

2.5.19. О-АЦЕТИЛ У ПОЛІСАХАРИДНИХ ВАКЦИНАХ

Випробовуваний розчин. Використовують мірну колбу підхожого об'єму для приготування розчину, що містить близько 5 мг/мл зневодненого полісахариду. Вміст контейнера кількісно переносять у мірну колбу і доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки. Одержаний розчин розводять таким чином, щоб використовувані при проведенні випробування об'єми розведеного розчину містили від 30 мкг до 600 мкг ацетилхоліну хлориду (*θ*-ацетил). Розведений розчин поміщають у 6 пробірок: у дві пробірки по 0.3 мл, у дві — по 0.5 мл і у дві — по 1.0 мл (три робочих розчини і три коригувальних розчини).

Стандартні розчини. 0.150 г ацетилхоліну хлориду *Р* розчиняють у 10 мл *води Р* (основний розчин; 15 г/л ацетилхоліну хлориду). Безпосередньо перед використанням 1 мл основного розчину розводять *водою Р* до 50 мл (розчин 1; 300 мкг/мл ацетилхоліну хлориду). Безпосередньо перед використанням 1 мл основного розчину розводять *водою Р* до 25 мл (розчин 2; 600 мкг/мл ацетилхоліну хлориду). У дві пробірки поміщають по 0.1 мл розчину 1, у дві — по 0.4 мл розчину 1, у дві — по 0.6 мл розчину 2 і в дві — по 1.0 мл розчину 2 (чотири робочих розчини і чотири коригувальних розчини).

Готують холостий розчин з використанням 1 мл *води Р*.

Об'єм розчинів у всіх пробірках доводять *водою Р* до 1 мл. До всіх коригувальних розчинів і до холостого розчину додають по 1.0 мл \blacktriangledown 4 М розчину хлористоводневої кислоти, приготованого з *хлористоводневої кислоти Р \blacktriangle* . У кожену пробірку додають по 2.0 мл *гідроксиламіну розчину лужного Р*. Реакція має протікати точно 2 хв, після чого до кожного робочого розчину додають по 1.0 мл \blacktriangledown 4 М розчину хлористоводневої кислоти, приготованого з *хлористоводневої кислоти Р \blacktriangle* . У кожену пробірку додають по 1.0 мл розчину 100 г/л заліза(III) хлориду *Р \blacktriangledown 0.1 М* розчині хлористоводневої кислоти, приготованому з *хлористоводневої кислоти Р \blacktriangle* , закривають пробірки пробками і ретельно струшують для видалення бульбашок.

Вимірюють оптичну густину (2.2.25) кожного розчину за довжини хвилі 540 нм, використовуючи як компенсаційний розчин холостий розчин. Для кожного робочого розчину корегують значення оптичної густини віднімаючи оптичну густину відповідного коригувального розчину. За скорегованими значеннями оптичної густини чотирьох стандартних розчинів будують калібрувальний графік і визначають вміст ацетилхоліну хлориду в кожному із узятих об'ємів випробовуваного розчину. Обчислюють середнє з трьох величин.

1 моль ацетилхоліну хлориду (181.7 г) еквівалентний 1 молю *θ*-ацетилу (43.05 г).