

附件：1206 细胞色素 C 活力测定法修订公示稿（第 1 次）

1206 细胞色素 C 活力测定法

1 **试剂**(1)磷酸盐缓冲液(0.2mol/L) 取磷酸氢二钠 71.64g,加水使溶解成 1000ml,
2 作为甲液。另取磷酸二氢钠 27.60g,加水使溶解成 1000ml,作为乙液。取甲液 81ml
3 与乙液 19ml,混匀,调节 pH 值至 7.3。

4 (2) 磷酸盐缓冲液 (0.1mol/L) 取磷酸盐缓冲液 (0.2mol/L) 500ml,加水稀
5 释至 1000ml,调节 pH 值至 7.3。

6 (3) 磷酸盐缓冲液 (0.02mol/L) 取磷酸盐缓冲液 (0.2mol/L) 100ml,加水
7 稀释至 1000ml,调节 pH 值至 7.3。

8 (4) 琥珀酸盐溶液 取琥珀酸与氢氧化钾各 4.72g,加水使溶解成 100ml,调
9 节 pH 值至 7.3。

10 (5) 氰化钾溶液取氰化钾 0.65g,加水使溶解成 100ml后,用稀硫酸调节 pH
11 值至 7.3。

12 (6) 去细胞色素 C 的心悬浮液 取新鲜猪(牛)心 2 只,除去脂肪与结缔组
13 织,切成条,用绞肉机绞碎,置纱布兜中,用水冲洗约 2 小时(经常搅动,挤出血
14 色素),挤干,用水洗数次,挤干,置磷酸盐缓冲液(0.1mol/L)中浸泡约 1 小时,
15 挤干,重复浸泡 1 次,用水洗数次,挤干,置组织捣碎机内,加磷酸盐缓冲液
16 (0.02mol/L) 适量恰使猪(牛)心浸没,捣成匀浆,离心 10 分钟(普通离心机),
17 取上层混悬液,加冰块少量,迅速用稀醋酸调节 pH 值至约 5.5,立即离心 15 分钟,
18 取沉淀,加等体积的磷酸盐缓冲液(0.1mol/L),用玻璃匀浆器磨匀后,置于 2~10℃
19 贮存**手冰箱中**;临用时取 1.0ml,加磷酸盐缓冲液(0.1mol/L)稀释至 10ml。

20 供试品溶液的制备取供试品,加水制成每 1ml 中含细胞色素 C 约 3mg 的溶液。

21 测定法取磷酸盐缓冲液(0.2mol/L) 5ml、琥珀酸盐溶液 1.0ml 与供试品溶液
22 0.5ml(如系还原型制剂,应加入 0.01mol/L 铁氰化钾溶液 0.05ml),置 25ml 具塞
23 比色管中,加去细胞色素 C 的心悬浮液 0.5ml 与氰化钾溶液 1.0ml,加水稀释至
24 10ml,摇匀,以同样的试剂作空白,照紫外-可见分光光度法(通则 0401),在 550nm
25 的波长处附近,间隔 0.5nm 找出最大吸收波长,并测定吸光度,直至吸光度不再增
26 大为止,作为酶还原吸光度;然后各加连二亚硫酸钠约 5mg,摇匀,放置约 10 分

27 钟，在上述同一波长处测定吸光度，直至吸光度不再增大为止，作为化学还原吸光
28 度；按下式计算：

29 细胞色素 C 活力 = $\frac{\text{酶还原吸光度}}{\text{化学还原吸光度}} \times 100\%$

起草单位：山东省食品药品检验研究院 联系电话：0531-81216599

1206 细胞色素 C 活力测定法修订说明

一、制修订的目的意义

细胞色素 C 活力测定用于细胞色素 C 原料及制剂的活力测定，本次修订旨在科学动态指导细胞色素 C 的质量控制。

二、起草过程

为确保药典标准的持续完善，药典委组织相关单位开展了《中国药典》2020 年版四部生物检定相关通用技术要求的评估工作。山东省食品药品检验研究院经调研，建议对“去细胞色素 C 的心悬浮液”的暂存条件进行明确。经第十二届药典委员会生物检定专委会审议，确定了本次修订内容。