

4.1. ODCZYNNIKI, ROZTWORY WZORCOWE, ROZTWORY BUFOROWE

01/2015:40101

04/2015:40101

07/2015:40101

4.1.1. ODCZYNNIKI

Acetonitryl OD. C_2H_3N (m.cz. 41,05). 1000700. [75-05-8].

(Acetonitrile).

Cyjanek metylu. Etanonitryl.

Przezroczysta, bezbarwna ciecz, mieszająca się z wodą, z acetonem i z metanolem.

d_{20}^{20} : ok. 0,78.

n_D^{20} : ok. 1,344.

Roztwór 100 g/L jest obojętny wobec papierka lakmusowego.

Zakres destylacji (2.2.11). Nie mniej niż 95% substancji destyluje w zakresie temp. 80°C–82°C.

Acetonitryl stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,01 w zakresie od 255 nm do 420 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Acetonitryl do chromatografii OD. 1000701.

(Acetonitrile for chromatography).

Patrz Acetonitryl OD.

Acetonitryl stosowany w chromatografii spełnia wymagania następujących dodatkowych badań.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,01 przy 240 nm i wyższych długościach fal, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Zawartość (2.2.28): nie mniej niż 99,8%.

Alkohol tridecyłowy OD. $C_{13}H_{28}O$ (m.cz. 200,4). 1192500. [112-70-9].

(Tridecyl alcohol).

Tridekanol.

Aloeemodyna OD. $C_{15}H_{10}O_5$ (m.cz. 270,2). 1188800. [481-72-1]. (Aloe emodin).

1,8-Dihydroksy-3-(hydroksymetylo)antraceno-9,10-dion.

1,8-Dihydroksy-3-(hydroksymetylo)antrachinon.

Antytrombina III OD. 1007800.

(Antithrombin III).

Antytrombiny III roztwór OD5. 1007805.

(Antithrombin III solution R5).

Odtworzyć antytrombinę III OD w sposób podany przez producenta i rozcieńczyć roztworem buforowym tris(hydroksymetylo)aminometanu EDTA o pH 8,4 OD1 do otrzymania 0,125 IU/mL.

Antytrombiny III roztwór OD6. 1007806.

(Antithrombin III solution R6).

Odtworzyć antytrombinę III OD w sposób podany przez producenta i rozcieńczyć roztworem buforowym tris(hydroksymetylo)aminometanu EDTA o pH 8,4 OD1 do otrzymania 1,0 IU/mL.

Arabinoza OD. $C_5H_{10}O_5$ (m.cz. 150,1). 1008000. [87-72-9].

(Arabinose).

(3R,4S,5S)-Tetrahydro-2H-pirano-2,3,4,5-tetrol. L-Arabinopiranoza. L-(+)-Arabinoza.

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek łatwo rozpuszczalny w wodzie.

$[\alpha]_D^{20}$: +103 do +105, oznaczona dla roztworu 50 g/L w wodzie OD, zawierającego ok. 0,05% NH_3 .

Bezwodnik glicyny OD. $C_2H_4N_2O_2$ (m.cz. 114,1). 1192200.

[106-57-0].

(Glycine anhydride).

Piperazyno-2,5-dion (2,5-DKP).

i-Butan OD. C_4H_{10} (m.cz. 58,12). 1189000. [75-28-5].

(i-Butane).

Izobutan. 2-Metylopropan.

Zawartość: nie mniej niż 99,0% (V/V).

n-Butan OD. C_4H_{10} (m.cz. 58,12). 1189100. [106-97-8].

(n-Butane).

Butan.

Zawartość: nie mniej niż 99,0% (V/V).

Chloroform OD. $CHCl_3$ (m.cz. 119,4). 1018600. [67-66-3].

(Chloroform).

Trichlorometan.

Przezroczysta, bezbarwna ciecz, trudno rozpuszczalna w wodzie, mieszająca się z etanolem (96%).

d_{20}^{20} : 1,475 do 1,481.

Temp. wrzenia: ok. 60°C.

Etanol: od 0,4% (m/m) do 1,0% (m/m).

Cykloheksan OD. C_6H_{12} (m.cz. 84,2). 1023900. [110-82-7].

(Cyclohexane).

Przezroczysta, bezbarwna, łatwopalna ciecz, praktycznie nierozpuszczalna w wodzie, mieszająca się z rozpuszczalnikami organicznymi.

d_{20}^{20} : ok. 0,78.

Temp. wrzenia: ok. 80,5°C.

Cykloheksan stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,35 przy 220 nm, 0,16 przy 235 nm, 0,05 przy 240 nm, 0,01 przy 250 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Cytronelilu octan OD. $C_{12}H_{22}O_2$ (m.cz. 198,3). 1135000. [150-84-5].

(Citronellyl acetate).

Octan 3,7-dimetylo-6-okten-1-ylu.

d_{20}^{20} : 0,890.

n_D^{20} : 1,443.

Temp. wrzenia: 229°C.

Octan cytronelilu stosowany w chromatografii gazowej spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Oznaczanie. Chromatografia gazowa (2.2.28) jak podano w monografii *Citronellae aetheroleum* (1609).

Zawartość: nie mniej niż 95,0%, obliczona procedurą normalizacji.

Przechowywanie: w hermetycznym pojemniku, chroniąc od światła.

Czerwień metylowa OD. 1055100.

(Methyl red).

Czerwieni metylowej roztwór OD. 1055102.

(Methyl red solution).

Rozpuścić 50 mg czerwieni metylowej OD w mieszaninie 1,86 mL roztworu wodorotlenku sodu (0,1 mol/L) RM i 50 mL etanolu (96%) OD, i uzupełnić wodą OD do 100 mL.

Badanie czułości. Do 0,1 mL roztworu czerwieni metylowej dodać 100 mL wody pozbawionej dwutlenku węgla OD i 0,05 mL kwasu solnego (0,02 mol/L) RM. Roztwór jest czerwony. Do zmiany zabarwienia na żółte zużywa się nie więcej niż 0,1 mL roztworu wodorotlenku sodu (0,02 mol/L) RM.

Zmiana zabarwienia: pH 4,4 (czerwone) do pH 6,0 (żółte).

Czynnik Xa bydlęcy krzepnięcia OD. 1037300.

(Factor Xa, bovine, coagulation).

Czynnika Xa bydlęcego roztwór OD2. 1037303.

(Factor Xa solution, bovine R2).

Odtworzyć wg wskazań producenta i rozcieńczyć roztworem buforowym tris(hydroksymetylo)aminometanu EDTA o pH 8,4 OD1 do otrzymania roztworu, który wykazuje absorbancję pomiędzy 0,65 i 1,25 przy 405 nm, gdy jest oznaczony zgodnie z rozdziałem 2.7.5, metodą punktu końcowego.

Diglicyna OD. C₄H₈N₂O₃ (m.cz. 132,1). 1191700. [556-50-3].

(Diglycine).

Kwas 2-[(2-aminoacetylo)amino]octowy. Glyciloglicyna.

3,4-Dimetoksy-L-fenylalanina OD. C₁₁H₁₅NO₄ (m.cz. 225,2). 1191800. [32161-30-1].

(3,4-Dimethoxy-L-phenylalanine).

Kwas (2S)-2-amino-3-(3,4-dimetoksyfenilo)propanowy.

Zawartość: nie mniej niż 95%.

Biały lub prawie biały proszek.

Dimetylosulfotlenek OD. 1029500. [67-68-5].

(Dimethyl sulfoxide).

Patrz monografia Dimethylis sulfoxidum (0763).

Dimetylosulfotlenek stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 1,00 przy 262 nm, 0,46 przy 270 nm, 0,16 przy 290 nm, 0,01 przy 340 nm i przy wyższych długościach fal, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Dioksan OD. 1032000.

(Dioxan).

Dioksanu roztwór OD2. 1032004.

(Dioxan solution R2).

Uzupełnić 2,0 mL roztworu dioksanu OD wodą OD do 50,0 mL (0,02 mg/mL dioksanu).

Epilaktoza OD. C₁₂H₂₂O₁₁ (m.cz. 342,3). 1189200. [20869-27-6].

(Epilactose).

4-O-β-D-Galaktopiranozylo-D-mannopiranoza.

Zawartość: nie mniej niż 98%.

Etan OD. C₂H₆ (m.cz. 30,07). 1189300. [74-84-0].

(Ethane).

Zawartość: nie mniej niż 99,0% (V/V).

Eter 1,1-dimetyloetylometylowy OD. C₃H₁₂O (m.cz. 88,1). 1013900. [1634-04-4].

(1,1-Dimethylethyl methyl ether).

2-Metoksy-2-metylopropan. Eter tert-butylometylowy.

Bezbarwna, przezroczysta, łatwopalna ciecz.

n_D²⁰: ok. 1,376.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,30 przy 240 nm, 0,10 przy 255 nm, 0,01 przy 280 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Eter monododecyłowy glikolu etylenowego OD. C₁₄H₃₀O₂ (m.cz. 230,4). 1191900. [4536-30-5].

(Ethylene glycol monododecyl ether).

2-(Dodecyloksy)etan-1-ol.

Bezbarwna lub jasnozielona ciecz.

Etylu toluenosulfonian OD. C₉H₁₂O₃S (m.cz. 200,3). 1191000. [80-40-0].

(Ethyl toluenesulfonate).

Etylu 4-metylobenzenosulfonian. Etylu tozylan.

Zawartość: nie mniej niż 97,0%.

Gęstość: ok. 1,17 g/mL (w temp. 25°C).

Temp. wrzenia: ok. 160°C.

Temp. topnienia: ok. 33°C.

Fenylhydrazyna OD. C₆H₈N₂ (m.cz. 108,1). 1190800. [100-63-0].

(Phenylhydrazine).

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek, zabarwiający się żółto lub ciemnoczerwono na powietrzu, topiący się w temperaturze pokojowej, dając tłąstą ciecz, mieszający się z bezwodnym etanolem, dość trudno rozpuszczalny w wodzie.

Temp. wrzenia: ok. 244°C z rozkładem.

Temp. topnienia: ok. 20°C.

Fluoroetylo-D-tyrozyny chlorowodorek OD. C₁₁H₁₅FNO₃Cl (m.cz. 263,7). 1192000.

(Fluoroethyl-D-tyrosine hydrochloride).

Kwasu (2R)-2-amino-3-[4-(2-fluoroetoksy)fenilo]propanowego chlorowodorek.

Zawartość: nie mniej niż 95%.

Bezbarwne lub prawie bezbarwne kryształy.

Fluoroetylo-L-tyrozyny chlorowodorek OD. C₁₁H₁₅FNO₃Cl (m.cz. 263,7). 1192100.

(Fluoroethyl-L-tyrosine hydrochloride).

Kwasu (2S)-2-amino-3-[4-(2-fluoroetoksy)fenilo]propanowego chlorowodorek.

Zawartość: nie mniej niż 95%.

Bezbarwne lub prawie bezbarwne kryształy.

Glinu tlenek do chromatografii, deaktywowany OD. 1188900. (Aluminium oxide for chromatography, deactivated).

Tlenek glinu odpowiednio deaktywowany do rozdzielania i detekcji pozostałości polarnych węglowodorów, o ułożeniu typu PLOT (porous layer open tubular).

Gramina OD. C₁₁H₁₄N₂ (m.cz. 174,2). 1189400. [87-52-5].

(Gramine).

1-(1H-Indol-3-ilo)-N,N-dimetyloetanamina.

Platki, praktycznie nierozpuszczalne w wodzie, rozpuszczalne w etanolu (96%), trudno rozpuszczalne w acetonie.

Temp. topnienia: 132°C do 134°C.

Heksan OD. C₆H₁₄ (m.cz. 86,2). 1042600. [110-54-3].

(Hexane).

Bezbarwna, łatwopalna ciecz, praktycznie nierozpuszczalna w wodzie, mieszająca się z bezwodnym etanolem.

d₂₀²⁰: 0,659 do 0,663.

n_D^{20} : 1,375 do 1,376.

Zakres destylacji (2.2.11). Nie mniej niż 95% substancji destyluje w zakresie temp. 67°C–69°C.

Heksan stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,01 w zakresie od 260 nm do 420 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

HEPES OD. $C_8H_{18}N_2O_4S$ (m.cz. 238,3). 1106800. [7365-45-9]. (HEPES).

Kwas 2-[4-(2-hydroksyetylo)piperazyn-1-ylo]etanosulfonowy. Białe lub prawie białe proszek.

Temp. topnienia: ok. 236°C z rozkładem.

Histydyna OD. 1187900. [71-00-1].

(Histidine).

Kwas (2S)-2-amino-3-(1H-imidazol-4-ilo)propanowy.

Homoorientyna OD. $C_{21}H_{20}O_{11}$ (m.cz. 448,4). 1189500. [4261-42-1].

(Homoorientin).

2-(3,4-Dihydroksyfenilo)-6-β-D-glukopiranozylo-5,7-dihydroksy-4H-1-benzopiran-4-on. Izoorientyna. Luteolino-6-C-glukozyd.

Izopropylu toluenosulfonian OD. $C_{10}H_{14}O_3S$ (m.cz. 214,3). 1191100. [2307-69-9].

(Isopropyl toluenesulfonate).

1-Metyloetylu 4-metylobenzenosulfonian. Propan-2-ylo 4-metylobenzenosulfonian. Izopropylu tozylan.

Zawartość: nie mniej niż 97,0%.

Przezroczysta ciecz.

Temp. topnienia: ok. 20°C.

Ksylitol OD. $C_5H_{12}O_5$ (m.cz. 152,1). 1190700. [87-99-0].

(Xylitol).

Białe lub prawie białe, krystaliczny proszek lub kryształy.

Zawartość: nie mniej niż 96,0%.

Kwas iminodiactowy OD. $C_4H_7NO_4$ (m.cz. 133,1). 1192300. [142-73-4].

(Iminodiacetic acid).

Kwas 2,2'-iminodiactowy.

Kwas siarkowy OD1. H_2SO_4 (m.cz. 98,1). 1190900. [7664-93-9]. (Sulfuric acid R1).

Zawartość: 75% (V/V).

Laktuloza OD. 1189600. [4618-18-2].

(Lactulose).

Patrz monografia *Lactulosum* (1230).

Makrogol 600 OD. 1189700. [25322-68-3].

(Macrogol 600).

Polietylenoglikol 600.

Patrz monografia *Macrogola* (1444).

Makrogol 6000 OD. 1189800. [25322-68-3].

(Macrogol 6000).

Polietylenoglikol 6000.

Białe lub prawie białe ciało stałe o tłustawym lub parafinopodobnym wyglądzie, bardzo łatwo rozpuszczalne w wodzie i w chloru metylenu, praktycznie nierozpuszczalne w etanolu (96%), w olejach tłustych i w olejach mineralnych.

Metanol OD. 1053200.

(Methanol).

Metanol OD1. 1053201.

(Methanol R1).

Spełnia wymagania podane dla *metanolu OD* i następujące dodatkowe wymagania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,70 przy 210 nm, 0,30 przy 220 nm, 0,13 przy 230 nm, 0,02 przy 250 nm, 0,01 przy 260 nm i przy wyższych długościach fal, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

2-Metylobutan OD. C_5H_{12} (m.cz. 72,2). 1099500. [78-78-4].

(2-Methylbutane).

Izopentan.

Zawartość: nie mniej niż 99,5% C_5H_{12} .

Bardzo łatwopalna, bezbarwna ciecz.

d_{20}^{20} : ok. 0,621.

n_D^{20} : ok. 1,354.

Temp. wrzenia: ok. 29°C.

Woda (2.5.12): nie więcej niż 0,02%.

Pozostałość po odparowaniu: nie więcej niż 0,0003%.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,30 przy 210 nm, 0,07 przy 220 nm, 0,01 przy 240 nm i przy wyższych długościach fali, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Metylocykloheksan OD. C_7H_{14} (m.cz. 98,2). 1189900. [108-87-2].

(Methylcyclohexane).

Metyloizobutyloketon OD. 1054300.

(Methyl isobutyl ketone).

Metyloizobutyloketon nasycony wodą OD. 1054303.

(Methyl isobutyl ketone, water-saturated).

Wytłuszczać metyloizobutyloketon OD z wodą OD przed użyciem.

Metylu antranilan OD. $C_8H_7NO_2$ (m.cz. 151,2). 1107300. [134-20-3].

(Methyl anthranilate).

2-Aminobenzoesan metylu.

Bezbarwne kryształy lub bezbarwna albo żółtawa ciecz, rozpuszczalne w wodzie, łatwo rozpuszczalne w etanolu (96%).

Temp. topnienia: 24°C do 25°C.

Antranilan metylu stosowany w chromatografii gazowej spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Oznaczanie. Chromatografia gazowa (2.2.28) jak podano w monografii *Neroli aetheroleum* (1175).

Roztwór badany. Substancja badana.

Zawartość: nie mniej niż 95,0%, obliczona procedurą normalizacji.

Metylu toluenosulfonian OD. $C_9H_{10}O_3S$ (m.cz. 186,2). 1191200. [80-48-8].

(Methyl toluenesulfonate).

Metylu 4-metylobenzenosulfonian. Metylu tozylan.

Zawartość: nie mniej niż 97,0%.

Gęstość: ok. 1,234 g/mL (w temp. 25°C).

Temp. wrzenia: ok. 292°C.

Temp. topnienia: 25°C do 28°C.

Pentan OD. C_5H_{12} (m.cz. 72,2). 1062500. [109-66-0].

(Pentane).

Przezroczysta, bezbarwna, łatwopalna ciecz, bardzo trudno

rozpuszczalna w wodzie, miesząc się z acetonem i z bezwodnym etanolem.

d_{20}^{20} : ok. 0,63.

n_D^{20} : ok. 1,359.

Temp. wrzenia: ok. 36°C.

Pentan stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,70 przy 200 nm, 0,30 przy 210 nm, 0,07 przy 220 nm, 0,03 przy 230 nm, 0,01 przy 240 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Pirydyno-4-karbonitryl OD. $C_6H_4N_2$ (m.cz. 104,1). 1190300. [100-48-1].

(Pyridine-4-carbonitrile).

4-Cyjanopirydyna.

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek.

Temp. wrzenia: 194°C do 196°C.

Temp. topnienia: 76°C do 79°C.

Płytki TLC z celulozą OD. 1191400.

(TLC cellulose plate).

Nośnik ze szkła, metalu lub tworzywa sztucznego pokryty warstwą celulozy.

Potasu 4-sulfobenzoesan OD. $C_7H_5KO_3S$ (m.cz. 240,3). 1190000. [5399-63-3].

(Potassium 4-sulfobenzoate).

Sól potasowa kwasu 4-sulfobenzoesowego. Potasu 4-karboksybenzenosulfonian.

Biały, krystaliczny proszek.

Powietrze, wolne od węglowodorów OD. 1188700.

(Air, hydrocarbon-free).

Spełnia wymagania podane dla monografii *Aer medicinalis* (1238) z następującym dodatkowym wymaganiem.

Węglowodory: nie więcej niż 5 µg/g (V/V), w przeliczeniu na CH_4 .

Propan OD. C_3H_8 (m.cz. 44,10). 1190100. [74-98-6].

(Propane).

Zawartość: nie mniej niż 99,0% (V/V).

2-Propanol OD. 1072100.

(2-Propanol).

2-Propanol OD1. 1072101.

(2-Propanol R1).

Spełnia wymagania podane dla 2-propanolu OD i następujące dodatkowe wymagania.

n_D^{20} : ok. 1,378.

Woda (2.5.12): nie więcej niż 0,05%; do wykonania badania użyć 10 g substancji.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,60 przy 210 nm, 0,26 przy 220 nm, 0,13 przy 230 nm, 0,02 przy 250 nm, 0,01 przy 260 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Pullulanaza OD. 1190200. [9075-68-7].

(Pullulanase).

Pullulano-6-glukanohydrolaza otrzymywana z *Klebsiella pneumoniae*.

Zawartość: nie mniej niż 30 jednostek/mg białka.

Jedna jednostka oznacza aktywność enzymatyczną potrzebną do wytworzenia z pullulanu 1,0 µmola maltotriozy na minutę przy pH 5,0 i w temp. 30°C.

OZNACZANIE AKTYWNOŚCI PULLULANAZY

Substrat. Rozpuścić 0,250 g pullulanu w 20,0 mL wody OD, dodając pullulan do wody.

Roztwór buforowy A. Roztwór kwasu cytrynowego OD (21 g/L) doprowadzony roztworem wodorofosforanu disodu OD (27 g/L) do pH 5,0.

Roztwór buforowy B. Przygotować roztwór octanu sodu OD (136 g/L) doprowadzony rozcieńczonym kwasem octowym OD do pH 6,0. Uzupełnić 1 mL tego roztworu wodą OD do 100 mL. Odczynnik Somogyi. Do 28 g bezwodnego wodorofosforanu disodu OD i 40 g winianu sodu potasu OD dodać ok. 700 mL wody OD. Dodać 100 mL roztworu wodorotlenku sodu OD (42 g/L) i zmieszać. Dodać 80 mL roztworu siarczynu miedzi(II) OD (100 g/L) i zmieszać. Ogrzewać do całkowitego rozpuszczenia. Dodać 180 g bezwodnego siarczynu sodu OD i uzupełnić wodą OD do objętości 1 L. Pozostawić 1 lub 2 dni w temperaturze pokojowej do wytrącenia nierozpuszczalnych cząstek. Przesączyć roztwór i utrzymywać przesącz w butelkach ze szkła oranżowego z doszlifowanym korkiem.

Odczynnik Nelsona. Rozpuścić 50 g molibdenianu amonowego OD w 900 mL wody OD. Dodać 42 g kwasu siarkowego OD i zmieszać. Rozpuścić 6 g arsenianu disodu OD w 50 mL wody OD. Dodać drugi roztwór do pierwszego roztworu i pozostawić 1 lub 2 dni w butelkach ze szkła oranżowego z doszlifowanym korkiem w temp. 37°C.

Roztwór wzorcowy glukozy. Suszyć glukozę OD 5 h przy ciśnieniu niższym niż 6 kPa w temp. 60°C i obliczyć zawartość wody. Przenieść 10,00 g wysuszonej glukozy do kolby miarowej, rozpuścić w wodzie OD, uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 1,0 L i zmieszać. Przenieść 10,0 mL tego roztworu do kolby miarowej i uzupełnić wodą OD do 1,0 L. Każdy mililitr zawiera 100 µg glukozy.

Rozcieńczalnik pullulanazy. Rozcieńczyć pullulanazę OD roztworem buforowym B do otrzymania roztworu o aktywności enzymatycznej ok. 0,2 jednostki/mL. Zakres pomiaru znajduje się pomiędzy 0,1 i 0,4 jednostki/mL. Zanotować współczynnik rozcieńczenia (D). Otrzymany roztwór jest stosowany jako roztwór rozcieńczony enzymu.

Procedura. Przenieść 4,0 mL substratu do probówki i dodać 0,5 mL roztworu buforowego A, zmieszać i inkubować w temp. 30°C. Dodać 0,5 mL rozcieńczalnika pullulanazy i dokładnie zmieszać. Po 30 s przenieść 1,0 mL tego roztworu do probówki oznakowanej jako „roztwór badany 1 pullulanu”, dodać 2,0 mL odczynnika Somogyi i zmieszać. Po 30,5 min przenieść 1,0 mL mieszaniny substratu i rozcieńczalnika pullulanazy do drugiej probówki oznakowanej jako „roztwór badany 2 pullulanu”, dodać 2,0 mL odczynnika Somogyi i zmieszać. W trzeciej probówce oznakowanej jako „ślepa próba” zmieszać 2,0 mL odczynnika Somogyi i 1,0 mL wody OD. W czwartej probówce oznakowanej jako „roztwór wzorcowy glukozy” zmieszać 2,0 mL odczynnika Somogyi i 1,0 mL roztworu wzorcowego glukozy, i dodać 1,0 mL wody OD. Inkubować czwartą probówkę dokładnie 10 min we wrzącej łaźni wodnej. Wyjąć probówkę i ochłodzić pod bieżącą wodą. Dodać 2,0 mL odczynnika Nelsona, dokładnie zmieszać i pozostawić roztwór co najmniej 15 min. Dodać 5,0 mL wody OD do każdej z 4 probówek i dokładnie zmieszać. Oznaczyć absorbancję przy 520 nm „ślepej próby” (A_{sepa}), roztworu wzorcowego glukozy (A_{wz}), roztworu badanego 1 pullulanu (A_0), roztworu badanego 2 pullulanu (A_{30}) używając wody OD jako ślepej próby. Jedna jednostka jest określona jako aktywność enzymatyczna umożliwiająca wytworzenie z pullulanu 1 µmola maltotriozy (mierzonej jako glukoza) na minutę. Obliczyć aktywność P pullulanazy, w jednostkach/mL, wg poniższego wzoru:

$$[(A_{30} - A_0) / (A_{\text{wz}} - A_{\text{sepa}})] \times 0,185 \times D$$

ZAWARTOŚĆ BIAŁKA (MIERZONA JAKO ZAWARTOŚĆ ALBUMINOIDU) DO OBLICZENIA AKTYWNOŚCI SWOISTEJ

Odczynnik A. Przygotować roztwór zawierający znane stężenia ok. 4 g/L wodorotlenku sodu OD i ok. 21 g/L bezwodnego węglanu sodu OD.

Odczynnik B. Przenieść 0,5 g siarczanu miedzi(II) OD i 1,0 g cytrynianu sodu OD do kolby miarowej, rozpuścić i uzupełnić wodą OD do 100,0 mL, i zmieszać.

Roztwór Lowry. Zmieszać 50 objętości odczynnika A i 1 objętość odczynnika B.

Odczynnik rozcieńczony Folin-Ciocalteu do oznaczania fenoli (do oznaczania albuminoidu). Przygotować 2-krotne rozcieńczenie dostępnego w handlu odczynnika Folin-Ciocalteu 2 N lub przygotować roztwór przez odpowiednie rozcieńczenie odczynnika fosforomolibdenowolframowego OD.

Roztwór podstawowy wzorca albuminy bydlęcej. Przenieść 50,0 mg albuminy bydlęcej OD do kolby miarowej, rozpuścić i uzupełnić wodą OD do 500,0 mL, i zmieszać. Roztwór zawiera 100 µg/mL albuminy bydlęcej.

Roztwory wzorcowe. Używając odpowiednich rozcieńczeń roztworu podstawowego wzorca albuminy bydlęcej w wodzie OD, przygotować 5 roztworów wzorcowych o stężeniach w jednakowych odstępach od 5 µg/mL do 100 µg/mL albuminy bydlęcej.

Roztwór badany. Rozcieńczyć pullulanazę OD roztworem buforowym B do otrzymania roztworu o stężeniu 60–70 µg/mL albuminoidu. Woda może być użyta jako rozcieńczalnik. Zanotować współczynnik rozcieńczenia D_f .

Procedura. Wprowadzić do oddzielnych probówek, 0,3 mL każdego roztworu wzorcowego, roztworu badanego i wody OD. Dodać do każdej probówki 3,0 mL roztworu Lowry i zmieszać. Inkubować 10 min w temperaturze pokojowej. Dodać do każdej probówki 0,3 mL rozcieńzonego odczynnika Folin-Ciocalteu do oznaczania fenoli, natychmiast zmieszać i pozostawić 60 min w temperaturze pokojowej. Oznaczyć absorbancje roztworów wzorcowych i roztworu badanego przy długości fali w maksimum absorbancji przy ok. 750 nm, używając wody OD jako ślepej próby.

Obliczenia. Zależność absorbancji od stężenia białka nie jest liniowa, jakkolwiek, jeżeli zakres stężenia krzywej wzorcowej jest wystarczająco mały, to będzie zbliżona do liniowej. Używając metody regresji liniowej, wykonać wykres zależności absorbancji roztworów wzorcowych od stężenia białka (albuminy bydlęcej), w µg/mL. Używając wykresu oznaczyć stężenie białka (zawartość albuminoidu) $C_{albuminoid}$ w µg/mL, w roztworze badanym. Obliczyć stężenie albuminoidu, w mg/mL, w pullulanazie OD wg poniższego wzoru:

$$C_{białka} = (C_{albuminoid} \times D_f) / 1000$$

Obliczyć aktywność swoistą, w jednostkach/mg, pullulanazy wg poniższego wzoru:

$$P/C_{białka}$$

P = aktywność pullulanazy, w jednostkach/mL.

Ramnoza OD. $C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$ (m.cz. 182,2). 1074900. [6155-35-7]. (Rhamnose).

(2R,3R,4R,5R,6S)-6-Metylotetrahydro-2H-pirano-2,3,4,5-tetrol jednowodny. 6-Deoksy- α -L-mannopiranoza jednowodna. α -L-Ramnopiranoza jednowodna. L-(+)-Ramnoza jednowodna.

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek, łatwo rozpuszczalny w wodzie.

$[\alpha]_D^{20}$: + 7,8 do + 8,3, oznaczona w roztworze substancji (50 g/L) w wodzie OD zawierającej ok. 0,05% NH_3 .

Rutyna OD. 1075300. [250249-75-3].

(Rutin).

Patrz Rutozyd trójwodny OD.

Rutozyd trójwodny OD. $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ (m.cz. 665). 1075300. [250249-75-3].

(Rutoside trihydrate).

Rutyna trójwodna. 2-(3,4-Dihydroksyfenilo)-5,7-dihydroksy-4-okso-4H-chromen-3-ylu 6-O-(6-deoksy- α -L-mannopiranozylo)- β -D-glukopiranozyd trójwodny.

Żółty, krystaliczny proszek, ciemniejący pod wpływem światła, bardzo trudno rozpuszczalny w wodzie, rozpuszczalny w ok. 400 częściach wrzącej wody, trudno rozpuszczalny w etanolu (96%), rozpuszczalny w roztworach wodorotlenków litowców i w wodorotlenku amonowym.

Temp. topnienia: ok. 210°C z rozkładem.

Absorbancja (2.2.25). Roztwór w etanolu (96%) OD wykazuje dwa maksima absorpcji przy 259 nm i 362 nm.

Przechowywanie: chronić od światła.

Sennozyd B OD. $C_{42}H_{38}O_{20}$ (m.cz. 863). 1190400. [128-57-4].

(Sennoside B).

Kwas (9R,9'S)-5,5'-bis(β -D-glukopiranozylooksy)-4,4'-dihydroksy-10,10'-diokso-9,9',10,10'-tetrahydro-9,9'-biantraceno-2,2'-dikarboksylowy.

Jasnożółte kryształy, praktycznie nierozpuszczalne w wodzie, bardzo trudno rozpuszczalne w etanolu (96%), rozpuszczalne w rozcieńczonych roztworach wodorotlenków litowców.

Temp. topnienia: 180°C do 186°C.

Sodu wodorotlenek OD. 1081400.

(Sodium hydroxide).

Sodu wodorotlenek (4 mol/L) OD. 1081407.

(4 M Sodium hydroxide).

Rozpuścić 168 g wodorotlenku sodu OD w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 1,0 L.

Strychnina OD. $C_{21}H_{22}N_2O_2$ (m.cz. 334,4). 1190600. [57-24-9].

(Strychnine).

(4aR,4bR,5aS,8aR,13aS,15aS)-2,4a,4b,5,5a,7,8,13a,15,15a-Dekahydro-4,6-metano-6H-indolo[3,2,1-ij]oksepino[2,3,4-de]-pirolo[2,3-h]chinolin-14-on. Strychnidyn-10-on.

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek, dość trudno rozpuszczalny w wodzie.

Temp. topnienia: ok. 285°C.

Tetrahydrofuran OD. C_4H_8O (m.cz. 72,1). 1088500. [109-99-9].

(Tetrahydrofuran).

Tlenek tetrametyleny.

Przezroczysta, bezbarwna, łatwopalna ciecz, mieszająca się z wodą i z etanolem (96%).

d_{20}^{20} : ok. 0,89.

Nie destylować, jeżeli tetrahydrofuran nie spełnia wymagań badania nadtlenu.

Nadtlenki. Umieścić 8 mL roztworu jodku potasu i skrobi OD w cylindrze szklanym poj. 12 mL z doszlifowanym korkiem, o średnicy ok. 1,5 cm. Wypełnić całkowicie substancją badaną, wstrząsnąć energicznie i pozostawić 30 min chroniąc od światła. Nie powstaje zabarwienie.

Tetrahydrofuran stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,70 przy 255 nm, 0,10 przy 270 nm, 0,01 przy 310 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Tetrapropyloamoniowy wodorosiarczan OD. $C_{12}H_{29}NO_4S$ (m.cz. 283,4). 1191300. [56211-70-2].

(*Tetrapropylammonium hydrogen sulfate*).

N,N,N-Tripropylopropan-1-amoniowy wodorosiarczan.

Biały lub prawie biały, krystaliczny, higroskopijny proszek.

Toluenosulfonamid OD. $C_7H_7NO_2S$ (m.cz. 171,2). 1091500. [70-55-3].

(*Toluenesulfonamide*).

4-Metylobenzenosulfonamid. *p*-Toluenosulfonamid.

Zawartość: nie mniej niż 99,0%.

Biały lub prawie biały, krystaliczny proszek, trudno rozpuszczalny w wodzie, rozpuszczalny w etanolu (96%) i w roztworach wodorotlenków litowców.

Temp. topnienia: ok. 136°C.

Triglicyna OD. (m.cz. 189,2). 1192600. [556-33-2].

(*Triglycine*).

Kwas 2-[[2-[(2-aminoacetylo)amino]acetylo]amino]octowy. Glicyloglicyloglicyna.

Trimetylopentan OD. C_8H_{18} (m.cz. 114,2). 1093400. [540-84-1]. (*Trimethylpentane*).

Izooktan. 2,2,4-Trimetylopentan.

Bezbarwna, łatwopalna ciecz, praktycznie nierozpuszczalna w wodzie, rozpuszczalna w bezwodnym etanolu.

d_{20}^{20} : 0,691 do 0,696.

n_D^{20} : 1,391 do 1,393.

Zakres destylacji (2.2.11). Nie mniej niż 95% substancji destyluje w zakresie temp. 98°C–100°C.

Trimetylopentan stosowany w spektrofotometrii spełnia wymagania następującego dodatkowego badania.

Absorbancja (2.2.25): nie więcej niż 0,01 w zakresie od 250 nm do 420 nm, oznaczona z użyciem wody OD jako odnośnika.

Trombina ludzka OD. 1090100.

(*Thrombin, human*).

Trombiny ludzkiej roztwór OD2. 1090103.

(*Thrombin solution, human R2*).

Odtworzyć ludzką trombinę OD jak wskazano przez producenta i rozcieńczyć roztworem buforowym tris(hydroksymetylo)aminometanu EDTA o pH 8,4 OD1 do 5 IU/mL.

Wapnia octan OD. $C_4H_6CaO_4$ (m.cz. 158,2). 1191600. [62-54-4]. (*Calcium acetate*).

Wapnia diocetan. Patrz monografia *Calcii acetis anhydricus* (2128).

Winyłowy polimer do chromatografii z grupami aminoalkilowymi OD. 1191500.

(*Vinyl polymer for chromatography, amino alkyl*).

Kuliste cząstki (5 µm) kopolimeru alkoholu winylowego chemicznie modyfikowanego przez związanie grup aminoalkilowych.

Woda OD. 1095500.

(*Water*).

Woda do chromatografii OD. 1095503.

(*Water for chromatography*).

Dejonizowana woda o oporze właściwym nie mniejszym niż 0,18 MΩ·m, otrzymywana metodą destylacji, wymiany jonowej, odwróconej osmozy lub inną odpowiednią metodą z wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi odpowiadającej obowiązującym wymaganiom ustalonym przez organ upoważniony.

Jakość wody jest taka, że nie występuje istotna interferencja pików ani obniżenie czułości podczas jej użycia w chromatografii. W chromatografii z elucją izokratyczną z detekcją UV przy niskich długościach fal (tj. poniżej 230 nm), z detekcją przez nebulizację (np. detektor laserowy fotodyspersyjny, detektor zliczający cząstki, detektor aerozolowy) lub z detekcją masy, lub w chromatografii z elucją gradientową, może być konieczne użycie wody z całkowitą zawartością węgla organicznego nie większą niż 5 ng/g.

Woda wysokooczyszczona OD. 1095510.

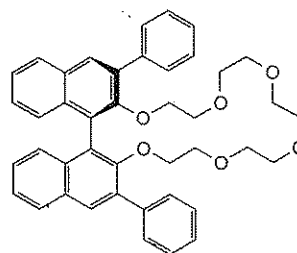
(*Water, highly purified*).

Patrz monografia *Aqua valde purificata* (1927).

Żel krzemionkowy CR+ do rozdzielania związków chiralnych OD. 1192400.

(*Silica gel CR+ for chiral separations*).

Bardzo mialko rozdrobniony żel krzemionkowy do chromatografii (5 µm), pokryty poniższym chiralnym eterem koronowym:



(*R_s*)-6,23-Difenylo-8,9,11,12,14,15,17,18,20,21-dekahydrodi-nafto[2,1-*q*:1',2'-*s*][1,4,7,10,13,16]heksaoksacyklokozyzna.

Żel krzemionkowy do chromatografii z grupami fenylosililowymi, związany na końcu OD. 1154900.

(*Silica gel for chromatography, phenylsilyl, end-capped*).

Bardzo mialko rozdrobniony żel krzemionkowy, którego powierzchnię chemicznie zmodyfikowano przez związanie z grupami fenyłowymi. Celem zmniejszenia oddziaływania ze związkami zasadowymi większość pozostałych końcowych grup silanowych została ostrożnie osłonięta. Wielkość cząstek podana jest po nazwie odczynnika w badaniach, w których jest stosowany.

Żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi, z mostkami etylenowymi (wypełnienie hydrydowe) OD. 1190500.

(*Silica gel for chromatography, octadecylsilyl, ethylene-bridged (hybrid material)*).

Syntetyczne, kuliste hybrydowe cząstki z mostkami etylenowymi, zawierające zarówno organiczne jak i nieorganiczne (krzemionkowe) składniki.

Żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi, związany na końcu OD. 1115400.

(*Silica gel for chromatography, octadecylsilyl, end-capped*).

Bardzo mialko rozdrobniony żel krzemionkowy, którego powierzchnię chemicznie zmodyfikowano przez związanie z grupami oktaedecylosililowymi. Celem zmniejszenia oddziaływania ze związkami zasadowymi większość pozostałych końcowych grup silanolowych została ostrożnie osłonięta. Wielkość cząstek podana jest po nazwie odczynnika w badaniach, w których jest stosowany.

Miałki, biały lub prawie biały, jednorodny proszek, praktycznie nierozpuszczalny w wodzie i w etanolu (96%).

01/2015:40103

04/2015:40103

4.1.3. ROZTWORY BUFOROWE

Roztwór buforowy (HEPES) o pH 7,5 OD. 4009700.

(Buffer (HEPES) solution pH 7.5).

Rozpuścić 2,38 g HEPES OD w ok. 90 mL wody OD. Doprowadzić roztworem wodorotlenku sodu OD do pH 7,5. Uzupełnić wodą OD do 100 mL.

Roztwór buforowy tris(hidroksymetylo)aminometanu EDTA o pH 8,4 OD1. 4015100.

(Tris(hydroxymethyl)aminomethane-EDTA buffer solution pH 8.4 R1).

Rozpuścić 10,20 g chlorku sodu OD, 6,10 g tris(hidroksymetylo)aminometanu OD, 2,80 g edetynianu sodu OD i 1,00 g makroglu 6000 OD lub 2,00 g albuminy bydlęcej OD lub albuminy ludzkiej OD w 800 mL wody OD. Doprowadzić kwasem solnym OD do pH 8,4 i uzupełnić wodą OD do 1,0 L.

Roztwór buforowy tris(hidroksymetylo)aminometanu o pH 9,0 OD. 4015200.

(Tris(hydroxymethyl)aminomethane buffer solution pH 9.0).

Rozpuścić 1,21 g tris(hidroksymetylo)aminometanu OD w 950 mL wody do chromatografii OD. Doprowadzić kwasem octowym OD do pH 9,0 i uzupełnić wodą do chromatografii OD do 1000,0 mL.

ODCZYNNIKI NIEPOSIADAJĄCE ODPOWIEDNIKÓW W FARMAKOPEI EUROPEJSKIEJ (ODCZYNNIKI NARODOWE)

Roztwór błękitu bromofenolowego i żółci metanilowej OD.

Rozpuścić 0,10 g błękitu bromofenolowego OD i 10 mg żółci metanilowej OD w etanolu (96%) OD, i uzupełnić etanolem (96%) OD do 100 mL.