

15.33 XÁC ĐỊNH pH CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Trị số pH của một dung dịch vắc xin hay sinh phẩm được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (ví dụ điện cực calomel bão hòa). pH là một giá trị biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của một dung dịch. pH của một dung dịch mẫu thử liên quan với pH của dung dịch mẫu chuẩn theo biểu thức sau:

$$pH = pH_s - \frac{(E - E_s)}{k}$$

Trong đó:

E là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu thử;
 E_s là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu chuẩn (đã biết);

pH_s là pH của dung dịch mẫu chuẩn;

k là hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ được ghi ở bảng dưới đây:

Nhiệt độ	k (V)
15 °C	0,0572
20 °C	0,0582
25 °C	0,0592
30 °C	0,0601
35 °C	0,0611

Phương pháp tiến hành

pH của một dung dịch vắc xin, sinh phẩm được đo bằng máy đo pH (pH meter). Máy đo pH là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng và thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V. Các điện cực thủy tinh là phù hợp và các kiểu máy đo pH, kể cả máy đo pH hiện số, đều phải đáp ứng yêu cầu trên. Vận hành máy đo pH tùy theo loại máy đo pH và tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 °C đến 25 °C, trừ trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng. Trước khi đo pH của mẫu thử, cần hiệu chuẩn máy đo pH bằng dung dịch pH chuẩn do nhà sản xuất cung cấp (tối thiểu sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn mà pH của dung dịch mẫu thử phải nằm trong khoảng đó). Ví dụ: dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 4 - 7, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 4 và pH 7 để hiệu chuẩn máy đo pH; hoặc nếu dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 7 - 10, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 7 và pH 10 để hiệu chuẩn máy đo pH trước khi đo pH của dung dịch mẫu thử.

Tráng đầu điện cực pH bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và tiến hành đo pH của dung dịch mẫu thử. Số lượng mẫu thử

tối thiểu dùng để kiểm tra pH là 15 ml đến 20 ml và nên để ở nhiệt độ phòng trước khi đo. Lắc đều và rót mẫu thử vào cốc đựng mẫu, nhúng ngập đầu điện cực vào cốc mẫu thử và để cho chỉ số pH hiện trên màn hình ổn định thì xác định pH của mẫu thử. Sau khi đo pH của mẫu thử xong, cần tráng đầu điện cực bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và nhúng ngập đầu điện cực của máy đo pH vào dung dịch bảo quản điện cực, ngắt điện của máy đo pH.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn pH chấp thuận theo yêu cầu đối với từng loại mẫu thử.

15.34 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Protein có trong vắc xin và sinh phẩm được xác định theo nhiều phương pháp khác nhau, tùy theo từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Phương pháp Lowry

Nguyên lý:

Protein có trong mẫu vắc xin thử bị tủa với acid trichloroacetic nóng. Xác định lượng tủa để tính ra lượng protein có trong vắc xin, sinh phẩm.

Phương pháp tiến hành:

Pha loãng mẫu thử (nếu cần thiết) để chỉnh hàm lượng protein của mẫu thử trong khoảng 20 µg/ml đến 120 µg/ml. Thêm 1 ml dung dịch acid trichloroacetic 10 % vào một ống nghiệm có chứa 1 ml mẫu thử. Đun nóng ở 80 °C trong nồi cách thủy trong 15 min. Làm nguội ở nhiệt độ phòng. Ly tâm ở tốc độ 3500 rpm trong 30 min, loại bỏ phần dung dịch nước.

Thêm vào phần lắng cặn 2 ml dung dịch acid trichloroacetic 5 %. Lắc kỹ trên máy lắc và ly tâm lại một lần nữa ở tốc độ 3500 rpm trong 30 min, loại bỏ phần dung dịch nước.

Thêm 2,5 ml dung dịch Alkaline vào mỗi ống nghiệm nêu trên và ủ ở nhiệt độ phòng (thời gian ủ tùy từng loại mẫu thử) để hòa tan phần lắng cặn.

Thêm 2,5 ml nước cất và 0,5 ml thuốc thử Folin (pha loãng 1/2), ủ ở 37 °C trong 30 min. Ly tâm với tốc độ 3500 rpm đến 6000 rpm trong 30 min (với các chế phẩm chứa chất hấp phụ nhôm). Đo mật độ quang học ở bước sóng 750 nm trên quang phổ kế.

Song song tiến hành thử nghiệm với mẫu trắng: thay vào 1 ml mẫu thử là 1 ml nước cất.

Dựng đường chuẩn: Dựng đường chuẩn với dung dịch protein chuẩn (dung dịch albumin chuẩn ở các nồng độ 25 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 150 µg/ml). Dựa vào hàm lượng protein tìm được trên đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Cách pha dung dịch Alkaline (pha ngay trước khi dùng):

Dung dịch đồng sulfat pentahydrat 2 %: Hòa tan 2 g đồng sulfat pentahydrat vào vừa đủ 100 ml nước cất.