



北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-mail:postmaster@oka-vip.com

细胞色素C纯度检测方法

1 仪器与用具:

- 校准电子天平;
- 校准液相色谱仪;
- 校准刻度移液管;
- 0.45um滤膜或(或0.22um) ;
- 色谱柱规格: TSKgel, 5μm, 150 x 7.8 mm, 或等同的。

2 试剂与溶液:

- 细胞色素C标准品
- K_2HPO_4 (MW=228.22); NaCl (MW=58.44); 磷酸
- 流动相: 称取11.41g K_2HPO_4 (MW=228.22) 和8.77g NaCl (MW=58.44) 置1000ml烧杯中, 加入800纯水溶解后, 用80%磷酸调节pH值为7.2, 再用纯水定容至1000ml, 混匀, 用0.45um (或0.22um) 滤膜滤过, 以除去杂质微粒。一周内使用。

※备注: 流动相使用前必须超声脱气, 以免在系统内产生气泡, 影响泵的工作、色谱柱的分离效率、检测器的灵敏度以及基线稳定性等。

- 标准品溶液: 取适量的细胞色素C标准品1份, 用纯水稀释至5mg/mL, 用0.45um (或0.22um) 滤膜滤过, 取续滤液进行检测。

- 样品溶液: 取适量的细胞色素C样品1份, 用纯水稀释至5mg/mL, 用0.45um (或0.22um) 滤膜滤过, 取续滤液进行检测。

3 操作

3.1 系统实用性

- 进样量20 μL;
- 柱温为25℃;
- 流速1.0ml/min,
- 波长361nm,
- 运行时间30min (以pH值为7.2流动相进行洗脱)

4 判定标准:

4.1 样品溶液与标准品溶液每份至少进样2次, 记录色谱图, 样品溶液和标准品溶液的2次进样的主峰保留时间相对偏差分别应 $\leq 2.0\%$, 样品溶液两针进样的平均保留时间与标准品溶液两针进样的平均保留时间相对偏差应 $\leq 2.0\%$ 。

4.2 通过液相色谱图自动积分, 计算与标准溶液主峰保留时间一致的细胞色素C样品主峰面积应 $\geq 90\%$ 。

含量计算公式: 主峰面积 / (主峰面积 + 杂质峰面积) * 100%

相对偏差计算公式: (实测值 - 平均值) / 平均值 * 100%, 即:

$$\frac{\bar{d}}{\bar{x}} \times 100\%$$

