维普资讯 http://www.cqvip.com

第19卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.19 No.2
1994 ACTA UNIVERSITATS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1994

(19)

142～143

生物发光法测定ATP制剂含量

医学检验系 刘苏亚 易 钢 康格非 R927.11

提 要 本文采用虫荧光素—虫荧光素酶生物发光法测定ATP制剂含量，在1—20μg/ml范围内ATP浓度和发光强度呈线性。CV%4.5，平均回收率102%，方法简便，结果准确。

关键词 ATP；生物发光
中图分类号 R446·1

三磷酸腺苷

三磷酸腺苷(ATP)是临床上广泛应用的药物。由于ATP制剂在制备和储存中易混有和产生ADP、AMP等杂质，用常规方法测定制剂中ATP含量干扰较大。各省市地方药品标准中采用紫外分光光度法进行测定[1]，需经过滤纸电泳分离，手续繁琐。文献报道有用阴离子交换树脂和反相离子对高效液相色谱法[2]分析ATP制剂中ATP含量，但仪器试剂昂贵，操作手续复杂，不易推广。

用虫荧光素—虫荧光素酶的生物发光法是目前公认测定ATP最灵敏的方法，已广泛用于测定生物样品中ATP[3]。我们用粗制虫荧光素酶(内含虫荧光素)生物发光法分析了药物制剂中ATP含量，方法简单，结果准确。

仪器与试剂

GD—1化学发光仪，西北有色地质研究所产品；自制同步加样装置。

粗制虫荧光素酶(内含虫荧光素)：5.0mg/ml，用专用缓冲液(50mmol/L甘氨酰甘氨酸，10mmol/L硫酸镁，1mmol/L BSA)配制。购自上海植物生理研究所。

ATP标准品，SIGMA产品。

ATP注射粉剂：20mg/支；ATP肠溶衣片：20mg/片。均为市售品。

实验方法与结果

1、测量方法

用微量注射器吸取100μlATP标准溶液或样品液于1cm比色皿中，放入同步加样装置内，然后用注射器从加样口注入1.0ml酶溶液，同时记录发光信号。以最大发光强度I(mv)作为定量指标。

2、发光反应条件

虫荧光素酶和虫荧光素用量对测定灵敏度和线性范围有影响。本实验试验了各种酶浓度对ATP测定的影响，考虑到药物中ATP浓度较高，确定以5.0mg/ml酶浓度进行测定，可获得较满意的灵敏度和线性。

试剂注入速度对发光强度有较大影响，实验中应尽量控制注入速度一致。

3、工作曲线

分别配制浓度为1.0、5.0、10.0、15.0、20.0ug/ml的标准ATP溶液，分别取100ul注入比色皿，在发光仪上测量发光信号。以最大发光强度I(mv)对ATP浓度进行线性回归，得回归方程为 $I=9.6C-1.2$，$\gamma=0.9991$。

4、样品测定

肠溶衣片取本品10粒，精确称量，研细混匀。称取相当于20mgATP的样品，用蒸馏水溶解定容1000

维普资讯 http://www.cqvip.com

ml。注射粉剂：用上述方法处理。分别取上述样品液各100ul进行测定.结果列于表1.

表1 样品ATP测定结果(n=5)

药品批号	ATP含量 mg	标示百分量	cv%
肠溶衣片9305061	16.6	83.0	4.6
注射粉剂841107	12.5	62.5	4.4

5、回收率实验

用样品进行加标回收实验考察方法的回收率，结果见表2，平均回收率为10?%.

表2 样品回收率实验结果

编号	样品含量 μg/ml	加入量 μg/ml	测得总量 μg/ml	回收率 %
1	8.30	5.0	13.5	104
2	8.30	10.0	18.?	97
3	6.25	5.0	11.4	103
4	6.25	10.0	16.3	100
5	6.25	10.0	16.6	104

讨 论

1、该生物发光反应为一酶催化反应，只有当ATP浓度较低时和发光强度成正比。本实验适当加大酶的用量并控制样品中ATP浓度在20μg/ml以下，可获得良好的线性关系。

2、实验中使用价廉的粗制虫荧光素酶，可直接用于ATP测定而不需外加虫荧光素，灵敏度也可满足测定需求，但均匀性和稳定性较差，每次测定均应制作标准曲线。

3、该方法选择性较高，样品溶解后可直接测定.手续简便。

参 考 文 献

1 上海市药品标准，1980，上册.60
2 闵庆旺，等.药物分析杂志 1991.11(6).336
3 王正昌，等.生物化学与生物物理进展 1989;16(4).316

(收稿日期 1994-01-20)

DETERMINATION OF ATP IN ITS PREPARATION BY BIO-LUMINESCENCE

Liu Suya, et al
Dept.of Bioanalytical Chemistry

The contents of ATP in preparation were determined by bio-Luminescence with forefly luciferin and luciferase system. The linear range is 1-20 μg/ml for ATP.The relative standard deviation is less than 4.5%.The average recovery of ATP was found to be 102%. The method is simple and accurate.

KEY WORDS ATP; bio-luminescence