

人血白蛋白中辛酸钠含量与热稳定性试验相关性研究

张雪萍 郑宇红¹ (温州 325000 温州市医药科学研究所;¹ 温州 325000 温州市中医院)

人血白蛋白注射液系水溶性胶体无菌制剂。其特点是既易溶于水又存在自发性絮凝的趋向,并易受多种理化因素影响而变性,从而失去生理活性。辛酸钠的加入不仅使加热灭活病毒成为可能,同时也提高了贮存期的稳定性。热稳定性试验正是衡量产品外观质量的重要指标之一。本文着重考察了辛酸钠含量、生产工艺与热稳定之间的关系,现将结果报告如下。

1 仪器及试剂

人血白蛋白注射液,上海生物所(A),某省血液制品所(B₁~B₃);辛酸钠(CR,北京化工厂);恒温水箱HH.W21.600,标准号WS₂-269-79;全自动凝胶层析仪AM90-1;灯检仪YB-II型等。

2 实验方法

2.1 辛酸钠标准液制备:精密称取辛酸钠8.3110g,用

蒸馏水稀释至250.00ml,摇匀备用。浓度为0.20mol/L。

2.2 不同工艺产品间热稳定试验比较:A产品为低温乙醇法,取3个批号。B₁~B₃产品为R法制备,因浓缩手段不同分为1~3号。取上述样品依法测定辛酸钠含量^[1]后,进行热稳定性试验。结果见表1。

表1 不同工艺产品间热稳定性试验结果

工 艺	辛酸钠含量(mmol/g 蛋白)	热稳定试验结果
A	0.16	合格
B ₁	0.14	絮状物
B ₂	0.15	絮状物
B ₃	0.16	絮状物

2.3 同工艺不同辛酸钠含量产品间的热稳定性试验

比较:取 B₁ ~ B₃ 样品适量用辛酸钠标准液调节至含量为 0.20,0.25,0.30 和 0.35 mmol/g 蛋白 4 个浓度。各浓度溶液分别置于 3 支具塞试管中,其中两支置恒温水箱中,于 57℃保温 50h。另一支置冰箱中低温保存作对照。在保温过程中,分别于第 5,9,47 及 50h 取出试管,在灯检台前观察外观变化,记录出现絮状物的样品号。结果见表 2。

表 2 热稳定试验动态观察结果

观察时间 (h)	辛酸钠含量(mmol/g 蛋白)			
	0.2	0.25	0.30	0.35
5	B ₁	B ₁		
9	B ₃	B ₃	B ₁	B ₁
47	B ₂	B ₂	B ₂ B ₃	B ₂ B ₃
50	全部出现絮状物			

2.4 多聚体检查:将 A 及 B₁ ~ B₃ 样品分别于热稳定试验前后测定多聚体^[2],结果见表 3。

表 3 热稳定性试验前后多聚体测定结果(n = 12)

工 艺	A(%)	B ₁ (%0	B ₂ (%)	B ₃ (%)
试验前	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04
试验后	< 0.04	< 0.20	< 0.04	< 0.12

注: P > 0.05

3 讨 论

3.1 表 1 结果表明,当辛酸钠含量水平相近时,A 产品的热稳定性明显优于 B₁ ~ B₃ 产品,反映出生产工艺是产品外观质量的决定因素。

3.2 表 2 结果显示出在同一辛酸钠水平下产品的稳定性是 B₂ > B₃ > B₁。说明工艺的改进有助于提高产品的

热稳定性;增加辛酸钠浓度虽可延长一定的耐热时间,但不能解决根本问题。

3.3 表 3 结果提示我们,产品出现絮状物与白蛋白多聚体无关。加热后的产品多聚体虽有不同程度的增加,但没有显著差别。说明絮状物的产生来自非白蛋白物质的存在。

3.4 从结构上分析,白蛋白溶液的稳定性主要与两方面因素有关,首先是因其含有多个极性氨基酸(每分子约 180 个)与水分子相互作用而形成水化层,其次是由于白蛋白分子带有电荷。如果溶液中有有机酸阴离子大量存在则有可能破坏白蛋白与水分子间的相互作用,降低其稳定性。从这个角度看,过量的辛酸钠不利于白蛋白的稳定。而资料表明^[2]pH 为 7.4 时,每分子白蛋白有 18 个净阴电荷。血液中仅约 16 mg 当量/L 的 Na⁺与白蛋白及球蛋白结合。一般规律是阴电荷的结合率愈趋于饱和,溶液也愈稳定。实验和计算的结果说明,只有辛酸钠浓度近于 0.16 mmol/g 蛋白时,溶液稳定性最好。

综上所述,提高白蛋白的热稳定性,改善产品的外观质量,关键在于改进工艺,优化蛋白纯度手段,使辛酸钠含量接近 0.16 mmol/g 蛋白为佳。

参考文献

1 倪永碧,谷兰.酸碱滴定法定量测定白蛋白制品中辛酸钠含量.中国输血杂志,1994,7(3):123
2 林钧材主编.血液生物化学.第 1 版.北京:人民卫生出版社,1988:35