

15.40 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG LIPID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Dựa trên phản ứng của lipid với vanilin trong môi trường acid sulfuric và acid phosphoric tạo thành hợp chất màu. Đo hợp chất màu này ở bước sóng 540 nm, từ đó xác định hàm lượng lipid trong mẫu thử.

Tiến hành

Mẫu thử được điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 200 µg/ml.

Hút dung dịch dầu ô liu (olive oil) chuẩn 500 µg/ml vào các ống nghiệm lần lượt 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; thêm *nước cất* vừa đủ 1 ml.

Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, 1 ml *nước cất* vào mẫu trắng. Thêm 3 ml *acid sulfuric* 95 % vào mỗi ống nghiệm, lắc mạnh bằng máy lắc. Đun cách thủy 100 °C trong 10 min, làm lạnh bằng nước đá trong 5 min. Thêm 13 ml *dung dịch phosphovanilin* (TT) vào mỗi ống nghiệm, lắc kỹ. Đun cách thủy 37 °C ± 2 °C trong 30 min, làm lạnh, để yên ở nhiệt độ phòng 30 min.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm, dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng lipid trong mẫu thử. Đơn vị tính: µg/100 µg protein.

Cách pha các dung dịch:

Dung dịch dầu ô liu (olive oil) chuẩn 5000 µg/ml: Cân 0,25 g olive oil vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) vừa đủ, lắc kỹ. Bảo quản dung dịch ở 4 °C đến 7 °C, dùng trong 1 tháng. Trước khi dùng, pha loãng 10 lần bằng *nước cất*.

Dung dịch vanilin 0,6 %: Hòa tan 6,0 g *vanilin* (TT) trong 6 ml đến 7 ml *ethanol* (TT), chuyển vào bình định mức 1 L, thêm *nước cất* đến định mức.

Dung dịch phosphovanilin: Cho 350 ml *dung dịch vanilin* 0,6 % và 50 ml *nước cất* vào cốc thủy tinh, khuấy đều. Thêm 600 ml *acid phosphoric* 85 % (TT) trong khi đang khuấy từ.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Đối với bán thành phẩm viêm gan B, hàm lượng lipid không lớn hơn 100 µg/100 µg protein.

15.41 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CESI TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Cesi tồn dư trong quá trình tinh khiết HBsAg được xác định bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion.

Tiến hành

Mẫu chuẩn: Hút 1 ml *nước khử ion* vào 3 ống nghiệm, thêm lần lượt 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml dung dịch cesi chuẩn 0,001 %.

Mẫu thử: Hút 1 ml mẫu đã pha loãng 5 lần bằng *nước khử ion* vào ống nghiệm, thêm 0,4 ml dung dịch chuẩn. Lọc các dung dịch mẫu chuẩn và mẫu thử qua màng lọc 0,22 µm.

Điều kiện vận hành máy sắc ký ion: Cột IonPac Cs-12, detector đo độ dẫn điện 5 mS đến 10 mS, tốc độ dòng 1,0 ml/min, thể tích mẫu thử: 100 µl, nhiệt độ phòng.

Dựa vào diện tích pic để tính ra hàm lượng cesi trong mẫu thử. Đơn vị tính: µg/20 µg protein.

Cách pha các dung dịch

Dung dịch acid hydrocloric 0,04 M (dung dịch rửa giải): Lọc 1,5 L *nước khử ion* qua màng lọc 0,45 µm, hút 3,3 ml *acid hydrocloric* (TT) pha trong vừa đủ 1 L *nước khử ion* vừa lọc trên.

Dung dịch tetrabutyl amoni hydroxyd (TBAOH) (dung dịch tái sinh): Hút 66,67 ml TBAOH vào ống đóng 2 L, thêm *nước khử ion* vừa đủ 2 L, khuấy đều.

Dung dịch cesi chuẩn 0,01 %: Cân chính xác khoảng 10 mg (a) *cesi clorid*, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *nước khử ion* vừa đủ, lắc đều.

Pha loãng 10 lần dung dịch cesi chuẩn 0,01 % bằng *nước khử ion* trước khi dùng. Hàm lượng cesi thực có trong dung dịch thu được (X) được tính bằng công thức:

$$X (\mu\text{g/ml}) = \frac{132,9}{168,4} \times \frac{a}{100} \times \frac{1}{10} \times 1000$$

Trong đó:

132,9 là phân tử lượng của Cs;

168,4 là phân tử lượng của CsCl;

10 là hệ số pha loãng dung dịch chuẩn;

1000 là hệ số chuyển từ mg sang µg.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein.

15.42 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PRP TỔNG SỐ VÀ PRP TỰ DO TRONG VẮC XIN Hib LÔNG ĐƠN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ORCINOL

Nguyên tắc

Phương pháp cho phép định lượng polyribosylribitol phosphat (PRP), polysaccharid này được xem là thành phần hoạt động chính của vắc xin *Haemophilus influenza typ b*. Phương pháp dựa trên sự hình thành phức hợp màu xanh và hòa tan trong nước.

Chuẩn bị dung dịch

Các dung dịch sau đây được pha ngay trước khi thử nghiệm. *Dung dịch chuẩn ribose*: Hòa tan 5,0 mg ribose chuẩn trong bình định mức 10 ml bằng *nước cất*, thêm *nước cất* đến vạch. Lắc đều.

Dung dịch sắt (III) clorid trong acid hydrocloric: Cân 1 g *sắt (III) clorid* (TT) và hòa tan trong 10 ml *nước cất*. Pha 0,25 ml dung dịch thu được với 50 ml *acid hydrocloric* (TT).