

## ■UHPLC分析烷基苯酮与BSA消化物的重现性

AS/LC-034

在液相色谱法中，获得良好的数据重现性是非常重要的。

洗脱色谱峰的保留时间是否具有良好的重现性，对于成分定性非常重要，而洗脱色谱峰的面积重现性是否良好，则对定量精度尤为重要。

为了测定重现性，样品选用烷基苯酮类与BSA消化物。

烷基苯酮类大多用于使用ODS色谱柱的水/乙腈系列的梯度洗脱评估，特点是分析时间短。

BSA消化物通常会洗脱出多个肽色谱峰，因此有时会用于“肽图法”的分析。肽图法是将蛋白质经酶消化，将产生的肽片段，用LC等进行分离后，通过比较色谱图，观察所含氨基酸的变化情况的分析方法。

分析中会出现多个肽色谱峰，属于高分离类型，且色谱峰的保留时间及面积的重现性良好。

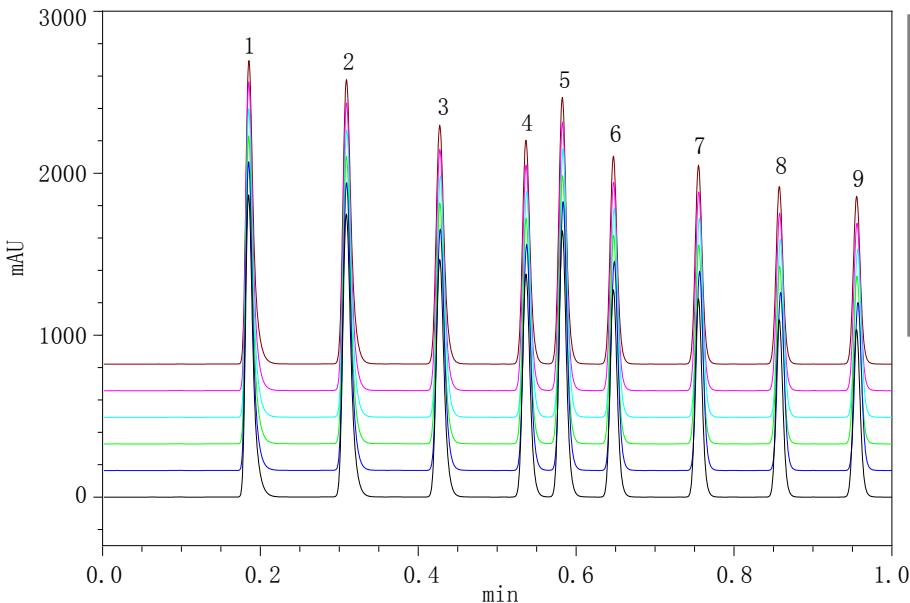
利用上述2种对比鲜明的样品，通过日立超高效液相色谱仪ChromasterUltra RS对重现性进行评估。



(包含选配品、用户自备品。)

**ChromasterUltra RS**

## ■烷基苯酮9种成分（各 100 mg/L）的重复测定例（n = 6）



## &lt;测定条件&gt;

色谱柱	: LaChromUltra II C18 (1.9 $\mu$ m) 2.0 mm I.D. $\times$ 50 mm
流动相	: A) H <sub>2</sub> O B) CH <sub>3</sub> CN 55 % B (0 min) $\rightarrow$ 95 % B (0.8 min)
流量	: 0.8 mL/min
色谱柱温度	: 40 °C
检测波长	: UV 247 nm (DAD)
进样量	: 2 $\mu$ L

## &lt;成分名称&gt;

- |                  |                   |
|------------------|-------------------|
| 1. Acetanilide   | 6. Valerophenone  |
| 2. Acetophenone  | 7. Hexanophenone  |
| 3. Propiophenone | 8. Heptanophenone |
| 4. Butyrophenone | 9. Octanophenone  |
| 5. Benzophenone  |                   |

## ■色谱峰保留时间及面积值的重现性（n = 6）

## 【保留时间】

色谱峰编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Average	0.185	0.309	0.428	0.537	0.583	0.648	0.756	0.858	0.956
SD	0.00016	0.00017	0.00034	0.00041	0.00044	0.00050	0.00062	0.00071	0.00072
%RSD	<b>0.084</b>	<b>0.054</b>	<b>0.079</b>	<b>0.076</b>	<b>0.076</b>	<b>0.077</b>	<b>0.082</b>	<b>0.083</b>	<b>0.076</b>

## 【面积值】

色谱峰编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Average	1290537	1333686	1086868	968789	1130751	862629	801602	710796	682375
SD	2307	1668	971	974	1049	1135	754	973	618
%RSD	<b>0.179</b>	<b>0.125</b>	<b>0.089</b>	<b>0.101</b>	<b>0.093</b>	<b>0.132</b>	<b>0.094</b>	<b>0.137</b>	<b>0.091</b>

用UHPLC色谱柱，可在1分钟内分离烷基苯酮的9种成分。重复测定6次后，色谱峰保留时间的重现性（%RSD）为0.054~0.084%以下、色谱峰面积值的重现性（%RSD）为0.089~0.179%以下，重现性非常好。在分析时间较短的梯度洗脱试验中，也可以进行高可靠性的测定。

## ◆新型双螺旋混合器与小系统体积结构◆

双螺旋混合器的结构  
(容量 55  $\mu$ L)



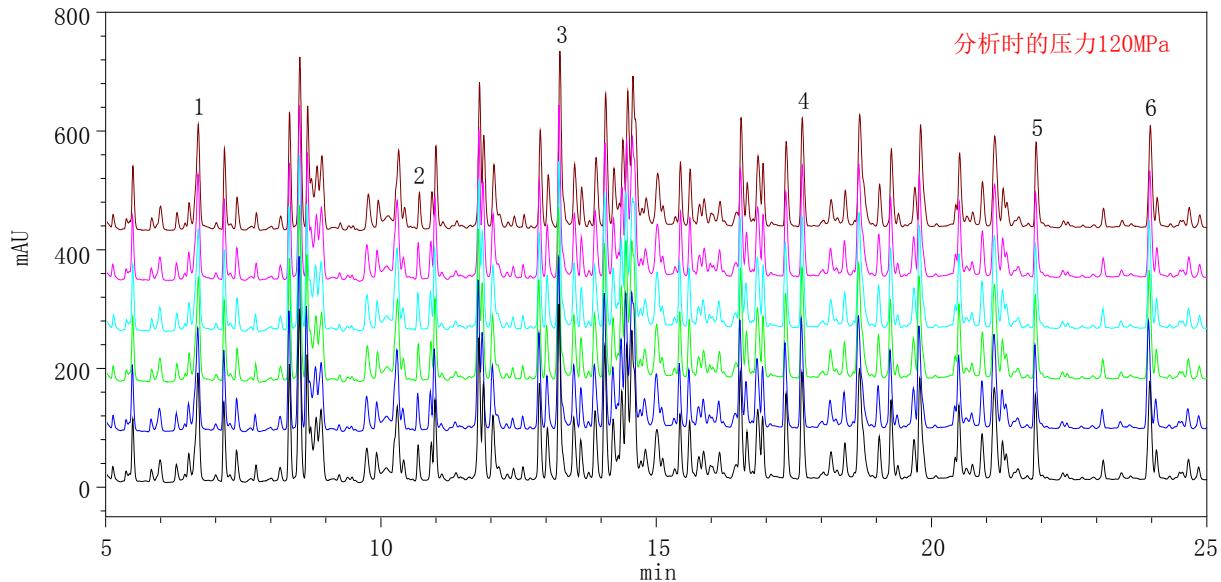
二元泵上配置了新型双螺旋混合器（容量55  $\mu$ L）。采用微流控技术，实现了溶剂的高效混合及低容量化。因此，在进行梯度洗脱分析时也能获得稳定基线，可进行重现性良好的分析。

另外，还采用控制混合器与衬管容量的系统设计，在进行短时间分析时，梯度洗脱程序的跟踪性优良。

## ■UHPLC分析烷基苯酮与BSA消化物的重现性

AS/LC-034

## ■BSA(牛血清蛋白)消化物的测定实例



## &lt;测定条件&gt;

色谱柱	:	LaChromUltra II C18 (1.9 $\mu$ m) 3.0 mm I.D. $\times$ 250 mm
流动相	:	A) 0.05 % TFA / H <sub>2</sub> O (v/v) B) 0.05 % TFA / CH <sub>3</sub> CN (v/v) 5 % B (0 min) $\rightarrow$ 45 % B (30 min)
流量	:	0.85 mL/min
色谱柱温度	:	40 °C
检测波长	:	UV 214 nm (DAD)
进样量	:	5 $\mu$ L

## ■色谱峰保留时间及面积值的重现性 (n=6)

## 【保留时间】

色谱峰编号	1	2	3	4	5	6
Average	6.680	10.679	13.234	17.648	21.888	23.960
SD	0.004	0.011	0.010	0.006	0.007	0.012
%RSD	0.060	0.103	0.076	0.034	0.032	0.050

## 【面积值】

色谱峰编号	1	2	3	4	5	6
Average	762565	173294	1086195	711222	515865	688446
SD	5203	1727	8110	2389	2425	14254
%RSD	0.682	0.997	0.747	0.336	0.470	2.070

用UHPLC高分离柱分离肽。对上述6个洗脱色谱峰进行6次重复测定后，色谱峰保留时间的重现性 (%RSD) 为0.032~0.103%、色谱峰面积值的重现性 (%RSD) 为0.336~2.070%，重现性非常好。  
分析时的压力虽高达120Mpa，但是通过采用新的LBT控制技术，使得在高压力下也能完成高可靠性的色谱分析。

## ◆6170二元泵 新LBT控制技术◆

## LBT控制 (Liquid Beat Technology 控制)

是通过精确控制，减少送液时的压力波动，且自动调整溶剂的体积弹性系数的控制方式。采用该技术后，在低压区到140Mpa高压区的宽压力区内，对任何种类的溶剂，均可实现稳定送液。

主要配置： ChromasterUltra Rs DAD系统  
(6170 二元泵、6270自动进样器、6310柱温箱、6430二极管阵列检测器、组织器)

注意：本文中的数据仅表示测定实例，而非对其性能的保证，望知悉。