

胰蛋白酶活力测定中过滤方法的探讨

叶永昌(兰溪 321100 浙江兰溪市人民医院)

胰酶和多酶片是常用的治疗消化不良的药物。其中胰蛋白酶活力测定项下的过滤方法,中国药典 1995 年版未作具体规定。生产胰酶和多酶片的厂家所采用的方法不尽相同,大致有 3 种方法:定量滤纸过滤法(A),离心沉淀法(1000×g)(B-,三号垂熔玻璃漏斗超滤法(C),据了解不同的过滤方法测得的结果有差异。我们对用以上 3 种方法测得的胰酶和多酶片中的胰蛋白酶活力进行了分析,结果表明:A、B 2 种方法测得的酶活力无显著性差异($\alpha=0.05$),C 法测得的结果偏低,与 A、B 2 种方法测得的酶活力均有显著性差异。3 种方法的平均变异系数分别是 A 为 2.5%,B 为 6.4%,C 为 7.9%。

参照 USP XX II 和 BP88 版药典的有关规定,我们表 1 3 种方法测得胰酶中胰蛋白酶活力

方法		结 果							平均值	CV(%)
		1	2	3	4	5	6	7		
定量滤纸过滤法(A)	A	0.514	0.510	0.544	0.516	0.522	0.516	0.541	3608	2.7
	u/g	3571	3547	3780	3587	3628	3587	3756		
离心沉淀法(B)	A	0.528	0.535	0.565	0.486	0.497	0.528	0.574	3685	6.1
	u/g	3668	3716	3925	3378	3451	3668	3990		
三号垂熔漏斗过滤法(C)	A	0.403	0.377	0.481	0.410	0.431	0.483	0.436	3000	9.1
	u/g	2799	2622	3346	2855	2995	3352	3032		

表 2 3 种方法测得多酶片中胰蛋白酶活力

方法		结 果							平均值	CV(%)
		1	2	3	4	5	6	7		
定量滤纸过滤法(A)	A	0.407	0.393	0.378	0.389	0.389	0.393	0.391	219	2.2
	u/g	228	220	212	218	218	220	219		
离心沉淀法(B)	A	0.453	0.382	0.423	0.412	0.412	0.407	0.468	236	6.8
	u/g	254	214	237	231	231	227	261		
三号垂熔漏斗过滤法(C)	A	0.358	0.335	0.335	0.392	0.326	0.367	0.344	196	6.6
	u/g	200	187	197	219	182	205	192		

2.2 对测得的结果进行两两间多重比较,结果见表 3 和表 4。 \bar{Y}_A 、 \bar{Y}_B 和 \bar{Y}_C 分别表示 A、B、C 3 种方法测得的

对过滤所用的滤纸进行了适合性考察,结果国产的定量滤纸符合规定。

1 仪器与试剂

UV-260 紫外可见分光光度计(日本岛津),80-I 型离心沉淀器(上海手术器械厂),HHS 电热恒温水浴锅(江苏医疗器械厂),酶蛋白、L-酪氨酸对照品(中国药品生物制品检定所),胰酶和多酶片(金华生化制药厂)。

2 实验方法和结果

2.1 多酶片和胰酶中胰蛋白酶活力的测定方法按中国药典 1995 年版进行,每个样品用同一胰酶水解液用上述 3 种过滤方法各过滤 7 份,同时作空白,取续滤液测定吸收度,结果见表 1 和表 2。

胰蛋白酶活力的均值。

表3 3种方法测得胰酶中胰蛋白酶活力的两两间多重比较(u/g)

$Y_i - Y_j$	\bar{Y}_B	\bar{Y}_C
\bar{Y}_A	77	608
\bar{Y}_B		685

表4 3种方法测得多酶片中胰蛋白酶活力的两两间多重比较(u/g)

$Y_i - Y_j$	\bar{Y}_B	\bar{Y}_C
\bar{Y}_A	17	23
\bar{Y}_B		40

由表1我们可知道自由度 $r = N - R = 21 - 3 = 18$ 。

显然C法和A、B法测得的酶活力均有显著性差异,而A、B法测得的酶活力相互之间无显著性差异

($385.75 > 77$)。

由表2我们可计算出 $r = N - R = 21 - 3 = 18$ 。

显然,测定多酶片中胰蛋白酶活力的3种方法,C法与A、B法测得的酶活力有显著性差异,而A、B法测得的酶活力相互之间无显著性差异($22.4 > 17$)。

2.3 国产滤纸的适合性试验:用滤纸过滤5ml的5%三氯醋酸溶液,以未经过滤的三氯醋酸为空白,测定滤液在275nm波长处的紫外吸收值A,随机抽测1,2,3,4,5,6,7,8,9和10的10张滤纸,结果分别为0.014,0.011,0.008,0.016,0.019,0.002,0.000, - 0.003, - 0.004和-0.012,USP X X II和BP88版药典均规定A值不得超过0.04,表中数值表明国产定量滤纸符合规定。

小结:三号垂熔玻璃漏斗滤孔小(14~40 μ m)滤速慢,洗涤繁,多次用后易漏,造成测得结果不稳定,又因其吸附能力大,使测得结果偏低。