

临床折射仪测定蛋白制剂中间品的含量

蒋维勤 刘毅萍 (浙江省杭州市药品检验所, 杭州 310014)

人血白蛋白注射液, 人血丙种球蛋白注射液的含量测定, 通常采用“凯氏定氮法”和“双缩脲法”。但是, 此二法用于中间品含量测定时, 耗时长, 且不便, 延长了生产流程。本文介绍“临床折射仪测定法”, 测定生产过程中的“人血白蛋白”与“人血丙种球蛋白”含量, 并与凯氏定氮法进行比较。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 临床折射仪, Z—RMA, 辽宁无线电七厂。

1.2 样品 人血白蛋白注射液, 25%, 900925, 杭州市中心血站提供。人血丙种球蛋白注射液, 5%, 900925, 杭州市中心血站提供。

2 实验方法和结果

2.1 人血白蛋白注射液含量测定 量取 25% 人血白蛋白注射液适量, 加注射用水稀释至 10% 的溶液。然后, 分别量取 1、2、3、4、5、6、7 ml 于 10 ml 容量瓶中, 加注射用水稀释至刻度, 摇匀, 得到含“人血白蛋白”七个浓度系列。在 20°C 时进行“折射仪法”测定。同时, 分别对七个稀释度的样品用“凯氏定氮法”进行测定。

折射仪测得折射率以后, 绘制以折射率为横座标, 相对应的“凯氏定氮法”测定的含量为纵座标的标准曲线, 并进行回归处理, 得回归方程为: $Y = 532.82x - 710.22$ $r = 0.9999$ 。结果表明, 此线性关系与精密度均较好, 与凯氏定氮法相比较, 结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果(%, $n=3$)

序号	凯氏法	S	CV%	折射仪法	S	CV%
1	1.02	0.017	1.67	0.99	0.025	2.5
2	2.05	0.016	0.78	2.05	0.035	1.71
3	3.07	0.026	0.85	3.07	0.061	2.00
4	4.10	0.021	0.51	4.13	0.030	0.73
5	5.12	0.025	0.49	5.14	0.047	0.91
6	6.14	0.042	0.68	6.16	0.079	1.28
7	7.17	0.076	1.06	7.12	0.051	0.72

2.2 人血丙种球蛋白注射液含量测定分别量取5%人血丙种球蛋白注射液2、4、6、8、10 ml置10 ml容量瓶中,加注射用水稀释至刻度、摇匀,得到含“人血丙种球蛋白”五个浓度系列。在20°C时进行“折射仪法”测定。同时,分别对五个稀释度的样品用“凯氏定氮法”进行测定。

折射仪测得折射率以后,绘制以折射率为横座标,“凯氏定氮法”测定的含量为纵座标的标准曲线,并进行回归处理。得回归方程为: $Y = 357.27x - 476.30$ $r = 0.9998$ 。结果表明,此线性关系与精密度均较好,与凯氏定氮法相比较,结果见表2

表2 样品含量测定结果(% , n=3)

序 号	凯 氏 法	S	CV%	折 射 仪 法	S	CV%
1	1.04	0.021	2.02	1.01	0.025	2.48
2	2.08	0.041	1.97	2.08	0.026	1.25
3	3.12	0.032	1.03	3.16	0.040	1.27
4	4.16	0.038	0.91	4.12	0.041	1.00
5	5.20	0.041	0.79	5.19	0.054	1.04

3 讨论

3.1 笔者曾用折射仪做过多次实验。根据折射仪在20°C时固有的公式: $D = 1.3353 + C \text{折} \times 0.00191$ (D: 折射率, C折: 折射仪测得的浓度)进行含量计算。虽然,此法与“凯氏定氮法”测得的含量有一定的差异。但是,经回归处理,得回归方程分别为:人血白蛋白注射液 $C \text{折} = 0.98C - 1.23$ $r = 0.9999$ 人血丙种球蛋白注射液 $C \text{折} = 1.47C - 1.13$ 说明二者之间有较好的线性关系。由此,提示可利用折射率与凯氏定氮法测得的浓度之间的线性关系,来确定蛋白制剂中间品含量。

3.2 人血白蛋白注射液、人血丙种球蛋白注射液中雷佛奴尔(Rivanol)、氯化钠(Natrium Chloratum)、辛酸钠(Sodium-n-Caprylate)的含量,测定时的温度等因素,皆可影响到折射仪法的准确度。但是,中间品稀释至最终产品,可以自行控制其浓度范围来达到其最终产品的含量符合要求。因此,用折射仪法测定中间品含量来加以控制是可行的。

3.3 折射仪法,快速、简便,若能消除上述影响因素,则更好。