

Bảng 10.7 - Những dung môi và nồng độ cuối cùng của dung dịch kháng sinh

Chất kháng sinh	Dung môi	Nồng độ cuối cùng
Amoxicilin	Nước	1,0 mg/ml
Ampicilin	Nước	1,25 mg/ml
Ampicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Cloxacilin natri	Nước	1,25 mg/ml
Dicloxacin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Methicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Oxacilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Penicilin G kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml
Penicilin G natri	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml
Penicilin V kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml

10.8 ĐỊNH LƯỢNG CÁC STEROID BẰNG TETRAZOLIUM

Phương pháp này được áp dụng để định lượng các steroid chứa các nhóm chức có tính khử.

Các sản phẩm của phản ứng màu này có khuynh hướng tập phụ lên bề mặt của thủy tinh. Để tránh sự sai lệch kết quả, nên xử lý các bình phản ứng thủy tinh bằng cách để chúng chứa chính các sản phẩm của phản ứng màu này trước khi dùng. Nên giữ các bình thủy tinh đã được xử lý để dùng riêng cho phép định lượng này và chỉ rửa bình bằng nước giữa các lần định lượng. Phương pháp này được tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch thử

Trừ khi có chỉ dẫn cụ thể trong chuyên luận riêng, hòa tan một lượng chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* để thu được một dung dịch thử có nồng độ từ 30 µg/ml đến 35 µg/ml.

Dung dịch chuẩn

Chuẩn bị một dung dịch chất chuẩn tương ứng trong *ethanol không có aldehyd (TT)* có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

Tiến hành

Lấy chính xác 10 ml mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn cho vào hai bình định mức 25 ml riêng biệt và cho 10 ml *ethanol không có aldehyd (TT)* vào một bình định mức 25 ml thứ ba. Lần lượt thêm vào các bình 2 ml *dung dịch triphenyltetrazolium clorid (TT)*, 2 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT)*. Đậy bình, trộn đều bằng cách lắc xoay tròn nhẹ nhàng và ngâm các bình phản ứng này trong cách thủy ở 30 °C trong 1 h, trừ khi có quy định cụ thể trong chuyên luận riêng. Làm lạnh nhanh, thêm *ethanol không có aldehyd (TT)* đến định mức 25 ml. Lắc đều và đo ngay độ hấp thụ ánh sáng của các dung dịch thu được trong hai bình đầu (theo thứ tự khi cho thuốc thử) ở cực đại 485 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo có nắp đậy, lấy dung dịch thu được trong bình thứ ba làm mẫu trắng.

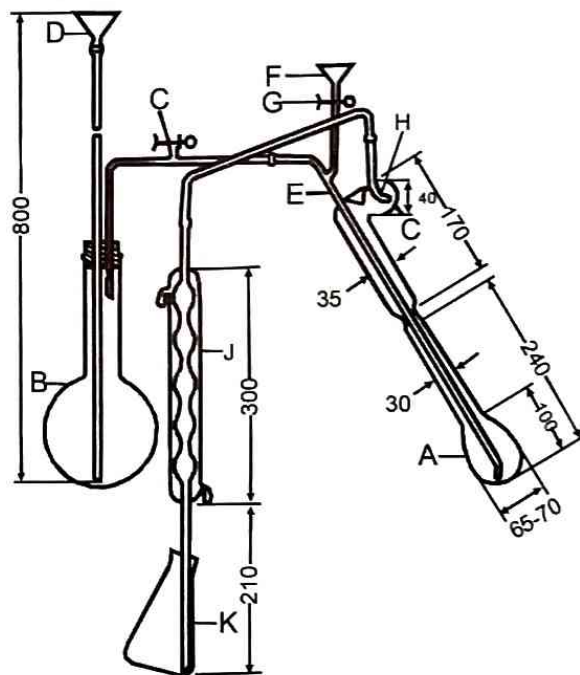
10.9 ĐỊNH LƯỢNG NITROGEN TRONG HỢP CHẤT HỮU CƠ

Nitrogen trong hợp chất hữu cơ được định lượng dưới dạng amoniac trong amoni sulfat thu được khi vô cơ hóa các hợp chất hữu cơ có chứa nitrogen với acid sulfuric. Áp dụng phương pháp I nếu không có chỉ dẫn khác.

Phương pháp I

Dụng cụ

Bộ dụng cụ định lượng nitrogen có thể được chế tạo nguyên bộ chuyên dùng cất amoniac hoặc được lắp ghép từ các dụng cụ thủy tinh cần thiết với nhau sao cho đảm bảo đủ các bộ phận và yêu cầu như Hình 10.9. Các phần bằng cao su của thiết bị nên được xử lý bằng cách đun sôi 10 min đến 30 min trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, tiếp theo 30 min đến 60 min trong *nước*, cuối cùng rửa lại bằng *nước* trước khi dùng.



Hình 10.9 - Dụng cụ định lượng nitrogen (Kích thước tính bằng milimet)

Chú thích:

- A. Bình Kjeldahl để vô cơ hóa mẫu thử và thực hiện phản ứng.
- B. Bình cầu để cung cấp hơi nước.
- C. Khoá an toàn.
- D. Phễu cấp nước vào bình B.
- E. Ống dẫn hơi nước từ bình B sang bình phản ứng A.
- F. Phễu cấp dung dịch kiểm vào bình phản ứng A.
- G. Ống nối bằng cao su có kẹp khoá.
- H. Lỗ nhỏ có đường kính bằng đường kính ống cấp hơi.
- J. Ống sinh hàn.
- K. Bình hứng dịch cất được.

Cách tiến hành

Nếu chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành như sau:

a. Vô cơ hóa

Lấy chính xác một lượng mẫu thử có chứa khoảng 5 mg nitrogen cho vào bình Kjeldahl A, thêm 1 g hỗn hợp kali sulfat (TT) hoặc natri sulfat khan (TT) và đồng sulfat (TT) (tỷ lệ 10 : 1) đã được tán nhỏ, 7 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) và vài viên bi thủy tinh. Đặt bình bằng một phễu có cuống dài. Đặt bình nghiêng 45° trên ngọn lửa nhỏ để hỗn hợp nóng lên từ từ rồi tăng dần nhiệt độ tới khi sôi và tiếp tục đun tới khi chất lỏng trong bình có màu lục tươi và không còn những đốm đen của chất hóa than trên thành bình. Nếu chất lỏng trong bình chưa chuyển sang màu lục tươi, có thể thêm 1 ml đến 2 ml dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT) khi đã để nguội và đun tiếp đến khi thu được màu này. Đun thêm 30 min nữa, để nguội.

b. Chuẩn bị cát

Thêm 20 ml nước cất vào bình Kjeldahl đã vô cơ hóa, để nguội trở lại rồi lắp bình này vào bộ dụng cụ cát đã được làm sạch trước bằng cách cho hơi nước chạy qua. Nếu bộ dụng cụ cát amoniac có bình phản ứng A gắn liền thì dùng 20 ml nước cất để chuyển hỗn hợp từ bình Kjeldahl vào bình phản ứng.

Cho nước cất vào khoảng 2/3 bình cấp hơi nước B, thêm vài giọt acid sulfuric (TT) để acid hóa chống sự thâm nhập của amoniac từ không khí.

Lấy chính xác 30,0 ml dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CD) và 2 giọt dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT) cho vào bình hứng K.

Lắp nối các bộ phận với nhau như hình vẽ sao cho tạo thành một hệ thống kín, đầu cuối của ống sinh hàn thu dịch cát được phải ngập sâu trong dung dịch của bình hứng K.

c. Tiến hành cát

Khi việc chuẩn bị cát đã hoàn tất, cho nước lạnh chảy qua ống sinh hàn và bắt đầu đun nước trong bình B. Khi nước sôi thì cho vào bình phản ứng A qua phễu F từng ít một 30 ml dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT) bằng cách sau: đổ hết lượng kiềm này vào phễu F và dùng kẹp G điều chỉnh cho dung dịch kiềm chảy xuống từ từ, khi xong khóa chặt kẹp lại. Tiếp tục cát đến khi hứng được khoảng 100 ml dịch cát. Hạ thấp bình hứng và rửa đầu sinh hàn với một ít nước cất.

d. Chuẩn độ

Chuẩn độ acid sulfuric thừa trong bình hứng dịch cát bằng dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD) tới khi chuyển sang màu vàng, ghi số ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD) đã dùng (a ml).

Tiến hành song song một mẫu trắng theo trình tự trên.

Ghi số ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD) đã dùng (b ml).

Tính kết quả:

Lượng nitrogen trong mẫu thử (X) tính bằng gam theo công thức:

$$X = (b - a) \times 0,00028$$

Trường hợp mẫu thử có lẫn nitrat và nitrit:

Tiến hành tương tự như trên nhưng giai đoạn vô cơ hóa cần tiến hành loại trừ ảnh hưởng của nitrat và nitrit như sau:

Sau khi cho mẫu thử vào bình Kjeldahl A, thêm 10 ml acid sulfuric (TT) đã hòa tan 0,4 g acid salicylic (TT), lắc đều và để yên 30 min (thỉnh thoảng lắc đều). Thêm 2 g natri thiosulfat (TT), lắc đều, thêm 200 mg bột đồng sulfat khan (TT) rồi tiến hành vô cơ hóa như trên bắt đầu từ "Đặt bình nghiêng 45°... "

Phương pháp II

Định lượng protein trong các chế phẩm máu

Đối với các chế phẩm máu khô, chuẩn bị dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g protein, pha loãng thành 20 ml bằng dung dịch natri clorid 0,9 % (TT). Lấy 2 ml dung dịch thu được chuyển vào ống nghiệm dung tích 75 ml, thêm 2 ml dung dịch chứa 75 % acid sulfuric không có nitrogen (TT), 4,5 % kali sulfat (TT) và 0,5 % đồng sulfat (TT), trộn đều và đặt ống nghiệm một cách lỏng lẻo. Đun nóng từ từ đến sôi và tiếp tục đun sôi mạnh trong khoảng 1,5 h và để nguội. Nếu dung dịch thu được không trong thì thêm 0,25 ml dung dịch dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt (TT) và đun tiếp đến khi thu được dung dịch trong và để nguội. Trong quá trình đun, chú ý không để phần trên của ống nghiệm bị nóng quá.

Chuyển dung dịch thu được vào bộ dụng cụ cát, dùng nước tráng rửa 3 lần, mỗi lần 3 ml. Thêm vào bình cát 10 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và cát nhanh trong vòng 4 min. Hứng dịch cát vào trong hỗn hợp 5 ml dung dịch acid boric bão hòa (TT) và 5 ml nước, giữ đầu cuối của ống sinh hàn ngập trong dịch hứng. Hạ thấp bình hứng để đầu ống sinh hàn không còn ngập trong dịch hứng và tiếp tục cát thêm 1 min nữa. Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CD) dùng dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT) làm chỉ thị (V₁).

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g protein, thêm 12 ml dung dịch natri clorid 0,9 % (TT), thêm 2 ml dung dịch natri molybdat 7,5 % và 2 ml hỗn hợp acid sulfuric không có nitrogen - nước (1 : 30). Lắc đều, để yên 15 min và thêm nước vừa đủ 20 ml. Lắc và ly tâm. Lấy 2 ml dịch ly tâm ở trên chuyển vào ống nghiệm dung tích 75 ml và tiếp tục tiến hành như trên, bắt đầu từ: "thêm 2 ml dung dịch chứa 75 % acid sulfuric không có nitrogen..." (V₂).

Tính hàm lượng protein trong chế phẩm (X mg/ml) áp dụng công thức sau (cần tính đến hệ số pha loãng ban đầu):

$$X = 6,25 \times 0,280(V_1 - V_2)$$