



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

# Έλεγχος Ποιότητας Φαρμάκων

Ενότητα 5: Έλεγχος περιεκτικότητας πρώτων υλών

Κουμπάρης Μιχαήλ  
Τμήμα Χημείας  
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (1)

- Αποτελεί το ουσιωδέστερο τμήμα του ελέγχου.
- Διαπιστώνεται εάν η πρώτη ύλη περιέχει το δραστικό συστατικό σύμφωνα με τις προδιαγραφές της μονογραφίας.
- Εάν η περιεκτικότητα της πρώτης ύλης σε φάρμακο είναι εκτός των ορίων, σημαίνει ότι η καθαρότητα της πρώτης ύλης δεν είναι αποδεκτή ή ότι έχει επέλθει διάσπαση του φαρμάκου.
- Ο ποσοτικός προσδιορισμός των φαρμάκων σε πρώτες ύλες γίνεται με διάφορες τεχνικές, ανάλογα του είδους του χημικού συστατικού. Έτσι χρησιμοποιούνται τόσο, ογκομετρικές, όσο και ενόργανες τεχνικές.



## ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (2)

- Κατά την επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου για τον έλεγχο περιεκτικότητας λαμβάνονται υπόψη:
  1. Ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου (υπερτερούν οι ογκομετρικές μέθοδοι).
  2. Η απαίτηση για την ύπαρξη ουσιών αναφοράς (ΧΟΑ).
- Οι ενόργανες τεχνικές απαιτούν συνήθως την ύπαρξη ουσιών ΧΟΑ για την παρασκευή διαλυμάτων αναφοράς.
- Αντιθέτως οι ογκομετρικές μέθοδοι χρησιμοποιούν πρότυπα διαλύματα ογκομετρήσεων που έχουν τιτλοδοτηθεί με λίγα πρότυπα αντιδραστήρια.



## ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (3)

3. Είναι επιθυμητό η μέθοδος ελέγχου περιεκτικότητας να μας δίνει πληροφορίες για όρια συγγενών ουσιών (έλεγχος καθαρότητας).
  - Έτσι τα τελευταία χρόνια άρχισε αντικατάσταση των ογκομετρικών και φασματοφωτομετρικών μεθόδων από μεθόδους HPLC.
4. Η διαλυτότητας της ουσίας σε διαλύτες που απαιτεί η μέθοδος.
  - Τα περισσότερα φάρμακα είναι αδιάλυτα στο νερό και έχουν ασθενή όξινη ή βασική αντίδραση.
  - Έτσι οι ογκομετρήσεις σε μη υδατικούς διαλύτες είναι πολύ περισσότερες των υδατικών ογκομετρήσεων.



## ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (4)

5. Η ευαισθησία της αναλυτικής μεθόδου δεν είναι κρίσιμο χαρακτηριστικό, αφού στην καθαρή πρώτη ύλη δεν υπάρχει πρόβλημα συγκεντρώσεων.
- Αντιθέτως δεν είναι επιθυμητή μια εκτεταμένη σειρά αραιώσεων όταν χρησιμοποιούνται πολύ ευαίσθητες μέθοδοι.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (5)

- Οι κατ' εξοχήν χρησιμοποιούμενες τεχνικές είναι :
  1. Μη υδατικές ογκομετρήσεις
  2. Υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης
  3. Φασματοφωτομετρία υπεριώδους
  4. Υδατικές ογκομετρήσεις διαφόρων τύπων
  5. Φασματοφωτομετρία ορατού μετά από χαρακτηριστικές αντιδράσεις
  6. Αεριοχρωματογραφία για πτητικές ουσίες ή ουσίες που μετατρέπονται σε πτητικές
  7. Φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφήσεως για φάρμακα άλατα μετάλλων
  8. Φθορισμομετρία, κλπ.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (6) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (1)

## A) ΒΑΣΕΙΣ

- Η εξεταζόμενη ουσία διαλύεται στον προεξουδετερωμένο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών, όπως ορίζεται στη μονογραφία και ογκομετρείται με  $\text{HClO}_4$  καθορισμένης κανονικότητας.
- Το τελικό σημείο προσδιορίζεται ποτενσιομετρικά ή με χρήση καθορισμένου δείκτη.
- Όταν χρειάζεται, εκτελείται λευκός προσδιορισμός.
- Το βάρος της ουσίας που ζυγίζεται επιλέγεται έτσι, ώστε να έχουμε μικρό σφάλμα ζυγίσεως και ο απαιτούμενος όγκος να είναι 25-35 mL (μικρό σφάλμα ογκομετρήσεως).



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (7)

## ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (2)

- $\text{HClO}_4$  0,1 N ή 0,1 M.
- 8,5 mL πυκνού  $\text{HClO}_4$  + 900 mL παγόμορφο οξεικού οξέος + 30 mL οξεικού ανυδρίτη, αραιώνονται στα 1000 mL με παγόμορφο οξεικό οξύ.
- Προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε  $\text{H}_2\text{O}$  και ρυθμίζεται να είναι μεταξύ 0,1-0,2%, με προσθήκη οξεικού ανυδρίτη ή νερού.
- Τιτλοδότηση: με πρότυπο όξινο φθαλικό κάλιο.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (8)

## ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (3)

- Σε άνυδρο οξικό οξύ.
- Δείκτης κρυσταλλικό ιώδες.
- 1 mL 0,1 N  $\text{HClO}_4$  (0,1 mmol ή 0,1 meq)  $\equiv$  20,42 mg KHP.
- Σημειώνεται η θερμοκρασία του διαλύματος  $\text{HClO}_4$  κατά την τιτλοδότηση.
- Εάν η θερμοκρασία του ποσοτικού προσδιορισμού είναι διαφορετική, απαιτείται διόρθωση του όγκου που καταναλώθηκε κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό:

$$V_c = V[1 + (t_1 - t_2)0,0011]$$

$t_1$  = θερμοκρασία τιτλοδοτήσεως

$t_2$  = θερμοκρασία ποσοτικού προσδιορισμού



# Αντίδραση Τιτλοδότησης $\text{HClO}_4^-$ με Πρότυπη Ουσία $\text{KHP}$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (9)

## ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (4)

- Αραιότερα πρότυπα με αραιώση: 0,0500 N, 0,0200 N
- Ποτενσιομετρική ογκομέτρηση
- Παρακολουθείται το pH ή το E ηλεκτροδίων υάλου-καλομέλανα ή υάλου-Ag/AgCl
- Γραφική εύρεση Τ.Σ. ή αυτομάτως με μέθοδο παραγώγων
- Παράδειγμα μη υδατικής ογκομετρήσεως βάσεως
- Πενικιλλαμίνη ( $M_r = 149,2$ )

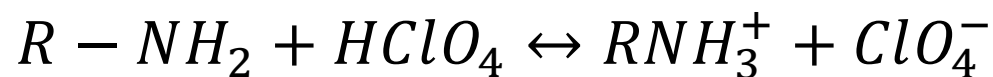


# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (10)

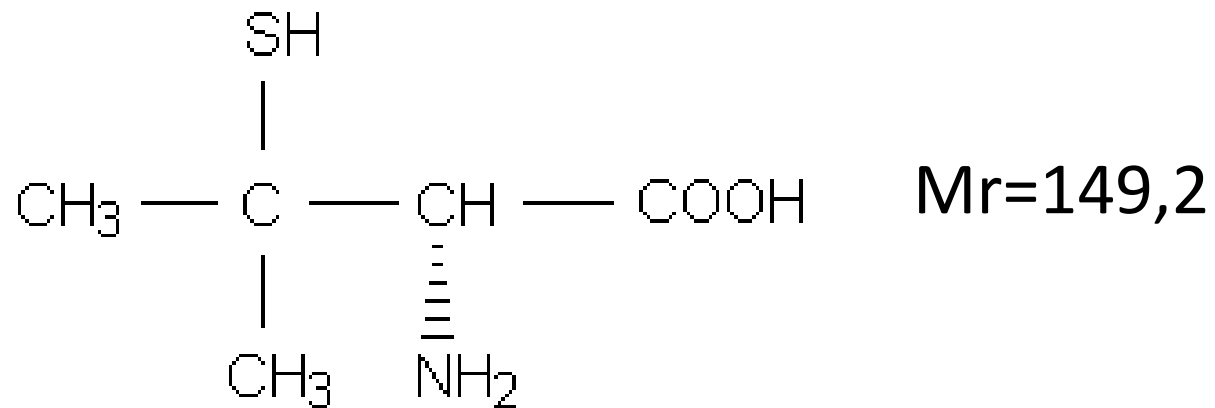
## ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (5)

- 0,1000 g ουσίας διαλύεται σε 30 mL παγόμορφου οξικού οξέος.
- Εκτελείται μη υδατική ογκομέτρηση βάσεων με 0,1 N HClO<sub>4</sub>, προσδιορίζοντας το τελικό σημείο ποτενσιομετρικά.
- 1 mL 0,1 N HClO<sub>4</sub> αντιστοιχεί σε 14,92 mg πενικιλλαμίνης.
- Εάν το HClO<sub>4</sub> δεν είναι 0,1 N, χρησιμοποιείται συντελεστής διορθώσεως:

$$F = (N_{\text{πραγμ}}/0,1N)$$



# Πενικιλλαμίνη



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (11)

## ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (6)

### Μη υδατική ογκομέτρηση αλογονούχων αλάτων οργανικών βάσεων

- Στο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών, που καθορίζονται στη μονογραφία, προστίθεται καθορισμένος όγκος διαλύματος  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Hg}$ .
- Το διάλυμα εξουδετερώνεται και στη συνέχεια, αφού διαλυθεί η καθορισμένη ποσότητα της εξεταζόμενης ουσίας, ογκομετρείται με  $\text{HClO}_4$  καθορισμένης κανονικότητας.
- Το Τ.Σ. προσδιορίζεται ποτενσιομετρικά ή με καθορισμένο δείκτη.
- Όταν χρειάζεται εκτελείται τυφλός προσδιορισμός.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (12) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (7)

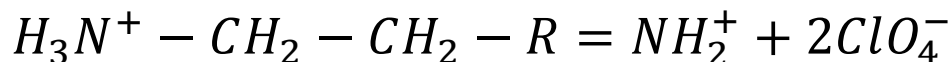
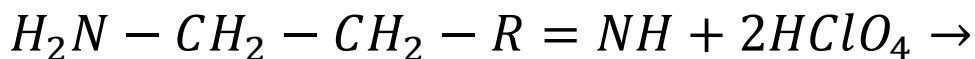
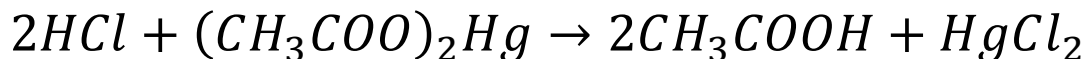
## Παράδειγμα:

Προσδιορισμός Ισταμίνης Διυδροχλωρικής (Mr 184,1)

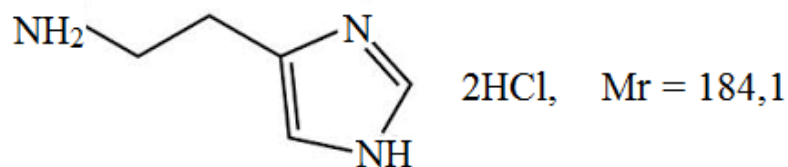


- 80,0 mg ουσίας διαλύονται σε 5 mL άνυδρου HCOOH. Προστίθενται 20 mL άνυδρου οξικού οξέος και 6 mL διαλύματος (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Hg.
- Εκτελείται μη υδατική ογκομέτρηση αλογονούχων αλάτων οργανικών βάσεων, ογκομετρώντας με 0,1 N HClO<sub>4</sub>.
- Το Τ.Σ. προσδιορίζεται ποτενσιομετρικά.
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός.

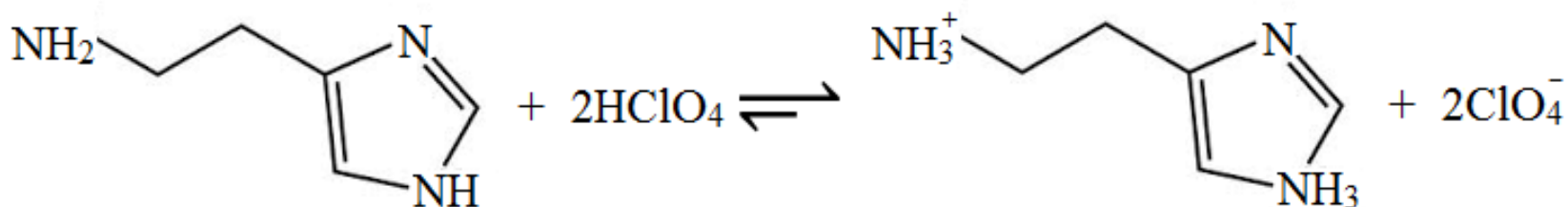
1 mL 0,1 N HClO<sub>4</sub> ≡ 9,203 mg ισταμ. υδροχλωρ.



# Προσδιορισμός Ισταμίνης Διυδροχλωρικής



Ισταμίνη διυδροχλωρική





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (13) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (8)

## Μη υδατική ογκομέτρηση οργανικών οξέων

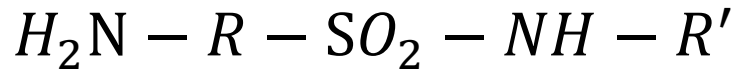
- Η εξεταζόμενη ουσία διαλύεται στον προεξουδετερωμένο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών, που καθορίζονται στη μονογραφία, σε κλειστό δοχείο ή σε ατμόσφαιρα χωρίς διοξείδιο του άνθρακα και υγρασία.
- Γίνεται ογκομέτρηση με την καθορισμένη βάση.
- Το Τ.Σ. προσδιορίζεται ποτενσιομετρικά ή με καθορισμένο δείκτη.
- Όταν χρειάζεται, εκτελείται τυφλός προσδιορισμός.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (14) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (9)

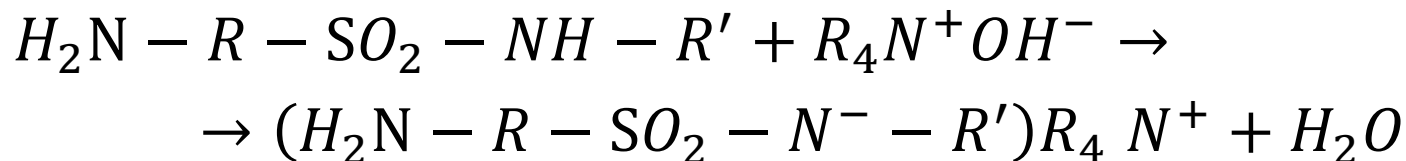
## Παραδείγματα

### Προσδιορισμός Σουλφαμεθοξαζολίου (Mr 253,3)



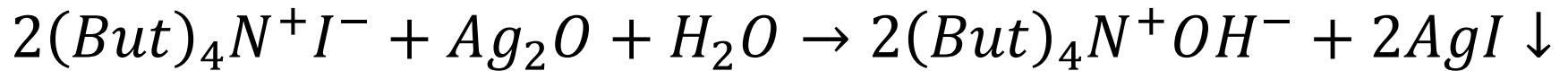
- 0,500 g ουσίας διαλύονται σε 50 mL ακετόνης.
- Εκτελείται μη υδατική ογκομέτρηση οργανικών οξέων, χρησιμοποιώντας ως δείκτη διάλυμα κυανού της θυμόλης (0,3% σε μεθανόλη) και ογκομετρείται με 0,1 N υδροξείδιο τετραβουτυλαμμωνίου.

1 mL 0,1 N  $\equiv$  25,33 mg σουλφαμεθοξαζόλιο



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (15) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (10)

## Υδροξείδιο τετραβουτυλαμμωνίου

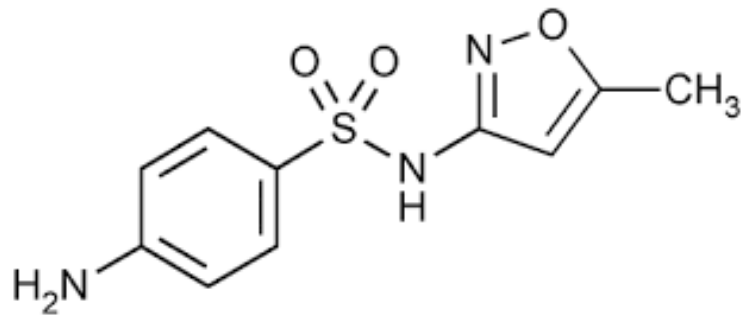


(σε άνυδρη μεθανόλη)

- Τιτλοδοτείται με βενζοϊκό οξύ και δείκτη κυανούν θυμόλης.



# Σουλφαμεθοξαζόλιο



Mr = 253,3

Σουλφαμεθοξαζόλιο



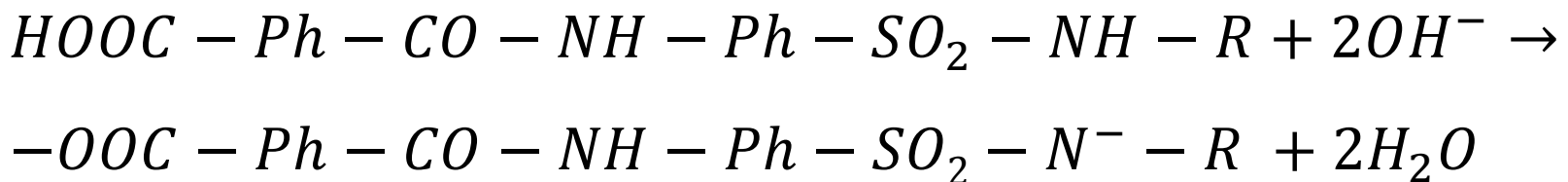
# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (16) ΜΗ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (11)

Προσδιορισμός Φθαλυλοσουλφαθειαζολίου (Mr 403,4)

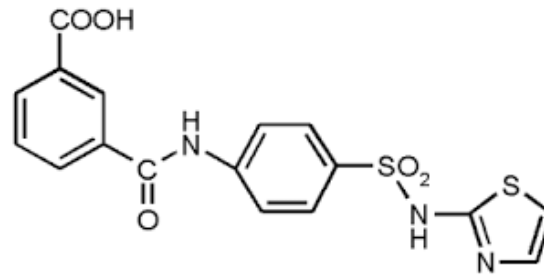


- 0,300 g ουσίας διαλύονται σε 40 mL διμεθυλοφορμαμίδιου.
- Το διάλυμα ογκομετρείται με 0,1 N NaOH χρησιμοποιώντας ως δείκτη 0,2 mL διαλύματος θυμολοφθαλεΐνης.
- Το χρώμα στο τελικό σημείο γίνεται κυανό.
- Εκτελείται τυφλός προσδιορισμός.

$1\text{mL NaOH} \equiv 20,17\text{mg}$  φαρμάκου

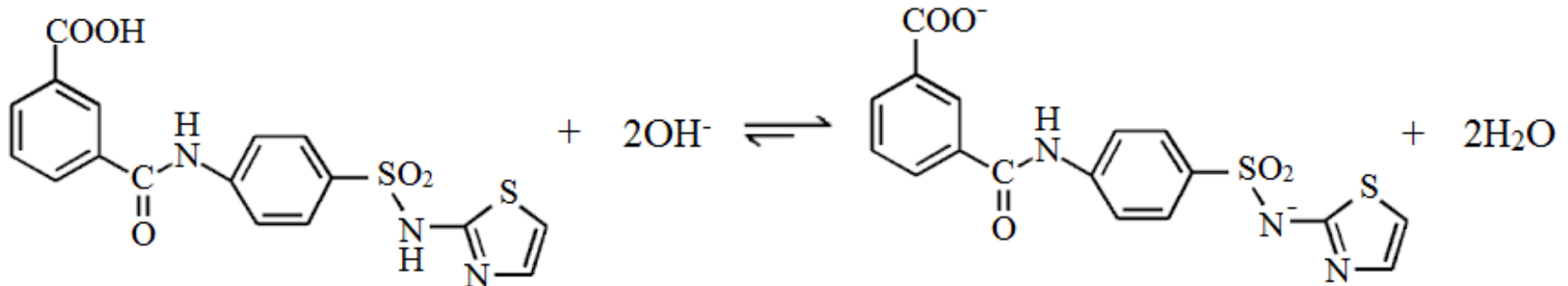


# Προσδιορισμός Φθαλυσουλφαθειαζολίου



Mr = 403,4

Φθαλυσουλφαθειαζόλιο



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (17)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (1)

- Αποτελεί σήμερα την τεχνική επιλογής γιατί εκτός από τον έλεγχο περιεκτικότητας παρέχει πληροφορίες για τον έλεγχο καθαρότητας (συγγενείς ουσίες, προσμείξεις, προϊόντα διασπάσεως).
- Αρχή: Τεχνική διαχωρισμού, στην οποία η κινητή φάση είναι υγρό και η στατική φάση, που περιέχεται στη στήλη, είναι, είτε λεπτά διαμερισμένο στερεό ή υγρό, επιστρωμένο σε στερεό υπόστρωμα, είτε στρεό υπόστρωμα χημικά τροποποιημένο με εισαγωγή οργανικών ομάδων.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (18)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (2)

**Μηχανισμοί:** Προσρόφηση, κατανομή, ιονανταλλαγή, αποκλεισμός κατά μέγεθος ή χημική συγγένεια.

### **Συσκευή HPLC**

- Σύστημα άντλησης (αντλία υψηλής πίεσεως)
  - Σύστημα εισαγωγής (σύριγγα ή βαλβίδα εγχύσεως)
  - Στήλη χρωματογραφίας
  - Ανιχνευτής
  - Καταγραφέας- Ολοκληρωτής.
- Η κινητή φάση διοχετεύεται, συνήθως, υπό πίεση από ένα ή περισσότερα δοχεία, ρέει μέσω της στήλης με σταθερή ταχύτητα, και στη συνέχεια διέρχεται από τον ανιχνευτή.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (19)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (3)

**Θερμοκρασία:** της χρωματογραφικής στήλης διατηρείται σταθερή (θερμοκρασία δωματίου ή θερμοστατικός μανδύας).

**Σύσταση κινητής φάσης:** είναι είτε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της χρωματογραφικής διαδικασίας (ισοκρατική έκλυση) ή μεταβάλλεται με ορισμένο πρόγραμμα (**βαθμιδωτή έκλυση, gradient**).



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (20)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (4)

**Ανιχνευτής:** Πρέπει να έχει τη δυνατότητα να προσδιορίζει τις συγκεντρώσεις (ποσότητες) των ουσιών που περιέχονται στο εκλουόμενο από τη στήλη υγρό.

Συνηθέστεροι τύποι ανιχνευτών:

- Φασματοφωτομετρικός (UV-ορατού)
- Διαφορικός ανιχνευτής δείκτη διαθλάσεως
- Φθορισμομετρικός
- Ηλεκτροχημικός (αμπερομετρικός)
- Φασματοφωτόμετρο μαζών (LC-MS)
- Χημειοφωταυγειομετρικός (με μετά στήλη αντιδραστήρα)



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (21)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (5)

### Μέθοδος

- Η στήλη αφήνεται για εξισορρόπηση με την καθορισμένη από τη μονογραφία κινητή φάση.
- Παρασκευάζονται το διάλυμα της εξεταζόμενης ουσίας και το διάλυμα ή διαλύματα αναφοράς, σύμφωνα με τη σχετική μονογραφία.
- Τα διαλύματα δεν πρέπει να περιέχουν στερεά σωματίδια (διήθηση από ηθμούς) και οι διαλύτες πρέπει να μην περιέχουν αέρα (απαέρωση με διαβίβαση ηλίου ή διήθηση υπό κενό).
- Χρησιμοποιώντας τα διαλύματα αναφοράς καθορίζονται οι αναγκαίες ρυθμίσεις στο όργανο, καθώς και οι απαιτούμενες ποσότητες δείγματος, ώστε να ληφθεί ικανοποιητική απόκριση (π.χ. το 50% της πλήρους κλίμακας, Full Scale (FS)).



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (22)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (6)

### Έλεγχος ποιότητας μεθόδου:

- Γίνονται διαδοχικές ενέσεις του ιδίου διαλύματος (προτύπου) για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας (RSD).
- Αν χρειάζεται, προσδιορίζεται ο αριθμός θεωρητικών πλακών (n) από δεδομένα με ισοκρατικές συνθήκες.

$$n = 5,54 \left( \frac{t_R}{b_{0,5}} \right)^2$$

$t_R$  = απόσταση σε mm κατά μήκος γραμμής βάσεως, μεταξύ σημείου ένεσης και της κατακόρυφης που άγεται από το μέγιστο της εξεταζόμενης ουσίας (χρόνος συγκρατήσεως ή ανασχέσεως).

$b_{0,5}$  = ημιεύρος κορυφής, σε mm.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (23)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (7)

- Αν απαιτείται, προσδιορίζεται ο παράγοντας συμμετρίας

$$\text{Παράγοντας συμμετρίας} = \frac{b_{0,5}}{2a}$$

$b_{0,05}$ : εύρος κορυφής στο 1/20 του ύψους της

$a$ : απόσταση κατακόρυφης που άγεται από το μέγιστο της κορυφής και της ανιούσας πλευράς στο 1/20 του ύψους της.

- Εάν ο παράγοντας συμμετρίας είναι 0,80-1,20, η κορυφή θεωρείται ικανοποιητικά συμμετρική και μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα **ΥΨΗ ΤΩΝ ΚΟΡΥΦΩΝ** για τους υπολογισμούς.
- Εάν είναι ασύμμετρη η κορυφή, υποχρεωτικά μετρείται το εμβαδόν της κορυφής με τον ολοκληρωτή.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (24) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (8)

## Αριθμός θεωρητικών πλακών ασύμμετρης κορυφής

$b_{0,1} = a + b$  ( εύρος κορυφής στο 1/10 του ύψους)

$$n = 41,7 \frac{t_R / b_{0,1}}{a/b + 1,25}$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (25)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (9)

### Εκτέλεση προσδιορισμού

- Ενίονται τα διαλύματα και καταγράφονται τα σχετικά καταγραφήματα.
- Γίνονται διαδοχικές ενέσεις του ίδιου διαλύματος, ώστε να διαπιστωθεί η επαναληψιμότητα του σήματος.
- Προσδιορίζονται τα εμβαδά των κορυφών ή εναλλακτικά, όταν η τιμή του παράγοντα συμμετρίας είναι 0,80-1,20, τα ύψη των κορυφών.
- Εάν η έκλουση είναι βαθμιδωτή χρησιμοποιείται μόνο το εμβαδόν.
- Όπου χρησιμοποιείται εσωτερικό πρότυπο, πρέπει να διαπιστωθεί ότι δεν υπάρχει κορυφή της εξεταζόμενης ουσίας που να επικαλύπτεται από την αντίστοιχη του εσωτερικού προτύπου.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (26)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (10)

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού δεν είναι αξιόπιστα, παρά μόνον όταν η τιμή του συντελεστή διαχωρισμού,  $R_s$ , για τις εξεταζόμενες κορυφές είναι μεγαλύτερη από 1,0, εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά.

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





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (27)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (11)

- Πολλές φορές απαιτείται προσδιορισμός του λόγου κατανομής μάζας  $D_m$  ή  $k'$ , γνωστού και ως παράγοντα χωρητικότητας, ως μέτρο ελέγχου ποιότητας του προσδιορισμού.

$$D_m = \frac{\text{ποσότητα διαλυμένης στη στατική φάση ουσίας}}{\text{ποσότητα διαλυμένης στην κινητή φάση ουσίας}} = K \frac{V_s}{V_m}$$

$K$  = συντελεστής ισορροπίας κατανομής

$V_s$  = ο όγκος στατικής φάσης

$V_m$  = όγκος κινητής φάσης



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (28)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (12)

- Ο λόγος κατανομής της μάζας ενός συστατικού προσδιορίζεται από το χρωματογράφημα βάσει του παρακάτω τύπου, όπου

$t_R$  = χρόνος συγκρατήσεως συστατικού

$t_m$  = χρόνος εξόδου μη συγκρατούμενου συστατικού

$$D_m = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (29)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (13)

- Επίσης συνήθως απαιτείται ο προσδιορισμός του λόγου σήμα προς θόρυβο ( $S/N$ ), σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο, όπου:

$H$ : ύψος κορυφής προδιαγραφόμενου διαλύματος αναφοράς

$h_{noise}$ : θόρυβος, πάχος γραμμής βάσης που λαμβάνεται από τυφλό και καταγράφεται σε απόσταση 20 φορές το ημιεύρος της κορυφής συμμετρικά από το χρόνο κατακράτησης της κορυφής.

$$S/N = \frac{H}{h_{noise}}$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (30)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (14)

### Υπολογισμοί

- Από τις λαμβανόμενες τιμές εμβαδών κορυφών ή ύψους κορυφών υπολογίζεται η συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού και ακολούθως η περιεκτικότητα της εξεταζόμενης ουσίας στο συστατικό αυτό, σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο, όπου:

$A_x$  : εμβαδόν συστατικού στο διάλυμα ελέγχου

$A_s$  : « « « « αναφοράς

$C_s$  : συγκέντρωση διαλύματος αναφοράς

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



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (31) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (15)

## Χρήση εσωτερικού προτύπου (ΕΠ)

- Η συγκέντρωση του ΕΠ είναι ίδια στο άγνωστο και το πρότυπο.

$$C_x = \frac{A_x / A_{\text{επ},x}}{A_s / A_{\text{επ},s}} \times C_s$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (32)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (16)

Όταν υποδεικνύεται στη μονογραφία, ο προσδιορισμός της % περιεκτικότητας ενός ή περισσοτέρων συστατικών στην εξεταζόμενη ουσία, γίνεται υπολογίζοντας το εμβαδόν της αντίστοιχης κορυφής ή των κορυφών ως εκατοστιαίο κλάσμα της συνολικής επιφάνειας όλων των κορυφών, αφαιρώντας από το σύνολο την επιφάνεια των κορυφών που οφείλονται στους διαλύτες και τα αντιδραστήρια (διαδικασία κανονικοποίησης).

$$\%X = \frac{A_x}{\sum_{i=1}^n A} \times 100$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (33)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (17)

- Η διαδικασία κανονικοποίησης απαιτεί ότι η ευαισθησία του ανιχνευτή είναι η ίδια για όλα τα συστατικά.
- Εάν είναι διαφορετική προσδιορίζεται για κάθε συστατικό ένας εμπειρικός παράγοντας αποκρίσεως  $F$ .
- Συνιστάται η χρήση ενισχυτή με ευρεία περιοχή λειτουργίας, καθώς και αυτόματου ολοκληρωτή.

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



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (34) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (18)

## Παραδείγματα

### Ποσοτικός προσδιορισμός Κεφαλεξίνης

#### **Διαλύματα**

- Διάλυμα ελέγχου: 50,0 mg εξεταζόμενης ουσίας διαλύονται σε νερό και ακολουθεί αραίωση στα 100,0 mL με ίδιο διαλύτη.
- Διάλυμα αναφοράς (α): 50,0 mg κεφαλεξίνης ΧΟΑ διαλύονται σε νερό και ακολουθεί αραίωση στα 100,0 mL με ίδιο διαλύτη (0,500 mg/mL).
- Διάλυμα αναφοράς (β): 10 mg κεφαλεξίνης ΧΟΑ και 10 mg κεφραδίνης ΧΟΑ διαλύονται σε νερό και ακολουθεί αραίωση στα 100,0 mL με ίδιο διαλύτη.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (35)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (19)

### Χρησιμοποιούμενο σύστημα

- Στήλη: μήκους 0,25 m και εσωτερικής διαμέτρου 4,6 mm, που περιέχει οκταδεκυλοσιλιωμένο πήγμα οξειδίου του πυριτίου για χρωματογραφία (5  $\mu\text{m}$  ή 10  $\mu\text{m}$ ).
- Κινητή φάση: με ταχύτητα ροής 1,5 mL/min, μίγμα 2 όγκων μεθανόλης, 5 όγκων ακετονιτριλίου, 10 όγκων διαλύματος  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,36% μ/ο και 83 όγκων νερού (σύστημα αντίστροφης φάσης, δηλ. στατική φάση άπολη, κινητή φάση πολική).
- Ανιχνευτής: φασματοφωτόμετρο ρυθμισμένο στα 254 nm.
- Σύστημα εισαγωγής: τύπου βρόχου, όγκου 20  $\mu\text{L}$ .



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (36) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (20)

**Πορεία:** Εισάγεται το διάλυμα αναφοράς ( $\beta$ ) (0,1 mg/mL κεφαλεξίνη και κεφραδίνη).

- Ρυθμίζεται η ευαισθησία έτσι, ώστε το ύψος των κορυφών να είναι ίσο τουλάχιστον με το ήμισυ της κλίμακας.
- Ο έλεγχος είναι αξιόπιστος μόνον εάν ο συντελεστής διαχωρισμού μεταξύ των κορυφών που αντιστοιχούν στην κεφαλεξίνη και την κεφραδίνη είναι τουλάχιστον 4.

$$R_s \geq 4$$

- Αν είναι μικρότερος ρυθμίζεται η συγκέντρωση του ακετονιτριλίου (του πλέον άπολου συστατικού της κινητής φάσης) στην κινητή φάση.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (37) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (21)

- Γίνονται 6 χωριστές ενέσεις διαλύματος αναφοράς (α) (0,5 mg/mL κεφαλεξίνης).
- Ο έλεγχος είναι αξιόπιστος μόνον όταν η σχετική τυπική απόκλιση των εμβαδών των κορυφών που αντιστοιχεί στην κεφαλεξίνη δεν είναι μεγαλύτερη από 1%.

$$\text{RSD} \leq 1\%$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (38)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (22)

- Στη συνέχεια γίνονται εναλλακτικά ενέσεις του διαλύματος ελέγχου και του διαλύματος αναφοράς (α).
- Υπολογίζεται η εκατοστιαία περιεκτικότητα σε κεφαλεξίνη.

$$C_x = \frac{A_x}{A_s} \times 0,500 \text{ mg/mL}$$

$$\% \text{Κεφαλεξίνη} = \frac{C_x (\text{mg/mL}) \times 100 \text{mL}}{50,0 \text{mg}}$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (39) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (23)

## Παρόμοιοι προσδιορισμοί

- Κεφαδροξίλης (τριυδρική αμοξικιλίνη ως εσωτερικό πρότυπο για έλεγχο)
- Κεφραδίνη (κεφαλεξίνη ως εσωτερικό πρότυπο για έλεγχο)



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (40)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (24)

### Προσδιορισμός Cis- πλατίνης

- Διάλυμα ελέγχου: 50,0 mg εξετ. ουσίας σε 100 mL NaCl 0,9 %
- Διάλυμα αναφοράς: 50,0 mg cis-πλατίνης ΧΟΑ σε 100 mL NaCl 0,9%
- Χρωμ. σύστημα

Στήλη: 0,25 m διαμέτρου 4,6 mm με υλικό πληρώσεως ισχυρά ανιονανταλλακτικό πήγμα οξειδίου του πυριτίου για χρωματογραφία (10 μm).

Κινητή φάση: Ταχύτητα ροής 1,2 mL/min, μίγμα 10 όγκων διαλύματος NaCl 0,9% και 90 όγκοι μεθανόλης.

Ανιχνευτής: φασματοφωτόμετρο ρυθμισμένο στα 220 nm.

Χρησιμοποιείται εισαγωγέας τύπου βρόχου.

Ενίονται ξεχωριστά 20 μL από το διάλυμα ελέγχου και 20 μL από το διάλυμα αναφοράς.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (41)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (25)

### Προσδιορισμός Χοληκαλκιφερόλης

- Διάλυμα ελέγχου: 10,0 mg εξεταζόμενης ουσίας διαλύονται χωρίς θέρμανση σε 10,0 mL τολουολίου και το διάλυμα αραιώνεται στα 100,0 mL με την κινητή φάση.
- Διάλυμα αναφοράς α): 0,100 mg/mL χοληκαλκιφερόλης ΧΟΑ σε διαλύτη όπως διάλυμα ελέγχου.
- Διάλυμα αναφοράς (β): για έλεγχο αξιοπιστίας.  
0,5 g χοληκαλκιφερόλης ΧΟΑ διαλύονται σε 2,0 mL τολουολίου, αραιώνονται στα 10,0 mL με κινητή φάση και θερμαίνεται σε υδρόλουτρο στους 90 °C με κάθετο ψυκτήρα επί 45 min και στη συνέχεια ψύχεται.  
(Με τη θέρμανση παράγονται τα προϊόντα διασπάσεως: προ-χοληκαλκιφερόλη και trans-χοληκαλκιφερόλη).



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (42)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (26)

- Σύστημα: Στήλη 0,25 m, διαμέτρου 4,6 mm με υλικό πληρώσεως κατάλληλο πήγμα οξειδίου του πυριτίου (5  $\mu\text{m}$ -10  $\mu\text{m}$ ).
- Κινητή φάση: 3 όγκοι πεντανόλης και 997 όγκοι εξανίου, ταχύτητα ροής: 2 mL/min.  
(σύστημα κανονικής φάσεως, πολική στατική φάση, άπολη κινητή φάση).
- Ανιχνευτής: φασματοφωτόμετρο,  $\lambda=254$  nm.
- Πορεία:  
Εισάγεται κατάλληλος όγκος διαλύματος αναφοράς ( $\beta$ ) και ρυθμίζεται η ευαισθησία, ώστε η απόκριση για την χοληκαλκιφερόλη να είναι μεγαλύτερη από το 50% της κλίμακας του καταγραφέα (FS).  
Αν τηρηθούν οι προδιαγραφόμενες συνθήκες, οι κατά προσέγγιση σχετικοί χρόνοι κατακράτησης είναι:
  - 0,4 για την προ-χοληκαλκιφερόλη
  - 0,5 για την trans-χοληκαλκιφερόλη
  - 1 για την χοληκαλκιφερόλη





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (43)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (27)

- Σχετική συγκράτηση ή σχετική ανάσχεση ή παράγοντας εκλεκτικότητας ή παράγοντας διαχωριστικότητας.

$$\alpha \text{ ή } r_{B/A} = \frac{t_{R,B}}{t_{R,A}}$$

B= ουσία αναφοράς με  $r = 1$

A= εξεταζόμενη ουσία

- Έτσι, με  $r_{B/A} = 0,4$  ο  $t_R$  της προ-χοληκαλκιφερόλης είναι  $2,5 t_R$  της χοληκαλκιφερόλης.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (44)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (28)

- Η RSD της απόκρισης της χοληκαλκιφερόλης δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 1% και ο συντελεστής διαχωρισμού μεταξύ pro- και trans- χοληκαλκιφερόλης δεν πρέπει να είναι μικρότερος από 1,0.
- Για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός αυτός, ρυθμίζεται, αν είναι απαραίτητο, οι αναλογίες των συστατικών και η ταχύτητα της κινητής φάσης.
- Εισάγεται κατάλληλος όγκος διαλύματος αναφοράς (α) και καταγράφεται το χρωματογράφημα ρυθμίζοντας την ευαισθησία έτσι, ώστε η απόκριση της χοληκαλκιφερόλης να είναι μεγαλύτερη από το 50% FS.
- Εισάγεται και ίσος όγκος του διαλύματος ελέγχου και καταγράφεται το χρωματογράφημα με τον ίδιο τρόπο.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (45)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (29)

- Η % περιεκτικότητα σε χοληκαλκιφερόλη υπολογίζεται από την έκφραση

$$\% \text{περιεκτικότητα} = \frac{m_s (\text{mg})}{m_x (\text{mg})} \times \frac{A_x}{A_s} \times 100$$

$m_x$  = μάζα εξεταζόμενης ουσίας στο διάλυμα ελέγχου σε mg

$m_s$  = μάζα προτύπου ΧΟΑ στο διάλυμα αναφοράς (α) σε mg

$A_x$  = εμβαδόν ή ύψος στο διάλυμα ελέγχου

$A_s$  = εμβαδόν ή ύψος στο διάλυμα αναφοράς



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (46) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (30)

## Παρόμοια μέθοδος για

- Χοληκαλκιφερόλης συμπύκνωμα (ελαιώδης μορφή) σε κατάλληλο φυτικό έλαιο.
- Χοληκαλκιφερόλης συμπύκνωμα (μορφή κόνεως). Διασπορά ελαιώδους διαλύματος σε υπόστρωμα, π.χ. ζελατίνη και υδατάνθρακες).
- Εδώ εισάγεται συντελεστής μετατροπής  $f$  για τον συνυπολογισμό της προ-χοληκαλκιφερόλης.
- Εργοκαλκιφερόλη



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (47)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (31)

### Προσδιορισμός Οξυτετρακυκλίνης

- Διάλυμα ελέγχου: 20,0 mg ουσίας, διάλυση σε 25 mL 0,01 N HCl.
- Διάλυμα αναφοράς (α): 20,0 mg οξυτετρακυκλίνης ΧΟΑ στα 25 mL HCl 0,01 N.
- Διάλυμα αναφοράς (β): 20,0 mg 4-επιοξυτετρακυκλίνης ΧΟΑ σε 25 mL HCl 0,01 N.
- Διάλυμα αναφοράς (γ): 20,0 mg υδροχλ. Τετρακυκλίνης ΧΟΑ σε 25 mL HCl 0,01 N.
- Διάλυμα αναφοράς (δ): 1,5 mL διαλ. αναφοράς (α) + 1,0 mL (β) + 3,0 mL (γ) → 25,0 mL με HCl 0,01 N.
- Διάλυμα αναφοράς (ε): 1,0 mL (β) + 4 mL (γ) → 200 mL με HCl 0,01 N.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (48)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (32)

- Στήλη: 0,25 m, διαμέτρου 4,6 με υλικό πλήρωσης συμπολυμερές στυρολίου-διβινυλοβενζολίου (8-10  $\mu\text{m}$ ). Διατηρείται στους 60  $^{\circ}\text{C}$ .
- Κινητή φάση: ταχύτητα ροής 1,0 mL/min.  
Μίγμα που περιέχει : 2-μεθυλο-2-προπανόλη 6,0% β/ο, 6% ρυθμιστικό φωσφορικών pH 7,4, 5% σε όξινο θειικό τετραβουτυλαμμώνιο pH 7,5 και 1% EDTA, σε νερό.
- Ανιχνευτής: φασματοφωτόμετρο,  $\lambda = 254 \text{ nm}$
- Εισαγωγή δείγματος: 20  $\mu\text{L}$  με βρόχο



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (49)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (33)

### Πορεία:

- Εισάγεται το διάλυμα αναφοράς ( $\delta$ ) (περιέχει τις 3 τετρακυκλίνες), ρυθμίζεται η ευαισθησία, ώστε οι κορυφές να αντιστοιχούν στο ήμισυ της κλίμακας.
- Ο έλεγχος είναι αξιόπιστος αν:
  - Ο συντελεστής διαχωρισμού ( $R_s$ ), μεταξύ πρώτης κορυφής (4-επιοξυτετρακυκλίνη) και δεύτερης (οξυτετρακυκλίνη) είναι  $\geq 4,0$ .
  - Ο συντελεστής διαχωρισμού μεταξύ δεύτερης κορυφής (οξυτετρακυκλίνη) και τρίτης κορυφής (τετρακυκλίνη) είναι  $\geq 5,0$ .
  - Ρυθμίζεται η περιεκτικότητα της κινητής φάσης σε 2-μεθυλο-2-προπανόλη (τροποποιητής, modifier) αν είναι απαραίτητο.
  - Ο παράγων συμμετρίας της δεύτερης κορυφής (οξυτετρακυκλίνη)  $\leq 1,25$ .
- Ενίεται το διάλυμα αναφοράς ( $\alpha$ ) 6 φορές.  
Η RSD της κορυφής οξυτετρακυκλίνης (εμβιδόν)  $\leq 1\%$ .
- Ενίεται εναλλακτικά, το διάλυμα ελέγχου και αναφοράς ( $\alpha$ ) και υπολογίζεται η περιεκτικότητα της οξυτετρακυκλίνης.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (50)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (34)

### Παρόμοια μέθοδος:

- Οξυτετρακυκλίνης υδροχλωρικής, Τετρακυκλίνης, Τετρακυκλίνης υδροχλωρικής,
- Δοξυκυκλίνη υδροχλωρική (ελέγχονται συγχρόνως οι συγγενείς ουσίες: 6-επιδοξυκυκλίνη και μετακυκλίνη)
- Δοξορουβικίνη υδροχλωρική
- Δαουνορουβικίνη υδροχλωρική
- Βιμπλαστίνη θειική (έλεγχος συγγενών ουσιών : βιγκριστίνη)

Μεταξύ αντλίας και σημείου εισόδου τοποθετείται προστατευτική στήλη με υλικό πλήρωσης κατάλληλο πήγμα οξειδίου του πυριτίου.

Εισάγονται χωριστά 10  $\mu\text{L}$  από κάθε διάλυμα και καταγράφονται τα χρωματογραφήματα επί χρόνο τριπλάσιο των χρόνων κατακράτησης της κορυφής της βιμπλαστίνης.

Ο λόγος σήματος προς θόρυβο διαλύματος αναφοράς 0,001 mg/mL είναι  $\geq 5$ .

- Βιγκριστίνη θειική (έλεγχος πρόσμειξης: βιμπλαστίνη)





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (51)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (35)

### Προσδιορισμός Οπίου ακατέργαστου

- Περιέχει μορφίνη > 10,0 %
- Κωδεΐνη > 2,0 % σε αναγωγή σε ξηρανθείσα κόνη.
- Διάλυμα ελέγχου:
- 1,00 g οπίου εν αιωρείται σε 50 mL αλκοόλης 50%, ανάμιξη με υπερήχους, αραίωση στα 100 mL με ίδιο διαλύτη.

Σε 10 mL υπερκείμενου υγρού προστίθενται 5 mL ρυθμιστικού  $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$  pH 9,5, αραίωση στα 25 mL. 20,0 mL μεταφέρονται σε στήλη χρωματογραφίας 150 mm x 30 mm που περιέχει 15 g γης διατόμων. Έκλουση με 2 x 40 mL μίγματος 2-προπανόλης-μεθυλενοχλωρίδιου (15:85).

Το έκλουσμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό κενό στους 40 °C. Το υπόλειμμα διαλύεται σε 25,0 mL κινητής φάσης.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (52)

## Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (36)

- Διάλυμα αναφοράς: 100 mg υδροχ. μορφίνης και 25,0 mg κωδεΐνη διαλύονται στην κινητή φάση και ακολουθεί αραίωση στα 25,0 mL με ίδιο διαλύτη. 10,0 mL αραιώνονται στα 100 mL με κινητή φάση.
- Χρωματογραφικό σύστημα  
**Στήλη**: 0,25 m, διαμέτρου 4,6 mm, υλικό οκτυλοσιλυλιωμένο οξειδίο πυριτίου.  
Προστατευτική στήλη 40x4,6 mm από ίδιο υλικό.  
**Κινητή φάση**: ταχύτητα 1,5 mL/min, μονοϋδρικό επτανοσουλφονικό νάτριο + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pH 3,2 και ακετονιτρίλιο 36% σε νερό.
- Μηχανισμός ζεύγους ιόντων
- Ανιχνευτής: φασματοφωτόμετρο λ=280 nm



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (53) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (37)

Πορεία: Ενίενται κατάλληλοι όγκοι από κάθε διάλυμα:

- Ο έλεγχος είναι αξιόπιστος μόνον εάν ο συντελεστής διαχωρισμού μεταξύ μορφίνης-κωδεΐνης  $\geq 2,5$ .  
Εάν είναι απαραίτητο ρυθμίζεται ο όγκος του ακετονιτριλίου στην κινητή φάση.
- Το διάλυμα αναφοράς ενίεται 6 φορές.
- Το RSD μορφίνης  $< 1,0\%$ .
- Ενίενται εναλλακτικά το διάλυμα ελέγχου και αναφοράς.
- Η % περιεκτικότητα κάθε αλκαλοειδούς υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\% \text{περιεκτικότητα} = \frac{m_s(g)}{m_x(g)} \times \frac{A_x}{A_s} \times \frac{625}{5} \times \frac{100}{100 - h}$$

$h$  = απώλεια κατά ξήρανση %

$625/5$  = περιλαμβάνει τους συντελεστές αραίωσης



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (54) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (38)

**Προσδιορισμός Ινσουλίνης** (χοίρεια ή βόεια ινσουλίνη 95-105 %  
δηλουμένης)

- Στήλη: οκταδεκυλοσιλυλιωμένο οξείδιο πυριτίου.
- Κινητή φάση:
  - A)  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$  σε νερό pH 2,3 με αιθανολαμίνη.  
Διήθηση και απαέρωση με διαβίβαση ηλίου.
  - B) 500 mL A + 500 mL ακετονιτριλίου.
- Έλεγχος διαχωρισμού: ανθρώπινη-χοίρεια ινσουλίνη,  $R_s > 1,2$ .
- Έλεγχος προσμίξεων με μοριακή μάζα μεγαλύτερη από εκείνη της ινσουλίνης : με χρωματογραφία αποκλεισμού κατά μέγεθος.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (55) Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως (39)

## ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΜΕΓΕΘΟΣ

- Για οργανικές κινητές φάσεις η τεχνική είναι γνωστή ως χρωματογραφία διέλευσης μέσω πηκτής, ενώ για υδατικές κινητές φάσεις χρησιμοποιείται ο όρος χρωματογραφία διήθησης μέσω πηκτής.
- Είναι χρωματογραφική τεχνική, η οποία διαχωρίζει μόρια σε διάλυμα σύμφωνα με το μέγεθός τους.
- Το δείγμα εισάγεται σε στήλη που περιέχει ως υλικό πλήρωσεως πήγμα ή πορώδες υλικό και μεταφέρεται από την κινητή φάση δια μέσου της στήλης.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (56)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (1)

### Ορισμός Απορρόφησης

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \frac{P_0}{P}$$

$$T = \text{Διαπερατότητα} = \frac{1}{T}$$

$P_0$  = Ισχύς προσπίπτουσας δέσμης μονοχρωματικής ακτινοβολίας

$P$  = Ισχύς διερχόμενης δέσμης μονοχρωματικής ακτινοβολίας



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (57) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (2)

- Απουσία άλλων φυσικοχημικών επιδράσεων, η μετρούμενη απορρόφηση  $A$  είναι ανάλογη προς το μήκος της οπτικής διαδρομής του φωτός ( $b$ ), καθώς επίσης και προς τη συγκέντρωση ( $c$ ) της ουσίας στο διάλυμα, σύμφωνα με την εξίσωση (νόμος Beer)

$$A = \varepsilon \times b \times C_{mol/L} = a \times b \times C_{g/100mL}$$

$\varepsilon$ : μοριακός συντελεστής απορροφήσεως ή μοριακή απορροφητικότητα, όπου το  $b$  εκφράζεται σε cm και η  $C$  σε mol/L.

$a$ : απορροφητικότητα όταν η  $C$  εκφράζεται σε g/100 mL.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (58)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (3)

- Στον έλεγχο φαρμάκων γίνεται ευρύτατη χρήση της ειδικής απορρόφησης.
- $A_{1cm}^{1\%}$ , δηλαδή της απορρόφησης διαλύματος 1% μ/ο σε κυψελίδα πάχους 1 cm και μετρημένης σε καθορισμένο μήκος κύματος.

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

- Η μέτρηση της απορρόφησης στο αναφερόμενο μήκος κύματος γίνεται στους  $20 \pm 1$  °C, χρησιμοποιώντας κυψελίδες 1 cm, εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (59)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (4)

- Οι μετρήσεις γίνονται με αναφορά στον ίδιο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του διαλύματος ελέγχου, εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά.
- Η απορρόφηση του διαλύτη ως προς τον αέρα στο αναφερόμενο μήκος κύματος πρέπει να μην είναι μεγαλύτερη του 0,4 και κατά προτίμηση μικρότερη του 0,2.
- Όταν σε μία μονογραφία δίνεται μία μοναδική τιμή για τη θέση του μεγίστου απορροφήσεως εννοείται ότι η λαμβανόμενη τιμή δεν πρέπει να διαφέρει περισσότερο από  $\pm 2 \text{ nm}$ .



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (60)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (5)

- **Συσκευή.** Τα φασματοφωτόμετρα, που είναι κατάλληλα για μετρήσεις στην περιοχή UV-Vis, αποτελούνται από οπτικό σύστημα παραγωγής μονοχρωματικής ακτινοβολίας στην περιοχή 200-800 nm και όργανο μέτρησης της απορρόφησης.
- **Έλεγχος μηκών κύματος.** Η κλίμακα των μηκών κύματος ελέγχεται περιοδικά με τη χρησιμοποίηση των μεγίστων απορρόφησης διαλύματος υπερχλωρικού ολμίου (4% μ/ο  $\text{Ho}_2\text{O}_3$  σε διάλυμα 14,1 % μ/ο  $\text{HClO}_4$ ), ή τη γραμμή λυχνίας υδρογόνου ή λυχνίας εκκένωσης δευτερίου ή τις γραμμές τόξου ατμών υδρογόνου (βλέπε πίνακα).
- Η επιτρεπόμενη ανοχή είναι  $\pm 1$  nm για την υπεριώδη περιοχή και  $\pm 3$  nm για την ορατή περιοχή.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (61)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (6)

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,7 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,0 nm (Dβ)
302,25 nm (Hg)	486,1 nm (Hβ)
313,16 nm (Hg)	536,3 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,5 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (62)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (7)

**Έλεγχος απορροφήσεως.** Χρησιμοποιείται διάλυμα διχρωμικού καλίου (60,06 mg  $K_2Cr_2O_7$  σε 1000,0 mL  $H_2SO_4$  0,1 N).

Οι τιμές απορροφήσεως σε κυψελίδα 1 cm πρέπει να είναι οι ακόλουθες:

$\lambda$ (nm)	A	$A_{1cm}^{1\%} = \frac{A}{0,006006\% \mu/o}$	Ανοχή ( $\pm 1,6-1,7$ )
235	0,748	124,5	122,9 - 126,2
257	0,865	144,0	142,4 - 145,7
313	0,292	48,6	47,0 - 50,3
350	0,640	16,6	104,9 – 108,2



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (63) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (8)

## Όριο παράσιτης ακτινοβολίας.

Ανιχνεύεται για δεδομένο μήκος κύματος με κατάλληλους οπτικούς ηθμούς ή διαλύματα. Π.χ. η απορρόφηση διαλύματος KCl 1,2% μ/ο σε κυψελίδα 1 cm, πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 2, στα 200 nm, όταν χρησιμοποιείται νερό στην κυψελίδα αναφοράς.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (64)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (9)

### Διαχωριστική ικανότητα (για ποιοτική ανάλυση)

- Η διαχωριστική ικανότητα του φασματοφωτομέτρου, όταν απαιτείται από τη μονογραφία να ελεγχθεί, ελέγχεται ως εξής:
- Λαμβάνεται το φάσμα διαλύματος τολουολίου 0,02% ο/ο σε εξάνιο.
- Στη μονογραφία ορίζεται η ελάχιστη τιμή του λόγου της απορρόφησης στο  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  269 nm προς την απορρόφηση στο  $\lambda_{\epsilon\lambda\alpha\chi}$  266 nm.

$$\frac{A(\lambda_{\mu\epsilon\gamma=269})}{A(\lambda_{\epsilon\lambda\alpha\chi=266})}$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (65) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (10)

**Εύρος σχισμής (slit)** (για ποσοτική ανάλυση).

- Για την αποφυγή σφαλμάτων οφειλόμενων στο εύρος σχισμής σε περιπτώσεις χρησιμοποίησεως φασματοφωτομέτρου μεταβλητού εύρους σχισμής στο επιλεγόμενο μήκος κύματος, θα πρέπει το εύρος σχισμής να είναι μικρό σχετικά με το ημιεύρος της ταινίας απορρόφησης, αλλά όσο το δυνατόν μεγαλύτερο για να επιτυγχάνεται υψηλή τιμή  $R_0$ .
- Έτσι το εύρος σχισμής ρυθμίζεται ώστε περαιτέρω μείωσή του να μην προκαλεί μεταβολή της λαμβανόμενης απορρόφησης.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (66)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (11)

**Κυψελίδες.** Η ανοχή στην τιμή του μήκους της οπτικής διαδρομής των κυψελίδων είναι  $\pm 0,005$  cm.

- Όταν γεμίζονται με τον ίδιο διαλύτη, οι κυψελίδες, που προορίζονται για το εξεταζόμενο διάλυμα και για το αντισταθμιστικό υγρό, πρέπει να έχουν την ίδια διαπερατότητα.
- Εάν δεν συμβαίνει αυτό, πρέπει να γίνει κατάλληλη ρύθμιση.
- Συνήθως πωλούνται ανά ζεύγη (προσαρμοσμένες, matched).
- Οι κυψελίδες πρέπει να είναι καθαρές και να χρησιμοποιούνται με προσοχή.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (67) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (12)

## Παραδείγματα εφαρμογών στον έλεγχο περιεκτικότητας πρώτων υλών

- Προσδιορισμός Καρβαμαζεπίνης.
- 0,1000 g ουσίας διαλύονται σε μεθανόλη και ακολουθεί αραίωση στα 100,0 mL με τον ίδιο διαλύτη.
- 5,0 mL του διαλύματος αυτού αραιώνονται στα 50,0 mL με μεθανόλη.
- 5,0 mL του τελευταίου διαλύματος αραιώνονται στα 50,0 mL με μεθανόλη και μετρείται η απορρόφηση, στο μέγιστο στα 285 nm.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (68)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (13)

- Η περιεκτικότητα σε  $C_{15}H_{12}N_2O$  υπολογίζεται θεωρώντας την ειδική απορρόφηση ίση με 490.
- Έστω ότι μετρήθηκε απορρόφηση 0,480.  
Να βρεθεί η εκατοστιαία περιεκτικότητα.

$$\begin{aligned}m &\rightarrow 100 \text{ mL } C_A \\5 \text{ mL} &\rightarrow 50,0 \text{ mL } C_B \\5 \text{ mL} &\rightarrow 50,0 \text{ mL } C_\Gamma\end{aligned}$$

$$C_\Gamma = \frac{A}{A_{1cm}^{1\%}} = \frac{0,480}{490} = 0,0009796 \% \beta/o$$

$$C_A = C_\Gamma \times \frac{50 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times \frac{50 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} = 0,09796 \text{ g}/100 \text{ mL}$$

$$\% = \frac{0,09796 \text{ g}}{0,1000 \text{ g}} \times 100 = \mathbf{97,959 \%}$$

(χρήση σημαντικών ψηφίων): = 97,96 = **98,0%**



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (69) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (14)

## Παρόμοιοι προσιδορισμοί

- **Βαρβαρίνη νατριούχος**

διαλύτης: NaOH 0,01 N,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 308,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 431

- **Κυανοκοβαλαμίνη**

διαλύτης: H<sub>2</sub>O,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 361,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 207

- **Δεξαμεθαζόνη νατριοφωσφορική:**

διαλύτης: H<sub>2</sub>O,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 239,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 297

- **Σπειρολακτόνη**

διαλύτης : μεθανόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 238 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 470

- **Μεδροξυπρογεστερόνη οξική**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 241 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 426



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (70)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (15)

- **Χλωραμφαινικόλη**

διαλύτης: νερό,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 241 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 297

- **Χλωραμφαινικόλη παλμιτική**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 271 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 178

- **Χλωραμφαινικόλη νατριοηλεκτρική**

διαλύτης : νερό,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 276 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 220

- **Πρεδνιζολόνη οξική**

διαλύτης αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 243 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 370

- **Πρεδνιζολόνη νατριοφωσφορική**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 247 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 312



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (71)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (16)

- **Πρεδνιζολόνη πιβαλική**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 243 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 337

- **Φθοροκορτιζόνη οξική**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 238,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 395

- **Ριβοφλαβίνη νατριοφωσφορική, Ριβοφλαβίνη**

διαλύτης: νερό-ρυθμιστικό οξικών,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 444 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 328

- **Τριαμκινολόνη**

διαλύτης: αιθανόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 238 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 380

- **Τριαμκινολόνης εξακετονίδιο**

διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 238,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 291



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (72)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (17)

- **Βηταμεθαζόνη βαλερική**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 240 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 325
- **Βηταμεθαζόνη διπροπιονική**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 240 ,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 305
- **Οιστραδιόλη ημιυδρική**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 238,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 335
- **ΡΙφαμπικίνη**  
διαλύτης: αλκοόλη, αραιώση με ρυθμιστικό φωσφορικό pH 7,4  
 $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 475 nm ,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 187
- **Νιτροφουραντοΐνη**  
διαλύτης: διμεθυλοφορμαμίδιο- H<sub>2</sub>O, ρυθμιστικό οξεικών  
 $\lambda_{\text{μεγ}}$  : 367,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 765



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (73)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (18)

- **Οιστραδιόλη βενζοϊκή**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 231,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 500
- **Γρισεοφουλβίνη**  
διαλύτης: αιθανόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 291 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 686
- **Τεστοεστερόνη προπιονική**  
διαλύτης: αιθανόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 241 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 490
- **Μεθυλοτεστοστερόνη**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 241 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 540
- **Προγεστερόνη**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 241 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 535
- **Χλωραμφαινικόλη παλμιτική**  
διαλύτης: αλκοόλη,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 271 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 178
- **Καρβαμαζόλιο**  
διαλύτης:  $\text{H}_2\text{O} - \text{HCl}$ ,  $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$  : 291 nm,  $A^{1\%}_{1\text{cm}}$  : 557



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (74) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (19)

## Προσδιορισμός με χρήση προτύπου

### Προσδιορισμός πριμιδόνης $C_{12}H_{14}N_2O_2$

- 60,0 mg ουσίας διαλύονται με θέρμανση σε 70 mL αλκοόλης, το διάλυμα ψύχεται και αραιώνεται στα 100,0 mL με τον ίδιο διαλύτη.
- Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζεται διάλυμα αναφοράς χρησιμοποιώντας 60,0 mg πριμιδόνης ΧΟΑ.
- Μετρείται η απορρόφηση των δύο διαλυμάτων στο μέγιστο στα 257 nm.
- Η περιεκτικότητα σε  $C_{12}H_{14}N_2O_2$  υπολογίζεται από τις μετρηθείσες απορροφήσεις και τις συγκεντρώσεις των δύο διαλυμάτων.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (75) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (20)

$$A_x = \kappa \times b \times C_x(\text{mg/mL})$$

$$A_s = \kappa \times b \times C_s(\text{mg/mL})$$

$$C_x(\text{mg/mL}) = \frac{A_x}{A_s} C_s(\text{mg/mL})$$

$$\% = \frac{C_{x(\text{mg/mL})} \times \text{Συντελεστής αραίωσης} \times V_{(\text{mL})} \times 100}{m_{(\text{mg})}}$$

Εάν το πρότυπο παρασκευάζεται όπως ακριβώς το άγνωστο (ίδια ποσότητα, ίδιες αραιώσεις)

$$\% = \frac{A_x}{A_s} \times 100$$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (76) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (21)

## Προσδιορισμός Πραζικαντελίου

- Διαλύτης αλκοόλη, παρασκευή διαλύματος αναφοράς.
- Μέτρηση στα 265 nm.

## Προσδιορισμός Τουβοκουραρίνης Χλωριούχου

- Διαλύτης νερό, Παρασκευή προτύπου διαλύματος ουσίας ΧΟΑ,  $\lambda = 280$  nm.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (77) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (22)

## Φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί στο ορατό μετά από αντίδραση προς παραγωγή εγχρώμου προϊόντος

### Βηταμεθαζόνη (17-κετοστεροειδές)

- Αντίδραση με χλωριούχο τριφαινυλοτετραζόλιο σε αλκαλικό περιβάλλον με υδροξείδιο τετραμεθυλαμμωνίου και παραμονή επί 1 h σε 30 °C. Παράγεται έγχρωμη φορμαζάνη από την αναγωγή του τριφαινυλοτετραζολίου.
- Ο προσδιορισμός γίνεται με τη χρήση προτύπων που κατεργάζονται με τον ίδιο τρόπο.
- $\lambda_{\text{μεγ}} = 485 \text{ nm}$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (78) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (23)

## Χλωριούχο τριφαινυλοτετραζόλιο

Οξειδώνει αλδόζες, κετόζες, α-κετόλες, 17-κετοστεροειδή και απλές αλδεΐδες και παρέχει δυσδιάλυτη στο νερό ερυθρή χρωστική, τριφαινυλοφορμαζάνη.

## **Παρόμοιοι προσδιορισμοί**

### Φθοροκινολόνης ακετονίδιο

- Αντίδραση με χλωριούχο τριφαινυλοτετραζόλιο
- $\lambda_{\text{μεγ}} = 485 \text{ nm}$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (79) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (24)

## Τριαμκινολόνης ακετονίδιο

- Αντίδραση με χλωριούχο τριφαινυλοτετραζόλιο
- $\lambda_{\text{μεγ}} = 485 \text{ nm}$

Δεξαμεθαζόνη, Δεξαμεθαζόνη Οξική

Μεθυλοπρεδνιζολόνη, Βεκλομεθαζόνη διπροπιονική

Κορτιζόνη οξική, Δεσοξυκορτόνη οξική

Υδροκορτιζόνη, Πρεδνιζόνη



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (80)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (25)

### Προσδιορισμός Δεσλανοσίδη

- Αντίδραση με αλκαλικό πικρικό νάτριο επί 40 min.
- Μέτρηση στα 484 nm.
- Χρησιμοποίηση προτύπων.

### Προσδιορισμός Λανατοσίδη C: (όπως δεσλανασίδης)

### Προσδιορισμός ρεσερπίνης

- Διάλυση σε αλκοόλη, οξίνιση με  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Προσθήκη  $\text{NaNO}_2$ , θέρμανση στους 55 °C για 35 min. Προσθήκη σουλφαμικού οξέος και μέτρηση στα 388 nm. Παρασκευή προτύπων.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (81) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (26)

## Προσδιορισμός διυδροεργοταμίνης τρυγικής

- Αντίδραση με διμεθυλαμινοβενζαλδεύδη επί 30 min.
- Μέτρηση στα 585 nm.
- Παρασκευή προτύπου και τυφλού.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (82) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (27)

## Αιθαμβουτόλη Υδροχλωρική

- Προσθήκη θειικού χαλκού σε αμμωνιακό διάλυμα.
- Μέτρηση γωνίας οπτικής στροφής στα 436 nm.  
Παρασκευή προτύπου κατά τον ίδιο τρόπο.





# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (83) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (28)

## Προσδιορισμός Διαιθυλοστιλβοιστρόλης

- Παρασκευή διαλυμάτων ελέγχου και προτύπου σε αιθανόλη και προσθήκη υδατικού διαλύματος  $K_2HPO_4$ .
- Ακτινοβόληση των διαλυμάτων με ακτινοβολία βραχέων κυμάτων από λυχνία Hg σε κλειστή κυψελίδα χαλαζία.
- Μέτρηση της μέγιστης επαναλήψιμης απορρόφησης στα 418 nm.



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (84) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (29)

## Προσδιορισμός Ουαβαίνης

- Αντίδραση με αλκαλικό διάλυμα πικρικών.
- Παρασκευή προτύπου διαλύματος και τυφλού.
- Μέτρησης τα 495 nm.

## Προσδιορισμός διγίτοξίνης και διγοξίνης

- Αντίδραση με αλκαλικό διάλυμα πικρικών,
- $\lambda_{\text{μεγ}} = 495 \text{ nm}$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (85) ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (30)

## Προσδιορισμός βιταμίνης Α συνθετικής σε συμπύκνωμα

- Κύριο συστατικό βιταμίνης Α: trans-ρητινόλη, σε προπανόλη-2 απορροφά στα 325 nm.
- Το συμπύκνωμα (εστέρες οξικοί, προπιονικοί, παλμιτικοί) της ρητινόλης σαπωνοποιούνται και η ρητινόλη μετά το διαχωρισμό της μετρείται στα 325 nm.
- Ελέγχεται η καθαρότητα της ρητινόλης με μετρήσεις στα 300, 350, 370 και 325 nm.
- Οι λόγοι  $A_{\lambda}/A_{325}$  πρέπει να είναι μεγαλύτεροι από τις τιμές

0,612

$\lambda = 300 \text{ nm}$

0,452

$\lambda = 350 \text{ nm}$

0,093

$\lambda = 370 \text{ nm}$



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ (86)

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΩΔΟΥΣ (31)

- Η περιεκτικότητα σε βιταμίνη Α σε Διεθνείς Μονάδες ανά g υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\frac{A_{325} \times \Omega \times 1830}{100\mu}$$

$A_{325}$  = απορρόφηση στα 325 nm

$m$  = μάζα του εξετ. σκευάσματος σε g

$V$  = συνολικός όγκος αραιώσεως εκχυλίσματος

1830: συντελεστής μετατροπής  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  ρητινόλης σε Δ.Μ.



# 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.

