



# Luận văn tốt nghiệp

**Nghiên cứu xác định Ciprofloxacin (CIP) trong một số  
dược phẩm bằng phương pháp điện hóa**

## ***L I C M N !***

Sau m t th i gian nghi n c u và h c t p tôi ã hoàn thành lu n v n cao h c c a mình v i tài: “ *Nghi n c u xác nh Ciprofloxacin (CIP) trong m t s d c ph m b ng ph ng pháp i n hóa*” đ i s h ng đ n ch b o c a **PGS. TS Hoàng Th Tín** và các th y cô, anh ch , các b n trong b môn Hóa phân tích.

V i lòng kính tr ng và bi t n sâu s c tôi xin chân thành c m n **PGS. TS Hoàng Th Tín** ng i ã giao tài và t n tình ch đ n tôi trong quá trình hoàn thành lu n v n.

Tôi c ng xin g i l i c m n chân thành t i các th y cô, anh ch và các b n trong b môn hóa phân tích, l p cao h c K18 ã t o i u ki n, giúp tôi trong th i gian th c hi n tài.

Trong quá trình th c hi n khóa lu n, tuy ã n l c và c g ng h t s c nh ng không trách kh i nh ng thi u sót kính mong ý ki n ch b o, phê bình c a quý th y cô.

Xin chân thành c m n!

*Hà N i, tháng 11 n m 2009*

H c viên

**Nguy n Thu Th y**

## M C L C

<b>M</b>	<b>U</b>	<b>4</b>
<b>CH</b>	<b>NG 1 - T NG QUAN</b>	<b>6</b>
1.1	Khái quát v h quinolone	6
1.2	Tính ch t Ciprofloxacin.	8
1.2.1	c i m và tính ch t v t lí c a CIP	8
1.2.2	Tính ch t d c h c	8
1.2.2.1	D c l c	9
1.2.2.2	D c ng l c	9
1.2.3	Vai trò và ng d ng c a CIP	10
1.2.4	S t ng tác c a CIP v i các lo i thu c	13
1.3	M t s ph ng pháp xác nh h quinolone.	14
1.3.1	Ph ng pháp i n hóa	15
1.3.2	Ph ng pháp tr c quang	19
1.3.3	Ph ng pháp s c kí l ng hi u n ng cao (HPLC)	20
1.4	ng d ng c a ph ng pháp i n hóa trong nh l ng d c ph m.	21
1.5	Xác nh CIP b ng ph ng pháp i n hóa	23
1.5.1	Xác nh ciprofloxacin b ng i n c c r n	23
1.5.2	Xác nh ciprofloxacin b ng i n c c gi t th y ngân	24
1.5.3	Xác nh ciprofloxacin b ng i n c c ch n l c ion	24
1.6	Xác nh CIP b ng ph ng pháp tr c quang	25
<b>TH</b>	<b>C NGHI M</b>	<b>27</b>
	Hóa ch t, d ng c , thi t b .	27
<b>CH</b>	<b>NG 2 – KH O SÁT CÁC I U KI N XÁC NH CIP</b>	<b>30</b>
2.1	Kh o sát s xu t hi n peak c a CIP	30
2.1.1	S xu t hi n peak c a CIP	30
2.1.2	Kh o sát các k thu t quét	31
2.2	Kh o sát thành ph n n n	34
2.2.1	Kh o sát pH	35

2.2.2	Kh o sát các lo i m pH = 3.8 – 4,0	39
2.2.3	Kh o sát n ng c a m axetat pH = 3,8	44
2.3	Kh o sát các thông s máy	46
2.3.1	Kh o sát th h p ph	46
2.3.2	Kh o sát th i gian h p ph	47
2.3.3	Kh o sát th i gian cân b ng	49
2.3.4	Kh o sát t c khu y	51
2.3.5	Kh o sát biên xung	52
2.3.6	Kh o sát t n s	54
2.3.7	Kh o sát th i gian s c khí	55
2.3.8	Kh o sát b c th	56
2.4	L p ng chu n xác nh CIP	58
2.5	Kh o sát l p l i.	62
<b>CH NG 3 – K T QU XÁC NH CIP TRONG M U VÀ TH O LU N</b>		
3.1	Xác nh CIP trên m u thu c b ng ph ng pháp i n hóa	64
3.1.1	Phá m u và chu n b m u o	64
3.1.2	Xác nh CIP trong m u thu c r n SPM	65
3.1.3	Xác nh CIP trong m u thu c r n Ind	69
3.1.4	Xác nh CIP trong m u thu c nh m t ED	71
3.2	L p ng chu n xác nh CIP b ng ph ng pháp tr c quang	74
3.3	Xác nh CIP trong m u thu c b ng ph ng pháp tr c quang	77
3.3.1	Xác nh CIP trong m u thu c r n SPM	78
3.3.2	Xác nh CIP trong m u thu c r n Ind	81
3.3.3	Xác nh CIP trong m u thu c nh m t ED	84
3.4	Ki m ch ng các k t qu xác nh CIP b ng hai ph ng pháp.	87
3.5	H ng phát tri n c a tài	88
<b>K T LU N</b>		<b>89</b>
Tài li u tham kh o		90

## M U

Ra i t nh ng n m 1970, là ph ng pháp có nh y cao, nh l ng c n ng các ch t trong kho ng t  $10^{-7} - 10^{-8}$  M ph ng pháp i n hóa hòa tan xác nh c r t nhi u các kim lo i và c bi t có th xác nh cùng lúc nhi u ch t mà không ph i ti n hành tách hay che. Trong các ph ng pháp i n hóa hòa tan, ph ng pháp von-ampe hòa tan có nh y cao, k thu t phân tích không quá ph c t p, máy móc thi t b ph bi n trong các phòng thí nghi m l i không quá t ti n, có l p và chính xác cao. M t trong nh ng ng d ng chính c a ph ng pháp này là: phân tích môi tr ng, phân tích lâm sàng, phân tích th c ph m. c bi t là h ng ng d ng m i trong phân tích d c ph m, thu c sinh h c b ng ph ng pháp von-ampe hòa tan h p ph . Do s l ng l n các h p ch t h u c g m các ch t sinh h c, d c h c u có tính ch t ho t ng b m t t t nên ây là i u ki n thu n l i h p ph làm giàu chúng lên b m t các i n c c. Gi i h n phát hi n r t th p t  $10^{-6}$  n  $10^{-10}$  M. Quá trình này ng d ng r t thành công trong vi c nh l ng l i các lo i thu c, d c ph m t ó m r ng vào vi c xác nh các m u sinh h c c a ng i, quá trình xét nghi m các m u b nh ph m.

Tính n nh ng n m 70 ng i ta ã xác nh r t nhi u các lo i d c ph m khác nhau ch a nhóm sunfonamide và nitro, các lo i này thu c h n 10 nhóm khác nhau ã c th ng kê [24]. T n m 1998 cho n nay r t nhi u các lo i d c ph m ã phân tích c b ng ph ng pháp i n hóa nh các lo i vitamin, thu c kháng sinh, mocphin, các h thu c  $\beta$  - lactam, quinolone...

Tuy quá trình ng d ng phân tích i n hóa vào phân tích thu c và m u sinh h c ã c làm nhi u trên th gi i nh ng Vi t Nam v n còn t ng i m i m , ch a có nhi u công trình v l nh v c này, trong lu n v n này chúng tôi ch đ ng l i vi c xác nh m t ch t trong thu c kháng sinh và nh l ng trên m t s m u thu c th t. Có nhi u lo i kháng sinh c bi t các ch t thu c h  $\beta$  - lactam1, cefa.... khá ph bi n song trong lu n v n này chúng tôi ch n ch t nghi n c u là Ciprofloxacin (CIP) thu c h quinolone. Do có c ch tác ng c bi t, Ciprofloxacin không b

kháng sinh song v i các kháng sinh khác không thu c nhóm c ch men gyrase c a vi khu n. Vì v y, Ciprofloxacin có hi u l c cao ch ng l i nh ng vi khu n kháng các lo i kháng sinh nh aminoglycoside, penicillin, cephalosporin, tetracycline và các kháng sinh khác. Nó c nhi u ng i dùng nh m t lo i thu c u tay, do ó vi c nh l ng l i các lo i thu c ch a h p ch t này c a các c s s n xu t khá a d ng hi n nay là i u r t c n thi t m b o s an toàn c ng nh tính kinh t cho ng i tiêu dùng và s n xu t. Trên c s xác nh CIP trên m u thu c b ng ph ng pháp i n hóa t ó có th m r ng xác nh CIP trong các m u huy t t ng, n c ti u, máu c a ng i dùng thu c.

Chính vì nh ng lí do ó mà tôi ch n tài nghiên c u c a mình là:

***Nghiên c u xác nh Ciprofloxacin (CIP) trong m t s d c ph m b ng ph ng pháp i n hóa.***

Trong tài này, tôi s d ng ph ng pháp vol – ampe hòa tan h p ph trên i n c c gi t th y ngân treo, k thu t quét sóng vuông xác nh CIP trong n n m axetat pH=4.

## CHƯƠNG I - TỔNG QUAN

### 1.1 Khái quát về họ quinolone [14, 31].

Sự phát triển của các loại kháng sinh không ngừng phát triển và đa dạng, trong đây nổi bật sự ra đời của Trimethoprim – sulphamethoxazole (TMP - SMX) như một “kháng sinh vàng” trong các liệu pháp điều trị thì hiện nay sự phát triển của các fluoroquinolones hay các quinolone đã thay thế, và họ kháng sinh này luôn đứng đầu trong các liệu pháp điều trị. Fluoroquinolones xuất hiện đầu tiên với sự ra đời của norfloxacin vào năm 1984, đã chứng minh là có hiệu lực kháng sinh cao và tác dụng điều trị nhanh hơn các loại kháng sinh khác. Một nghiên cứu đã thống kê ra có 7 loại fluoroquinolones cơ sở đáng chú ý là levofloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, lemovofloxacin, ofloxacin, norfloxacin và enoxacin trong đó 3 loại đầu là phổ biến nhất.

Fluoroquinolones là nhóm thuốc điều trị hàng đầu cho những bệnh nhân bị kháng thuốc của sulfonamide và TMP cùng với nhóm bệnh nhân kháng TMP – SMX. Nghiên cứu gần đây nhất về các loại fluoroquinolone gần đây bao gồm norfloxacin, ciprofloxacin, enoxacin và lomefloxacin có liên hệ với việc điều trị các hoạt động có giá trị (liên quan đến gam – âm, gam – dương của sinh vật) và có hiệu quả điều trị những bệnh lý liên quan đến kháng khuẩn tự nhiên cao. Nói chung chúng có khả năng chống lại các vi khuẩn như thuốc với các loại  $\beta$  - lactam và aminoglycoside. Một số loại fluoroquinolones mới trong đó có CIP còn chống lại các vi khuẩn gam – dương.

Tất cả các quinolones đều phân giải qua liên kết với các hợp chất cation của liên kết cộng hóa trị với cation Al, Mg trong chất làm giảm axit trong dạ dày hay các sản phẩm của Ca, Fe hay Zn. Vì cơ sở đáng chú ý của các quinolones với các hợp chất cation của liên kết cộng hóa trị sản phẩm kết quả là phần lớn gây tác dụng sinh học đáng kể đối với sinh vật.

Về mặt tính phân giải, độ hòa tan và hiệu quả kinh tế thì các loại quinolones trong

quá trình i u tr . Danh sách c p b ng 1 ch ra 12 quinolones ã b ng ng s n xu t và phát tri n do các c tính nguy hi m c a chúng.

STT	Floroquinolones	N m <sup>a</sup>	Lí do chính gi i h n ho c thu h i
1	Enoxacin	1985	Gây ki m hãm v i cytochrome p450
2	Pefloxacin	1985	Gây các b nh v dây ch ng, gân và có c tính quang h c (ng i b nh có bi u hi n ph n ng v i ánh sáng)...
3	Fleroxacin	1990	Có c tính quang h c, nh h ng h th n kinh trung ng.
4	Sitafloxacin	1991	Có c tính quang h c.
5	Temafloxacin <sup>b</sup>	1992	Gây h i ch ng Hemolytic uremic
6	Lomefloxacin	1993	Có c tính quang h c
7	BAY_3118 <sup>b</sup>	1993	Có c tính quang h c
8	Sparfloxacin	1994	Có c tính quang h c.
9	Tosufloxacin	1996	Gây ngh n m ch máu, nh h ng h th n.
10	Trovafloxacin <sup>b</sup>	1999	Gây th ng t n cho gan, nh h ng h th n kinh trung ng (nh au u nh ).
11	Grepafloxacin <sup>b</sup>	1999	Ch ng lo n nh p tim, gây bu n nôn.
12	Clinafloxacin <sup>b</sup>	1999	Có c tính quang h c, làm gi m ng huy t và ki m hãm cytochrome p450.

a : N m quy t nh ng ng s n xu t và thu h i các quinolones.

b : Ng ng ti p t c phát tri n và thu h i trên th tr ng sau khi ban b .

*B ng 1. 12 floroquinolones s d ng lâu dài gây nh h ng c h i n con ng i ã b ng ng phát tri n và s n xu t.*

Có c m gác bu n nôn, b nôn, b tiêu ch y và các ph n ng khác ng ru t là các tri u ch ng ph th ng th y nh t các b nh nhân dùng quinolones, c bi t là ba lo i Levofloxacin, moxifloxacin và gatifloxacin. Sau ó n các ph n ng v ng c th n kinh, ây là d u hi u r t quan tr ng phân bi t s ph n ng nh c a h

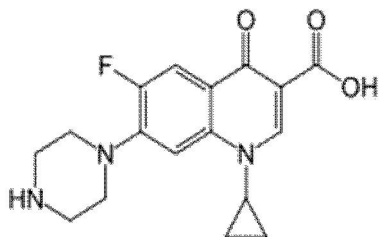


thần kinh trung ương hay các phần ngoại vi của hệ thần kinh trung ương. Các triệu chứng lâm sàng của bệnh này thường gặp là đau đầu, chóng mặt, hoa mắt, chóng mặt, mất ngủ hay mệt mỏi ... fleroxacin cũng thường gây nên các tác dụng phụ này như trên. Ngoài ra một số tác dụng phụ khác của các loại quinolones như gây nhức nhối lên hệ tiêu hóa của grepafloxacin (đầy bụng), phần ngoại vi như ngứa gây phần quang hóa dẫn đến sinh tế bào gây ung thư – clinafloxacin, fleroxacin, lomefloxacin hay sparfloxacin đều có tính quang học cao, một số loại như fleroxacin, ciprofloxacin, lomefloxacin, ofloxacin hay axit nalidixic cũng có thể là có phần quang hóa gây dị tật bẩm sinh và ung thư – vì vậy các bệnh nhân sử dụng quinolones thường phải che và tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng ...

## **1.2. Tính chất của CIP [9]**

### **1.2.1 Cấu trúc và tính chất vật lý của Ciprofloxacin**

Tên theo IUPAC: 1-cyclopropyl- 6-fluoro- 4-oxo- 7-piperazin- 1-yl- quinoline- 3-carboxylic acid



Tên khác: Ciloxan, Cipro, Cipro XR, Cipro XL Ciproxin, Ciproflox hay Ciprofloxacin.

Công thức hóa học:  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$

Khối lượng phân tử: 331,346

Đông hi roclorat:  $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$  ( $M = 367,8$ )

Đông tinh khi t và hi roclorat đều là tinh thể có màu vàng nhạt.

Thời gian bán hủy: 4 giờ.

Nhiệt nóng chảy:  $318 - 320^{\circ}C$ .

tan: tan nhiều trong nước, dễ bị tủa là dạng muối hi roclorua.

## 1.2.2 Tính chất đặc trưng của CIP

Nhóm Dược lý: Thuốc kháng sinh trừu tượng, kháng khuẩn

Tên Biệt danh: Cinarosip; Cinfax; Cipchem; Cipicin 500mg

Dạng bào chế: Dung dịch tiêm truyền; viên bao phim; Dung dịch nhũ m-t-nh tại; Thuốc mỡ mắt; Viên nén

Thành phần: Ciprofloxacin hydrochloride

### 1.2.2.1 Dược lý.

Ciprofloxacin là một hoạt chất mới thuộc nhóm quinolone. Chất này ức chế men gyrase (gyrase inhibitors) của vi khuẩn.

Ciprofloxacin có hoạt tính mạnh, diệt khuẩn phổ rộng. Nó cần thông tin t-nh m s-c-th (v-t-ch-t-di-truy-n) cần thiết cho chuyển hóa bình thường của vi khuẩn. Điều này làm cho vi khuẩn bị giảm khả năng sinh sản một cách mau chóng.

Do cơ chế tác động của nó, Ciprofloxacin không bị kháng chéo với các kháng sinh khác thuộc nhóm ức chế men gyrase. Vì vậy, Ciprofloxacin có hiệu lực cao chống lại nhiều vi khuẩn kháng các loại kháng sinh như aminoglycoside, penicillin, cephalosporin, tetracycline và các kháng sinh khác.

Trong khi sử dụng phối hợp Ciprofloxacin với kháng sinh beta-lactam và các aminoglycosides chủ yếu tỏ ra hiệu quả bổ sung và không thay đổi trong thí nghiệm in-vitro, thì trong thí nghiệm in-vivo, nó thường tỏ ra hiệu quả hơn (nh khi phối hợp với azlocillin), đặc biệt trên vùng vết bị nhiễm trùng trung tính.

### 1.2.2.2. Dược động học

- Hấp thu: Ciprofloxacin hấp thu nhanh và dễ dàng tiêu hóa. Khi có thức ăn và các thuốc ch-ng-toan, hấp thu thuốc bị giảm đáng kể không ảnh hưởng tới cách uống. Độ hấp thu sinh học của Ciprofloxacin khoảng 70-80%.

- Phân bố: Nồng độ tối đa trong máu đạt được sau khi uống thuốc 60-90 phút. Ciprofloxacin hiện diện với nồng độ cao nhất trong dịch nhầy nh trong các dịch cơ thể và trong các mô. Thời gian bán hủy 3-5 giờ.

Sau khi truyền tĩnh mạch, 75% liều được dùng sẽ bài tiết qua nước tiểu và thêm 14% qua phân. Hơn 90% hoạt chất sẽ bài tiết trong 24 giờ đầu tiên.

Các s li u khác:

Th i gian bán h y trong huy t thanh x p x 4 gi (3-5 gi ).

Th tích phân b ( giai o n h ng nh) x p x 2,8l/kg.

Đ thanh l c th n x p x 5ml/phút kg.

Đ g n k t protein x p x 30%.

Thành ph n NaCl dung d ch truy n 900mg/100 ml.

- Chuy n hoá: gan.

- Th i tr : kho ng 40-50% thu c c ào th i d i d ng không i qua n c ti u nh l c c u th n và bài ti t ng th n.

### **1.2.3 Vai trò và ng d ng c a CIP**

#### *1.2.3.1 Tác d ng i u tr b nh lí c a CIP*

CIP ch nh:

Các b nh nhi m trùng có bi n ch ng và không bi n ch ng gây ra do các b nh nguyên nh y c m v i ciprofloxacin.

- Các b nh nhi m trùng c a:

. ng hô h p

. Tai gi a (viêm tai gi a) và các xoang (viêm xoang).

. M t.

. Th n và/ho c ng ti t ni u, viêm ph n ph .

. b ng (nh nhi m trùng ng tiêu hóa ho c ng m t, viêm phúc m c).

. Da và mô m m.

. X ng kh p.

- Nhi m trùng huy t.

- Nhi m trùng ho c có nguy c nhi m trùng (d phòng) trên b nh nhân có h mi n đ ch suy y u (nh b nh nhân b suy gi m mi n đ ch ho c có tình tr ng gi m b ch c u).

- Ch nh cho tình tr ng kh nhi m ru t có ch n l c trên b nh nhân suy gi m mi n đ ch (Ciprofloxacin d ng u ng).

### Chống chỉ định:

Không dùng Ciprofloxacin trong các trường hợp quá mẫn cảm với hóa trị liệu bằng ciprofloxacin hoặc các quinolone khác. Không chỉ định Ciprofloxacin cho trẻ em, thiếu niên đang trưởng thành và phụ nữ mang thai hoặc cho con bú, vì không có thông tin nào về tính an toàn của thuốc trên nhóm bệnh nhân này, và vì các thử nghiệm trên súc vật cho thấy rằng không thể loại trừ hoàn toàn nguy cơ tổn thương sụn khớp của những cấu trúc đang phát triển hoàn toàn và kích thích.

### Thận trọng lúc dùng:

- Ciprofloxacin phải dùng một cách thận trọng ngay lập tức.
- Trong các trường hợp bệnh kinh hoặc có các tổn thương thần kinh trung ương khác (như giảm nồng độ co giật, tăng nồng độ co giật, giảm lưu lượng tuần hoàn não, thay đổi cấu trúc não hoặc tủy), Ciprofloxacin chỉ nên dùng sau khi thấy ích lợi của điều trị vượt lên nguy cơ, vì các bệnh nhân này có thể bị nguy hiểm do tác động phá lên thần kinh trung ương.

### Cách dùng:

- Ciprofloxacin dùng uống:

Uống nguyên viên với một ít nước. Thuốc uống không phải nuốt vào giữa.

Nếu uống thuốc lúc đói, hoặc có thể chấp nhận nhanh hơn.

- Ciprofloxacin dùng tiêm, truyền tĩnh mạch:

Cách dùng tĩnh mạch khoảng 30 phút cho 100 và 200mg hay 60 phút cho 400mg. Dung dịch truyền có thể dùng trực tiếp hay sau khi pha với các loại dịch truyền tĩnh mạch khác.

Dung dịch truyền có thể thích với các dung dịch sau: dung dịch nước muối sinh lý, dung dịch Ringer và Ringer's lactate, dung dịch glucose 5% và 10%, dung dịch fructose 10%, dung dịch glucose 5% với NaCl 0,225% hoặc NaCl 0,45%. Khi dịch truyền Ciprofloxacin pha với các loại dịch truyền thích hợp, dung dịch này nên dùng ngay sau khi chuẩn bị xong, vì những lý do về sinh học và sự nhạy cảm với ánh sáng.

### 1.2.3.2 Tác dụng phụ của CIP

Các tác dụng phụ sau đây có ghi nhận trong thời gian dùng ciprofloxacin, nhưng không nhất thiết xảy ra mà chỉ là khả năng.

Các tác dụng phụ sau đây là các triệu chứng:

- Nhức đầu, chóng mặt:

Buồn nôn, tiêu chảy, nôn, rối loạn tiêu hóa, đau bụng, ngứa, dị ứng, cảm giác ngon miệng.

Nếu tiêu chảy trầm trọng và kéo dài trong hoặc sau điều trị, phải khám bệnh vì triệu chứng này có thể che khuất bệnh tiêu hóa trầm trọng (viêm đại tràng giả mạc) cấp tính ngay lập tức. Trong những trường hợp này, phải ngừng dùng Ciprofloxacin và thay thế bằng một loại thuốc khác thích hợp (như vancomycin 250 mg dùng 4 lần trong 24 giờ). Cần chú ý những triệu chứng kháng như ngứa.

- Nhức đầu, chóng mặt:

Chóng mặt, nhức đầu, mất mị, mất ngủ, kích thích, run rẩy. Rối thị giác: li ti, ngoi biên, vã mồ hôi, đáng sợ không vững vàng, chóng mặt, trạng thái lo âu, buồn nôn, lú lẫn, mất cảm giác, mất sự phối hợp có phần mất thăng bằng (thậm chí mất tri giác tạm thời hành vi gây nguy hiểm cho bản thân).

Các phản ứng này đôi khi xảy ra sau liều Ciprofloxacin đầu tiên. Trong những trường hợp này, phải ngừng dùng Ciprofloxacin ngay lập tức và thông báo cho thầy thuốc.

- Phản ứng trên những giác quan:

Rối thị giác: mất cảm giác về mùi, vị, rối loạn thính giác (như nhìn đôi, nhìn màu), ù tai, rối loạn thính giác tạm thời, mất vị giác.

- Phản ứng quá mẫn cấp tính:

Các phản ứng này đôi khi xảy ra sau liều Ciprofloxacin đầu tiên. Trong những trường hợp này, phải ngừng dùng Ciprofloxacin ngay lập tức và thông báo cho thầy thuốc.

Phản ứng da như nổi ban, ngứa, sốt do thuốc.

Phản ứng phenyl hay kỵ nước (phù m, phù m ch, phù thanh qu n; khó th  
tỉ n tri n n tình trạng choáng ed a tính m ng) có thể xảy ra, đôi khi sau liều  
Ciprofloxacin đầu tiên. Trong những trường hợp này, phải ngừng dùng  
Ciprofloxacin ngay lập tức và cần phải điều trị (điều trị choáng).

- những ảnh hưởng lên hệ tim mạch:

Rối tim mạch: nhịp tim nhanh, phù nề mắt, cơn migrain, ngất.

- những ảnh hưởng khác:

các khớp: rối tim mạch: khó chịu khớp, cảm giác uối, đau cơ, viêm bao gân, hội  
nhược cảm về ánh sáng, giảm chức năng thận thoáng qua hoặc suy thận tạm thời.

- Mất sự cân bằng điện giải: dễ xảy ra viêm gân Achilles trong thời gian dùng  
Ciprofloxacin. Tình trạng viêm gân Achilles có thể dẫn đến đứt gân. Vì vậy, khi có  
đau khi vận động gân Achilles (như sừng trâu), nên ngừng dùng Ciprofloxacin và đi  
khám bệnh.

- những ảnh hưởng lên máu và hệ thống máu:

Tăng bạch cầu ưa eosin, giảm bạch cầu, chức năng giảm bạch cầu hạt, thiếu máu,  
giảm tiểu cầu; rối tim mạch: tăng bạch cầu, tăng tiểu cầu, thiếu máu tán huyết, bệnh  
giá trị của prothrombin.

- những ảnh hưởng lên các tham số xét nghiệm/cần lưu ý:

- Phản ứng dị ứng: viêm thận m ch.

### 1.2.3.3 Bảo quản

Bảo quản viên nén, viên nang trong lọ kín nhiệt độ 30°C, tránh ánh  
sáng trực tiếp mặt trời.

Dung dịch Ciprofloxacin hydroclorid trong nước có pH 1,5 đến 7,5, giữ nhiệt  
phòng có thể bền ít nhất trong 14 ngày.

### 1.2.4 Sự tương tác của CIP với các loại thuốc.

- Ion sắt, sucralfate hoặc thuốc kháng acid có chứa nhôm, magnesium và calcium  
làm giảm sự hấp thu của Ciprofloxacin đáng kể. Vì vậy, nên uống Ciprofloxacin  
1-2 giờ trước khi uống thuốc kháng acid hoặc ít nhất 4 giờ sau khi uống thuốc

kháng acid. Sản phẩm này không áp dụng cho các thuốc kháng acid không có chứa nhôm hydroxide và magnesium hydroxide (như dùng các thuốc chẹn thụ thể H<sub>2</sub>).

- Dùng đồng thời Ciprofloxacin và theophylline có thể gây ra sự gia tăng nồng độ theophylline trong huyết thanh. Điều này có thể dẫn đến các tác dụng không mong muốn do theophylline gây ra. Nếu bạn dùng đồng thời hai chế phẩm, nên kiểm tra nồng độ theophylline trong huyết thanh và nên giảm liều theophylline một cách hợp lý.

- Từ các thí nghiệm trên súc vật, người ta biết rằng sự hấp thu của quinolone (các chất ức chế men gyrase) liều rất cao với vài thuốc kháng viêm không phải steroid (như aspirin acetylsalicylic acid) có thể gây ra co giật.

Cho nên nay, những nghiên cứu về vấn đề này đang được quan sát kỹ lưỡng bởi nhân viên y học.

- Trong một số trường hợp đặc biệt, người ta vẫn ghi nhận có sự gia tăng thoáng qua của creatinine huyết thanh khi dùng đồng thời Ciprofloxacin và cyclosporin. Vì lý do đó, cần phải theo dõi nồng độ creatinine huyết thanh (mức độ hai lần) cho những bệnh nhân này.

- Dùng đồng thời Ciprofloxacin với warfarin có thể làm tăng hoạt tính của warfarin.

- Trong những trường hợp đặc biệt, dùng đồng thời Ciprofloxacin với glibenclamide có thể làm tăng hoạt tính của glibenclamide (hạ đường huyết).

- Probenecid cản trở sự bài tiết qua thận của Ciprofloxacin. Dùng đồng thời Ciprofloxacin với probenecid có thể làm tăng nồng độ huyết thanh của Ciprofloxacin.

- Metoclopramide làm gia tăng hấp thu Ciprofloxacin làm cho thời gian tồn tại của thuốc trong huyết tương ngắn hơn. Không có ảnh hưởng lên khả năng sinh học của Ciprofloxacin.

### **1.3 M t s ph ng pháp xác nh h quinolone.**

H quinolone là thuốc kháng sinh liều cao dùng để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do các vi khuẩn này tạo nên. Hiện nay, có nhiều phương pháp như sau:

li các loại thuốc chống nấm xác định sự tạo thành các hợp chất này qua các mẫu sinh học.

### 1.3.1 Phương pháp điện hóa

Do có ba N trong phân tử nên các hợp chất thuốc quinolone xác định bằng các phương pháp điện hóa không có tính chọn lọc. Người ta không xác định rõ ràng là N nào tham gia vào quá trình nhận proton do trên N nhận vị trí các peak trong khoảng 1,4 – 1,5V cho thấy quá trình này là sóng xúc tác H. Tuy có nhiều phương pháp xác định nồng độ các quinolones các loại trong môi trường nhưng phương pháp điện hóa vẫn là phương pháp chính thức được áp dụng từ năm 1990 và kết quả thu được về phân tích ngày càng phát triển và đáng tin cậy là trong lĩnh vực lâm sàng thuốc. Đã có rất nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới làm về tài liệu này và về quinolones nói riêng.

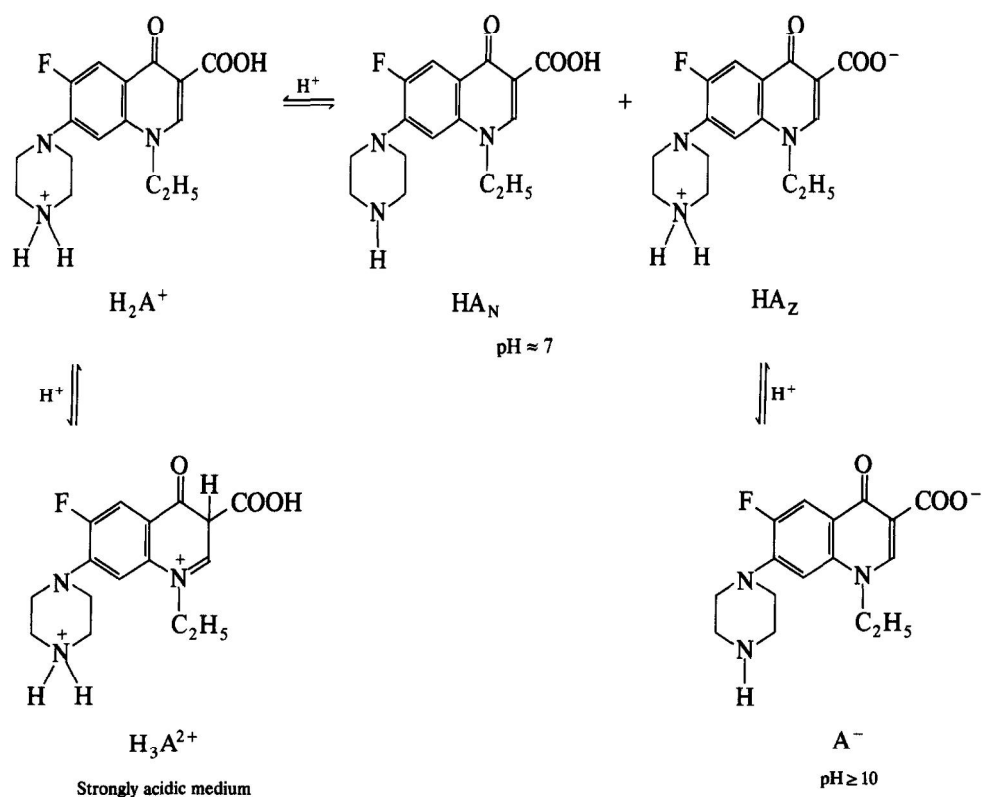
Từ giữa những năm 90 thì bắt đầu xuất hiện các nghiên cứu về quinolones mà mẫu là xác định **norfloxacin** bằng phương pháp điện cực tích điện và kết quả thu được về phân tích. Các peak khác nhau trong các dung dịch phân tích khác nhau trong khoảng pH từ 1-10 cũng như trong dung dịch kiềm nồng độ cao NaOH 0,1M. Các tác giả [31] cũng đã nghiên cứu về kết quả thu được về nghiên cứu khả năng hấp thụ của norfloxacin trên điện cực thủy ngân treo (HMDE) trong môi trường dung dịch phân tích pH từ 9.

Tiếp theo đó cũng theo [31] nghiên cứu peak khác của **ofloxacin** xuất hiện ở -1,343V theo phương pháp quét điện hóa tùy thuộc vào nồng độ so sánh SCE trong môi trường pH = 4 cho thấy quá trình khác của ofloxacin là quá trình bắt đầu phản ứng cho khoảng xác định tùy thuộc từ  $8 \cdot 10^{-4}$  M đến  $5 \cdot 10^{-2}$  M với giới hạn phát hiện là  $4 \cdot 10^{-6}$  M. Xác định ofloxacin trong các mẫu dung dịch chứa nó, mẫu thuốc và các chất lỏng sinh học các tác giả tìm kiếm khoảng tùy thuộc của ofloxacin từ  $4 \cdot 10^{-5}$  đến  $5 \cdot 10^{-4}$  M trong natri axetat pH = 5 kết quả thu được về phân tích.

Các tác giả [31] cũng nói về quy trình xác định **norfloxacin** trên điện cực thủy ngân treo cacbon sử dụng kết quả thu được về ampe vòng và kết quả sóng vuông, peak của norfloxacin cho khoảng tùy thuộc từ 5-50 ppm với giới hạn phát hiện là 1,1 ppm.



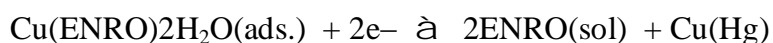
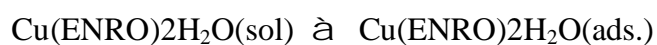
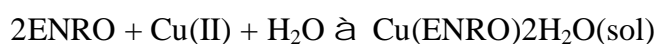
Norfloxacin đã được xác định trong các mẫu thu được từ các ống nghiệm bằng phương pháp điện phân [16]. Phân tích bằng kỹ thuật điện phân tĩnh và kỹ thuật xung vi phân sử dụng nghiên cứu peak của norfloxacin trong các dung dịch bazơ các pH khác nhau và sử dụng có mặt của dimethyl formamide. Trong môi trường axit mạnh pH < 1 chỉ xuất hiện một peak duy nhất trong khoảng -0,95V đến -1,05V, nhưng trong dung dịch phân môi trường bazơ pH > 7,5 thì xuất hiện hai peak không phụ thuộc lẫn nhau trong khoảng -1,48V đến -1,67V (sóng 1) và từ -1,79V đến -1,93V (sóng 2) và trong dung dịch norfloxacin nồng độ 10<sup>-4</sup>M. Ở pH > 10 thì chỉ xuất hiện sóng 2 và cả sóng 1 và 2 biến mất hoàn toàn nếu ở trong dung dịch NaOH 0,1M. Các tác giả đã nghiên cứu sự xuất hiện và biến mất các peak này thông qua sự phân tích trong các môi trường axit và bazơ như sau, trong đó sự có mặt của H<sup>+</sup> là nguyên nhân gây ra sự xuất hiện sóng xúc tác hi rô:



Tài liệu [10] xác định hàm lượng CIP trong thuốc bằng phương pháp chuẩn độ thặng dư, phương pháp dựa trên phản ứng tạo phức nhanh của CIP với ion sắt (III)

theo tỉ lệ 3:1 trong dung dịch axit sunfuric loãng 0,09M. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ làm hồ cho phép pháp, mật độ quét thay đổi là 0,5µA/ml và nồng độ chất chuẩn là dung dịch Fe(III) 0,097M, phép pháp xác định nồng độ CIP thấp là 4ppm.

Công thức quinolones như là **enrofloxacin** các tác giả [13] đã xác định hàm lượng chất này bằng phép pháp von-ampe hòa tan hồ phân trên catốt đồng (II) như một chất trung gian. Dựa trên một nghiên cứu trước đó là xác định hàm lượng enrofloxacin trong mẫu thực và nồng độ của nó bằng phép pháp von-ampe hòa tan hồ phân kết thu từ xung vi phân [15] như một hành trình nghiên cứu thí nghiệm để chọn hai nồng độ tính là 4-15 và 18 – 55 ng/ml với thời gian hồ phân 180s và 60s thế hồ phân -0,3V. Tuy nhiên nghiên cứu này đã không cho thấy khả năng khi áp dụng vào mẫu huyết thanh do peak khá cao nó quá âm (-1,62V với nồng độ so sánh là Ag/AgCl). Do đó nghiên cứu theo tài liệu [13] cho thấy vị trí peak chỉ -0,3V trên nồng độ thí nghiệm, phép pháp không chỉ cho phép xác định enrofloxacin trong mẫu huyết thanh mà còn trong các mẫu mô sinh học, Cu (II) cũng đồng nghĩa là một chất trung gian tốt ở pH trong môi trường vi lượng này trước khi bắt đầu trên nồng độ kết thu từ quét sóng vuông.



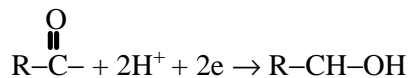
Thế hồ phân của phép pháp này -0,1V trong thời gian hồ phân là 40s. Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố xuất hiện peak, nồng độ và pH các tác giả tìm kiếm nồng độ xác định enrofloxacin với nồng độ tính là 10 – 80 nM, giới hạn phát hiện là 0,33nM.

Xác định **levofloxacin** trong nồng độ thí nghiệm bằng phép pháp von-ampe hòa tan hồ phân trên anot kết thu từ quét sóng vuông trên nồng độ glassy cacbon. Theo tài liệu [17] nghiên cứu sự xuất hiện peak của levofloxacin trong môi trường axetat pH = 5 với kết thu từ quét sóng vuông và von-ampe vòng các tác giả đã xác định các peak

oxi hóa của levofloxacin xuất hiện ở 0,4V với nồng độ so sánh là Ag/AgCl, nồng độ tính xác định là  $6.10^{-9}M$  đến  $5.10^{-7}M$  với giới hạn phát hiện là  $5.10^{-9}M$ . Nghiên cứu nồng độ tiến hành xác định các mẫu bằng phương pháp HPLC

để kiểm tra, kết quả cho thấy phương pháp đã dùng xác định levofloxacin trong mẫu nước tiểu hoàn toàn tin cậy.

Xác định **pefloxacin** trong thuốc viên nén và huyết thanh bằng phương pháp von-ampe hòa tan hấp phụ catốt thu thập quét sóng vuông. Theo tác giả tài liệu [12] tiến hành đo peak của pefloxacin trong dung dịch mẫu nhân (m Britton - Robinson) pH = 7 trên nồng độ giới hạn tuyến treo xác định peak xuất hiện ở -1,07V với nồng độ so sánh là Ag/AgCl, thế hấp phụ -0,4V. Tác giả cho rằng peak này có thể do sự khử nhóm C=O:



Phương pháp cho hiệu suất thu hồi tới 99,54% với giới hạn phát hiện là  $1,65.10^{-10}M$  trong mẫu thực nghiệm, với hiệu suất và huyết thanh thì hiệu suất thu hồi lần lượt là 99,57 và 98,55% giới hạn phát hiện là  $4,5. 10^{-10}M$  với các hai điểm trên.

Tài liệu [27] tóm tắt cách xác định một số quinolones bằng phương pháp điện hóa theo bảng sau:

Chất	Dung dịch nền	Phương pháp	Nồng độ làm việc
Enrofloxacin, Sparfloxacin, Fleroxacin	Britton-Robinson buffer, pH 4 –11.98	DCP, DPP	nồng độ giới hạn tuyến treo
Fleroxacin	Britton-Robinson buffer, pH 8.5	DCP, DPP, AdSV	nồng độ giới hạn Hg treo (HMDE)
Ofloxacin	B.R. buffer, pH 4.1–10.3	DCP, DPP	Hg-electrode

DC = direct current polarography: Cặp điện cực tĩnh

DPP = differential pulse polarography: kỹ thuật xung vi phân

AdSV = adsorptive stripping voltammetry: phương pháp von-ampe hòa tan hấp phụ

### 1.3.2 Ph ng pháp tr c quang

Các quinolones xác nh b ng ph ng pháp tr c quang cho kho ng tuy n tính tuân theo nh lu t Lambert – Beer t 3-10 ppm, nhi u ph màu c a nhóm quinolones c xác nh đ a vào ph n ng t o ph c v i s t (III)

Ciprofloxacin và Norfloxacin khi xác nh ng th i cho h p th quang c c i b c sóng 545 nm khi t o ph c v i Palladium (II), eosin khi có m t metyl xenlulo – óng vai trò nh m t ch tho t ng b m t [11].

Đ i ây là b ng tóm t t k t qu xác nh m t s quinolones b ng ph ng pháp tr c quang:

Ch  t	M  u	Cách ti  n hành	Kho  ng tuy  n tính
<b>Ciprofloxacin</b>	Thu  c nén	Ph  n  ng t  o ph  c v  i s  t (III),	50–500
	Dung d  ch d  ng huy  n phù	ph  h p th  quang xác  nh 447 nm	mg/l
<b>Norfloxacin</b>	Thu  c nén	Ph  n  ng t  o ph  c v  i s  t (III),	50–400
		ph  h p th  quang xác  nh 430 nm	mg/l

Các tác gi [33] nghiên c u xác nh ng th i ba ch t ciprofloxacin, enrofloxacin và pefloxacin thông qua ph n ng t o ph c trao i i n tích v i ba tác nhân nh n khác nhau. Th nh t là Chloranilic acid (CL), ph c c a các quinolones trên v i ch t này cho h p th quang c c i b c sóng  $\lambda = 520\text{nm}$ , ph ng pháp này xác nh c hàm l ng các ch t CIP trong đ ng viên nén, enrofloxacin trong thu c đ ng dung d ch tan và pefloxacin đ ng dung d ch tiêm v i chính xác l n l t là  $99.58 \pm 1.25$ ,  $99.94 \pm 0.96$ ,  $100.91 \pm 1.59$ . Tác nhân th hai là tetracyanoethylene (TCNE), ph c c a ba quinolones trên v i tác nhân này t o ph c cho h p th quang c c i b c sóng  $\lambda = 335\text{nm}$  i v i CIP và  $\lambda = 290\text{nm}$  i v i c enrofloxacin và pefloxacin, ph ng pháp này xác nh c CIP đ ng thu c nén, enrofloxacin trong thu c đ ng dung d ch tan và pefloxacin đ ng thu c nén và dung d ch tiêm v i chính xác l n l t là  $99.40 \pm 1.27$ ,  $99.95 \pm 0.90$ ,



màng Molcut II lo i b protein, ph n n c l c c làm giàu trên c t v i pha t nh phenyl sau ó c d n n c t phân tích v i pha t nh là ODS. Ofloxacin và enoxacin c xác nh b ng detector UV b c sóng  $\lambda = 300 \text{ nm}$ . Ph ng pháp cho phép xác nh n ng c a ofloxacin trong kho ng t 50 – 2000 ng/ml, gi i h n phát hi n là 20 ng/ml. Hi u su t thu h i l ng ofloxacin ã thêm vào m u huy t thanh là 88 – 101,7% và h s ph ng sai nh h n 5,2%.

#### **1.4 ng d ng c a ph ng pháp i n hóa trong nh l ng d c ph m [8, 27].**

ng d ng ph ng pháp i n hóa vào phân tích d c ph m là m t tài không còn m i m trên th gi i, ã có r t nhi u công trình, tài nghi n c u v v n này v i i t ng là nhi u lo i m u sinh h c không ch là các m u thu c, tài li u [27] ã tóm t t r t chi ti t các b c trong quá trình phân tích d c ph m: cách phá m u, b o qu n dung d ch m u, các lo i i n c c, các ph ng pháp phân tích... Tác gi t ng k t l i cách xác nh 19 nhóm d c ph m chính trong [27] t các công trình ã c công b t n m 1998 n n m 2002.

Trong các ph ng pháp i n hóa, ph ng pháp von-ampe hòa tan h p ph c ng d ng nhi u hi n nay vào phân tích môi tr ng, phân tích lâm sàng, phân tích th c ph m. c bi t trong phân tích d c ph m, thu c sinh h c do kh n ng h p ph c a các ch t d c h c trên i n c c. ây là i u ki n thu n l i h p ph làm giàu chúng lên b m t các i n c c. Gi i h n phát hi n r t th p t  $10^{-6}$  n  $10^{-10}$  M. H n n a, nhi u ion kim lo i c kh trên i n c c Hg mà không t o h n h ng v i Hg c ng c xác nh b ng ph ng pháp này. Tr c khi phân tích cho chúng t o ph c v i m t s ph i t h u c có ho t tính b m t t p trung ch t lên b m t c c, sau ó kh l p ch t h p ph ó (giai o n hòa tan) ng th i ghi tín hi u ng von – ampe.

u i m c a ph ng pháp von-ampe hòa tan h p ph có th phân tích c r t nhi u lo i h p ch t h u c khác nhau. H n 200 h p ch t h u c bao g m m t l ng l n các ch t sinh h c, d c ph m và m t s ion có kh n ng t o ph c v i các ph i t h u c ã c xác nh b ng ph ng pháp này. Trong m i tr ng h p phân tích c th l i có các thông s làm vi c, i u ki n làm vi c, môi tr ng, pH,

dung dịch n, các ph i t khác nhau. Do ó c n ph i t i u hóa các i u ki n xác nh thu c tín hi u cao nh t. c bi t là trong dung dịch phân tích ph c t p ch a nhi u lo i ch t khác nhau. Ng i ta ã ch ng minh r ng b c làm giàu các ch t phân tích h u c , vô c s d ng các i n c c bi n tính có ng d ng quan tr ng trong ph ng pháp AdSV. Các ch t phân tích c làm giàu b ng các nhóm ch c g n li n v i b m t c c g m có s trao i ion, s t o ph c hay liên k t c ng hóa tr . Ph bi n nh t là s d ng ch t trao i ion: poly(4-vinyl pyridine) có kh n ng hút các anion. Ví d : imetyl glyoxime c tr n vào i n c c than cacbon xác nh niken trong các môi tr ng ph c t p. Các lo i ph i t khác nhau c s d ng nh ithizone, alkyl mercaptans, trocyl phosphine oxit hay 2,9- imetyl-1,10-phenanthroline.

Trong s các lo i d c ph m m t s l p h p ch t ã c nghiên c u r ng rãi. a s các benzo iazepine c nghiên c u phân tích do nhóm này có nh ng tính ch t h p ph và liên k t benzo iazepine azomethine d b kh . M t vài h p ch t ã c phân tích trong m u sinh h c: Flunitrazepam c h p ph m t i n c c bi n tính bentonite t các lo i m u huy t thanh ã c pha loãng và n c ti u ng i. Có th xác nh l ng t i thi u 1,5 µg/ml trong m u. Camazepan và bromazepan c ng c phân tích trong huy t thanh ng i b ng cách s d ng i n c c HMDE. V i i u ki n tri t dung dịch tr c, gi i h n phát hi n t ng ng c a camazepan và bromzepan là 20 và 200 mg/ml trong m u huy t thanh.

M t s các d n xu t phenothiazine, promethazine, diethazine, trifluorerazine và fluphenazine c cô ng l i qua quá trình chỉ t h p ph lên i n c c graphite. S xác nh các lo i h p ch t này trong m u n c ti u và huy t t ng không c n x lý s b , nh ng v i i n c c c m l p màng Spectrapor trách c sai s do i n c c vì kh n ng h p ph các protein. Nh ó mà nâng cao c nh y t  $10^{-5}$  n  $5.10^{-8}$  M trong kho ng th i gian làm giàu 15 phút.

S oxi hóa các lo i thu c ch ng suy nh c c th vòng còng, imipramine, desipramine và trimipramine làm giàu t các lo i m u n c ti u b m t i n c c cacbon th y tinh và i n c c than nhão thì s chuy n ng i n c c là c n thi t

lo i b nh h ng c a m t s ch t i n ho t. i n c c than nhão cacbon c ng c dùng làm giàu các lo i h p ch t này qua quá trình chi t, h p ph .

M t h ng quan tâm l n là xác nh các lo i thu c ch ng ung th . A riamycin c h p ph lên i n c c cacbon m t cách n gi n b ng cách ngâm i n c c trong m u, r a và t nó trong dung d ch n n có pH = 4,5 r i quét th . Ph ng pháp phân tích nhanh (kho ng 10ph) cho phép xác nh hàm l ng thu c trong m u n c ti u t b nh nhân b ung th .

Daunorubicin có th c o b ng cách kh hay oxi hóa dùng i n c c HMDE hay i n c c cacbon. Trong tr ng h p này n u phân tích m u n c ti u ã c pha loãng không qua x lí s b có th dùng i n c c th y ngân. Trong khi ó n u s d ng i n c c cacbon c n ph i thay i môi tr ng và có nh y th p h n.

Ng i ta ch ng t c r ng methotrexate có th c xác nh tr c ti p trong n c ti u sau khi pha loãng m u v i t l 1:4 cùng v i ch t i n phân n n. Tr ng h p này s d ng i n c c HMDE nh ng tr c khi xác nh m u huy t thanh c n ph i chi t tr c, 5-fluorouracil có th xác nh c mà không b nh h ng b i axit ascorbic (vitamin C) và axit uric th ng xuyên có m t trong m u sinh h c.

Tóm l i ph ng pháp AdSV là m t ph ng pháp r t có hi u qu trong vi c phân tích l ng v t các h p ch t vô c , h u c , các lo i thu c trong phân tích d c ph m. ây là m t ph ng pháp có nh y r t cao, gi i h n phát hi n r t th p, nhanh và n gi n, k p th i phát hi n ra nh ng m m m ng gây b nh có bi n pháp i u tr b nh nhân có hi u qu . c bi t là trong vi c nghiên c u th nghi m tìm ra nh ng lo i thu c m i i u tr c nhi u c n b nh hi m nghèo.

## **1.5 Xác nh CIP b ng ph ng pháp i n hóa**

### **1.5.1 Xác nh ciprofloxacin b ng i n c r n**

Tài li u [30] xác nh **CIP** cùng 5-aminosalixylic axit và azithromycin trong dung d ch r n d ng vi tinh th , dùng ph ng pháp von-ampe xác nh vi tinh th t nh là ph ng pháp dùng ch y u trong nh l ng qu ng, h p kim và các ch t tan h u c n gi n. 5-Aminosalixylic axit là ho t ch t dùng trong i u tr ch ng viêm ru t, i tràng, nó b oxi hóa thành d ng quinone-imine trên i n c c cacbon, ph n



ng này chính là các xác nhận hợp chất trên trong thu c và các m u sinh lý. CIP và azithromycin b kh th -1,4 V trên i n c c gi t th y ngân và b oxi hóa 0,95V trên i n c c cacbon đ ng b t nhão và c hai h p ch t này u b oxi hóa 0,75V trên i n c c cacbon. Các vi h t r n c a ba lo i ch t trên là quá trình ng h c t nh trên i n c c cacbon ã c th m parafin, khi nghiên c u quá trình này b ng k thu t quét sóng vuông và k thu t von-ampe vòng xác nh hàm l ng c a chúng, các tác gi ã xác nh c 5-aminosalixylic axit b oxi hóa 0,54V v i ph n ng là thu n ngh ch trên i n c c, trong khi CIP và azithromycin b oxi hóa 1,2V và 0,94V, hai quá trình này u b t thu n ngh ch.

T ng t theo các tác gi [29] ch t o m t i n c c c nh y b ng cách ph l p vàng lên b m t phim phát i n làm b ng poly(pyrrole-NHS) ng i ta xác nh c l ng v t CIP v i n ng th p t i 10pg/ml. Ph ng pháp i n hóa còn ng đ ng trong vi c xác nh h p th c a thu c i v i quá trình trao i ch t trong c th . Tài li u [20] đ a trên vi c nghiên c u ph n ng c a CIP v i DNA thông qua nh y i n hóa c a DNA, các tác gi xác nh c hàm l ng c a CIP trong kho ng n ng t 40 – 80  $\mu$ M b ng ph ng pháp xung vi phân trong n n m axetat 0,2M pH = 5 trên i n c c glassy cacbon nh n đ ng DNA, ph ng pháp cho peak oxi hóa v trí +0,9V, gi i h n phát hi n t 24 $\mu$ M.

### 1.5.2 Xác nh ciprofloxacin b ng i n c c gi t th y ngân

Các ch t ofloxacin, norfloxacin và ciprofloxacin v i s h tr c a chemometric còn xác nh c ng th i trong cùng h n h p b ng ph ng pháp von-ampe h p th k thu t xung vi phân trong n n m v n n ng ( m Britton–Robinson) pH = 3,78 trên i n c c gi t th y ngân treo. Theo [36] t nh ng n m 90 k thu t c c ph xung vi phân ã cho phép xác nh CIP trong n n m v n n ng pH = 8,5, ph ng pháp cho hai peak th -1,44 và -1,64V, xác nh CIP n ng  $6.10^{-7}$  n  $3.10^{-5}$ M trong các m u thu c v i l ch chu n nh h n 0,4%.

### 1.5.3 Xác nh ciprofloxacin b ng i n c c ch n l c ion

Theo [21] đ a trên vi c ch t o i n c c ch n l c ion i v i CIP: ph m t l p b c kim lo i lên b n phim làm b ng ch t đ o PVC các tác gi ã xác nh c hàm

l ng CIP r t thành công trong các m u d c ph m và dung d ch chu n c a nó nh ph ng pháp thêm chu n. Cách làm này còn t ra t ng i hi u qu v i m t s các quinolones khác nh 4-quinolone, ciprofloxacin (CF), pefloxacin (PF), norfloxacin (NF).

### 1.6 Xác nh CIP b ng ph ng pháp tr c quang

Ph ng pháp tr c quang xác nh CIP ã c nghiên c u r t nhi u trong các tài li u, theo [33] CIP c xác nh thông qua ph n ng t o ph c trao i i n tích v i nhi u h p ch t nh tetrachlorobenzoquinone, *p*-benzoquinone, *p*-nitrophenol, 2,3-dichloro-5,6-dicyano-*p*-benzoquinone, *p*-chloranil, tetracyanoquinodimethane và ph n ng t o ph c qua c p ion v i các ch t bromocrezol h ng và bromophenol xanh, metyl da cam, bromothylmol xanh.

Nghiên c u xác nh dung d ch cân b ng gi a ion s t (III) và CIP trong môi tr ng ion  $\text{NO}_3^-$  và môi tr ng mixen. Theo tài li u [29] nghiên c u dung d ch cân b ng c a ion s t (III) v i CIP trong môi tr ng ion  $\text{NO}_3^-$  n ng 0,1 và 0,5M v i s có m t c a ion ch t ho t ng b m t sodium dodecyl sulfate (SDS) ho c cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), ti n hành o b ng ph UV-VIS v i n ng SDS là 10mM ho c n ng CTAB là 8mM, dung d ch s t (III) c nghiên c u trong kho ng n ng t 1-5mM pH = 1,6 – 3,0. Nghiên c u cho th y s n ph m chính t o thành trong dung d ch là  $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$  và  $\text{Fe}_2(\text{OH})_2^{4+}$ , n ng ion  $\text{NO}_3^-$  nh h ng n h ng s b n c a các ph c l n h n n ng c a các ch t SDS và CTAB. S t o ph c gi a ion s t (III) và ciprofloxacin c nghiên c u trong kho ng n ng c a s t là 0,15 – 0,58 mM v i t l 3:1 ho c 10:1 trong kho ng pH=2-6. Công th c ph c m t i n tích đ ng c a CIP xác nh c b ng th c nghi m là  $\text{Fe}(\text{cipx})_2^+$ ,  $\text{Fe}(\text{cipx})_2^{2+}$  and  $\text{Fe}(\text{OH})\text{cipx}$ .

Tài li u [19] xác nh m t s quinolones thông qua ph n ng t o ph c v i ion s t (III) trong môi tr ng axit sunfuric. D a trên ph n ng t o ph c c a CIP và norfloxacin v i s t (III) trong môi tr ng axit sunfuric, các tác gi o c h p th quang c c i c a hai ph c này l n l t các b c sóng là 447 và 430nm, t l gi a ion s t (III) và CIP là 1:2 trong ph c t o thành v i n ng  $\text{H}_2\text{SO}_4$  là  $5.10^{-3}\text{M}$ ,

phương pháp nghiên cứu cho phép xác định hàm lượng các chất trên trong khoảng nồng độ nồng độ là 50 – 500 ppm và 50 – 400 ppm đối với CIP và norfloxacin.

Xác định CIP bằng phương pháp VIS thông qua phản ứng tạo phức với sắt (III) nitrat. Theo tài liệu [25] xác định CIP trong thuốc diệt khuẩn nén và thuốc lỏng thông qua phản ứng tạo phức giữa CIP với thuốc thử  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  1% trong  $\text{HNO}_3$  1%, phức thu được có màu vàng da cam để xác định bằng phương pháp VIS bước sóng ngắn với bước bước quang học là 435nm và bước trong 60s. Khoảng nồng độ tuân theo định luật Lambert – Beer là 20 – 100 ppm, phương pháp xác định chính xác hàm lượng CIP trong các vật liệu thô và các loại thuốc diệt khuẩn nén và dung dịch lỏng.

## TH C NGHI M

HÓA CH T, D NG C , THI T B .

### D ng c , thi t b .

- Thi t b :
  - Máy i n hóa 757VA Computrace – Metrohm – Th y S g m h 3 i n c c là :
    - + i n c c làm vi c: i n c c gi t th y ngâ treo (HMDE)
    - + i n c c so sánh: i n c c Ag/AgCl
    - + i n c c ph tr : i n c c glassycarbon.
  - Máy quang ph UV VISABLE spectrophotometer 1061 PC và 1650 PC.
  - Máy o PH Hana.
  - Các thi t b khác : cân phân tích, máy khu y.

- D ng c :

- Cuvét th y tinh.
- Bình nh m c : 25ml (20 chi c), 50 ml, 100ml, 250ml, 500ml
- C c th y tinh : 100ml và 250ml
- Pipét: 0,5ml; 0,2 ml ; 1ml, 2ml, 5ml, 10ml, 20ml, 25ml.
- Buret 50ml.
- Các d ng c khác: ph u, a th y tinh, c c cân, gi y l c, b p i n...

### Hóa ch t.

- Pha m v n n ng ( m Britton-Robinson) – h n h p 3 axit  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (m i lo i axit n ng 0,04M) và dung d ch NaOH 0,2M tr n v i nhau theo các t l c các dung d ch m có các giá tr pH khác nhau.

- Dung dịch NaOH 1M: Cân 10g NaOH viên nhậm thành 250 ml sau đó chuyển về bình axit oxalic  $H_2C_2O_4$  0,1M ta có dung dịch NaOH 1M, pha loãng bằng nước các dung dịch có nồng độ loãng hơn.
- Lấy 30 ml dung dịch  $CH_3COOH$  có nhậm thành 250ml, sau đó chuyển về bình dung dịch NaOH 0,1M ta có dung dịch  $CH_3COOH$  2M. Pha loãng bằng nước các dung dịch loãng hơn.
- Lấy 7,8ml dung dịch  $H_3PO_4$  có nhậm thành 250ml, sau đó chuyển về bình ta có dung dịch  $H_3PO_4$  0,5M. Pha loãng bằng nước các dung dịch có nồng độ loãng hơn.
- Cân 6,484 g  $H_3BO_3$  nhậm thành 250ml ta có dung dịch  $H_3BO_3$  0,4M. Pha loãng bằng nước các dung dịch loãng hơn.

Trình bày pH A (hình 3 axit và trong hình pH cam là 0,04M) và dung dịch B (dung dịch NaOH 0,2M) theo các thể tích các pH khác nhau.

- Pha đệm axetat pH = 3,8: Trộn các dung dịch  $CH_3COOH$  2M và NaOH 0,2M theo molar tỉ lệ nhất định, sau đó nhậm thành 100ml dung dịch đệm axetat có pH = 3,8 và trộn cùng thể tích các nồng độ khác nhau của hai dung dịch trên các dung dịch đệm pH = 3,8 các nồng độ khác nhau.
- Pha đệm photphat pH = 4,2: Trộn 0,4ml dung dịch  $Na_2HPO_4$  0,067M và 99,6ml dung dịch  $KH_2PO_4$  0,067M thêm nước thành 100ml ta có dung dịch đệm photphat pH = 4,2.
- Pha đệm Citrat – HCl pH = 3,8: Trộn 26ml dung dịch muối natri citrat 0,1M và 24ml dung dịch HCl 1M ta có 50 ml dung dịch đệm citrat – HCl pH = 3,8.
- Pha thu thể  $Fe(NO_3)_3$  trong  $HNO_3$  1%:
  - Pha dung dịch  $HNO_3$  1%: lấy 4ml axit  $HNO_3$  có nhậm thành bình nước thành 250ml dung dịch  $HNO_3$  1%.
  - Cân chính xác 1,6694 g  $Fe(NO_3)_3$  hòa tan trong axit  $HNO_3$  1% thành 100ml, thu thể và pha loãng trong lít màu.
- Pha các dung dịch ion chuyển nồng độ 1000 ppm kim loại nặng:  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ .

### **Chuẩn mẫu.**

- Pha mẫu chuẩn: dung dịch chuẩn CIP 500ppm (dung dịch S1) chuẩn bị bằng cách cân chính xác 0,0516g Ciprofloxacin.HCl (nguồn gốc: trung tâm dược phẩm trung ương Huế) pha trong nước cất 2 l và nhậm thành 100ml tạo dung dịch CIP 500ppm. Dung dịch CIP 500ppm bảo quản trong lọ tối màu trong tủ lạnh dùng trong khoảng 3 – 4 tuần.
- Pha loãng các dung dịch CIP nồng độ loãng hơn: Mỗi lần dùng chuẩn dung dịch CIP 5ppm bằng cách hút 0,5ml dung dịch S1 nhậm vào bình 50ml tạo dung dịch loãng hơn nồng độ 5ppm. Dung dịch 5ppm dùng cho phân tích hóa, còn dung dịch chuẩn dùng cho phân tích quang là dung dịch S1 không cần pha loãng nữa.

## CHƯƠNG 2 – KHẢO SÁT CÁC ION KI LUXÁC NH CIP

### 2.1 Khảo sát sự xuất hiện peak của CIP.

#### 2.1.1 Sự xuất hiện peak của CIP.

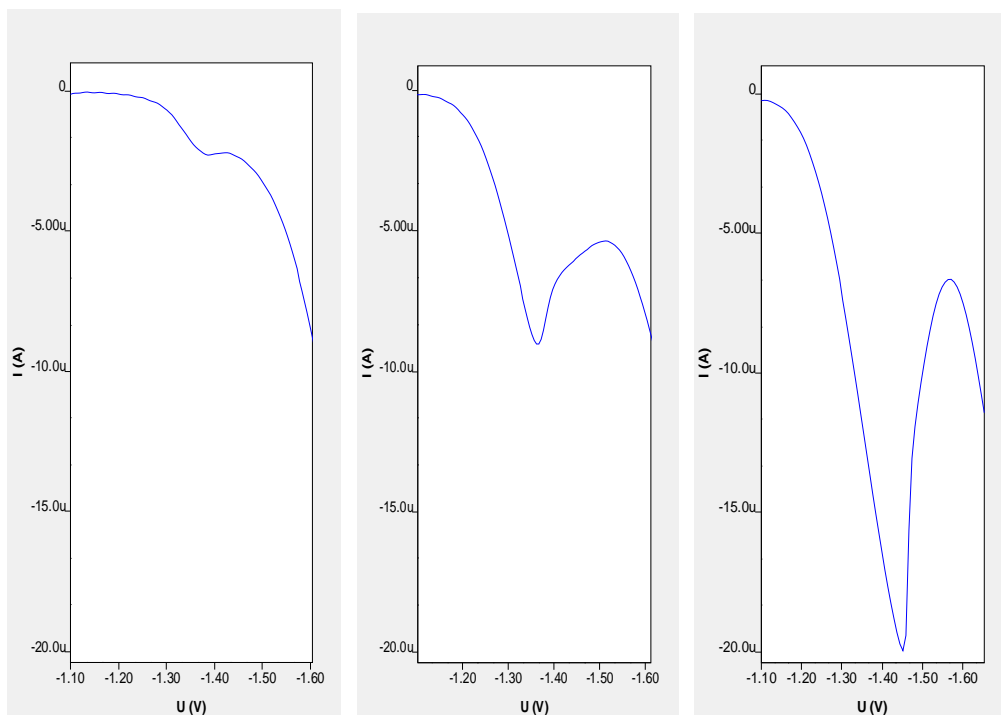
Khảo sát sự xuất hiện peak của CIP, chúng tôi tiến hành như sau:

- Thông số máy:

Chế độ quét: quét sóng vuông SqW theo chiều catốt trong khoảng từ -1,1 đến -1,6V.

Thế áp	-1,1V	Thời gian thế áp	65s
Thời gian cân bằng	15s	Tốc độ khuấy	2000rpm
Tần số	60Hz	Thời gian sục khí	300s
Biên độ xung	0,1V	Kích cỡ giọt thủy ngân	3
		Bộ lọc	0,0075V

- Thành phần nền: natri axetat pH = 3,8 (0,075M).
- Cho vào 50ml dung dịch CIP hai nồng độ 0,05ppm và 0,2 ppm ta thu được:



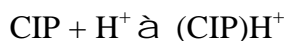
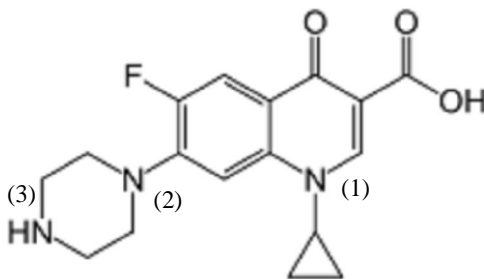
Natri axetat, pH = 3,8

[CIP] = 0,05 ppm

[CIP] = 0,2 ppm

Hình 1. Sự xuất hiện peak của CIP trên điện cực giọt thủy ngân

Kết quả khảo sát CIP hai nung trên i n c c gi t th y ngân trên cho th y peak c a CIP xu t hi n trong kho ng -1,4 n -1,5V, n ng càng cao peak càng chuy n d ch v phía âm h n. Theo m t s tài li u tham kh o [36] ng i ta ch a xác nh chính xác c peak này do nguyên t nit nào b kh nh ng ã ki m nghi m rõ ràng c r ng s xu t hi n peak này ch c ch n là do s kh c a m t trong 3 nguyên t N có trong CIP. Song v i v trí peak trong kho ng -1,4 n -1,5V g n v i sóng kh c a hi ro thì peak xu t hi n ph n nhi u là sóng xúc tác hi ro do c p e t do trên m t nit trong môi tr ng axit pH < 4 ã nh n H<sup>+</sup> sau ó chính proton này b kh trên i n c c. CIP có 3 nit theo lí gi i trên thì s xu t hi n ba peak nh ng có 1 do hi u ng liên h p e vào vòng (nit s 1) và s án ng không gian (c nit s 1 và 2) làm cho c p e t do c a các nit này khó hút H<sup>+</sup> do ó s nh n proton c a nit s 3 là h p lí và d dàng h n c , peak kh o sát c có th là do s kh H<sup>+</sup> c a nit s 3.



Peak c a CIP thu c trong môi tr ng axit d ng chân l ch, nghiêng v th âm d n khi t ng n ng , peak nh n u trong n n m axetat và tù trong n n m v n n ng, các kh o sát cho th y hoàn toàn phù h p v i k t qu ã công b [36].

### 2.1.2 Kh o sát các k thu t quét.

Tr c tiên ti n hành o peak c a CIP b ng các k thu t o khác nhau: ph ng pháp von – ampe vòng (CV) kh o sát tính thu n ngh ch c a ph n ng kh CIP, o b ng k thu t xung vi phân và k thu t sóng vuông.



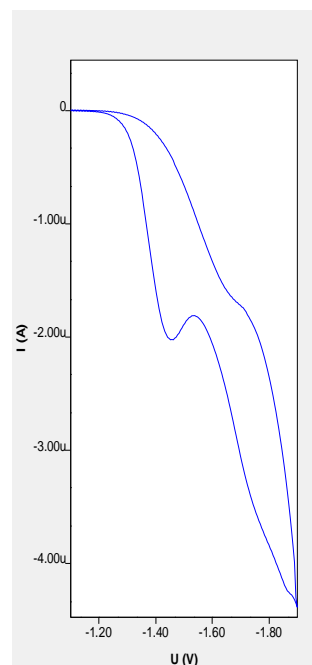
### 2.1.2.1 Phương pháp von-ampe vòng

Trong nghiên cứu tính chất điện hóa của CIP có thể là tính thuận nghịch của phản ứng khử CIP trên catốt và tìm kiếm điều kiện cho sự xác nhận bằng phương pháp Von-Ampe hòa tan dựa trên hành vi của phương pháp von-ampe vòng trên điện cực graphite y ngân.

Tên hành độ dung dịch CIP là 0,04 ppm trong môi trường pH = 3,8 với các thông số máy ta thu được kết quả như sau:

Các thông số máy :

Thế quét	-1,1V
Thời gian quét	65s
Thời gian cân bằng	15s
Tốc độ quét	0,1 V/s
Số vòng	1 vòng
Bước thế	0,005V
Tốc độ khuấy	2000rpm
Thời gian sục khí	300s
Kích thước điện cực y ngân	3
Khoảng thế quét	-1,1 đến -1,9V



Hình 2. Phương pháp quét von – ampe vòng của CIP 0,04ppm trong môi trường pH=3,8

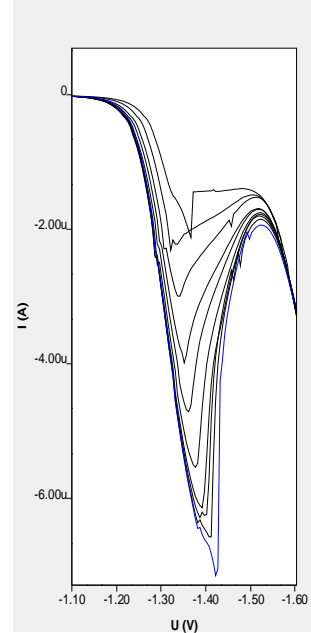
Trong kết quả trên ta thấy peak cathode xuất hiện theo chiều catốt trong quá trình oxy hóa mà không có chiều ngược lại chứng tỏ quá trình là không thuận nghịch. Chứng tỏ ra quá trình khử CIP mà không có quá trình oxy hóa ngược lại.

### 2.1.2.2 Kỹ thuật xung vi phân.

Khảo sát peak của CIP bằng kỹ thuật xung vi phân chọn kỹ thuật ohp lí nh t cho hình dạng peak p và tuyến tính ta tỉ n hành o CIP t 0,02 n 0,18 ppm trong m axetat 0,075M pH = 3,8 v i các thông s máy thu c k t qu nh sau:

Các thông s máy

Th h p ph	-1,1V
Th i gian h p ph	65s
Th i gian cân b ng	15s
T c quét	0,1V/s
Th i gian ghi xung	0,04s
B c th	0,005V
T c khu y	2000rpm
Th i gian s c khí	300s
Kích c gi t th y ngân	3
Kho ng th h p ph	-1,1 n -1,6V



Hình 3. Khảo sát peak của CIP bằng kỹ thuật xung vi phân t 0,02 n 0,18 ppm trong m axetat pH = 3,8 theo kỹ thuật xung vi phân

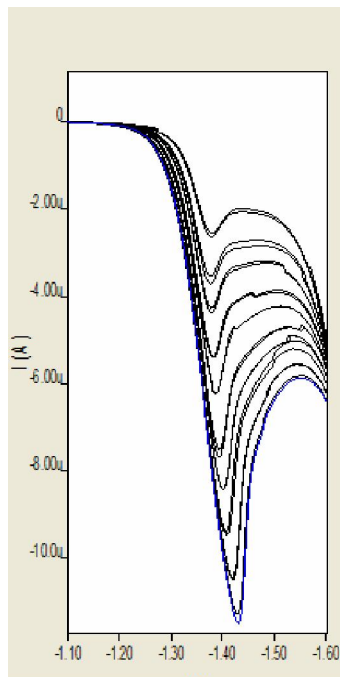
T k t qu trên ta th y CIP cho hình d ng peak bi n d ng trong kho ng n ng th p và v t quá 0,18ppm, th c t theo tài li u tham kh o [36] cho th y peak của CIP o b ng k thu t xung vi phân p và nh n u t c quét 0,14V/s nh ng thông s này ng v i thi t b máy móc hi n có không n nh do ó ch tỉ n hành o c v i t c quét 0,1V/s, thì t c này hình d ng peak không lí t ng n ng cao và th p. Do ó chúng tôi kh o sát tỉ p v i k thu t o sóng vuông.

### 2.1.2.3 Kỹ thuật quét sóng vuông

Khảo sát peak của CIP bằng kỹ thuật quét sóng vuông, tỉ n hành o CIP n ng t 0,02 n 0,2 ppm trong m axetat 0,075M pH = 3,8 v i các thông s máy thu c k t qu nh sau:

Các thông số máy:

Thế áp	-1,1V
Thời gian hấp phụ	65s
Thời gian cân bằng	15s
Tần số	50Hz
Biên độ xung	0,1V
Bước thế	0,005V
Tốc độ khuấy	2000 rpm
Thời gian sắc khí	300s
Kích cỡ giọt thủy ngân	3



Hình 4. Khảo sát peak của CIP nồng độ 0,02 và 0,2 ppm trong môi trường acetat pH=3,8 khi quét sóng vuông

Kết quả trên cho thấy hình dạng peak khi tiến hành đo bằng kỹ thuật sóng vuông khá tốt và là lý tưởng cho peak rõ ràng nhất và tuyến tính trong khoảng nồng độ dài, so sánh với kỹ thuật xung vi phân hình 5 thì ở CIP bằng kỹ thuật sóng vuông cho peak nhọn và thon hơn so với kỹ thuật xung vi phân, hình thức nhọn này kỹ thuật xung vi phân bình thường thì đo bằng kỹ thuật sóng vuông hình dạng peak vẫn đẹp và đáng tin cậy. Do đó chúng tôi chọn kỹ thuật là sóng vuông cho các khảo sát sau này.

## **2.2 Khảo sát thành phần n n n.**

Thành phần n n n rất nhiều nhất cho vì xác định CIP trong các phẩm thực phẩm chúng tôi dùng làm vật mẫu có khoảng pH rộng khảo sát giá trị pH mà CIP cho hình dạng peak càng tốt thì hiển thị rõ ràng nhất, sau đó vì cần xác định thành phần giá trị pH nhất định chúng tôi tiến hành khảo sát các loại mẫu có

pH khảo nghiệm này tìm ra lo ngại m phù hợp nhất với CIP. Bằng cách cùng khảo sát thành phần này là so sánh với cùng một loại mẫu pH đã chọn này nào cả để cho tín hiệu tốt nhất.

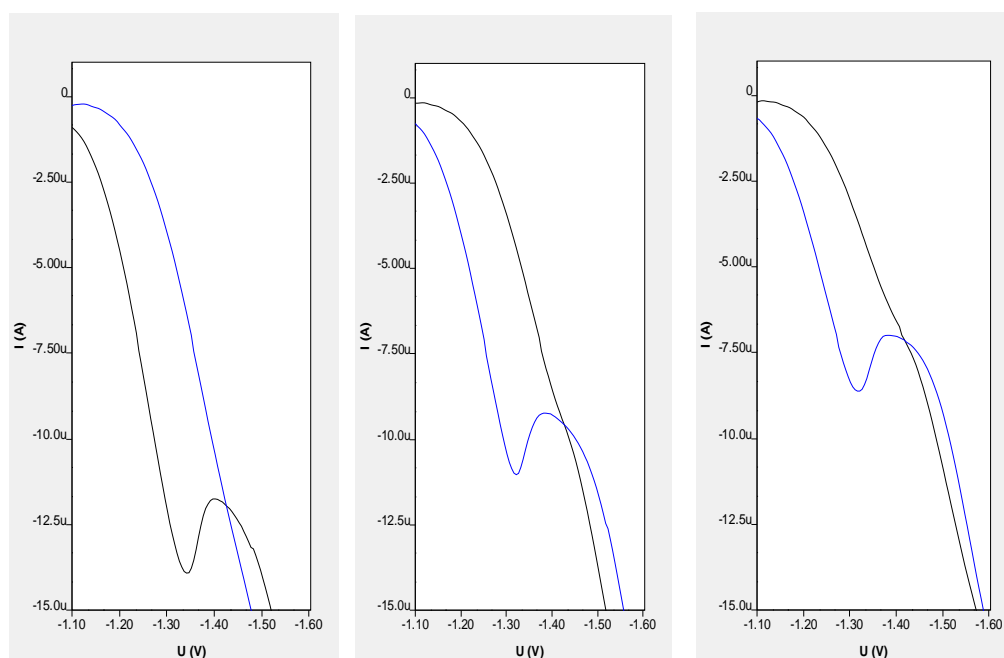
### 2.2.1 Khảo sát ảnh hưởng của pH.

Sau khi lựa chọn các kỹ thuật tối ưu nhất hành khảo sát pH tối ưu cho quá trình xác định CIP, tiến hành khảo sát các pH trong khoảng 1,97 – 6,09 bằng mẫu thử. Mẫu thử CIP 0,04ppm với các thông số máy:

Thế áp	-1,1V	Điện thế	0,005V
Thời gian hấp phụ	65s	Tốc độ khuấy	2000rpm
Thời gian cân bằng	15s	Thời gian sục khí	300s
Tần số	50Hz	Kích cỡ giọt thủy ngân	3
Biên độ xung	0,1V		

Chúng tôi thu được kết quả như sau:

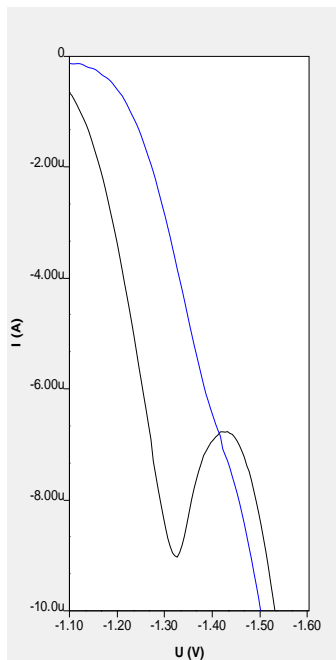
Hình 5. Peak của CIP 0,04ppm các pH khác nhau trong mẫu thử.



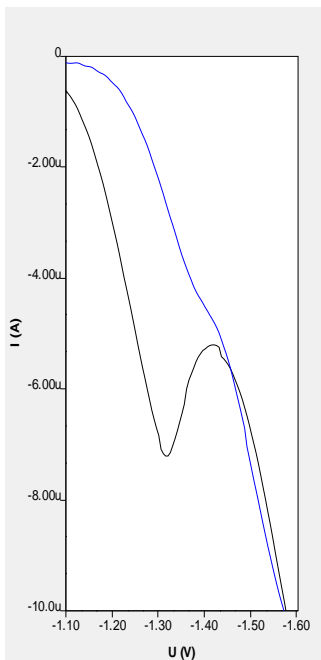
pH = 1,97

pH = 2,10

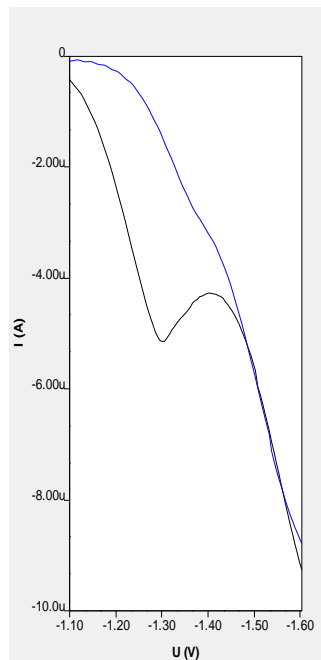
pH = 2,21



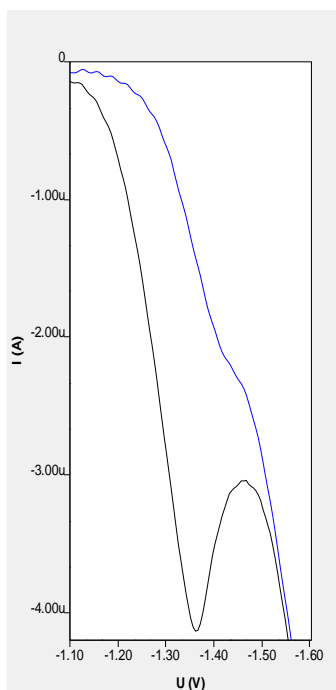
**pH = 2,36**



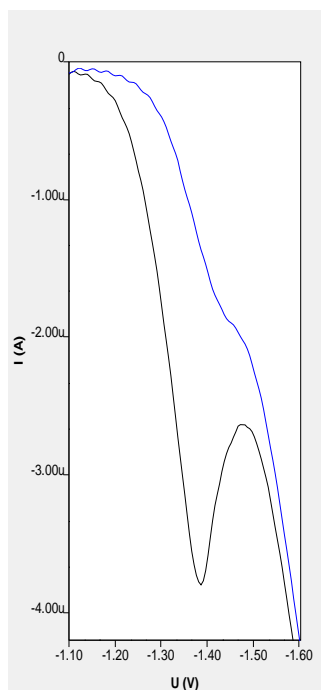
**pH = 2,56**



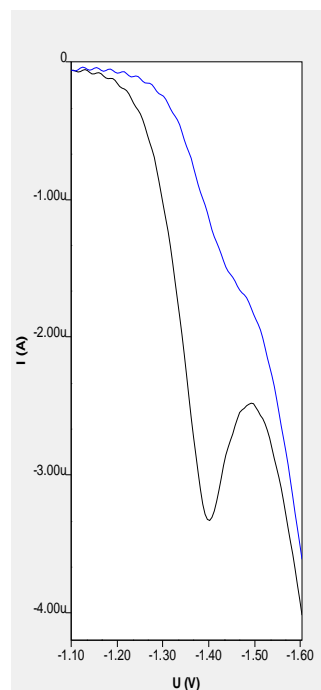
**pH = 2,86**



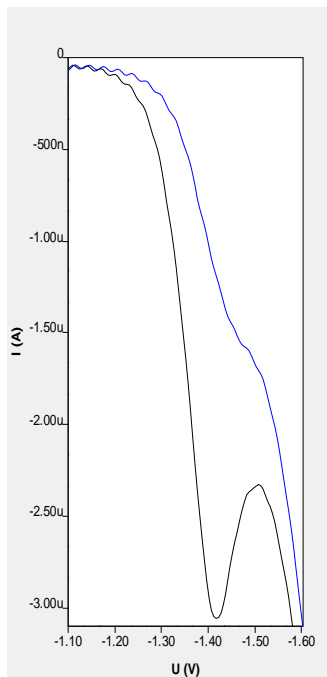
**pH = 3,78**



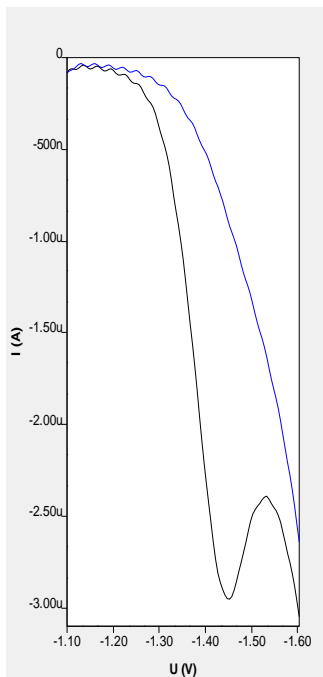
**pH = 4,10**



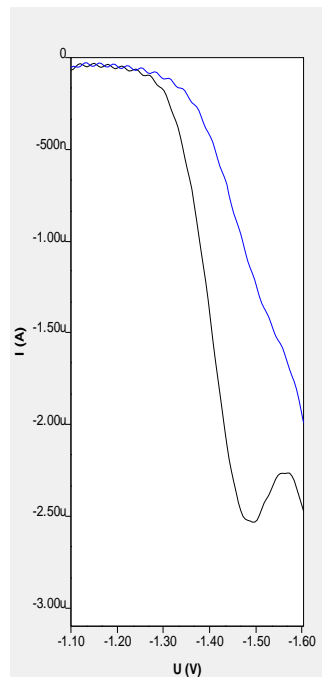
**pH = 4,36**



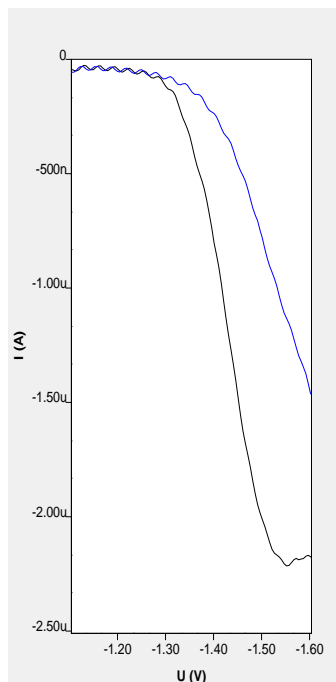
pH = 4,55



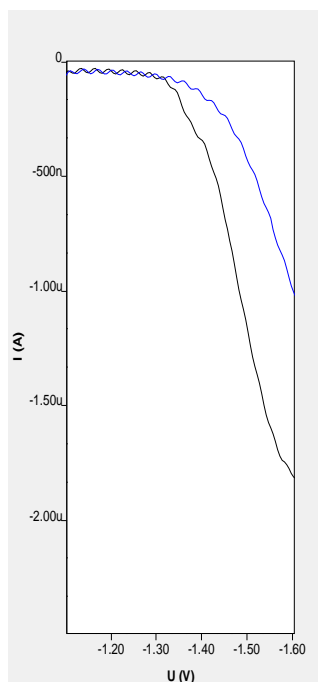
pH = 4,8



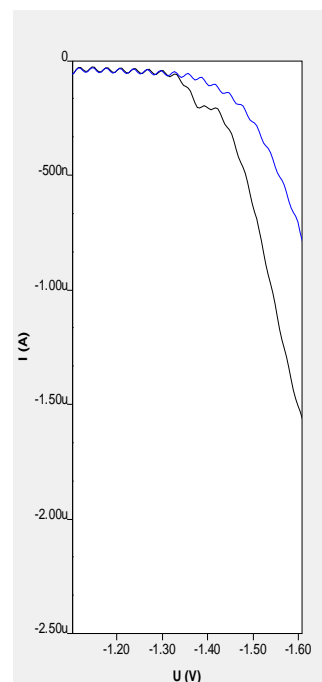
pH = 5,02



pH = 5,34



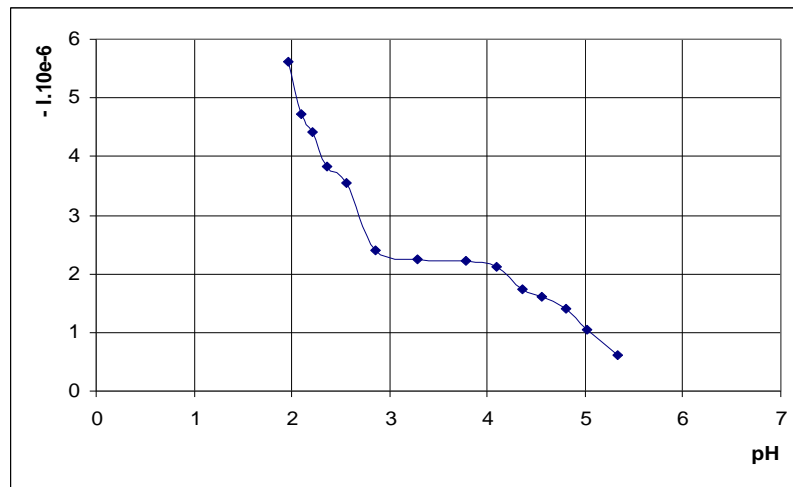
pH = 5,73



pH = 6,09

<i>pH</i>	<b>-I. 10<sup>-6</sup> (A)</b>			<i>pH</i>	<b>I. 10<sup>-6</sup> (A)</b>		
	<b>L n 1</b>	<b>L n 2</b>	<b>TB</b>		<b>L n 1</b>	<b>L n 2</b>	<b>TB</b>
1,97	5,58	5,64	5,61	<b>4,10</b>	2,11	2,12	2,115
2,10	4,72	4,71	4,715	4,36	1,73	1,74	1,735
2,21	4,43	4,42	4,425	4,55	1,58	1,62	1,600
2,36	3,83	3,83	3,830	4,80	1,42	1,40	1,410
2,56	3,53	3,55	3,540	5,02	1,05	1,04	1,045
<b>2,86</b>	2,40	2,38	2,390	5,34	0,62	0,61	0,615
<b>3,29</b>	2,23	2,25	2,240	5,73	<i>Không lên peak</i>		
<b>3,78</b>	2,23	2,23	2,230	6,09			

Bảng 2. Khảo sát ảnh hưởng của pH đến chiều cao peak



Hình 6. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của chiều cao peak vào pH

Kết quả trên cho thấy các pH thí nghiệm 1,97 – 2,86 tuy chiều cao của peak chỉ một chút nhưng hình dạng peak quá đặc (giảm tới 0 xu hướng  $-2,15 \cdot 10^{-5}$ ) hai chân peak quá lệch (cách nhau xa) và trong khoảng pH này giá trị pH thay đổi nhanh làm chiều cao peak giảm rất nhanh (đồ thị cho thấy biểu đồ giảm dần) còn pH cao hơn từ 4,1 trở đi chiều cao peak giảm chậm hơn và từ 5,34 trở đi không xuất hiện peak.

Nh v y hình d ng peak và chi u cao peak c a CIP p và n nh nh t trong kho ng pH t 2,86 n 4,1. Trong kho ng pH này tuy chi u cao peak không cao b ng giá tr pH th p h n nh ng th o n n m ngang cho th y chi u cao peak h n nh không thay i khi giá tr pH thay i nh do ó chúng tôi ch n giá tr pH trong kho ng này cho các kh o sát sau này.

### 2.2.2 Kh o sát các lo i m pH = 3,5 – 4,2

Kh o sát peak c a CIP n n m khác nhau v i cùng thông s máy là:

Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian h p ph	65s	T c khu y	2000rpm
Th i gian cân b ng	15s	Th i gian s c khí	300s
T n s	50Hz	Kích c gi t th y ngân	3
Biên xung	0,1V		

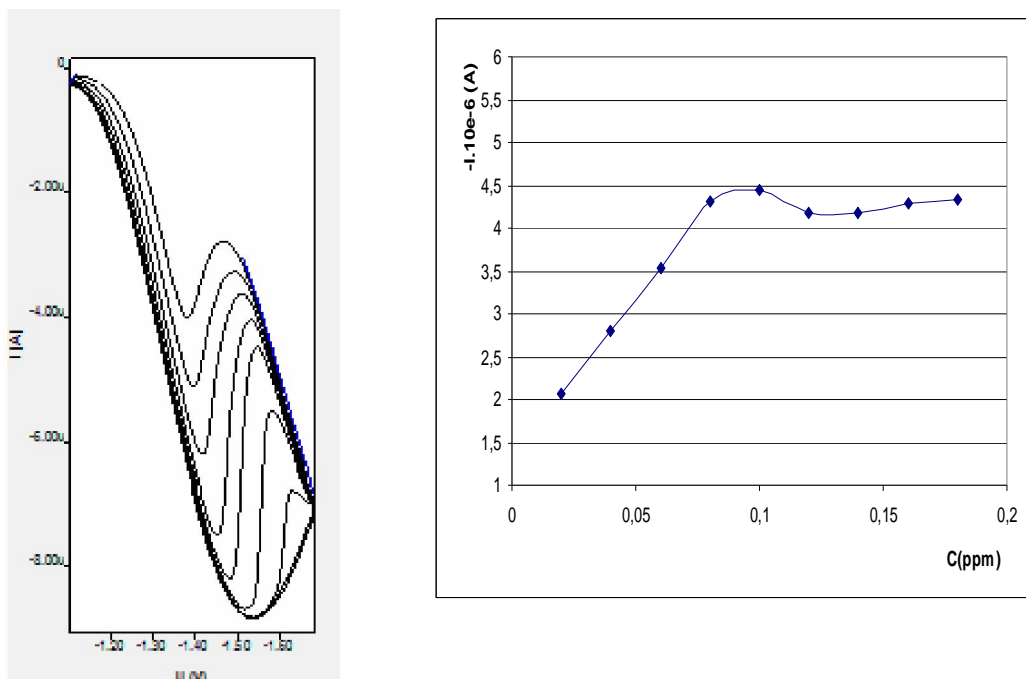
- m v n n ng.

Ti n hành kh o sát o CIP trong n n là m v n n ng pH = 3,75 các n ng t 0,02 n 0,18ppm thu c peak và các giá tr nh sau:

C (ppm)	V trí peak		$-I \cdot 10^{-6}$	
	(-V)	L n 1	L n 2	TB
0,02	1,37	2,05	2,07	2,060
0,04	1,39	2,80	2,81	2,805
0,06	1,41	3,54	3,51	3,525
0,08	1,44	4,33	4,29	4,310
0,10	1,47	4,46	4,45	4,455
0,12	1,48	4,20	4,14	4,170
0,14	1,48	4,15	4,20	4,175
0,16	1,48	4,31	4,27	4,290
0,18	1,49	4,34	4,34	4,340

B ng 3. Kh o sát peak c a CIP n ng t 0,02 – 0,18 ppm trong m v n n ng pH = 3,8



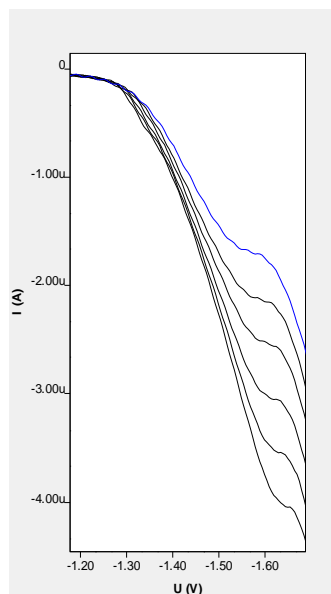


Hình 7. Kh o sát peak c a CIP n ng t 0,02 – 0,18 ppm trong m v n n ng pH=3,8

T k t qu trên ta th y o CIP trong m v n n ng cho hình d ng peak t ng i p nh ng các n ng cao t 0,10 ppm tr i chi u cao peak không còn tuy n tính v i n ng , peak tù và tho i, kho ng tuy n tính ng n. Do ó kh o sát ti p v i các lo i m khác xác nh lo i m phù h p nh t v i CIP.

- m photphat

o CIP trong m photphat pH t 4,2 cho th y k t qu không ch chi u cao peak b gi m pH cao theo kh o sát 2.2.1 mà th m chí trong m phôtphat còn không lên tín hi u peak, lo i m này không phù h p o CIP.



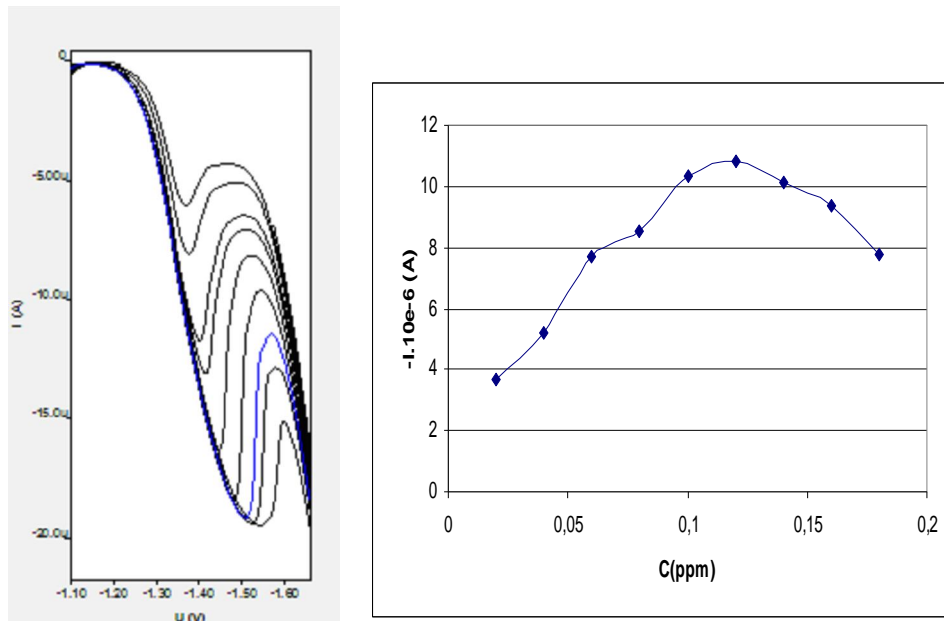
Hình 8: Kh o sát peak c a CIP n ng  
 t 0,02 – 0,12 ppm trong  
 m Photphat pH = 4,2

- m Citrat.

o CIP trong m Citrat pH = 3,79 n ng t 0,02 n 0,18 ppm thu c peak và các giá tr nh sau:

C (ppm)	V trí peak (-V)	-I . 10 <sup>-6</sup>		
		L n 1	L n 2	TB
0,02	1,37	3,66	3,74	3,70
0,04	1,37	5,23	5,23	5,23
0,06	1,40	7,72	7,66	7,69
0,08	1,41	8,50	8,62	8,56
0,10	1,44	10,30	10,4	10,35
0,12	1,47	10,80	10,8	10,80
0,14	1,49	10,00	10,3	10,15
0,16	1,48	9,36	9,42	9,39
0,18	1,48	7,84	7,70	7,77

B ng 4. Kh o sát peak c a CIP n ng 0,02 – 0,18 ppm trong m Citrat pH = 3,8



Hình 9. Kh o sát peak c a CIP n ng t 0,02 – 0,18 ppm trong m Citrat pH = 3,8

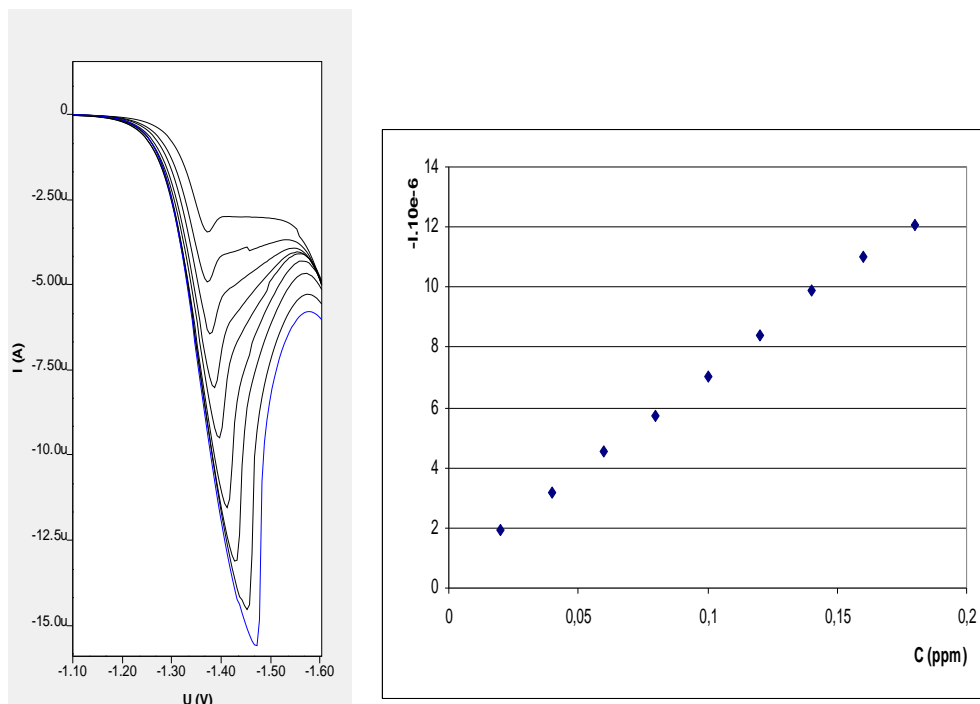
K t qu trên cho th y n n Citrat cho hình d ng peak b từ các n ng cao và không tuy n tính, o các n ng cao chỉ u cao peak không t ng mà còn b gi m i do ó vì c s d ng m Citrat không phù h p.

- m acetat.

Kh o sát tín hi u peak c a CIP trong m acetat pH = 3,79 n ng t 0,02 ppm n 0,18 ppm thu c peak và các giá tr nh sau:

C (ppm)	V trí peak (-V)	-I . 10 <sup>-6</sup>		
		L n 1	L n 2	TB
0,02	1,35	1,96	1,94	1,950
0,04	1,35	3,19	3,19	3,190
0,06	1,36	4,56	4,54	4,550
0,08	1,36	5,74	5,74	5,740
0,10	1,37	7,04	7,08	7,060
0,12	1,38	8,40	8,36	8,380
0,14	1,39	9,89	9,88	9,885
0,16	1,41	11,01	11,02	11,015
0,18	1,42	12,00	12,20	12,100

Bảng 5: Khảo sát chi u cao peak ph thu c vào n ng CIP trong m axetat pH = 3,79



Hình 10: Khảo sát peak c a CIP n ng t 0,02 – 0,18 ppm trong m Axetat pH = 3,79

Tổng kết trên cho thấy nồng độ CIP trong dung dịch acetat cho tín hiệu peak rõ ràng và tùy chỉnh nhất trong các loại máy đo sắt, không tùy chỉnh cao peak vào nồng độ tăng giảm, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả đã nghiên cứu trong tài liệu [36]. Do đó chúng tôi chọn dung dịch acetat làm dung dịch cho các đo sắt sau này.

### 2.2.3 Khảo sát nồng độ acetat pH = 3,8

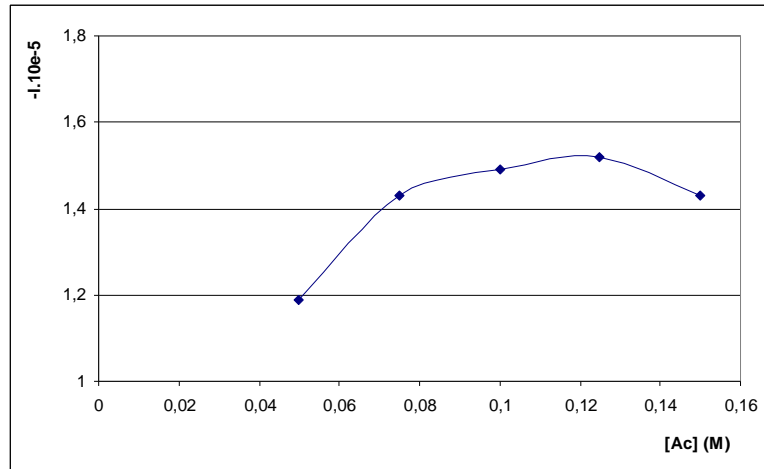
Để kiểm tra các nồng độ khác nhau của các dung dịch acetat có cùng pH = 3,8. Sau khi cho các dung dịch vào máy đo pH và tiến hành ghi tín hiệu peak của CIP 0,16ppm với các thông số máy:

Thế áp	-1,1V	Điện thế	0,005V
Thời gian hòa tan	65s	Tốc độ khuấy	2000rpm
Thời gian cân bằng	15s	Thời gian sắc khí	300s
Tần số	50Hz	Kích cỡ giọt thủy ngân	3
Biên độ xung	0,1V		

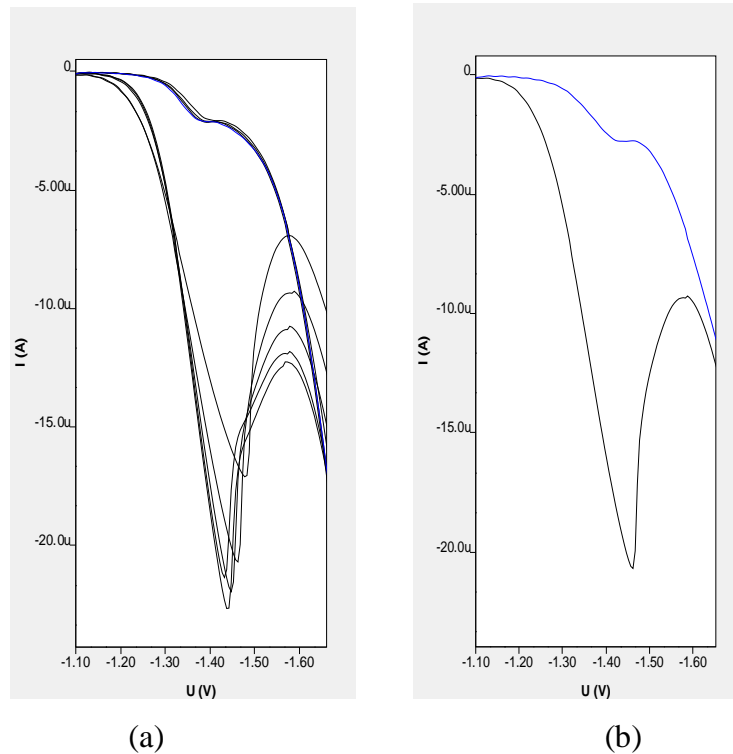
Ta thu được các kết quả như sau:

$C_M$ Acetat		0,05	0,075	0,1	0,125	0,15
$-1.10^{-5}$ (A)	L n 1	1,19	1,45	1,5	1,53	1,45
	L n 2	1,18	1,42	1,48	1,52	1,43
	L n 3	1,19	1,42	1,49	1,52	1,41
	TB	1,19	1,43	1,49	1,52	1,43

Bảng 6: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acetat pH = 3,8 vào chiều cao peak CIP



Hình 11: Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của chiều cao peak vào nồng độ muối Axetat pH = 3,8



Hình 12: Khảo sát sự phụ thuộc của chiều cao peak CIP0,16ppm vào nồng độ muối axetat pH = 3,8 (hình a) và peak CIP0,16ppm trong dung dịch muối axetat 0,075M (hình b)

Kết quả trên cho thấy sự phụ thuộc của chiều cao peak vào nồng độ muối và cho giá trị cao nhất của nồng độ muối là 0,125M tuy nhiên tại giá trị này và giá trị 0,1M hình dạng peak lại không cân đối, peak xuất hiện vai bên phải

r t rõ, do v y chúng tôi ch n giá tr thích h p cho n ng m axeat là 0,075M, t i n ng này tuy chi u cao peak không c c i nh ng hình d ng t ng i u và chi u cao c ng không th p h n nhi u so v i các n ng khác.

### 2.3 Kh o sát các thông s máy.

Ti n hành o cùng dung d ch CIP0,2 ppm trong m axetat0,075M pH = 3,8 các thông s máy khác nhau ta có k t qu nh sau:

#### 2.3.1 Kh o sát th h p ph

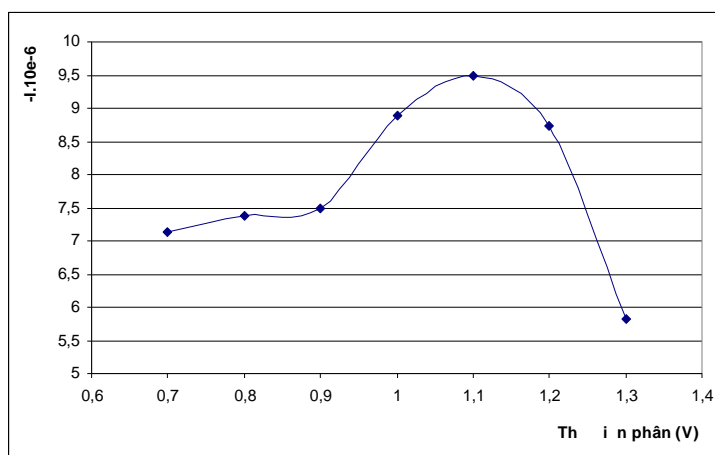
Thay i các th h p ph khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th i gian h p ph	30s	B c th	0,005V
Th i gian cân b ng	10s	T c khu y	2000rpm
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	200s
Biên xung	0,05V	Kích c gi t th y ngân	4

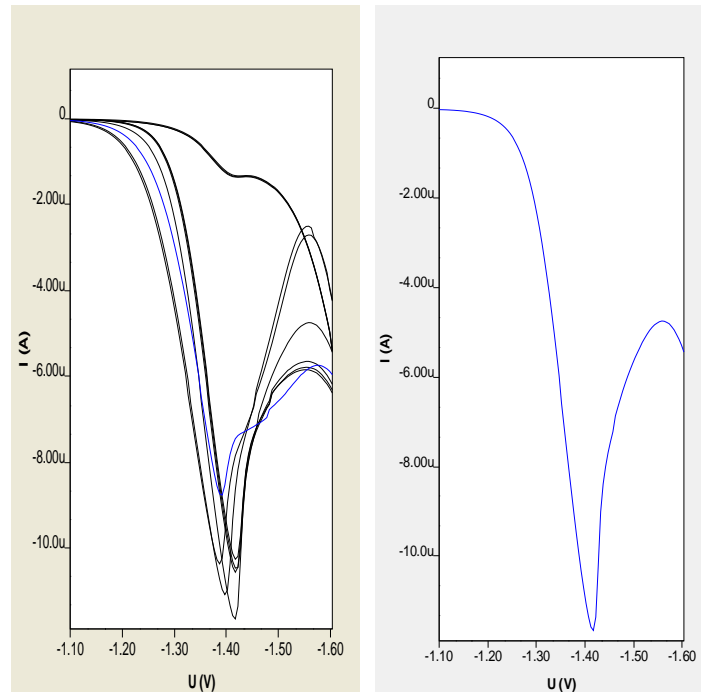
Ta thu c k t qu nh sau:

Th i n phân(-V)	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3
-I. 10 <sup>-6</sup> (A)	L n 1	7,12	7,36	7,50	8,87	9,51	5,84
	L n 2	7,13	7,40	7,48	8,90	9,48	5,80
	TB	7,13	7,38	7,49	8,89	9,50	5,82

B ng 7: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th h p ph



Hình 13: th bi u di n s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th h p ph



Hình 14: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th h p ph (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm th h p ph -1,1V

Nh v y chi u cao peak c c i th h p ph là -1,1V, do ó chúng tôi ch n giá tr này cho các kh o sát ti p theo.

### 2.3.2 Kh o sát th i gian h p ph

Thay i các th i gian h p ph khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

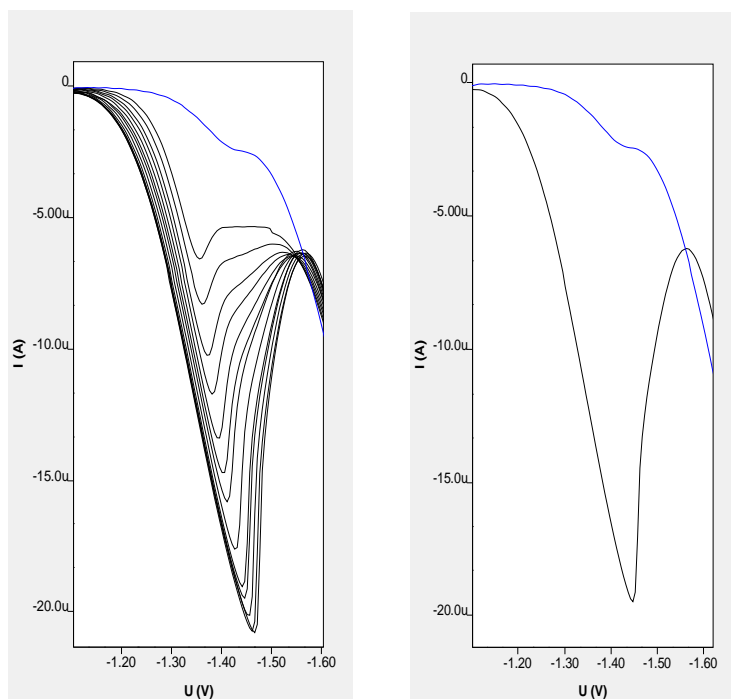
Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian cân b ng	10s	T c kh y	2000rpm
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	200s
Biên xung	0,05V	Kích c gi t th y ngân	4

Ta thu c k t qu nh sau:

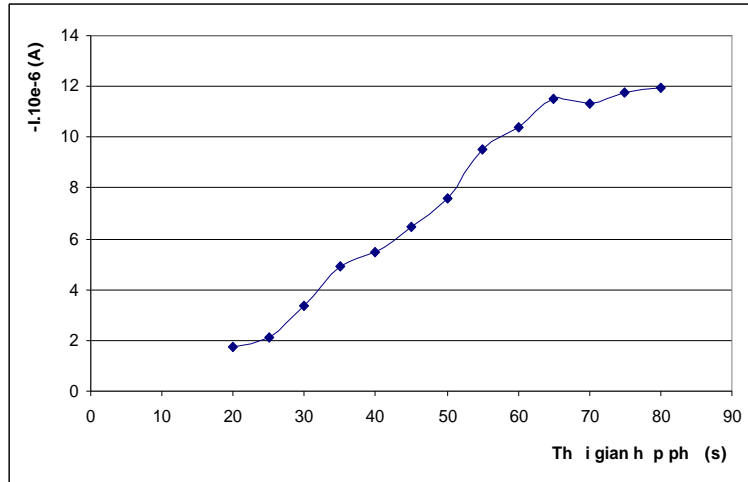


Th i gian h p ph	$-I \cdot 10^{-6}$			Th i gian h p ph	$-I \cdot 10^{-6}$		
	L n 1	L n 2	TB		L n 1	L n 2	TB
20	1,77	1,70	1,735	55	9,5	9,5	9,50
25	2,14	2,10	2,120	60	10,4	10,4	10,40
30	3,29	3,39	3,340	65	11,9	11,1	11,50
35	4,97	4,90	4,935	70	11,4	11,2	11,30
40	5,54	5,44	5,490	75	11,8	11,7	11,75
45	6,50	6,50	6,500	80	12,0	11,9	11,95
50	7,60	7,60	7,600				

B ng 8: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian h p ph



H ình 15: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian h p ph (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm khi th i gian h p ph là 65s



Hình 16: *th bi u di n s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian h p ph*

Nh v y th i gian h p ph càng t ng thì chi u cao peak càng t ng, nh ng b t u t giá tr 65s tr lên thì chi u cao peak là t ng i n nh do ó chúng tôi ch n giá tr này cho các l n kh o sát ti p theo.

### 2.3.3 Kh o sát th i gian cân b ng

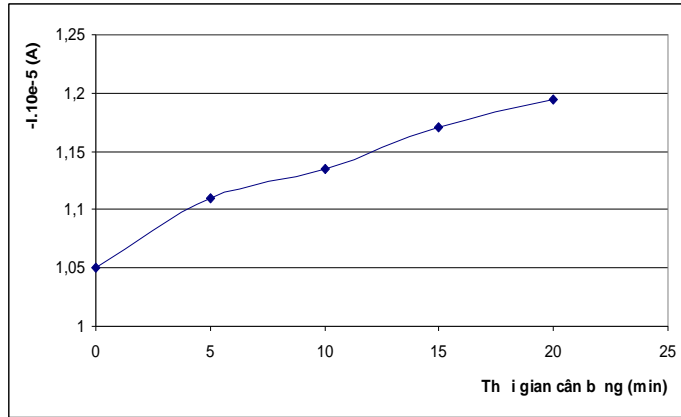
Thay i các th i gian cân b ng khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian h p ph	65s	T c kh y	2000rpm
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	200s
Biên xung	0,05V	Kích c gi t th y ngân	3

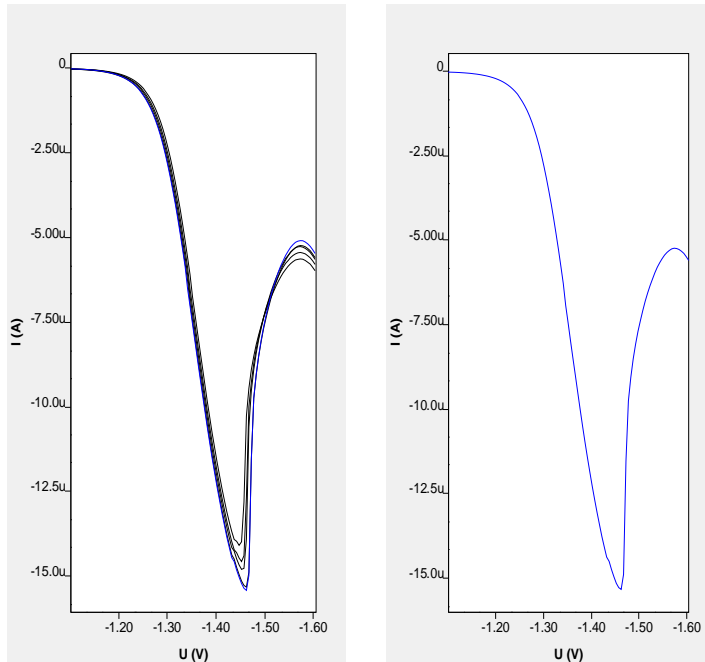
Ta thu c k t qu nh sau:

Th i gian cân b ng (min)		0	5	10	15	20
$-I \cdot 10^{-5}$ (A)	<b>L n 1</b>	1,05	1,10	1,13	1,17	1,19
	<b>L n 2</b>	1,05	1,12	1,14	1,17	1,20
	<b>TB</b>	1,05	1,11	1,135	1,17	1,195

B ng9 : *Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian cân b ng*



Hình 17: *th bi u đi n s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian cân b ng*



Hình 18: *Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian cân b ng (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm khi th i gian cân b ng là 15s*

Nói chung th i gian cân b ng không nh h ng nhi u n chi u cao peak, chi u cao peak t ng ít theo s t ng th i gian cân b ng, chúng tôi ch n th i gian cân b ng là 15s cho các kh o sát t p theo.

### 2.3.4 Kh o sát t c khu y

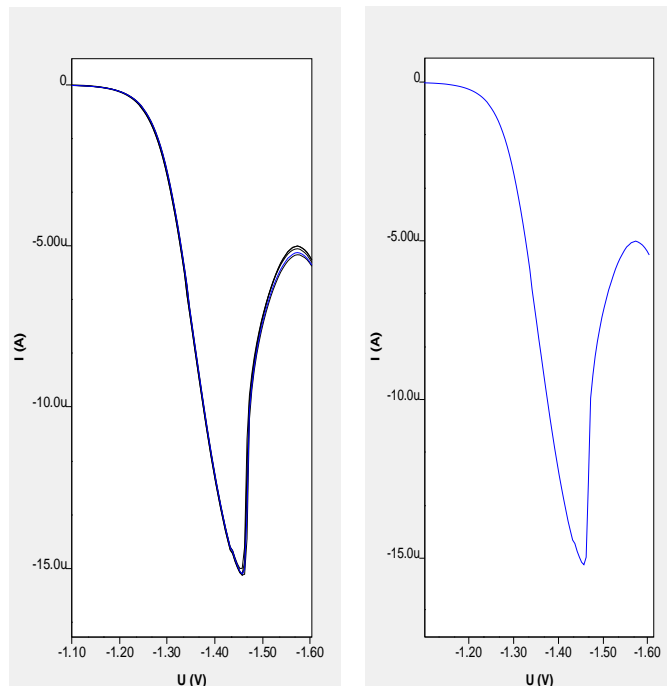
Thay i các t c khu y khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian cân b ng	15s	Th i gian h p ph	65s
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	200s
Biên xung	0,05V	Kích c gi t th y ngân	3

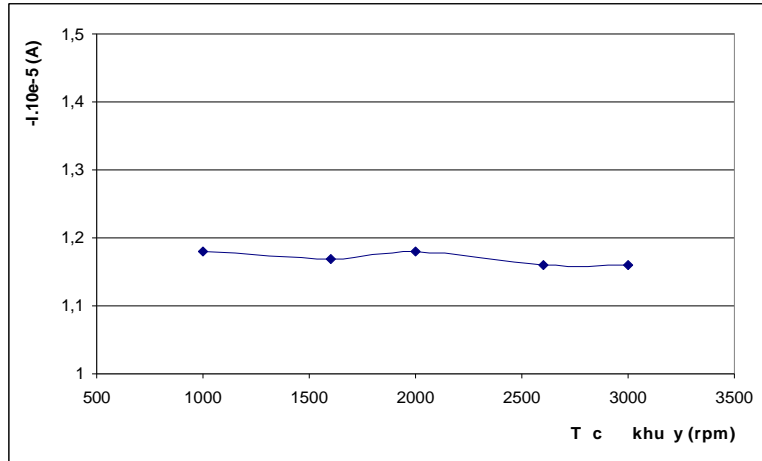
Ta thu c k t qu nh sau:

T c khu y (rpm)		1000	1600	2000	2600	3000
<b>-I. 10<sup>-5</sup></b> <b>(A)</b>	<b>L n 1</b>	1,18	1,17	1,18	1,16	1,16
	<b>L n 2</b>	1,18	1,16	1,18	1,16	1,16
	<b>TB</b>	1,18	1,17	1,18	1,16	1,16

B ng 10 : Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào t c khu y



Hình 19: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào t c khu y (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm khi t c khu y là 2000 rpm.



Hình 20: *th bi u di n s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào t c khu y*

Nh v y, t c khu y h u nh không nh h ng nhi u n chi u cao peak, chúng tôi ch n t c khu y là 2000 rpm cho các kh o sát ti p theo.

### 2.3.5 Kh o sát biên xung

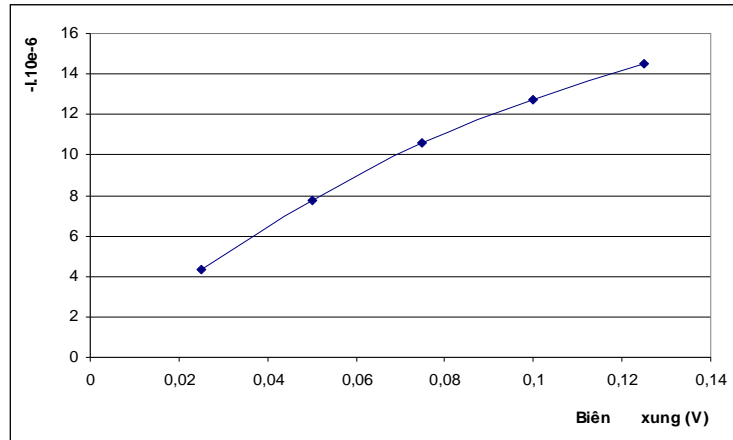
Thay i các biên xung khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian cân b ng	15s	T c kh y	2000rpm
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	200s
Th i gian h p ph	65s	Kích c gi t th y ngân	3

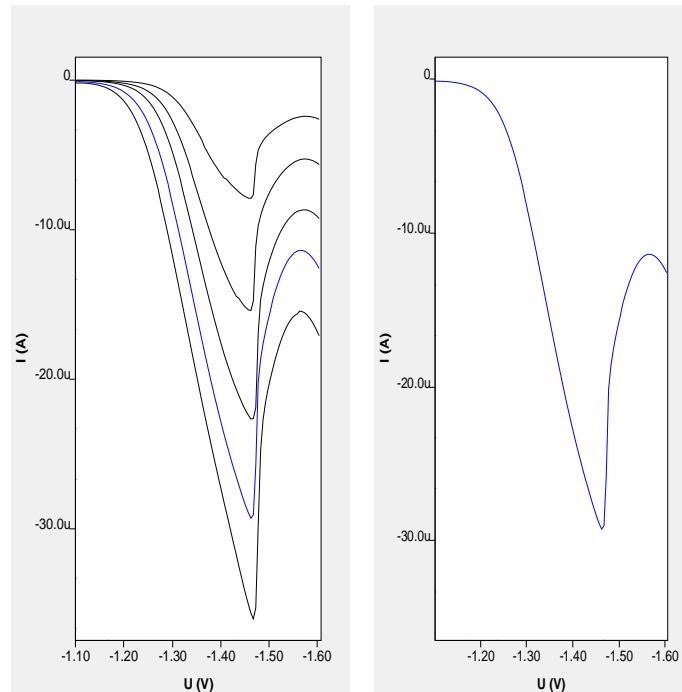
Ta thu c k t qu nh sau:

Biên xung (V)		0,025	0,05	0,075	0,1	0,125
<b>-I. 10<sup>-6</sup></b> <b>(A)</b>	<b>L n 1</b>	4,34	7,8	10,6	12,7	14,5
	<b>L n 2</b>	4,32	7,7	10,6	12,7	14,5
	<b>TB</b>	4,33	7,75	10,6	12,7	14,5

B ng 11: *Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào biên xung*



Hình 21: *th bi u di n s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào biên xung*



Hình 22: *Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào biên xung (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm biên xung 0,1V*

Nh v y, chi u cao peak t ng r t nhanh theo biên xung, các biên th p, peak tù và th p, tuy 0,125V chi u cao peak v n t ng nh ng do i u ki n thi t b hi n dùng không n nh biên xung quá cao do ó chúng tôi ch n giá tr biên xung là 0,1V cho các kh o sát ti p theo.

### 2.3.6 Kh o sát t n s

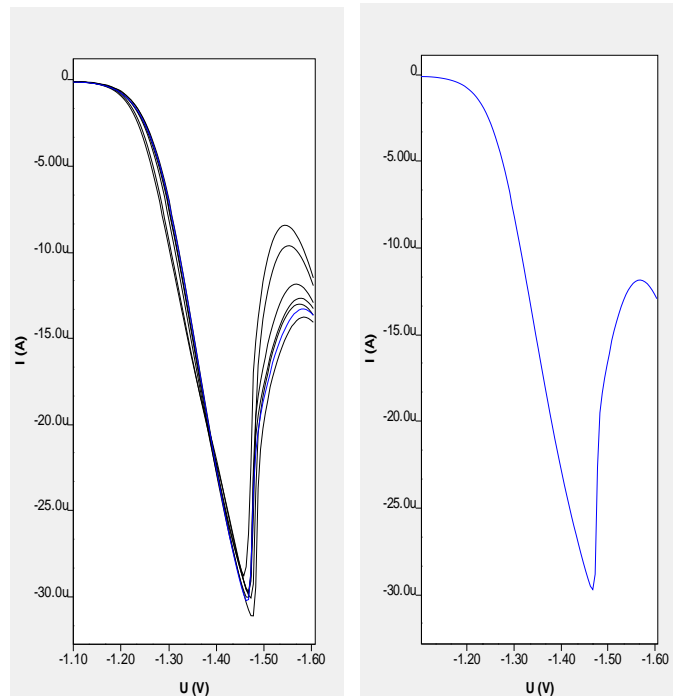
Thay i các t n s o khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th h p ph	-1,1V	B c th	0,005V
Th i gian cân b ng	15s	T c kh y	2000rpm
Th i gian h p ph	65s	Th i gian s c khí	200s
Biên xung	0,1V	Kích c gi t th y ngân	3

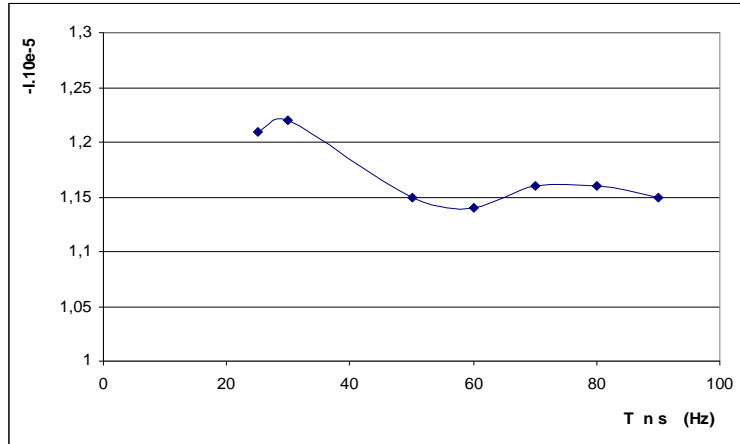
Ta thu c k t qu nh sau:

T n s (Hz)		25	30	50	60	70	80	90
$-I \cdot 10^{-5}$ (A)	L n 1	1,21	1,22	1,15	1,14	1,17	1,16	1,14
	L n 2	1,21	1,24	1,15	1,14	1,15	1,16	1,16
	TB	1,21	1,22	1,15	1,14	1,16	1,16	1,15

B ng12 : Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào t n s



Hình 23: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào t n s (a) và chi u cao peak c a CIP 0,2ppm o t n s 50 Hz



Hình 24: Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của chi u cao peak của CIP vào tần số

Như vậy, tần số không ảnh hưởng nhiều đến hình dạng peak, tại tần số 70Hz thì chi u cao peak không thay đổi nhiều như các tần số cao hơn 50 Hz thì máy đo hiện hóa phòng thí nghiệm hiện có cho tín hiệu không chính xác, do đó chúng tôi lựa chọn tần số 50 Hz cho các lần khảo sát tiếp theo vì tần số này cho chi u cao peak của nó không khác nhiều giá trị 70, 80 Hz.

### 2.3.7 Khảo sát thời gian sạc khí

Một số các thông số khác nhau, các thông số máy khác theo bảng:

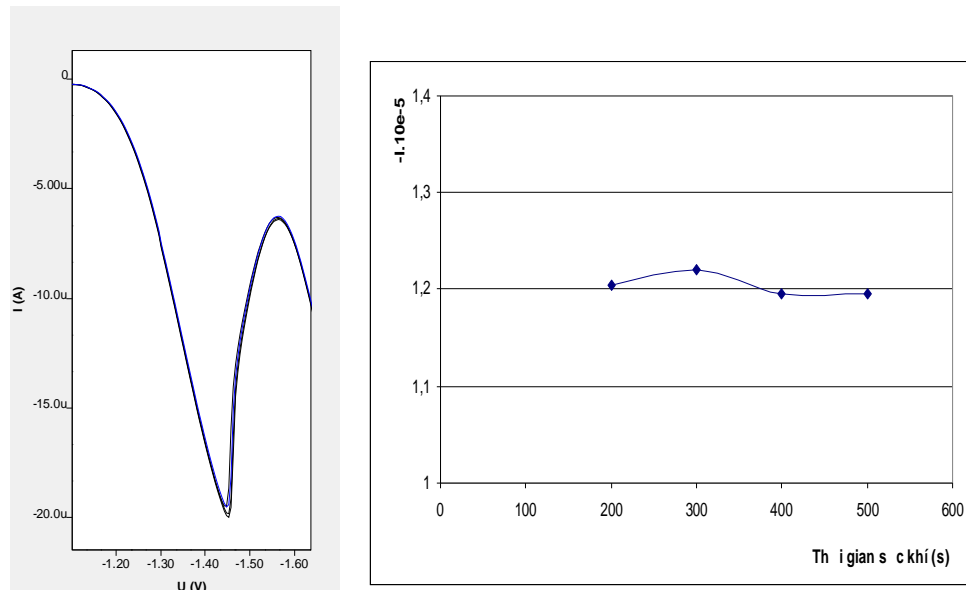
Điện áp	-1,1V	Đường kính	0,005V
Thời gian cân bằng	15s	Tốc độ quay	2000rpm
Tần số	50Hz	Thời gian hấp phụ	65s
Biên độ dao động	0,1V	Kích thước ống nghiệm	3

Chúng tôi thu được kết quả như sau:

Thời gian sạc khí (s)	200	300	400	500	
<b>-I. 10<sup>-5</sup> (A)</b>	<b>L n 1</b>	1,21	1,22	1,20	1,19
	<b>L n 2</b>	1,20	1,22	1,19	1,20
	<b>TB</b>	1,205	1,22	1,195	1,195

Bảng 13: Khảo sát sự phụ thuộc của chi u cao peak của CIP vào thời gian sạc khí





Hình 25: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào th i gian s c khí

Nh v y ta th y th i gian s c khí không nh h ng nhi u n chi u cao peak, t 200s tr i h u nh l ng oxi hòa tan trong dung d ch ã b u i h t nên th i gian s c khí lâu h n peak c ng không thay i áng k , do ó chúng tôi ch n th i gian s c khí là 300s cho các kh o sát ti p theo.

### 2.3.8 Kh o sát b c th

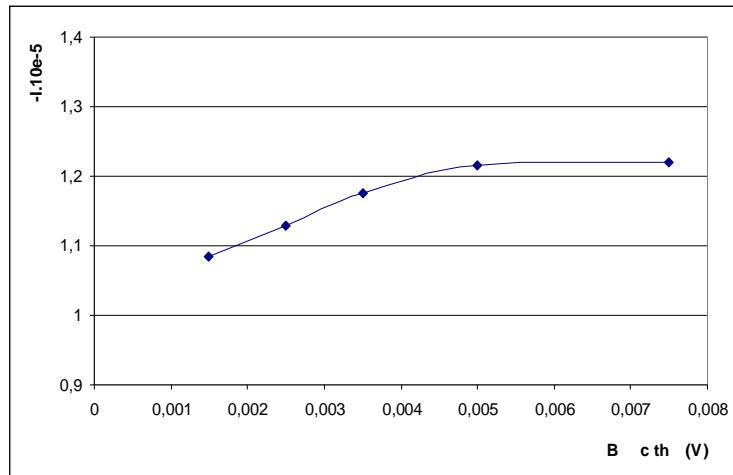
Thay i các b c th khác nhau, c nh các thông s máy khác theo b ng:

Th h p ph	-1,1V	Th i gian h p ph	65s
Th i gian cân b ng	15s	T c kh y	2000rpm
T n s	50Hz	Th i gian s c khí	300s
Biên xung	0,05V	Kích c gi t th y ngân	3

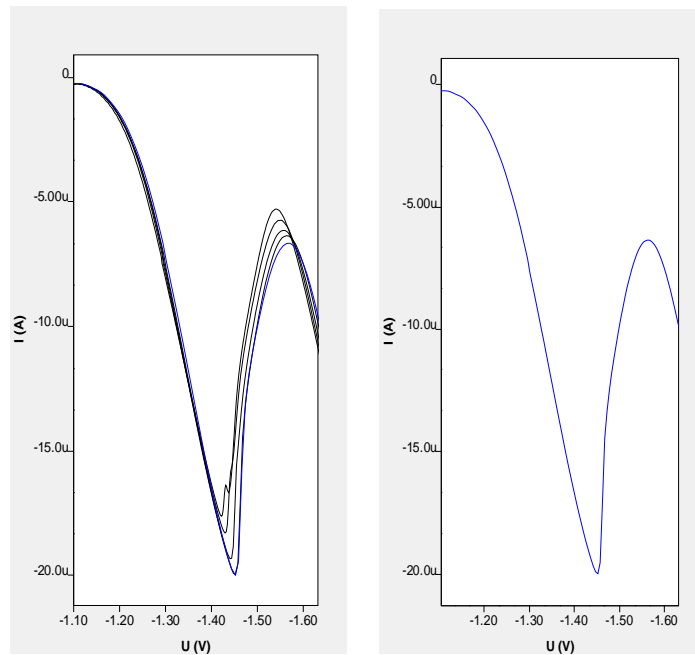
Ta thu c k t qu nh sau:

<b>B c th (V)</b>	<b>0,0015</b>	<b>0,0025</b>	<b>0,0035</b>	<b>0,0050</b>	<b>0,0075</b>	
<b>-I. 10<sup>-5</sup></b> <b>(A)</b>	<b>L n 1</b>	1,08	1,13	1,17	1,21	1,23
	<b>L n 2</b>	1,09	1,13	1,18	1,22	1,21
	<b>TB</b>	1,085	1,13	1,175	1,215	1,22

B ng 14: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào b c th



Hình 26: Biểu đồ thể hiện sự phụ thuộc của cường độ dòng điện đỉnh của CIP vào tốc độ quét.



Hình 27: Khảo sát sự phụ thuộc của cường độ dòng điện đỉnh của CIP vào tốc độ quét (a) và cường độ dòng điện đỉnh của CIP 0,2ppm khi tốc độ quét 0,005V

Như vậy ta thấy biểu đồ thể hiện hình dạng peak không cân xứng, cường độ dòng điện đỉnh theo sự thay đổi của tốc độ quét tuy nhiên tại tốc độ quét 0,005V thì cường độ dòng điện đỉnh không thay đổi đáng kể do đó chúng tôi chọn tốc độ quét 0,005V cho các khảo sát tiếp theo.

## 2.4 Phương pháp xác định CIP

Nhằm vậy quá trình khảo sát trên chúng tôi tóm tắt lại điều kiện thí nghiệm xác định CIP bằng phương pháp điện hóa là:

Xác định CIP bằng phương pháp von – ampe hòa tan hợp pháp thu được sóng vuông trong dung dịch axetat 0,075M pH = 3,8. Các thông số máy là:

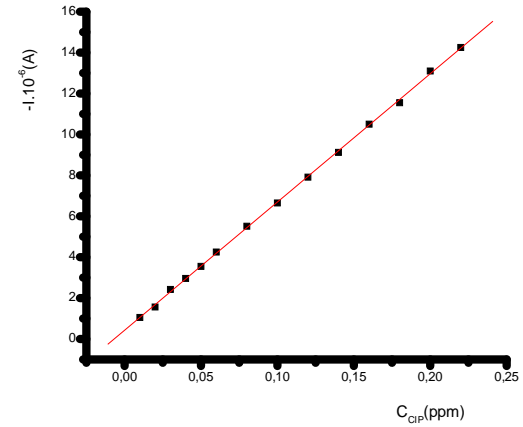
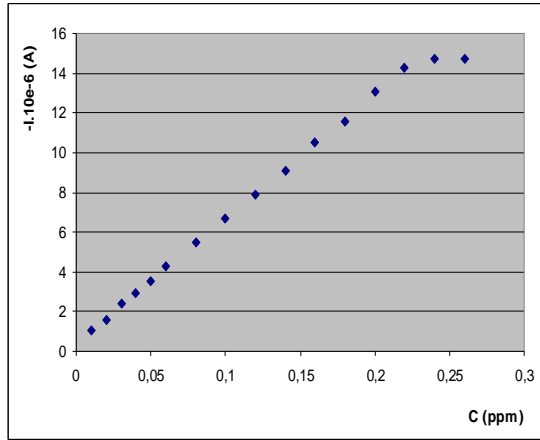
Điện áp	-1,1V	Thời gian hợp pháp	65s
Thời gian cân bằng	15s	Tốc độ khuấy	2000rpm
Tần số	50Hz	Thời gian sắc khí	300s
Biên độ xung	0,05V	Kích cỡ giọt thủy ngân	3
		Bề mặt	0,005V

Các điều kiện này được sử dụng để phương pháp xác định CIP và xác định CIP trong mẫu nghiên cứu.

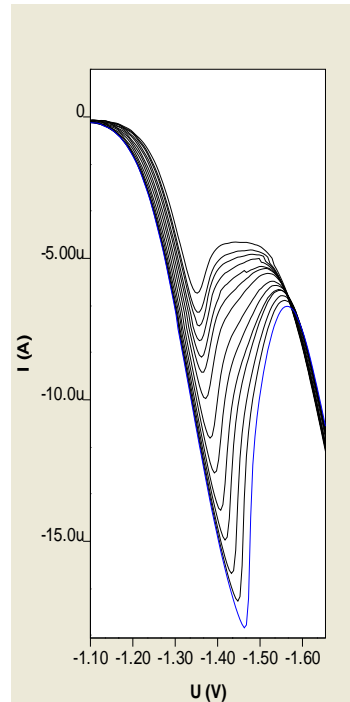
Trình tự xác định nồng độ tính của CIP, sử dụng mẫu CIP chuẩn xác định trong các điều kiện trên trong khoảng nồng độ 0,01ppm đến 0,26 ppm thu được các kết quả như sau:

C (ppm)	V trí peak	$-I \cdot 10^{-6}$			C (ppm)	V trí peak	$-I \cdot 10^{-6}$		
		L n 1	L n 2	TB			L n 1	L n 2	TB
0,01	1,35	1,07	1,03	1,05	0,12	1,39	7,90	7,92	7,91
0,02	1,35	1,60	1,52	1,56	0,14	1,41	9,13	9,12	9,12
0,03	1,35	2,44	2,40	2,42	0,16	1,42	10,5	10,5	10,5
0,04	1,36	2,96	2,96	2,96	0,18	1,43	11,58	11,52	11,55
0,05	1,36	3,56	3,54	3,55	0,20	1,45	13,08	13,12	13,1
0,06	1,36	4,28	4,22	4,25	0,22	1,46	14,20	14,31	14,25
0,08	1,37	5,50	5,52	5,51	0,24	1,46	14,20	14,26	14,23
0,10	1,38	6,65	6,65	6,65	0,26	1,45	14,20	14,20	13,20

Bảng 15: Khảo sát nồng độ tính của CIP trong khoảng nồng độ 0,01 – 0,22 ppm



(a) (b)  
 Hình 28: *th s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào n ng trong kho ng t 0,01 – 0,26 ppm (hình a) và ng chu n xác nh CIP trong kho ng n ng tuy n tính t 0,01-0,22ppm (hình b).*



Hình 29: *Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào n ng trong kho ng t 0,01 – 0,22 ppm.*

Các thông số của mô hình hồi quy:

Parameter	Value	Error		
A	0,42743	0,04248		
B	62,69223	0,35027		
R	SD	N	P	
0,99961	0,05424	14	<0.0001	

Nhân viên tính toán theo phần mềm Origin 6.0 ta có:

$$Y = A + B.X$$

$$\text{Với } A = 0,43 \quad B = 62,69 \quad S_A = 0,042 \quad S_B = 0,35$$

Tra bảng ta có  $t(0,95 ; 13) = 1,77$

Đường trình hồi quy của mô hình hồi quy có dạng:

$$Y = (A \pm t.S_A) + (B \pm t.S_B).X \quad \text{Với } X \text{ là nồng độ CIP (ppm), } Y \text{ là nồng độ đồng}$$

$$\Leftrightarrow Y = (0,43 \pm 0,074) + (62,69 \pm 0,62).X$$

- Kiểm tra sự khác nhau giữa hai giá trị A của hai đường trình hồi quy với giá trị 0:

Nếu xem  $A = 0$  thì đường trình trở thành  $Y = B'.X$  Các giá trị  $B'$  tính như sau:

$C_{CIP}(ppm)$	$-I.10^{-6}(A)$	$B'$	$C_{CIP}(ppm)$	$-I.10^{-6}(A)$	$B'$
0,01	1,05	105,00	0,10	6,65	66,50
0,02	1,56	78,00	0,12	7,91	65,92
0,03	2,42	80,67	0,14	9,12	65,14
0,04	2,96	74,00	0,16	10,50	65,63
0,05	3,55	71,00	0,18	11,55	64,17
0,06	4,25	70,83	0,20	13,10	65,50
0,08	5,51	68,88	0,22	14,25	64,77

Các giá trị liên quan như sau là:

Giá trị trung bình	sai chuẩn	lịch chuẩn	Phân sai mẫu	Tổng
71,8571	2,90	10,84	117,44	1006

Nếu  $A \neq 0$  không có ý nghĩa thống kê thì hàm hồi quy 95% phù hợp trình hình qui có dạng:  $Y = (B' \pm t.S_{B'}) \cdot X$  hay  $Y = (71,86 \pm 1,77 \cdot 2,9) \cdot X = (71,86 \pm 5,13) \cdot X$

Áp dụng công thức:

$$SS = \sum (Y_i - A - B \cdot X_i)^2 \text{ và } S^2 = \frac{SS}{n - 2}$$

$$SS' = \sum (Y_i - \bar{B}' \cdot X_i)^2 \text{ và } S'^2 = \frac{SS'}{n - 3}$$

Ta có giá trị sau:

Hàm	Tổng các bình phương SS	Bậc tự do	Phương sai $S^2$
$Y = A + B \cdot X$	7,36	12	0,61
$Y = B' \cdot X$	8,90	11	1,35

Ta có:

$$F_{\text{tính}} = \frac{SS' - SS}{S^2} = \frac{8,9 - 7,36}{0,61} = 2,52$$

Lưu ý có tra bảng có  $F(0,95; 11; 12) = 2,69$  và  $F_{\text{tính}} < F(0,95; 11; 12)$  hay sai khác nhau giữa giá trị A và 0 là không có ý nghĩa thống kê.

à Phương pháp không mất sai số thống kê.

- Khi có giới hạn phát hiện CIP theo nguyên chuẩn là:

$$LOD = 3S_y / B = 3 \cdot 0,054 / 62,69 = 0,0026 \text{ (ppm)} = 2,6 \text{ (ppb)}$$

- Giới hạn nhận dạng CIP theo nguyên chuẩn là:

$$LOQ = 10S_y / B = 10 \cdot 0,054 / 62,69 = 0,0086 \text{ (ppm)} = 8,6 \text{ (ppb)}$$

Như vậy kết quả thu được cho thấy chỉ số cao peak của CIP phụ thuộc rất tuyến tính vào nồng độ của CIP trong khoảng tuyến tính từ 0,01 – 0,22 ppm, bắt đầu giá trị 0,22 ppm trở đi chỉ số cao peak của CIP tăng rất chậm không còn phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ CIP nữa. Do đó chúng tôi lập nguyên chuẩn của CIP trong khoảng nồng độ từ 0,01 – 0,22 ppm và ảnh hưởng của các thành phần hình qui, kết quả cho thấy thể hiện biểu đồ phân bố nguyên chuẩn m m Origin 6.0 thu được nguyên chuẩn thể hiện ổn định của phân tích định lượng ( $R = 0,9996$ ), phương pháp không mất sai số thống kê. Chúng tôi sử dụng nguyên chuẩn này xác định hàm lượng CIP

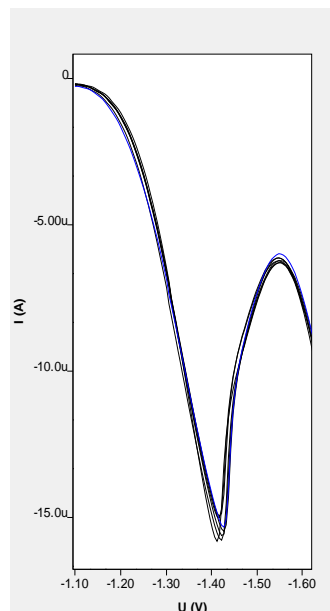
trong m u d c ph m b ng c ph ng pháp thêm chu n và áp d ng vào ng chu n.

### 2.5 Kh o sát l p l i

m b o chính xác và tin c y c a phép o c ng nh l p l i, chúng tôi ti n hành o l p l i 8 l n v i dung d ch CIP 0,16ppm, m acetat pH = 3,8 n ng 0,075M, các thông s máy nh quá trình l p ng chu n trên thì thu c k t qu nh b ng sau:

L n o	1	2	3	4	5	6	7	8
$-I \cdot 10^{-5} (A)$	1,08	1,07	1,06	1,11	1,08	1,09	1,10	1,07

B ng 16: Kh o sát s ph thu c chi u cao peak c a CIP vào



Hình 30: Kh o sát l p l i c a CIP

l p l i c ánh giá thông qua i l ng l ch chu n S và l ch chu n t ng i (hay còn g i là h s bi n ng V).

Các i l ng này c tính nh sau:

$$l \text{ ch chu n: } S = \sqrt{S^2}$$

Ph ng sai:

$$S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X}_i)^2}{(N - 1)}$$

Hệ số biến động:

$$V = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100\%$$

Trong đó:  $X_i$  là chiều cao peak ở cột thứ  $i$

$\bar{X}$  là giá trị trung bình của  $N$  lần đo

$N$  là số lần lặp lại.

Từ bảng trên ta tính được hệ số biến động là 0,017

Hệ số biến động tương đối hay hệ số biến động là 1,57%

Giá trị hệ số biến động và hệ số biến động tương đối nhân với nhau để nhân với các yêu cầu phân tích.



## CHƯƠNG 3 - KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH CIP TRONG MŨI VÀ THỎ LƯN

### 3.1 Xác định CIP trên mẫu thực.

#### 3.1.1 Xác định CIP và chuẩn bị mẫu.

Các mẫu phân tích CIP trong thực phẩm bao gồm 2 mẫu thực phẩm rắn và 1 mẫu thực phẩm lỏng:

- *Mẫu thực phẩm SEPRATIS (Trong lưu ý kỹ thuật này là SPM).*

Công thức: dung dịch viên nén ống v, 10 viên/v

Xuất xứ: là sản phẩm của công ty cổ phần SPM.

Số đăng ký: VNB-0662-03                      Số lô sản xuất: 14031604

Thành phần: mỗi viên thực phẩm chứa 500 mg CIP còn lại là các tá dược khác.

- *Mẫu thực phẩm CIPROFLOXACIN (kỹ thuật này là Ind).*

Công thức: dung dịch viên nén ống v, 10 viên/v

Xuất xứ: sản xuất bởi MICRO LABS LIMITED 92 Sipcot Hosur-635 126 India.

Số đăng ký: VN-9670-05                      Số lô sản xuất: BFa-2609

Thành phần: mỗi viên thực phẩm chứa 500 mg CIP còn lại là các tá dược khác

- *Mẫu thực phẩm mắt EYESDROP (kỹ thuật này là ED).*

Công thức: ống 10ml/l

Xuất xứ: là sản phẩm của công ty cổ phần dược DANAPHA.

Số đăng ký: VD-0870-06                      Số lô sản xuất: 270709

Thành phần: dung dịch CIP 3mg/ml.

Các mẫu SPM và Ind chuẩn bị mẫu theo cách nghiền thành bột mịn 4 viên thực phẩm nén sau đó mang đi cân chính xác một lượng chính xác hòa tan vào 50ml nước, lọc lấy dung dịch SA1. Lấy 0,5 ml dung dịch SA1 pha loãng thành 50ml dung dịch SA2. Dung dịch SA2 dùng để phân tích bằng phương pháp thêm chuẩn: ta hút chính xác V ml dung dịch SA2 vào bình định mức 25ml sau đó thêm 5ml natri axetat 0,075M pH = 3,8 thêm nước cất hai lần định mức thành 25 ml đo peak và lập phương trình thêm chuẩn tính nồng độ  $C_x$  (ppm).

Mu thu c l ng ED c chu n b b ng cách hút 4,2 ml dung d ch thu c nh m t n ng 3mg/ml = 3000 ppm nh m c thành 25 ml dung d ch (SA1) sau ó pha loãng tỉ p b ng cách hút 0,5ml dung d ch SA1 nh m c thành 50ml ta c dung d ch SA2. Dung d ch SA2 em o i n b ng ph ng pháp thêm chu n ta c dung d ch n ng  $C_x$  ppm.

Tóm t t l i các k t qu cân và pha dung d ch t m u th t em o ta có b ng sau:

Qui trình	M u r n SPM 500mg/viên	M u r n Ind 500mg/viên	M u l ng ED CIP3% (3mg/ml)
Kh i l ng l y t m u g c: - Nghi n m n kh i l ng m c a 4 viên nén sau ó cân l ng $m_1$ ã nh m c 50ml (dung d ch SA1) - Th tích m u l ng ã nh m c 25ml (dung d ch SA1)	$m = 2,9544$ g $m_1 = 0,0252$ g ----- -----	$m = 2,9361$ g $m_1 = 0,0248$ g ----- -----	----- ----- ----- 4,2ml -----
Pha loãng dung d ch SA1 c dung d ch SA2	0,5 ml nh m c thành 50ml	0,5 ml nh m c thành 50ml	0,5ml nh m c thành 50ml

Nh v y i v i các m u thu c viên nén r n và m u thu c nh m t sau khi o c n ng  $C_x$  thì kh i l ng CIP tính trong kh i l ng cân  $m_1$  và n ng CIP trong th tích l y ban u c tính theo công th c (1) và (2):

$$m_{CIP} = \frac{C_x \cdot 25 \cdot 50}{V \cdot 0,5} \cdot 50 \cdot 10^{-6} \quad (1) \quad C_{CIP} = \frac{C_x \cdot 25 \cdot 50 \cdot 25}{V \cdot 0,5 \cdot 4,2} \quad (2)$$

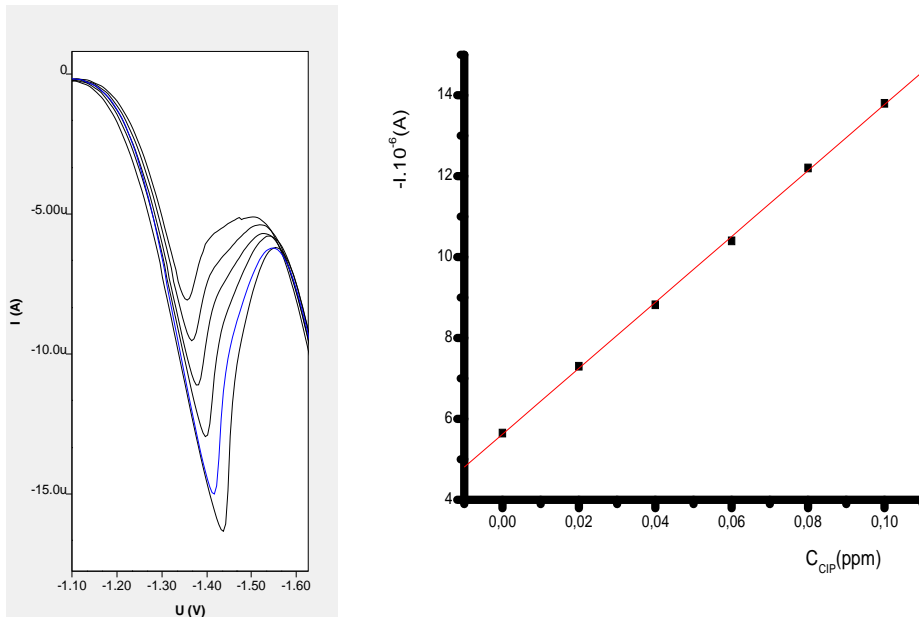
### 3.1.2 Xác nh CIP trên m u thu c r n SPM.

Ti n hành o m u SA2 c a CIP lo i SPM v i các thông s máy nh kh i l p ng chu n. Áp d ng ph ng pháp thêm chu n l y 0,5 ml dung d ch SA2 ó sau

ó thêm vào m i l n 0,1ml dung d ch CIP5ppm chu n vào chúng tôi thu c k t qu nh sau:

Vml thêm vào	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	
$\Delta C$ (ppm)	0	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	
$-I \cdot 10^{-6}$ (A)	L n 1	5,80	7,34	9,00	10,40	12,40	13,81
	L n 2	5,50	7,30	9,04	10,41	12,43	13,82
	L n 3	5,64	7,26	9,02	10,39	12,37	13,78
	TB	5,65	7,30	9,02	10,40	12,40	13,80

B ng 17: Thêm chu n xác nh CIP trong m u thu c r n SPM



Hình 31: Xác nh CIP trong m u thu c SPM

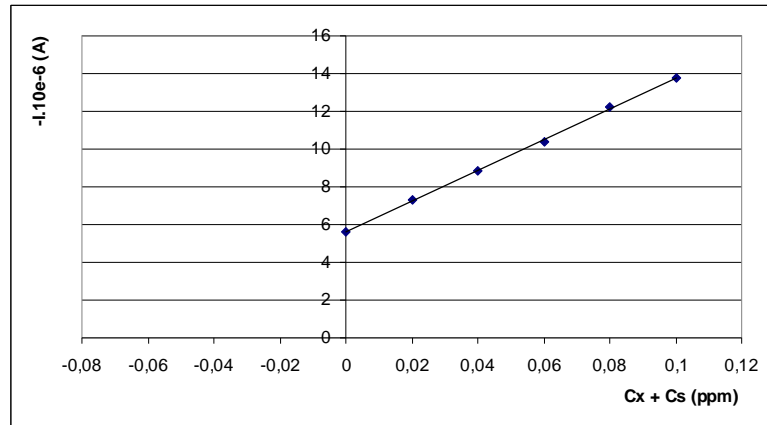
Ph ng trình ng chu n:  $Y = A + B \cdot X$

Các giá tr c a ng chu n:

Parameter	Value	Error		
A	5,62143	0,05559		
B	81,47143	0,91796		
R	SD	N	P	
0,99975	0,0768	6	<0.0001	

Tính thêm chuẩn trên ngoi suy trên th và tính toán t tính thêm chuẩn ta tính c n ng C<sub>x</sub> c a CIP t m u thu c SPM lúc u thêm vào là:

$$X = |A / B| = 0,069 \text{ ppm}$$



Hình 32: th ngoi suy xác nh n ng CIP c a m u SPM

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 9,76$$

$$S_X = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,0014$$

Tra b ng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 0,069 \pm 0,0014.2,776$

$$= 0,069 \pm 0,004 \text{ (ppm)}$$

Nh v y l ng CIP có trong 0,0252 g thu c cân ban u xác nh c theo công th c (1) là:

$$m_{CIP} = \frac{(0,069 \pm 0,004) \cdot 25 \cdot 50}{0,5 \cdot 0,5} \cdot 50 \cdot 10^{-6} = 0,0172 \pm 0,001 \text{ (g)}$$

So v i hàm l ng c nhà s n xu t công b trên nhãn thu c là 500mg/viên thì kh i l ng CIP trong 4 viên thu c là  $500 \cdot 4 = 2000 \text{ mg} = 2 \text{ gam}$ .

Nh v y hàm l ng CIP trong 1 viên thu c tính theo công th c:

$$\%CIP = \frac{m_{CIP}}{m_{thuoc}} \cdot 100\%$$

ng v i nh n thu c c a nh s n xu t h m l ng này là:  $(2: 2,9544) \cdot 100\% = 67,7\%$

H m l ng o c là:  $(0,0172 : 0,0252) \cdot 100\% = 68,25\%$

Nh v y quá trình xác nh CIP trong m u thu c SPM sai s v h m l ng so v i k t qu in trên nh n là:

$$S = \frac{|\% CIP_{sx} - \% CIP_{do}|}{\% CIP_{sx}} \cdot 100\% = 0,81\%$$

ánh giá thu h i khi xác nh m u thu c r n SPM b ng ph ng pháp thêm chu n v i s li u thu c t b ng các giá tr thêm chu n trên ta có:

G i  $C_x$  là n ng CIP c a dung d ch SPM ban u ch a thêm CIP chu n và và  $C_s$  là n ng ã c thêm vào l ng dung d ch chu n  $\Delta C$  sau ó.

$I_x$  và  $I_s$  là c ng dòng trung bình c a các dung d ch t ng ng.

Ta có theo trên ã xác nh c n ng  $C_x = 0,069$  ppm ã  $C_s = I_s \cdot C_x / I_x$

Khi ó ta tính c l ng CIP thêm vào là  $\Delta C' = C_s - C_x$  (ppm)

ã Hi u su t thu h i là:  $H\% = (\Delta C' / \Delta C) \cdot 100\%$

V y áp d ng qui trình trên cho các n ng  $\Delta C$  thêm vào khác nhau c a các  $C_s$  ta thu c b ng k t qu sau:

$\Delta C$	$-I \cdot 10^{-6}(A)$	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	5,65	0,069			
0,02	7,3	0,069	0,08915	0,02015	100,75
0,04	8,82	0,069	0,10771	0,03871	96,78
0,06	10,4	0,069	0,12701	0,05801	96,68
0,08	12,2	0,069	0,14899	0,07999	99,99
0,1	13,8	0,069	0,16853	0,09953	99,53

*B ng 18: thu h i c a quá trình xác nh CIP trong m u thu c r n SPM*

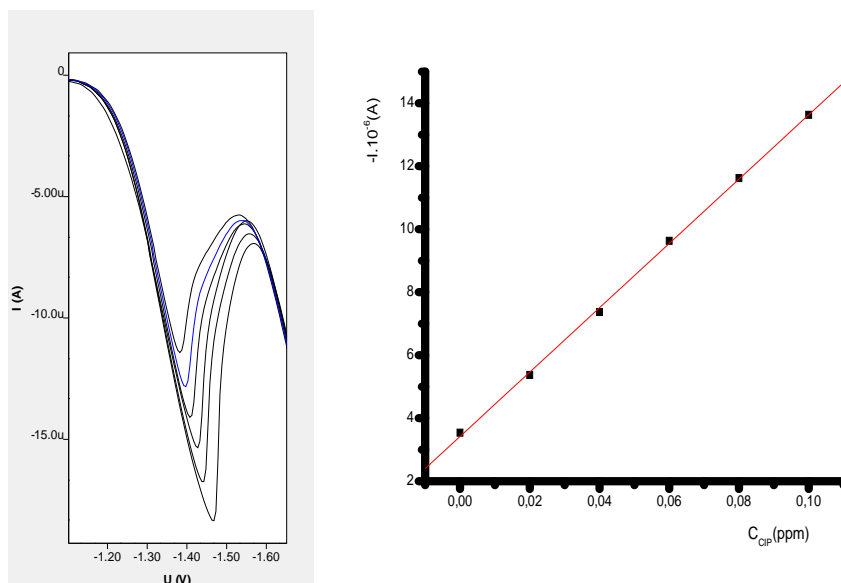
V y thu h i trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H) / 5 = 98,75\%$

### 3.1.3 Xác định CIP trong mẫu thu ở r n Ind

Tiến hành ở mẫu SA2 của CIP loại Ind với các thông số máy như khi lập trình chu n. Áp dụng phương pháp thêm chuẩn lấy 0,25 ml dung dịch SA2 rồi sau đó thêm dần mỗi lần 0,1ml dung dịch CIP5ppm chuẩn vào chúng tôi thu được kết quả như sau:

Vml thêm vào	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	
$\Delta C$ (ppm)	0	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	
$-I \cdot 10^{-6}$ (A)	L n 1	3,45	5,37	7,40	9,63	11,65	13,64
	L n 2	3,43	5,38	7,34	9,63	11,60	13,63
	L n 3	3,44	5,37	7,38	9,62	11,62	13,62
	TB	3,44	5,37	7,37	9,63	11,62	13,63

Bảng 19: Thêm chuẩn xác định CIP trong mẫu thu ở r n Ind

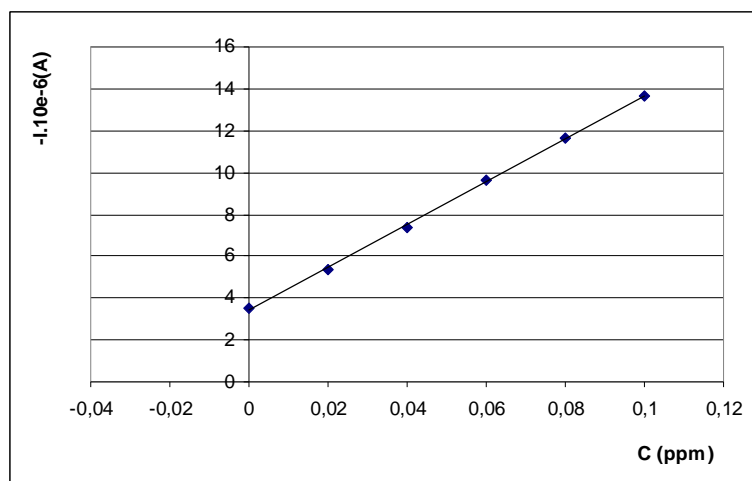


Hình 33: Đồ thị thêm chuẩn xác định CIP trong mẫu thu ở r n Ind

Parameter	Value	Error		
A	3,42238	0,08001		
B	102,08571	1,32128		
R	SD	N	P	
0,99967	0,11055	6	<0.0001	

Tính thêm chuẩn trên ngoi suy trên th và tính toán t tính thêm chuẩn ta tính c n ng C<sub>x</sub> c a CIP t m u thu c Ind lúc u thêm vào là:

$$X = |A / B| = 0,0335 \text{ ppm}$$



Hình 34: th ngoi suy xác nh n ng CIP c a m u Ind

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 8,58$$

$$S_X = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,0012$$

Tra b ng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 0,0335 \pm 0,0012.2,776$

$$= 0,0335 \pm 0,0033 \text{ (ppm)}$$

Nh v y l ng CIP có trong 0,0248 g thu c cân ban u xác nh c theo công th c (1) là:

$$m_{CIP} = \frac{(0,0335 \pm 0,0033) \cdot 25 \cdot 50}{0,25 \cdot 0,5} \cdot 50 \cdot 10^{-6} = 0,0168 \pm 0,0016 \text{ (g)}$$

So v i hàm l ng c nhà s n xu t công b trên nhãn thu c là 500mg/viên thì kh i l ng CIP trong 4 viên thu c là  $500 \cdot 4 = 2000 \text{ mg} = 2 \text{ gam}$ .

ng v i nhãn thu c c a nhà s n xu t hàm l ng CIP là:  $(2 : 2,9361) \cdot 100\% = 68,12\%$   
 Hàm l ng o c là:  $(0,0168 : 0,0248) \cdot 100\% = 67,74\%$

Nh v y quá trình xác nh CIP trong m u thu c Ind sai s v hàm l ng so v i k t qu in trên nhãn là:

$$S = \frac{|\% CIP_{sx} - \% CIP_{do}|}{\% CIP_{sx}} \cdot 100\% = 0,56\%$$

ánh giá thu h i khi xác nh m u thu c r n Ind b ng ph ng pháp thêm chu n, tỉ n hành t ng t v i m u thu c SPM s d ng b ng s li u thu c t b ng các giá tr thêm chu n trên c a Ind ta có k t qu nh sau:

$\Delta C$	$-I \cdot 10^{-6}(A)$	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	3,44	0,0335			
0,02	5,37	0,0335	0,0523	0,0188	93,98
0,04	7,37	0,0335	0,0718	0,0383	95,68
0,06	9,63	0,0335	0,0938	0,0603	100,47
0,08	11,62	0,0335	0,1132	0,0796	99,57
0,1	13,63	0,0335	0,1327	0,0992	99,23

B ng 20: thu h i c a quá trình xác nh CIP trong m u thu c r n Ind

V y thu h i trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H)/5 = 97,79\%$

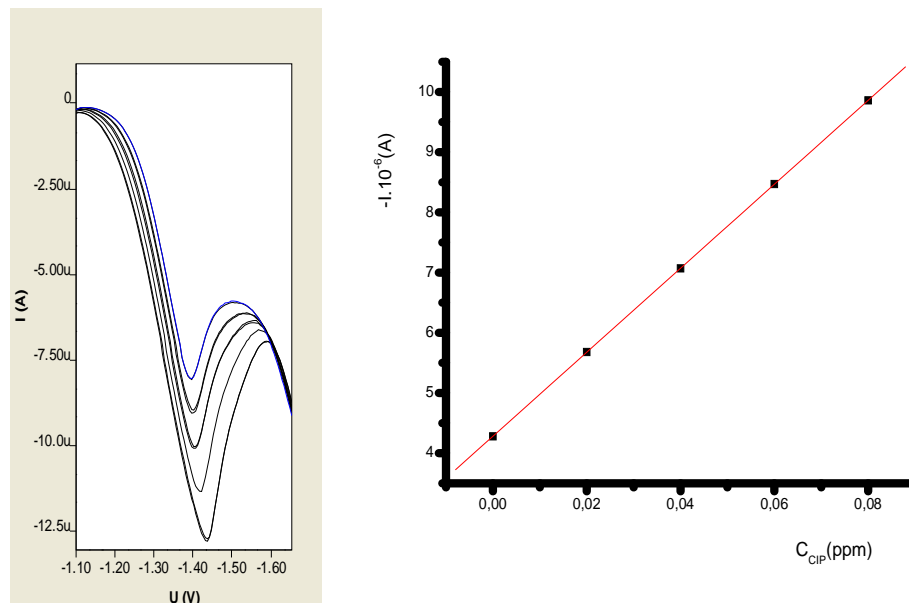
### 3.1.4 Xác nh CIP trong m u thu c nh m t ED

Tỉ n hành o m u SA2 c a CIP lo i m u l ng trong thu c nh m t ED v i các thông s máy nh khi l p ng chu n. Áp d ng ph ng pháp thêm chu n l y 0,3 ml dung d ch SA2 o sau ó thêm d n m i l n 0,1ml dung d ch CIP5ppm chu n vào chúng tôi thu c k t qu nh sau:



<b>Vml thêm vào</b>	<b>0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,4</b>	
<b><math>\Delta C</math> (ppm)</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,06</b>	<b>0,08</b>	
<b><math>-I \cdot 10^{-6}</math> (A)</b>	<b>L n 1</b>	4,28	5,69	7,07	8,49	9,86
	<b>L n 2</b>	4,28	5,67	7,06	8,45	9,86
	<b>L n 3</b>	4,27	5,68	7,08	8,48	9,85
	<b>TB</b>	4,28	5,68	7,07	8,47	9,86

Bảng 21: Thêm chuẩn xác định CIP trong mẫu thu c nh m t ED

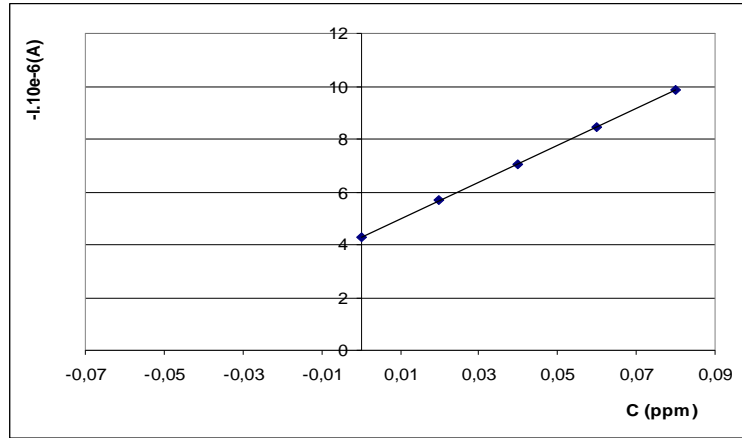


Hình 35: Ảnh hưởng thêm chuẩn xác định CIP trong mẫu thu c nh m t ED

Parameter	Value	Error
A	4,25476	0,03576
B	70,77143	0,59063
R	SD	N P
0,99976	0,04942	6 <0.0001

Tính thêm chuẩn trên đồ thị suy trên ảnh hưởng thêm chuẩn ta tính nồng độ C<sub>x</sub> của CIP trong mẫu thu c nh m t ED lúc thêm vào là:

$$X = |A / B| = 0,0601 \text{ ppm}$$



Hình 36: Đồ thị hồi quy xác định nồng độ CIP trong mẫu nước

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 7,79$$

$$S_x = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,001$$

Tra bảng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 0,0601 \pm 0,001.2,776$

$$= 0,0601 \pm 0,0028 \text{ (ppm)}$$

Như vậy nồng độ CIP trong 4,2ml nước mẫu xác định theo công thức (2):

$$C_{CIP} = \frac{(0,0601 \pm 0,0028) \cdot 25 \cdot 50 \cdot 25}{0,3 \cdot 0,5 \cdot 4,2} = 2981,15 \pm 138,89 \text{ (ppm)}$$

So với hàm lượng của nhà sản xuất công bố trên nhãn nước là 3mg/ml hay nồng độ 3000 ppm thì quá trình xác định CIP trong mẫu nước nhiễm ED có sai số về hàm lượng so với kết quả in trên nhãn là:

$$S = \frac{|C_{CIPsx} - C_{CIPdl}|}{C_{CIPsx}} \cdot 100\% = 0,63 \%$$

Đánh giá thu hồi khi xác định mẫu nước nhiễm ED bằng phương pháp thêm chuẩn. Tiến hành thí nghiệm khảo sát các thành phần của nước mẫu:

$\Delta C$	$-I \cdot 10^{-6} (A)$	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	4,28	0,0601			
0,02	5,68	0,0601	0,0798	0,0197	98,29
0,04	7,07	0,0601	0,0993	0,0392	97,94
0,06	8,47	0,0601	0,1189	0,0588	98,06
0,08	9,86	0,0601	0,1385	0,0783	97,95

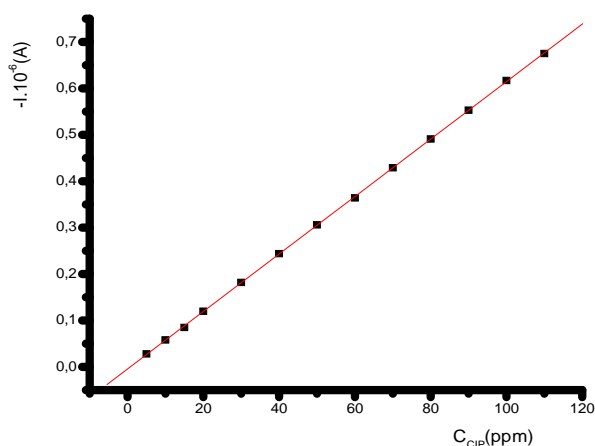
Bảng 22: Thu hoạch qua trình xác định CIP trong mẫu thu cuối ng ED

Vậy thu hoạch trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H)/5 = 98,06\%$

### 3.2 Lập trình chu trình xác định CIP bằng phương pháp trắc quang.

kiểm chứng các kết quả đã xác định chúng tôi tiến hành xác định CIP trong các mẫu thu cuối này bằng phương pháp trắc quang theo qui trình đã công bố theo tài liệu [25].

Trình thiết lập trình chu trình xác định CIP bằng phương pháp trắc quang chúng tôi tiến hành đo quang mẫu dãy chất gồm 13 dung dịch trong khoảng nồng độ 5 – 110 ppm. Lấy 1 ml mẫu dung dịch 0,75 ml thuốc thử và thêm các chất tích dung dịch gốc CIP 500ppm tương ứng sau đó nhũ thành 25ml, đợi sau khoảng 10 phút, tiến hành đo hấp thụ quang ta thu được kết quả như sau:



Hình 42: Trình chu trình xác định CIP bằng phương pháp trắc quang  $\lambda = 436 \text{ nm}$

STT	V CIP500ppm	C CIP (ppm)	A
1	0,25	5	0,028
2	0,50	10	0,058
3	0,75	15	0,085
4	1,00	20	0,120
5	1,50	30	0,182
6	2,00	40	0,244
7	2,50	50	0,306
8	3,00	60	0,364
9	3,50	70	0,429
10	4,00	80	0,491
11	4,5	90	0,553
12	5	100	0,617
13	5,5	110	0,675

Bảng 26: Bảng chú n xác nh CIP bằng phương pháp trắc quang  $\lambda = 436 \text{ nm}$

Parameter	Value	Error	
A	-0,00445	8,85423E-4	
B	0,00619	1,41572E-5	
R	SD	N	P
0,99997	0,00175	13	<0.0001

Nh v y tính toán theo phần mềm Origin 6.0 ta c:

$$Y = A + B.X$$

$$\text{V i } A = -0,0045 \quad B = 0,0062 \quad S_A = 0,00089 \quad S_B = 0,000014$$

Tra b ng ta có  $t(0,95 ; 12) = 1,78$

Ph ng trình h i qui y c a ng chu n có d ng :

$$Y = (A \pm t.S_A) + (B \pm t.S_B).X \quad \text{V i } X \text{ là n ng CIP (ppm), } Y \text{ là c ng dòng}$$

$$\Leftrightarrow Y = (-0,0045 \pm 0,0016) + (0,0062 \pm 2,5E-5).X$$

- Kiểm tra sự khác nhau giữa hai giá trị trung bình khác nhau bằng phương pháp kiểm định t khi giá trị 0 :  
 Nếu xem  $A = 0$  phương trình trở thành  $Y = B' \cdot X$  Các giá trị  $B'$  tính như sau :

$C_{CIP}(ppm)$	$-I \cdot 10^{-6}(A)$	$B'$	$C_{CIP}(ppm)$	$-I \cdot 10^{-6}(A)$	$B'$
5	0,028	0,0056	60	6,65	0,0061
10	0,058	0,0058	70	7,91	0,0061
15	0,085	0,0057	80	9,12	0,0061
20	0,120	0,0060	90	10,50	0,0061
30	0,182	0,0061	100	11,55	0,0062
40	0,244	0,0061	110	13,10	0,0062
50	0,306	0,0061			

Các giá trị liên quan như sau là :

Giá trị trung bình	sai chuẩn	lịch chuẩn	Phân bố sai m u	Tổng
0,0060	$0,56 \cdot 10^{-4}$	$1,93 \cdot 10^{-4}$	$3,72 \cdot 10^{-8}$	0,0781

Nếu  $A \neq 0$  không có ý nghĩa thống kê mức tin cậy 95% phương trình hồi quy có dạng :  $Y = (B' \pm t \cdot S_{B'}) \cdot X$  hay  $Y = (0,0060 \pm 1,78 \cdot 0,56 \cdot 10^{-4}) \cdot X$   
 $= (0,0060 \pm 10^{-4}) \cdot X$

Áp dụng công thức :

$$SS = \sum (Y_i - A - B \cdot X_i)^2 \text{ và } S^2 = \frac{SS}{n - 2}$$

$$SS' = \sum (Y_i - \bar{B}' \cdot X_i)^2 \text{ và } S'^2 = \frac{SS'}{n - 3}$$

Ta có giá trị sau:

Hàm	Tổng các bình phương SS	Bậc tự do	Phân bố sai $S^2$
$Y = A + B \cdot X$	$3,73 \cdot 10^{-4}$	11	$3,40 \cdot 10^{-5}$
$Y = B' \cdot X$	$8,55 \cdot 10^{-4}$	10	$8,55 \cdot 10^{-5}$

Ta có :

$$F_{\text{tính}} = \frac{SS' - SS}{S^2} = \frac{8,55 - 3,73}{3,4} = 1,42$$

L i có tra b ng có  $F(0,95 ; 10 ; 11) = 2,85$  à  $F_{\text{tính}} < F(0,95 ; 10 ; 11)$  hay s khác nhau gi a giá tr A và 0 là không có ý ngh a th ng kê.

à Ph ng pháp không m c sai s h th ng.

- Khi ó gi i h n phát hi n CIP theo ng chu n là :

$$LOD = 3S_y / B = 3.0,00175 / 0,0062 = 0,85 \text{ (ppm)}$$

- Gi i h n nh l ng CIP theo ng chu n là :

$$LOQ = 10S_y / B = 10 . 0,00175 / 0,0062 = 2,82 \text{ (ppm)}$$

Nh v y k t qu thu c cho th y h p ph quang ph c c a CIP và Fe(III) ph thu c r t tuy n tính vào n ng c a CIP trong kho ng tuy n tính t 5 – 110 ppm, l p ng chu n c a CIP trong kho ng n ng t 5 – 110 ppm và ánh giá h s A c a ph ng trình h i qui, k t qu cho th y th bi u di n b ng ph n m m Origin 6.0 thu c ng chu n th a măn i u ki n c a phân tích i n hóa ( $R = 0,9999$ ), ph ng pháp không m c sai s h th ng. Chúng tôi s d ng ng chu n này xác nh hàm l ng CIP trong m u d c ph m b ng c ph ng pháp thêm chu n và áp d ng vào ng chu n.

### **3.3 Xác nh CIP trong m u thu c b ng ph ng pháp tr c quang.**

V i qui trình phá m u và chu n b m u t hai lo i thu c d ng viên nén SPM, Ind và m u thu c nh m t ED nh trong ph n i n hóa nh ng m u s d ng trong quá trình o quang là các m u SA1 (m u dùng cho quá trình o i n là SA2 – c pha loãn tỉ p t m u SA1).

Cách b c ti n hành: chu n b m t dĩa g m 6 bình 25ml: m i bình l y 0,75ml thu c th + Vml dung d ch SA1 c a dung d ch thu c c n nh l ng, sau ó thêm l n l t vào 6 bình các th tích dung d ch CIP 500ppm t ng d n, nh m c 25ml b ng n c c t r i ti n hành o quang theo ph ng pháp thêm chu n. D ng ng thêm chu n ngo i suy t th ta xác nh c n ng dung d ch  $C_x$  c a dung d ch SA1 ban u trong 25ml, và tính c l ng CIP có trong dung d ch SA1 c a

m u thu c r n và n ng CIP trong m u SA1 c a thu c nh m t theo công th c (1) và (2) sau:

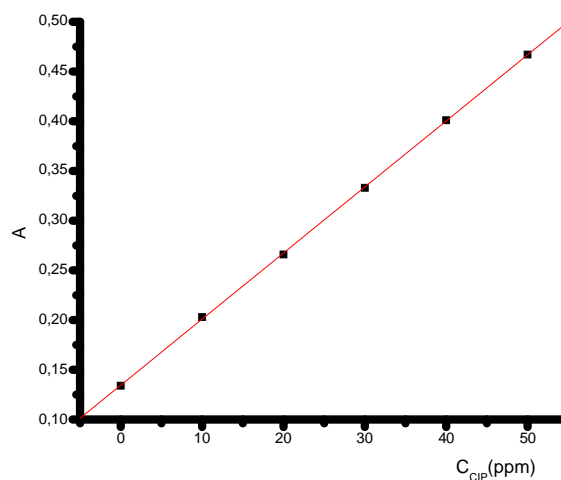
$$m_{CIP} = \frac{C_x \cdot 25}{V} \cdot 50 \cdot 10^{-6} \quad (1) \quad C_{CIP} = \frac{C_x \cdot 25 \cdot 25}{V \cdot 4,2} \quad (2)$$

### 3.3.1 Xác nh CIP trong m u thu c r n SPM

Ti n hành o d y 6 m u chu n b nh trên v i th tích m u SPM l y ban u là 1,5ml ta thu c k t qu nh sau:

Vml thêm vào	0	0,5	1	1,5	2	2,5	
$\Delta C$ (ppm)	0	10	20	30	40	50	
A	L n 1	0,134	0,203	0,267	0,334	0,401	0,468
	L n 2	0,134	0,203	0,266	0,331	0,401	0,466
	TB	0,134	0,203	0,266	0,333	0,401	0,467

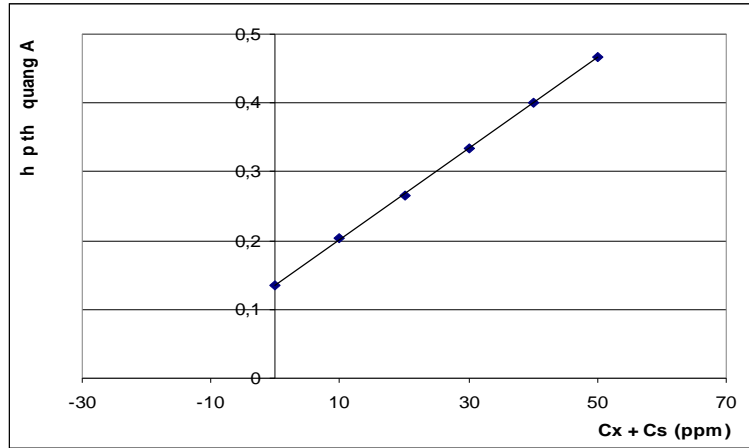
B ng 28: Xác nh CIP trong m u thu c r n SPM b ng ph ng pháp tr c quang



Hình 43: th ng thêm chu n xác nh CIP trong m u thu c r n SPM

Các thông số máy:

Parameter	Value	Error		
A	0,13452	0,001		
B	0,00665	3,31149E-5		
R	SD	N	P	
0,99995	0,00139	6	<0.0001	



Hình 44: Đồ thị hồi quy tuyến tính của hàm chuẩn CIP của mẫu SPM

Tính thêm chuẩn trên đồ thị suy trên và tính toán thêm chuẩn ta tính được nồng độ  $C_x$  của CIP mẫu thu được SPM lúc thêm vào là:

$$X = |A / B| = 20,23 \text{ ppm}$$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 0,301$$

$$S_x = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,242$$

Tra bảng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 20,23 \pm 0,242.2,776$

$$= 20,23 \pm 0,671 \text{ (ppm)}$$

Như vậy lượng CIP có trong 0,0252 g thu được cân ban đầu xác định được theo công thức (1) là:



$$m_{CIP} = \frac{(20,23 \pm 0,671) \cdot 25}{1,5} \cdot 50 \cdot 10^{-6} = 0,0169 \pm 5,6 \cdot 10^{-4} \text{ (g)}$$

So v i hàm l ã ng c nhà s n xu t công b trên nhãn thu c là 500mg/viên thì kh i l ã ng CIP trong 4 viên thu c là  $500 \cdot 4 = 2000 \text{ mg} = 2 \text{ gam}$ .

Nh v y hàm l ã ng CIP trong 1 viên thu c tính theo công th c:

$$\%CIP = \frac{m_{CIP}}{m_{thuoc}} \cdot 100\%$$

ng v i nhãn thu c c a nhà s n xu t hàm l ã ng này là:  $(2 : 2,9544) \cdot 100\% = 67,7\%$

Hàm l ã ng o c là:  $(0,0169 : 0,0252) \cdot 100\% = 67,06\%$

Nh v y quá trình xác ã nh CIP trong m u thu c SPM sai s v hàm l ã ng so v i k t qu i n trên nhãn là:

$$S = \frac{|\% CIP_{sx} - \% CIP_{do}|}{\% CIP_{sx}} \cdot 100\% = 0,94\%$$

ánh giá thu h i khi xác ã nh m u thu c r n SPM b ng ph ã ng pháp thêm chu n v i s li u thu c t b ng các giá tr thêm chu n trên ta có:

G i  $C_x$  là n ã ng CIP c a dung d ch SPM ban u ch a thêm CIP chu n và  $C_s$  là n ã ng ã c thêm vào l ã ng dung d ch chu n  $\Delta C$  sau ó.

$A_x$  và  $A_s$  là c ã ng ã òng trung bình c a các dung d ch t ã ng ã ng.

Ta có theo trên ã xác ã nh c n ã ng  $C_x = 20,23 \text{ ppm}$  ã  $C_s = A_s \cdot C_x / A_x$

Khi ó ta tính c l ã ng CIP thêm vào là  $\Delta C' = C_s - C_x$  (ppm)

ã Hi u su t thu h i là:  $H\% = (\Delta C' / \Delta C) \cdot 100\%$

V y áp d ã ng qui trình trên cho các n ã ng  $\Delta C$  thêm vào khác nhau c a các  $C_s$  ta thu c b ng k t qu i sau:

$\Delta C$	A	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	0,134	20,23	30,65	10,42	104,17
10	0,203	20,23	40,16	19,93	99,64
20	0,266	20,23	50,27	30,04	100,14
30	0,333	20,23	60,54	40,31	100,77
40	0,401	20,23	70,50	50,27	100,55
50	0,467	20,23	30,65	10,42	104,17

Bảng 29: Thu hoạch cá quá trình xác định CIP trong mẫu thu ở r n SPM

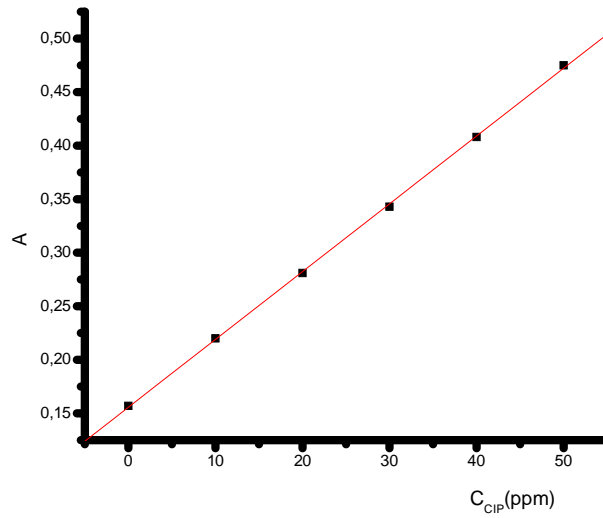
Vậy thu hoạch trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H)/5 = 101,05\%$

### 3.3.2 Xác định CIP trong mẫu thu ở r n Ind

Tiến hành ở đây 6 mẫu chuẩn trên vỉ thí nghiệm dung dịch SA1 của thu ở Ind l y ban u là 1,8 ml ta thu được kết quả như sau:

Vml thêm vào	0	0,5	1	1,5	2	2,5	
$\Delta C$ (ppm)	0	10	20	30	40	50	
A	L n 1	0,156	0,223	0,285	0,351	0,423	0,487
	L n 2	0,158	0,221	0,291	0,355	0,421	0,491
	TB	0,157	0,222	0,288	0,353	0,422	0,489

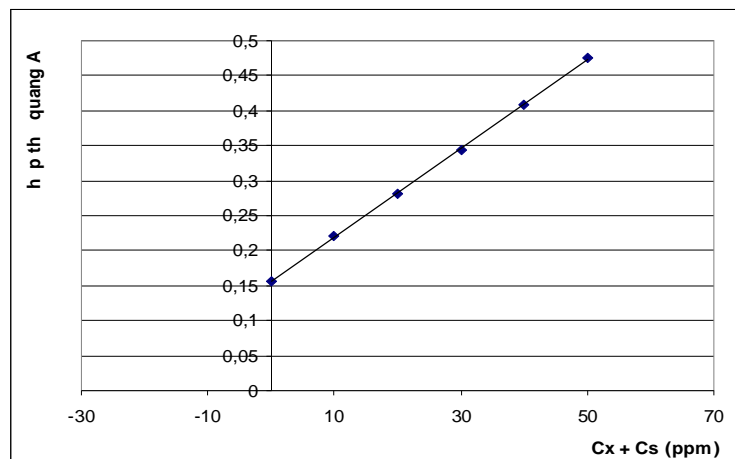
Bảng 30: Xác định CIP trong mẫu thu ở r n Ind bằng phương pháp trắc quang



Hình 45: *th* *ng* *thêm* *chu* *n* *xác* *nh* *CIP* *trong* *m* *u* *thu* *c* *Ind*

Các thông số :

Parameter	Value	Error		
A	0,15571	0,00161		
B	0,00633	5,31459E-5		
R	SD	N	P	
0,99986	0,00222	6	<0.0001	



Hình 46: *th* *ng* *o* *i* *suy* *xác* *nh* *n* *ng* *CIP* *c* *a* *m* *u* *Ind*

Tính thêm chuẩn trên ngoi suy trên th và tính toán t tính thêm chuẩn ta tính c n ng C<sub>x</sub> c a CIP t m u thu c Ind lúc u thêm vào là:

$$X = |A / B| = 24,60 \text{ ppm}$$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 0,314$$

$$S_x = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,44$$

Tra b ng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 24,6 \pm 0,44.2,776$   
 $= 24,6 \pm 1,22 \text{ (ppm)}$

Nh v y l ng CIP có trong 0,0248 g thu c cân ban u xác nh c theo công th c (1) là:

$$m_{CIP} = \frac{(24,6 \pm 1,22) \cdot 25}{1,8} \cdot 50 \cdot 10^{-6} = 0,0170 \pm 8,5 \cdot 10^{-4} \text{ (g)}$$

So v i hàm l ng c nhà s n xu t công b trên nhãn thu c là 500mg/viên thì kh i l ng CIP trong 4 viên thu c là  $500 \cdot 4 = 2000 \text{ mg} = 2 \text{ gam}$ .

Nh v y hàm l ng CIP trong 1 viên thu c tính theo công th c:

$$\%CIP = \frac{m_{CIP}}{m_{thuoc}} \cdot 100\%$$

ng v i nhãn thu c c a nhà s n xu t hàm l ng này là:  $(2 : 2,9361) \cdot 100\% = 68,12\%$

Hàm l ng o c là:  $(0,0170 : 0,0248) \cdot 100\% = 68,54\%$

Nh v y quá trình xác nh CIP trong m u thu c Ind sai s v hàm l ng so v i k t qu in trên nhãn là:

$$S = \frac{|\%CIP_{sx} - \%CIP_{do}|}{\%CIP_{sx}} \cdot 100\% = 0,62\%$$

ánh giá thu hồi khi xác định mẫu thu được trong Ind bằng phương pháp thêm chuẩn, tiến hành tăng dần lượng mẫu thu được SPM sử dụng bằng số liệu thu được từ bảng các giá trị thêm chuẩn trên của Ind ta có kết quả như sau:

$\Delta C$	A	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	0,157	24,6			
10	0,22	24,6	34,47	9,87	98,71
20	0,281	24,6	44,03	19,43	97,15
30	0,343	24,6	53,74	29,14	97,14
40	0,408	24,6	63,93	39,33	98,32
50	0,475	24,6	74,43	49,83	99,65

Bảng 31: Thu hồi của quá trình xác định CIP trong mẫu thu được trong Ind

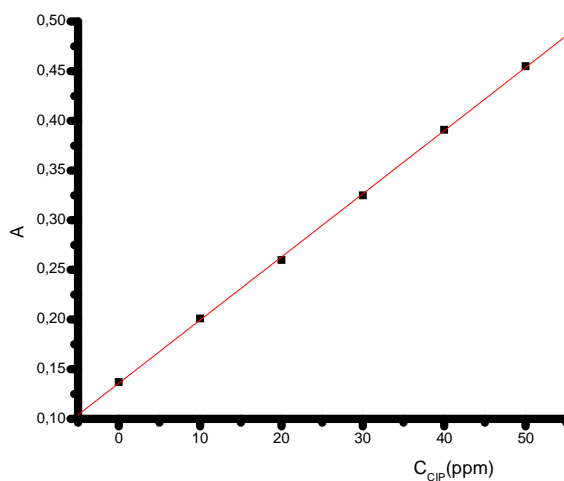
Giá trị thu hồi trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H)/5 = 98,20\%$

### 3.3.3 Xác định CIP trong mẫu thu được nhóm t ED

Tiến hành cho dãy 6 mẫu chuẩn benzen trên vỉ thí nghiệm dung dịch thu được ED ban đầu là 1,0 ml ta thu được kết quả như sau:

Vml thêm vào		0	0,5	1	1,5	2	2,5
$\Delta C$ (ppm)		0	10	20	30	40	50
A	L n 1	0,139	0,200	0,258	0,326	0,391	0,452
	L n 2	0,135	0,201	0,263	0,324	0,391	0,458
	TB	0,137	0,201	0,260	0,325	0,391	0,455

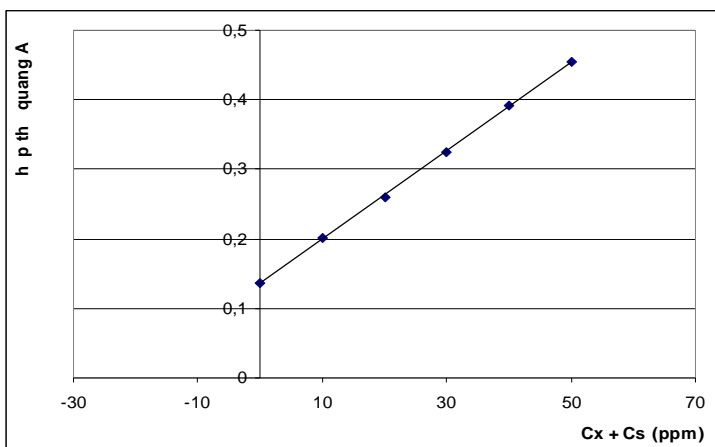
Bảng 32: Xác định CIP trong mẫu thu được nhóm t ED bằng phương pháp trắc quang



Hình 47: *th* *ng* *thêm* *ch* *u* *n* *xác* *nh* *CIP* *trong* *m* *u* *th* *u* *c* *ED*

Các thông s :

Parameter	Value	Error		
A	0,1359	0,00152		
B	0,00636	5,01698E-5		
R	SD	N	P	
0,99988	0,0021	6	<0.0001	



Hình 48: *th* *ng* *thêm* *ch* *u* *n* *xác* *nh* *CIP* *trong* *m* *u* *th* *u* *c* *nh* *m* *t* *ED*

T *ng* *thêm* *ch* *u* *n* *trên* *ng* *o* *i* *suy* *trên* *th* *và* *tính* *toán* *t* *ng* *thêm* *ch* *u* *n* *ta* *tính* *c* *n* *ng* *C<sub>x</sub>* *c* *a* *CIP* *t* *m* *u* *th* *u* *c* *SPM* *lúc* *u* *thêm* *vào* *là*:

$$X = |A / B| = 21,37 \text{ ppm}$$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{6} = 0,295$$

$$S_x = \frac{S_y}{B} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{\bar{Y}^2}{B^2 \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$= 0,39$$

Tra bảng ta có  $t(0,95;4) = 2,776$  nên  $X \pm t.S_{XE} = 21,37 \pm 0,39.2,776$   
 $= 21,37 \pm 1,08$  (ppm)

Như vậy nồng độ CIP trong 4,2ml thuốc ban đầu xác định được theo công thức (2) là:

$$C_{CIP} = \frac{(21,37 \pm 1,08) \cdot 25 \cdot 25}{1 \cdot 4,2} = 3180,06 \pm 267,86 \text{ (ppm)}$$

So với hàm lượng của nhà sản xuất công bố trên nhãn thuốc là 3mg/ml hay nồng độ 3000 ppm thì quá trình xác định CIP trong mẫu thuốc nhậm t ED mức sai số về hàm lượng so với kết quả in trên nhãn là:

$$S = \frac{|C_{CIPsx} - C_{CIPdol}|}{C_{CIPsx}} \cdot 100\% = 6,0 \%$$

Ánh giá thu hồi khi xác định mẫu thuốc lượng ED bằng phương pháp thêm chuẩn. Tiến hành tính toán khảo sát các thuốc trên ta thu được kết quả:

$\Delta C$	A	$C_x$ (ppm)	$C_s$ (ppm)	$C_s - C_x$	H%
0	0,137	21,37			
10	0,201	21,37	31,35	9,98	99,83
20	0,260	21,37	40,56	19,19	95,93
30	0,325	21,37	50,69	29,32	97,75
40	0,391	21,37	60,99	39,62	99,05

Bảng 33: Thu hồi của quá trình xác định CIP trong mẫu thuốc lượng ED

Vậy thu hồi trung bình là:  $H_{tb} = (\sum H)/5 = 98,35$

### **3.4 Kiểm nghiệm các kết quả xác định CIP bằng hai phương pháp**

T quá trình khảo sát trên ta có thể tóm tắt kết quả xác định hàm lượng CIP trong mẫu thuốc bằng hai phương pháp vào bảng sau:

M u thu c Ph  ng ph  p	M u thu c r n <b>SPM</b>			M u thu c r n <b>Ind</b>			M u thu c l  ng <b>ED</b>		
	<b>m<sub>CIP</sub></b> (g)	<b>S%</b>	<b>H%</b>	<b>m<sub>CIP</sub></b> (g)	<b>S%</b>	<b>H%</b>	<b>C<sub>CIP</sub></b> (ppm)	<b>S%</b>	<b>H%</b>
<b>i n h  a</b>	0,0172	0,81	98,75	0,0168	0,56	97,79	2981,15	0,63	98,06
<b>Tr c quang</b>	0,0169	0,94	101,05	0,0170	0,62	98,20	3180,00	6,00	98,35

*B ng 34: So sánh kết quả xác định CIP trong các mẫu thuốc bằng 2 phương pháp*

Nh v y ta thấy kết quả thu được hai phương pháp không chênh lệch nhiều, tuy nhiên trong mẫu thuốc thì phương pháp in hóa cho sai số nhỏ hơn, điều này do hấp thụ quang trong dung dịch bình thường bị sự có mặt của các ion khác trong dung dịch, do đó xác định hàm lượng CIP bằng phương pháp trắc quang trong các ống nghiệm là dung dịch thì cần khảo sát nhiễu nền các yếu tố ảnh hưởng. Sự chênh lệch nhau giữa kết quả của hai phương pháp trên cho thấy quá trình nghiên cứu và xây dựng quy trình tổng phân tích chính xác, không mắc phải sai số hệ thống. Nh v y vì vậy quá trình xác định hàm lượng CIP trong mẫu thuốc phương pháp von-ampe hòa tan hấp thụ cho kết quả cao hơn (giới hạn phát hiện và giới hạn nồng độ) điều này là hoàn toàn phù hợp, phương pháp này thích hợp cho việc xác định nồng độ thuốc ở các hoạt chất có tính đặc trưng thông qua mẫu sinh học.



### **3.5 Hướng phát triển các tài.**

ng d ng ph ng pháp i n hóa c bi t là ph ng pháp von-ampe hòa tan h p ph nh l ng h p ch t h u c , c bi t là nh l ng các lo i d c ph m tuy còn m i m n c ta nh ng ã r t ph bi n trên th gi i. tài trên ây là b c m u trong ng d ng nh l ng l i thu c, chúng tôi mong mu n ph ng pháp i n hóa nghiên c u xác nh CIP còn m r ng h n n a trong các i t ng khác nh ki m nghi m s bài ti t thu c qua các m u sinh h c: n c ti u, máu ... và ng d ng cho vi c xác nh h quinolone – h kháng sinh li u cao c thay th nhi u cho các kháng sinh đ gây “ch n” thu c. Ph ng pháp c ng h ng t i vi c nh l ng c ng th i nhi u ch t trong h quinolone trong m u sinh h c, i u này có ý ngh a trong vi c ki m nh lâm sàng và công nghi p d c.

## KẾT LUẬN

Như vậy trong luận văn này chúng tôi đã giới thiệu quy trình các vấn đề:

1. Khảo sát điều kiện tối ưu xác định CIP trong dung dịch phốt pho bằng phương pháp von-ampe hòa tan hấp phụ trong dung dịch natri axetat 0,075M pH = 3,8 và các thông số máy xác định là:

Điện thế hấp phụ	-1,1V	Thời gian hấp phụ	65s
Thời gian cân bằng	15s	Tốc độ khuấy	2000rpm
Tần số	50Hz	Thời gian sắc khí	300s
Biên độ xung	0,05V	Kích cỡ giọt thủy ngân	3
		Bước thế	0,005V

2. Xây dựng đường chuẩn xác định CIP trong khoảng nồng độ 0,01-0,22ppm và giới hạn phát hiện và giới hạn nhiễu động (LOD = 2,6ppb; LOQ=8,6ppb) bằng phương pháp chuẩn độ cao và CIP.

3. Xác định CIP trong mẫu thực nghiệm SPM và Ind, mẫu thực nghiệm ED cho sai số thấp, thu hồi cao, đồng thời thêm chuẩn tuyến tính và giá trị  $R^2$  để yêu cầu phân tích.

4. Tiến hành kiểm tra bằng phương pháp trắc quang cho thấy kết quả xác định bằng phương pháp von-ampe hòa tan hấp phụ không sai khác nhiều thậm chí còn cho kết quả xác định CIP trong mẫu thực nghiệm trắc quang chính xác hơn vì không bị nhiễu bởi các ion kim loại trong mẫu thử khảo sát.

Điều đáng chú ý trong quá trình xây dựng có tính khoa học cao, cho kết quả nghiên cứu bằng hai cách làm. Kết quả thu được cho thấy quá trình nghiên cứu trong luận văn là phù hợp với những tài liệu và công trình có liên quan đã công bố trước đó trên thế giới.

Như vậy phương pháp điện hóa nói chung và phương pháp von-ampe hòa tan hấp phụ nói riêng mới lần đầu tiên nghiên cứu tính hiệu quả trong việc phân tích các loại nước không chỉ vì môi trường sống của các ion kim loại nặng mà còn vì môi trường có hoạt tính sinh học. Tài liệu nghiên cứu đóng góp vào việc phân tích định lượng CIP trong mẫu thực nghiệm bằng phương pháp nhanh và chính xác.

## TÀI LI U THAM KH O

### Tài li u ti ng Vi t

- 1) A. K. Bapko, A.T. Pilipenco, Nguy n Huy n (d ch), 1975, *Phân tích tr c quang*. Nhà xu t b n giáo d c.
- 2) Nguy n Th Nga, 2009, *Nghiên c u xác nh Trimethoprim trong d c ph m b ng ph ng pháp von-ampe hòa tan h p ph*, Lu n án t t nghi p i h c, Tr ng i h c Khoa h c T nhiên.
- 3) Nguy n Th Thanh Nhân, 2007, *Xác nh Cloramphenicol b ng ph ng pháp c c ph sóng vuông*, Lu n án t t nghi p i h c, Tr ng i h c Khoa h c T nhiên.
- 4) Nguy n Vi t Huy n, 1999, *C s các ph ng pháp phân tích i n hóa h c*, i h c Qu c gia Hà N i.
- 5) Ph m Lu n, 1997, *Chu n b dung d ch trong hóa h c phân tích*.
- 6) T Th Th o, 2005, *Bài gi ng chuyên th ng kê trong hóa phân tích*, Tr ng i h c Khoa h c T nhiên.
- 7) T V ng Nghi, Ph m Lu n, Tr n Ch ng Huy n, 1990, *M t s ph ng pháp phân tích i n hóa hi n i*, Ch ng trình h p tác KHKT Vi t Nam – Hà Lan.
- 8) V Th Tuy t, 2008, *Nghiên c u xác nh Niphe ipin trong d c ph m b ng ph ng pháp von-ampe hòa tan catot trên i n c c gi t th y ngân treo*, Lu n án t t nghi p i h c, Tr ng i h c Khoa h c T nhiên.
- 9) [http:// www.thuocbietduoc.com.vn](http://www.thuocbietduoc.com.vn)

### Tài li u ti ng Anh

- 10) Abdalla M. Abulkibash, Salah M. Sultan, Ablee M. Al-Olyan, Sheikha M. Al-Ghannam, 2003, *Differential electrolytic potentiometric titration method for the determination of ciprofloxacin in drug formulations*, Talanta, 61, pp. 239-244.
- 11) Abdel Fatlah M. El Walily, Sacid F. Belal, Rancias Balery, 1996, *Spectrophotometric and spectrofluorimetric estimation of ciprofloxacin and*

- norfloxacin by terary complex formation with eosin and palladium (II)*, Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis, 14, pp. 561-569.
- 12) A.M. Beltagi, 2003, *Determination of the antibiotic drug pefloxacin in bulk form, tablets and human serum using square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry*, Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis, 31, pp. 1079-1088.
  - 13) A.M.Y Jaber, A. Iounici, 1994, *Polarographic behaviour determination of norfloxacin in tablets*, *Analytica Chimica Acta*, 291, pp. 53-64.
  - 14) Anthony J. Scheaffer. MD, 2003, *The Expanding Role of Fluoroquinolones*.
  - 15) A. Navalân, R-Blanc, L. Reyes, N. Navas, JL Vílchez, 2002, *Determination of the antibacterial enrofloxacin by differential pulse adsorptive stripping voltammetry*, *Analytica Chimica Acta*, 454, pp. 83-91.
  - 16) Ali A. Ensaifi, T. Khayamian, M. Taei, 2009, *Determination of ultra trace amount of enrofloxacin by adsorptive cathodic stripping voltammetry using copper (II) as an intermediate*, *Talanta*, 78, pp. 942-948.
  - 17) A. Radi, Z. El-Sherif, 2002, *Determination of levofloxacin in human urine by absorptive square-wave anodic stripping voltammetry on a glassy carbon electrode*, *Talanta*, 58, pp. 319-324.
  - 18) Atsuhiko Mizuno, Toshihiko Uematsu, Mitsuyoshi Nakashima, 1994, *Simultaneous determination of ofloxacin, norfloxacin and ciprofloxacin in human hair by high performance liquid chromatography and fluorescence detection*, *Journal of Chromatography B*, 653, pp. 187-193.
  - 19) Fakhr Eldin O. Suliman, Salah M. Sultan, 1996, *Sequential injection technique employed for stoichiometric studies, optimization and quantitative determination of some fluoroquinolone antibiotics complexed with iron(III) in sulfuric acid media*, *Talanta*, 43, pp. 559-568.
  - 20) Gerong Zhou, Jing hao Pan, 1995, *Polarographic and voltammetric behaviours of ciprofloxacin and its analytical application*, *Analytica Chimica Acta*, 307, pp. 49-53.

- 21) Hag Nawaz, Sakandar Rauf, Kalsoom Akhtar, Ahmad M. Khalid, 2006, *Electrochemical DNA biosensor for the study of ciprofloxacin – DNA interaction*, Analytical Biochemistry, 354, pp. 28 – 34.
- 22) H. Avsec and Sgomiscek, 1992, *A study of the prospects for a ciprofloxacin PVC coated wire ion-selective electrode based on 4-quinolones*, Analytica Chimica Acta, Elsevier Science publishers BV, Amsterdam, pp. 307-309.
- 23) JP hart, 1986, *Polarographic and voltammetric techniques and their application to the determination of vitamin and coenzymes*, Trends in analytical chemistry.
- 24) J. Volke, 1983, *492-Polarographic and voltammetric methods in pharmaceutical chemistry and pharmacology*, Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 10, pp. 7-23.
- 25) Lorena Fratini, Elfrides E.S. Schapoval, 1996, *Ciprofloxacin determination by visible light spectrophotometry using iron(III)nitrate*, International Journal Of Pharmaceutics, 127, pp. 279-282
- 26) M. Rizk, F. Belal, F.A. Aly, N.M. El-Enany, 1998, *Differential pulse polarographic determination of ofloxacin in pharmaceuticals and biological fluids*, Talanta, 46, pp. 83-89.
- 27) Nagwa Abo, El-Maali, 2004, *Voltammetric analysis of drugs*, Bioelectrochemistry, 64, pp. 99-107.
- 28) P.M Bersier, 1983, *Application of polarographic and voltammetry to drug analysis in industry*, Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis, 4, pp. 475-490.
- 29) Predrag Djurdjevic', Milena Jelkic' Stankov, Jadranka Odovic, 2000, *Study of solution equilibria between iron(III) ion and ciprofloxacin in pure nitrate ionic medium and micellar medium*, Polyhedron, 19, pp. 1085–1096
- 30) P. Solich, M. Polasek, J. Klimundova, J. Ruzicka, 2003, *Sequential injection technique applied to pharmaceutical analysis*, Trends in analytical chemistry, 7, vol.2.

- 31) Ralf Stahl mann, 2002, *Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones*, Toxicology letters, 127, pp. 269-277.
- 32) Rodica E. Ionescu, Nicole Jaffrezic-Renault, Laurent Bouffier, Chantal Goudran, Serge Cosnier, Daniel G. Pinacho, M-Pilar Marco, Francisco J. Sanchez-Thomas Healy, Claude Martelet, 2007, *Impedimetric immunosensor for the specific label free detection of ciprofloxacin antibiotic*, Biosensor and Bioelectronics, 23, pp. 549-555.
- 33) Samia Mostafa, Mohamed El-Sadek , Esmail Awad Alla, 2002, *Spectrophotometric determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and pefloxacin through charge transfer complex formation*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 27 , pp. 133–142.
- 34) Šebojka Komorsky-Lovrić, Biljana Nigović, 2004, *Identification of 5-aminosalicylic acid, ciprofloxacin and azithromycin by abrasive stripping voltammetry*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 36 , pp. 81–89
- 35) Tadashi Ohkubo”, Masakiyo Kudo and Kazunobu Sugawara, 1992, *Determination of ofloxacin in human serum by highperformance liquid chromatography with column switching*, Journal of Chromatography, 573 , pp. 289-293
- 36) Yongnian Ni, Yuerong Wang, Serge Kokot, 2006, *Simultaneous determination of three fluoroquinolones by linear sweep stripping voltammetry with the aid of chemometrics*, Talanta, 69 , pp. 216–225