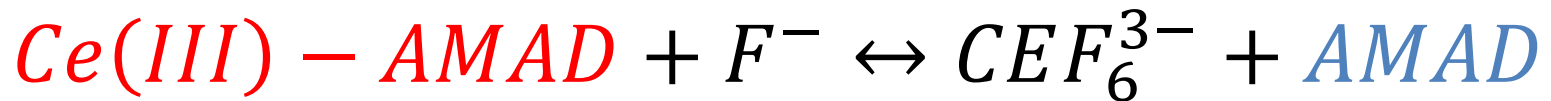
- Σε ειδική συσκευή φέρεται η ποσότητα της εξεταζόμενης ουσίας, 0,1 g πλυμένης με οξύ άμμου και 20 ml μίγματος H_2SO_4 και νερού.
- Γίνεται απόσταξη με ατμούς σε διάλυμα NaOH.
- Το απόσταγμα αραιώνεται στα 100 ml.
- Παρασκευάζεται πρότυπο φθοριούχων χρησιμοποιώντας 5 ml 100 ppm F αντί της ουσίας.
- Σε κυλίνδρους φέρονται 20 ml διαλύματος ελέγχου και προτύπου και προστίθενται 5 ml αντιδραστηρίου αμινομεθυλαλιζαρινοδιοξικού οξέος (μίγμα Ce(III) – αμινομεθυλενοαλιζαρινοδιοξικού οξέος σε ρυθμιστικό οξεικών σε ακετόνη).



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (11)

Φθοριούχα (2)

- Το κυανό (αρχικά κόκκινο) χρώμα του διαλύματος ελέγχου μετά από 20 min όχι εντονότερο από αυτό του προτύπου.



Κόκκινο

κυανό



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (12)

Μαγνήσιο

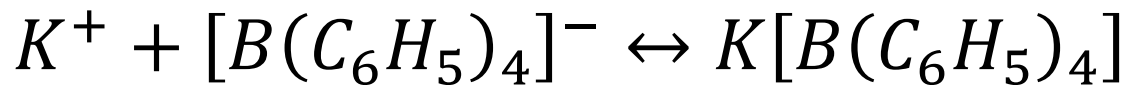
- Σε 10ml διαλύματος ελέγχου προστίθεται 0,1 g βορικού νατρίου.
- Το pH ρυθμίζεται σε 8,8 – 9,2.
- Το διάλυμα ανακινείται με διάλυμα υδροξυκινολίνης σε χλωροφόρμιο και η οργανική στιβάδα απορρίπτεται.
- Στο υδατικό διάλυμα προστίθεται βουτυλαμίνη και τριαιθανολαμίνη και το pH ρυθμίζεται σε 10,5 – 11,5.
- Προστίθεται χλωροφορμιακό διάλυμα υδροξυκινολίνης.
- Συγκρίνεται η κάτω στιβάδα.
- Παρασκευάζεται πρότυπο με 1 ml προτύπου 10 ppm Mg και 9 ml H₂O.
- Το χρώμα (κίτρινο) του υδροξυκινολινικού μαγνησίου όχι εντονότερο του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (13)

Κάλιο

- Σε 10 ml διαλύματος ελέγχου προστίθενται 2 ml τετραφαινυλοβορικού νατρίου.
- Παρασκευάζεται με ίδιο τρόπο πρότυπο από 5 ml προτύπου K^+ (20 ppm) και 5 ml H_2O .
- Μετά από 5 min, ο οπαλισμός



Λευκό

στο διάλυμα ελέγχου όχι εντονότερος του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (14)

Θειικά (1)

- Σε 1,5 ml προτύπου 10 ppm SO_4 προστίθεται 1 ml $BaCl_2$.
- Προστίθενται 15 ml διαλύματος ελέγχου και 0,5 ml CH_3COOH .
- Παρασκευάζεται πρότυπο χρησιμοποιώντας 15 ml πρότυπου διαλύματος θεικών 10 ppm.
$$SO_4^{2-} + Ba^{2+} \rightarrow BaSO_4$$
- Ο οπαλισμός του διαλύματος ελέγχου όχι εντονότερος του προτύπου.



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (14)

Θειικά (2)

Παράδειγμα: Έλεγχος ορίου θειϊκών στο Na_2CO_3

- 15 ml διαλύματος ελέγχου (2,0 g ουσίας σε 50 ml) ανταποκρίνονται στον έλεγχο για τα θειϊκά (250 ppm).

- Υπολογισμός Ορίου:

$$\frac{15\text{mL} \times 10 \mu\text{g}/\text{mL}}{15\text{mL} \times \frac{2 \times 10^6 \mu\text{g}}{50\text{mL}}} \times 10^6 = 250\text{ppm}$$



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (15)

Αργίλιο

- Το καθοριζόμενο διάλυμα φέρεται σε διαχωριστική χοάνη, ανακινείται 2x20 ml και 1x10 ml με χλωροφορμιακό διάλυμα υδροξυκινολίνης.
- Τα συνενωμένα εκχυλίσματα αραιώνονται στα 50 ml με χλωροφόρμιο.
- Παρασκευάζεται πρότυπο με ίδιο τρόπο.
- Παρασκευάζεται τυφλό.
- Μετρείται η ένταση φθορισμού ($\lambda_{ex}=392$, $\lambda_{em} = 518$ nm) του διαλύματος ελέγχου I_1 , του προτύπου, I_2 και του τυφλού I_3

$$I_1 - I_3 < I_2 - I_3$$



ΕΛΕΓΧΟΙ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΙΟΝΤΩΝ (16)

Λοιπά Ανόργανα Ιόντα και Οργανικές Ουσίες

- Πολλά άλλα ανόργανα ιόντα και οργανικές ουσίες ελέγχονται για όρια με διάφορες μεθόδους:

π.χ.

- Zn^{2+} με ΦΑΑ
- Se με υγροχημική αντίδραση
- I^-
- Οξαλικά
- NO_3^-
- κλπ.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (1)

- Η δοκιμασία αποσκοπεί στον έλεγχο υπολειμμάτων διαλυτών σε πρώτες ύλες.
- Οι διαλύτες αποτελούν μέσα αντιδράσεων κατά τη σύνθεση των ουσιών ή μέσα εκχυλίσεως κατά τα στάδια διαχωρισμού/καθαρισμού.
- Η εξέταση γίνεται με την τεχνική:

ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΗΣ ΦΑΣΕΩΣ (GAS CHROMATOGRAPHY WITH STATIC HEAD-SPACE INJECTION)

- Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό και προσδιορισμό πτητικών συστατικών στερών ή υγρών δειγμάτων.
- Βασίζεται στην ανάλυση της αέριας φάσης σε ισορροπία με τη στερεή ή υγρή φάση.



Όρια Διαλυτών Τάξεως 1 (Διαλύτες που πρέπει να αποφεύγονται)

Solvent	Concentration limit (ppm)
Benzene	1
1,2-Dichloro-ethane	10
1,1,1-Trichloro-ethane	10
Carbon tetrachloride	10



Όρια Διαλυτών Τάξεως 2 (Διαλύτες με ελεγχόμενο όριο)

Table 2. — Limits for Class 2 solvents in pharmaceuticals

Solvent	PDE (mg/day)	Concentration limit X 10 ² (ppm)
Acetonitrile	1.5	1.5
Cyclohexane	1.8	1.8
1,1-Dichloro-ethene	0.9	0.9
1,2-Dichloro-ethene	1.7	1.7
Dichloro-methane	3.0	3.0
N,N-Dimethyl-acetamide	7.0	7.0
N,N-Dimethyl-formamide	5.0	5.0
[1,4] Dioxane	0.5	0.5
2-Ethoxy-ethanol	3.0	3.0
Formamide	1.5	1.5
Hexane	1.4	1.4
Hexan-2-one	1.8	1.8
2-Isopropoxy-propane	0.5	0.5
2-Methoxy-ethanol	0.5	0.5
4-Methyl-pentan-2-one	2.5	2.5
Pyridine	1.0	1.0
Toluene	4.5	4.5
1,1,2-Trichloro-ethylene	0.7	0.7
Trichloro-methane	0.7	0.7



Διαλύτες Τάξεως 3

Table 3. — *Class 3 solvent which will be limited by GMP or other quality-based requirement*

Acetic acid	Methanol
Acetic acid butyl ester	2-Methoxy-2-methyl-propane
Acetic acid ethyl ester	3-Methyl-butan-1-ol
Acetic acid isobutyl ester	3-Methyl-butan-2-one
Acetic acid isopropyl ester	2-Methyl-propan-1-ol
Acetic acid methyl ester	1-Methyl-2-piperidinone
Acetic acid propyl ester	1-Methyl-pyrrolidin-2-one
Butan-1-ol	Pentane
Butan-2-ol	Pentan-1-ol
Butan-2-one	Petroleum ether
Ethanol	Propan-1-ol
Ethoxy-ethane	Propan-2-ol
Formic acid	Propan-2-one
Heptane	Tetrahydro-furan
Isopropyl-benzene	2,2,4-Trimethyl-pentane
Methane sulfinyl methane	Xylene*

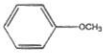

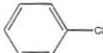
* Xylene is limited to 0.1% in Class 3 solvents with 17% ethanol



Πίνακας Κατηγοριοποίησης Διαλυτών

ICH Guideline Q3C – Residual Solvents

APPENDIX 1: LIST OF SOLVENTS INCLUDED IN THE GUIDELINE

Solvent	Other Names	Structure	Class
Acetic acid	Ethanoic acid	CH ₃ COOH	Class 3
Acetone	2-Propanone Propan-2-one	CH ₃ COCH ₃	Class 3
Acetonitrile		CH ₃ CN	Class 2
Anisole	Methoxybenzene		Class 3
Benzene	Benzol		Class 1
1-Butanol	<i>n</i> -Butyl alcohol Butan-1-ol	CH ₃ (CH ₂) ₃ OH	Class 3
2-Butanol	<i>sec</i> -Butyl alcohol Butan-2-ol	CH ₃ CH ₂ CH(OH)CH ₃	Class 3
Butyl acetate	Acetic acid butyl ester	CH ₃ COO(CH ₂) ₃ CH ₃	Class 3
<i>tert</i> -Butylmethyl ether	2-Methoxy-2-methyl-propane	(CH ₃) ₃ COCH ₃	Class 3
Carbon tetrachloride	Tetrachloromethane	CCl ₄	Class 1
Chlorobenzene			Class 2
Chloroform	Trichloromethane	CHCl ₃	Class 2



Υπολογισμός Permitted Daily Exposure (PDE)

NOEL: No Observed Effect Level

F1: παράγοντας μεταφοράς δεδομένων από πειραματόζωα σε άνθρωπο

F2: Παράγοντας διατομικής μεταβλητότητας

F3: Παράγοντας από μελέτες τοξικότητας από βραχύβια έκθεση

F4: Παράγοντας σοβαρής τοξικότητας

F5: Παράγοντας όταν δεν έχει καθιερωθεί επίπεδο μη επίδρασης

$$PDE = \frac{NOEL \times Weight_Adjustment}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (2)

Συσκευή:

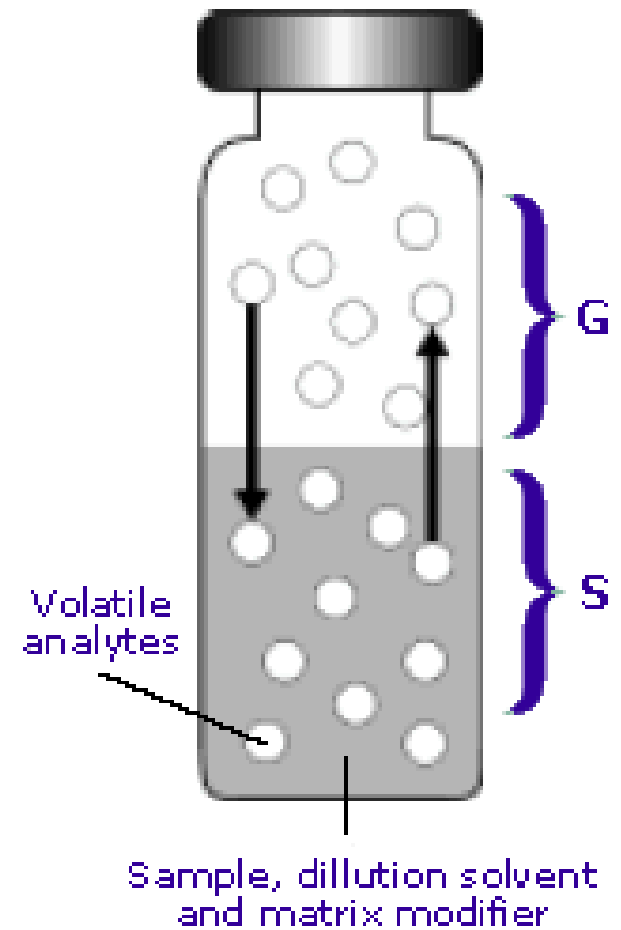
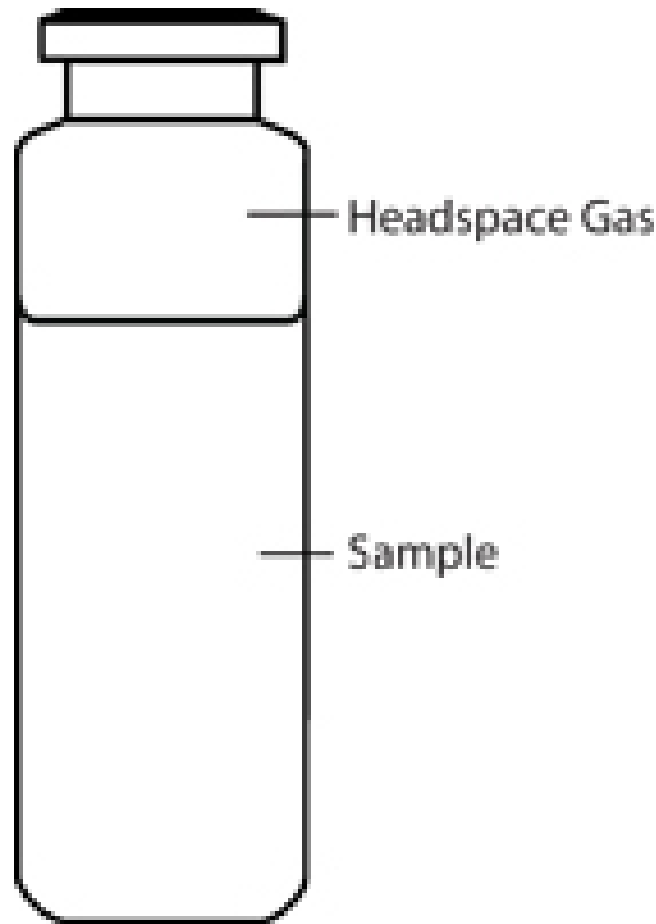
- Αποτελείται από αεριοχρωματογράφο που διαθέτει εξάρτημα για την εισαγωγή του εξεταζόμενου δείγματος.
- Αυτό είναι συνδεδεμένο με ρυθμιστή που ελέγχει αυτόματα την πίεση και τη θερμοκρασία.
- Μπορεί να προστεθεί και εξάρτημα για την απομόνωση των διαλυτών.

Δείγμα:

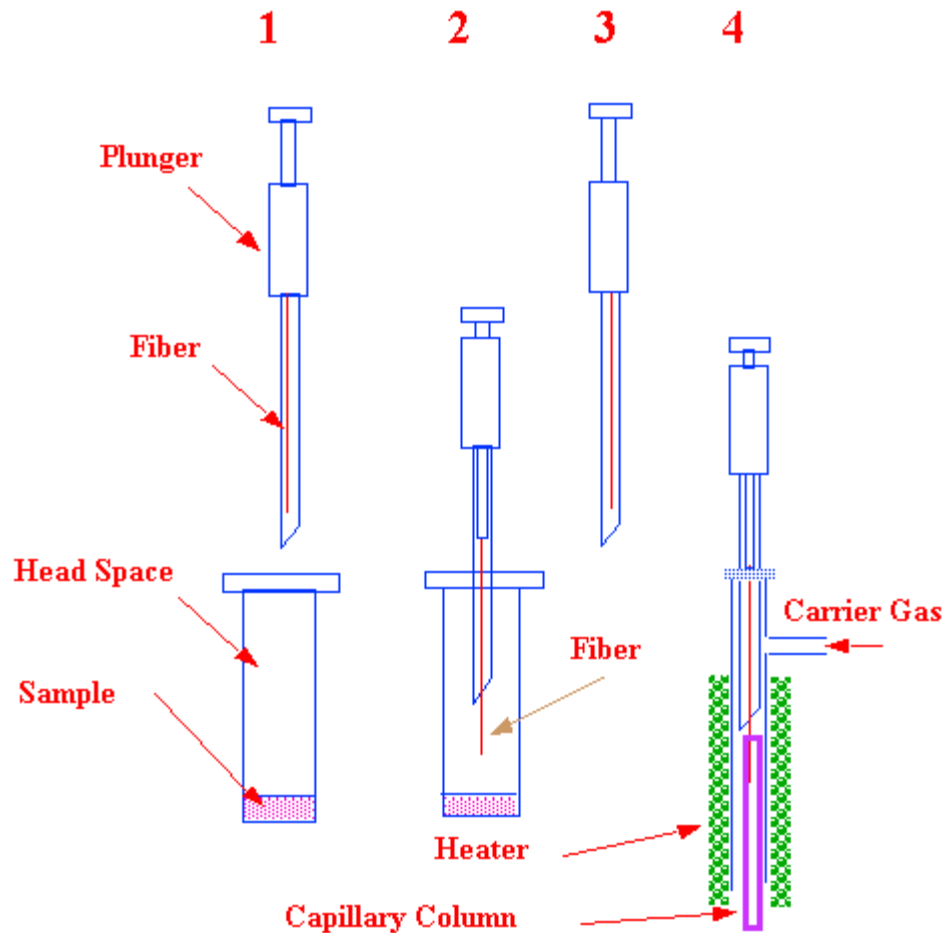
- Το προς εξέταση δείγμα φέρεται σε περιέκτη, ο οποίος διαθέτει κατάλληλο πώμα και σύστημα βαλβίδων που επιτρέπει τη διόδο του φέροντος αερίου.
- Ο περιέκτης τοποθετείται σε θερμοστατούμενο θάλαμο, του οποίου η θερμοκρασία ρυθμίζεται ανάλογα με το εξεταζόμενο δείγμα.
- Το δείγμα παραμένει σ' αυτή τη θερμοκρασία για αρκετό χρονικό διάστημα έτσι, ώστε να επιτυγχάνεται ισορροπία μεταξύ της υγρής και της αέριας φάσης.



Ειδικά Φιαλίδια Δείγματος για Ανάλυση Head Space



Δια Χειρός Λήψη Δείγματος Αέριας Φάσης με Σύριγγα Ίνας



Αεριοχρωματογράφος Με Εξωτερικό Σύστημα Θέρμανσης Φιαλιδίων και Λήψης Δείγματος για Ανάλυση Υπερκείμενης Φάσης



Σύγχρονος Αεριοχρωματογράφος και Δειγματολήπτη Υπερκείμενης Φάσης



Σύγχρονος Αεριοχρωματογράφος και Δειγματολήπτη Υπερκείμενης Φάσης



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (3)

Το φέρον αέριο:

- Διαβιβάζεται στον περιέκτη και ανοίγεται η κατάλληλη βαλβίδα μετά τον καθορισμένο χρόνο, ώστε το αέριο να διαχέεται προς τη χρωματογραφική στήλη, παρασύροντας μαζί του τα εξαερωμένα συστατικά.
- Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί και συμβατικός αεριοχρωματογράφος και αεροστεγείς σύριγγες.
- Στην περίπτωση αυτή η εξισορρόπηση εκτελείται σε ξεχωριστό θάλαμο και η αέρια φάση μεταφέρεται στις στήλες λαμβάνοντας προφυλάξεις απαραίτητες για τη διαφύλαξη της ισορροπίας.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (4)

Μεθοδολογία:

Διάλυμα δείγματος

- Για ουσίες (πρώτες ύλες) διαλυτές στο νερό, 0,200 g εξεταζόμενης ουσίας διαλύονται σε 20 mL νερού.
- Για ουσίες μη διαλυτές στο νερό, χρησιμοποιείται ειδικός διαλύτης που αναφέρεται στη μονογραφία.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (5)

Διάλυμα διαλυτών (α)

- 0,50 g ακετονιτριλίου και χλωροφορμίου, 1,00 g βενζολίου, διοξανίου, μεθυλενοχλωριδίου, πυριδίνης και τριχλωροαιθανίου διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξειδίο (DMSO) και αραιώνονται στα 100 mL με DMSO.

Αραίωση 1,0 mL → 100 mL με H₂O

1,0 mL → 100 mL με H₂O (1 ppm ή 2 ppm)

Διάλυμα διαλυτών (β)

- Παρασκευάζεται όπως το διάλυμα (α), αλλά περιέχει μόνο το διαλύτη ή διαλύτες που περιέχονται στην πρώτη ύλη προς εξέταση.
- Αραιώνεται έτσι, ώστε να προκύψει συγκέντρωση το 1/20 του ορίου ή ορίων που αναφέρει η μονογραφία.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (6)

Διάλυμα λευκού (blank)

Όπως το διάλυμα (β) χωρίς του διαλύτες. Δηλαδή

1,00 mL DMSO → 100 mL H₂O

1,00 mL → 50 mL H₂O, κλπ αραιώσεις

Διάλυμα ελέγχου (Test solution)

5,0 mL διαλύματος δείγματος + 1,0 mL λευκού εισάγονται σε ένα φιαλίδιο εισαγωγής (injection vial).

Διάλυμα αναφοράς (reference solution)

5,0 mL διαλύματος δείγματος + 1,0 mL διαλύματος διαλυτών (β) εισάγονται σ' ένα φιαλίδιο εισαγωγής.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (7)

- Οι περιέκτες (φιαλίδια εισαγωγής) κλείνονται ερμητικά με πώμα ελαστικού καλυμμένο με PTFE (πολυτετραφθοροαιθυλένιο) που ασφαλίζεται με κάλυμμα αλουμινίου.
- Αναταράσσονται για να ληφθεί ομοιογενές διάλυμα.

Συνήθεις συνθήκες εισαγωγής

- Θερμοκρασία εξισορρόπησης: 80 °C
- Χρόνος εξισορρόπησης: 60 min
- Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς: 85 °C
- Φέρον αέριο: N₂ ή He χρωματογραφίας σε κατάλληλη πίεση
- Χρόνος εφαρμογής πίεσης: 30 s
- Εισαγόμενος όγκος: 1 mL



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (8)

Χρωματογραφική πορεία

Σύστημα A:

- Στήλη τηγμένου διοξειδίου πυριτίου (fused-silica) τριχοειδής ή ευρείας- διατομής (wide-bore) μήκους 30 m και εσωτερικής διαμέτρου 0,32 ή 0,53 mm, επικαλυμμένη με πολυμερές σταυροδιακλαδισμένο (cross-linked) 6% πολυκυανοφαινυλοσιλοξάνιο και 94% πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο. Πάχος υμένα 1,8-3 μm.
- He χρωματογραφίας ως φέρον αέριο, split-ratio 1:5, γραμμική ταχύτητα 35 cm/s.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (9)

- Split-ratio (σχέση διαχωρισμού): το ρεύμα του φέροντος αερίου που μεταφέρει το δείγμα, αφού αναμειχθεί πλήρως διαχωρίζεται σε 1:5 μέρη και μόνο το 1 προχωρεί προς τη στήλη. Το άλλο απορρίπτεται.
- Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID) ή συλλήψεως ηλεκτρονίων (ECD) εάν περιέχονται χλωριωμένοι διαλύτες.

Πρόγραμμα θερμοκρασίας στήλης

- 40 °C για 20 min, +10 °C/min έως 240 °C και 240 °C για 20 min.
- Θερμοκρασία σημείου εισαγωγής: 140 °C και ανιχνευτή: 250 °C



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (10)

Σύστημα Β (όταν υπάρχει παρεμπόδιση από το μητρικό υλικό)

- Στήλη, διαστάσεων όπως σύστημα Α, αλλά καλυμμένη με πολυαιθυλενογλυκόλη 20000 (πάχος υμένα: 0,25 μm .).
- Φέρον αέριο και ανιχνευτής τα ίδια με Α.
- Πρόγραμμα θερμοκρασίας στήλης
- 50 $^{\circ}\text{C}$ για 20 min, +6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ έως 165 $^{\circ}\text{C}$ και 165 $^{\circ}\text{C}$ για 20 min.
- Λοιπά όπως Α.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (11)

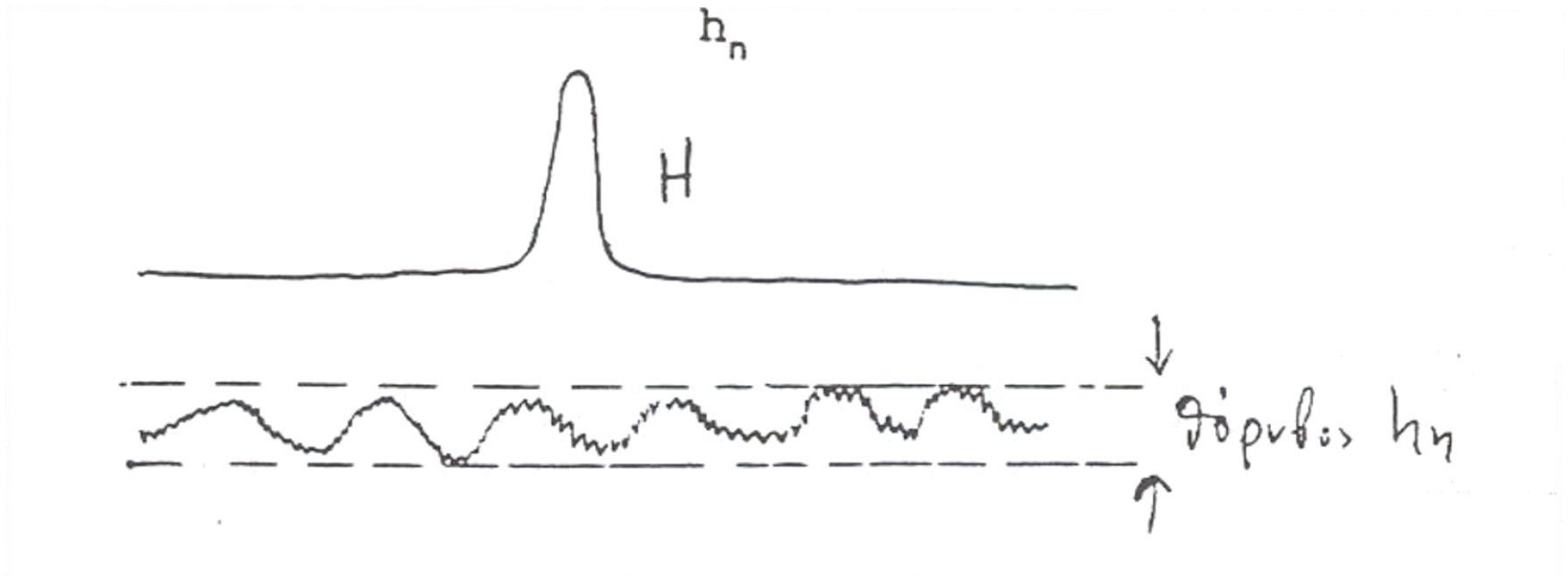
Αξιολόγηση συστήματος

- Εισάγεται 1 mL της αέριας φάσης του διαλύματος διαλυτών (α) και καταγράφεται το χρωματογράφημα.
- Ο λόγος σήμα προς θόρυβο (S/N) (signal to noise ratio) για το χλωροφόρμιο πρέπει να είναι τουλάχιστον 3.
- H: ύψος κορυφής συστατικού (π.χ. χλωροφορμίου).
- h_n : απόλυτη τιμή υψηλότερης διακύμανσης θορύβου σε σχέση με τη γραμμή βάσης σε χρωματογράφημα που λαμβάνεται από λευκό διάλυμα και καταγράφεται σε απόσταση ίση με το 20πλάσιο του ημιεύρους της κορυφής αναφοράς με ύψος H. Η απόσταση αυτή βρίσκεται συμμετρικά από τη θέση που θα εμφανιζόταν η κορυφή αυτή.

$$S/N = \frac{H}{h_n}$$



Έλεγχος Παραμέτρου S/N



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (12)

- Το σύστημα δεν είναι κατάλληλο εκτός αν στο χρωματογράφημα του συστήματος A:
 - Η σειρά εκλούσεως είναι: ακετονιτρίλιο, μεθυλενοχλωρίδιο, χλωροφόρμιο, βενζόλιο, τριχλωροαιθυλένιο, διοξάνιο, πυριδίνη και DMSO.
 - Ο συντελεστής διαχωρισμού ή διαχωριστότητα (Resolution) μεταξύ ακετονιτριλίου (1) και μεθυλενοχλωριδίου (2) είναι τουλάχιστον 1.

$$R_s = \frac{1,18(t_{R_1} - t_{R_2})}{w_{0,5_1} + w_{0,5_2}}$$



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (13)

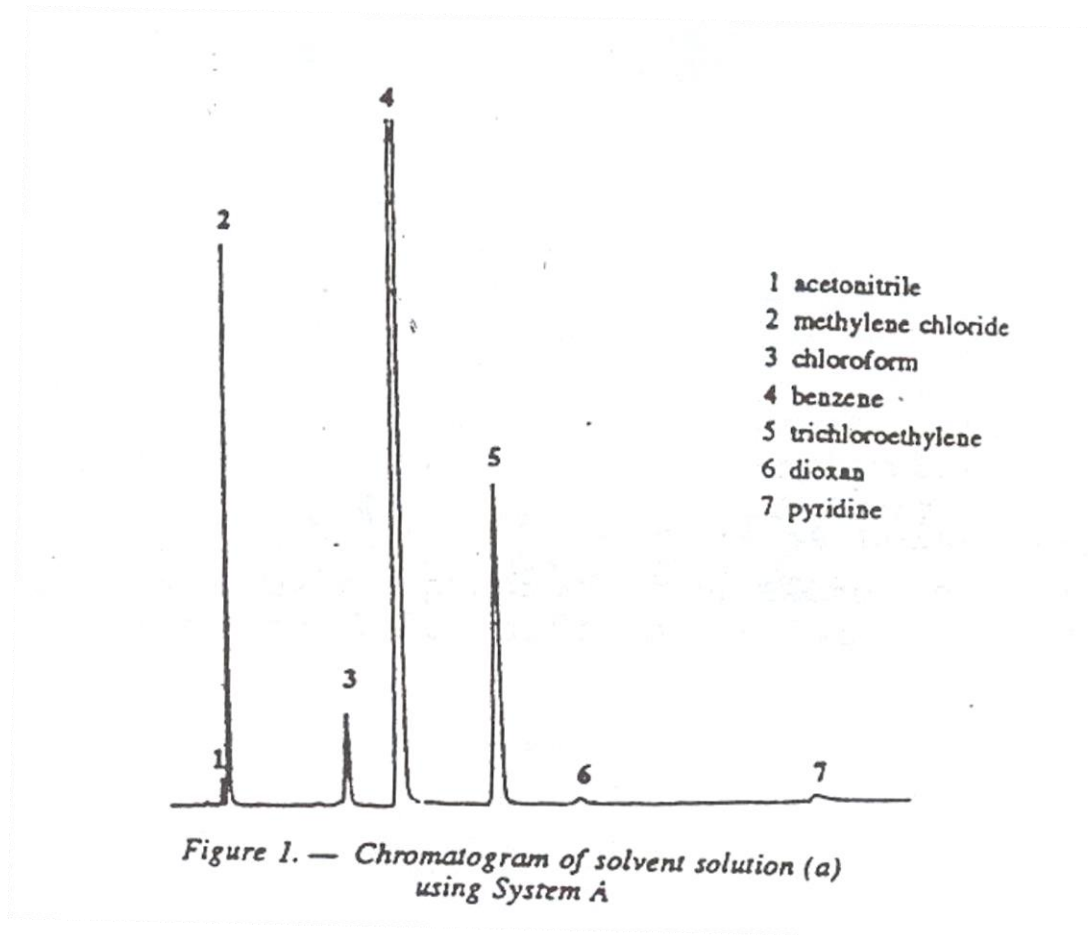
Για το σύστημα B:

- Η σειρά εκλούσεως είναι: μεθυλενοχλωρίδιο, βενζόλιο, τριχλωροαιθυλένιο, ακετονιτρίλιο, χλωροφόρμιο, διοξάνιο, πυριδίνη και DMSO.
- Ο συντελεστής διαχωρισμού

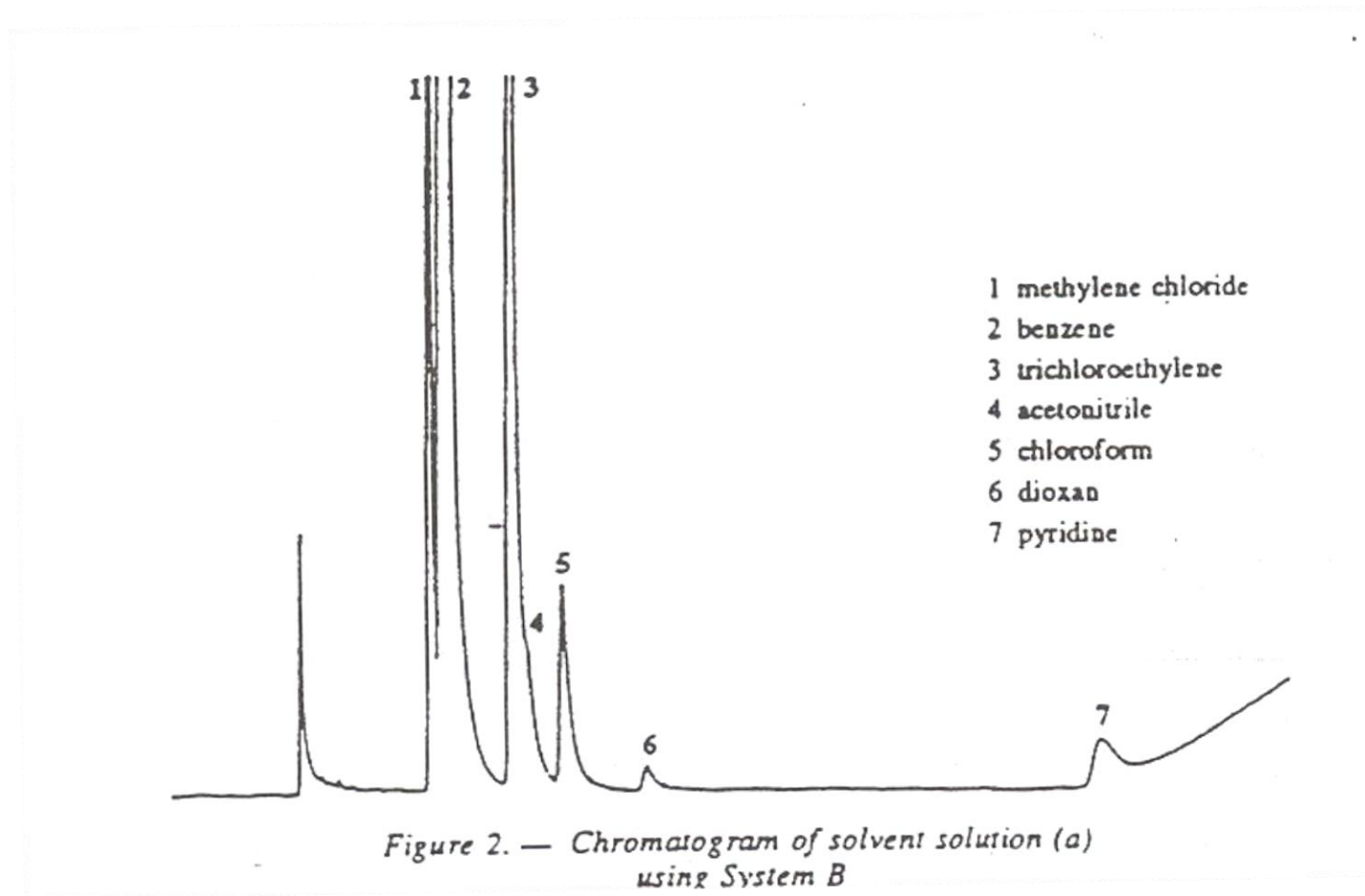
$$R_{\text{ακετονιτριλίου-τριχλωροαιθυλ.}} > 1$$



Αεριοχρωματογράφημα Συστήματος Α



Αεριοχρωματογράφημα Συστήματος Β



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (14)

Εκτέλεση ελέγχου

- Εισάγεται 1 mL αέριας φάσης του διαλύματος ελέγχου και 1 mL της αέριας φάσης του διαλύματος αναφοράς στη στήλη.
- Εκτελείται εις διπλούν ο έλεγχος.
- **Ο μέσος όρος της επιφάνειας των κορυφών των υπολοίπων διαλυτών στο χρωματογράφημα ελέγχου δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από το ήμισυ της μέσης επιφάνειας των αντίστοιχων διαλυτών στο διάλυμα αναφοράς.**
- Ο έλεγχος δεν είναι έγκυρος αν η σχετική τυπική απόκλιση των επιφανειών για 3 ενέσεις του διαλύματος αναφοράς είναι μεγαλύτερος του 15%.
- Εάν το υπόλειμμα διαλύτη είναι $>0,1\%$ η ακριβής συγκέντρωση μπορεί να προσδιορισθεί με τη μέθοδο των γνωστών προσθηκών.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (15)

Μέθοδος γνωστών προσθηκών (standard addition method)

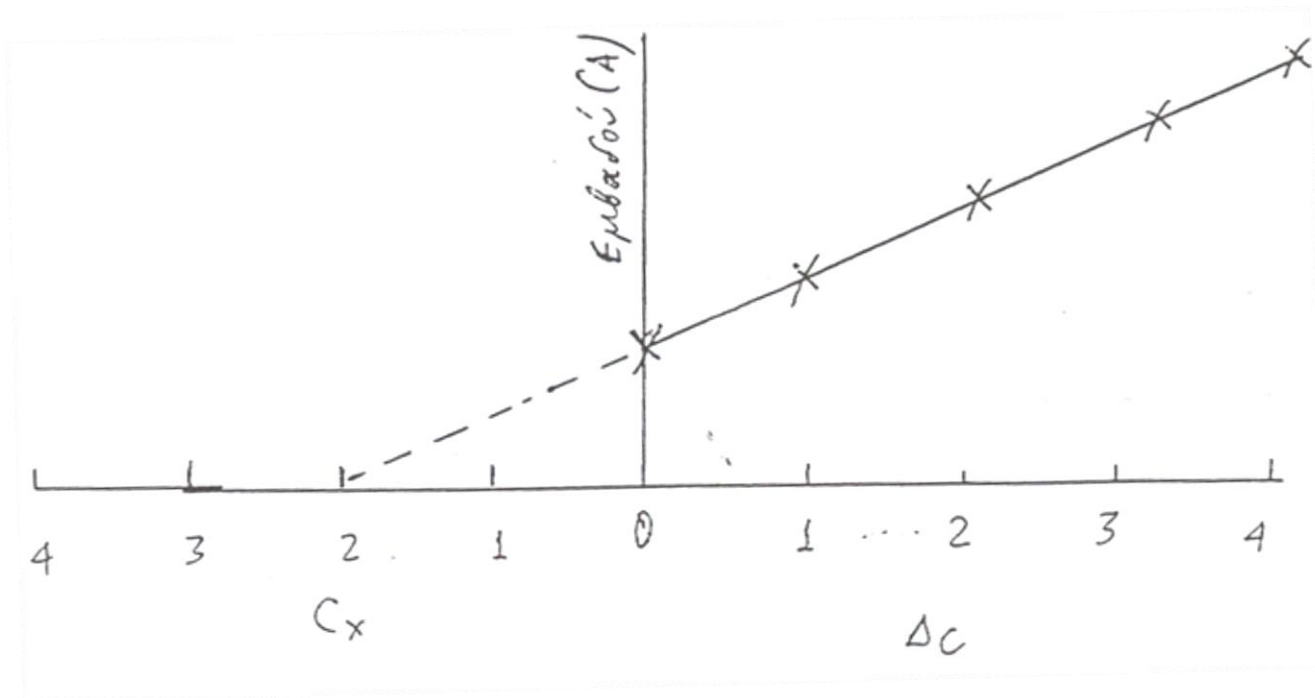
- Σε σύνολο όμοιων περιεκτών φέρεται ίδιος όγκος του εξεταζόμενου δείγματος.
- Σε όλους τους περιέκτες εκτός από ένα, προστίθεται βαθμηδόν αυξανόμενη ποσότητα διαλύματος αναφοράς που περιέχει γνωστή συγκέντρωση του διαλύτη, ώστε να προκύψει σειρά διαλυμάτων με σταθερά αυξανόμενη ποσότητα του διαλύτη.
- Οι περιέκτες κλείνονται και εκτελείται η χρωματογράφηση όπως περιγράφη.



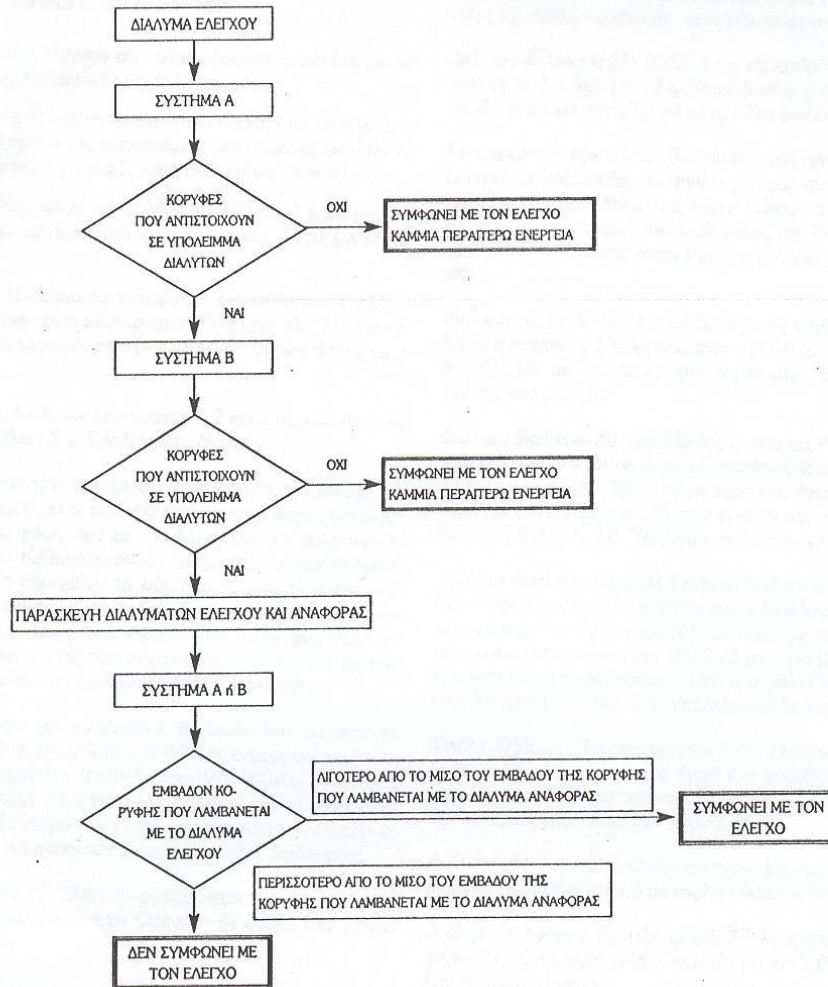
ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (RESIDUAL SOLVENTS) (15)

- Υπολογιστικά : $A = a + b\Delta C$

$$C_x = a/b$$



Διάγραμμα Ροής για Ταυτοποίηση Υπολειμμάτων Διαλυτών και Εφαρμογή Ελέγχου Ορίου



Τέλος



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα

Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων Αθηνών, Μιχαήλ Κουμπάρης 2015, Μιχαήλ Κουμπάρης «Έλεγχος Ποιότητας Φαρμάκων» . Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM105/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

- που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
- που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
- που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

