

UHPLC 测定烷基苯酮和 BSA 消化物的重现性

AS/LC-034

数据良好的重现性对液相色谱分析来说是极其重要的。

在化合物的定性分析中，保留时间良好的重现性是非常重要的因素。而进行定量分时，峰面积良好的重现性同样重要。

烷基苯酮和 BSA 消化物经常被用来测定仪器的重现性。

烷基苯酮的洗脱时间比较短，所以还经常用作评估 ODS 色谱柱进行水/乙腈梯度洗脱的模型样品。

BSA 消化物具有多个肽峰，有时还用来评价肽图法。肽图法是一种将蛋白质以酶进行消化，将产生的肽片段以 LC 等进行分离，通过比较其色谱特征，以确认构成氨基酸的变化的分析方法。由于出现多个肽峰，所以高分离性能，以及峰面积和保留时间良好的重现性就成为了非常重要的因素。

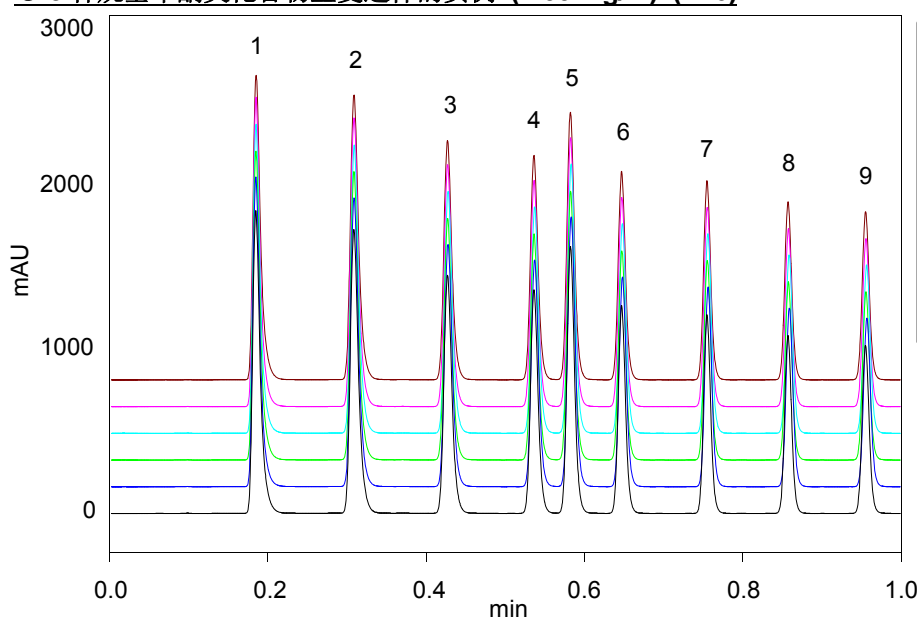
在此，使用日立超高速液相色谱仪 ChromasterUltra Rs 对这两种典型样品进行重现性的测定。



(包含选配品和客户自行配置物品)

ChromasterUltraRs

● 9 种烷基苯酮类化合物重复进样的实例 (100 mg/L) (n=6)



<色谱测定条件>

色谱柱 : LaChromUltra II C18 (1.9 μ m)
2.0 mm I.D. \times 50 mm
流动相 : A) H₂O B) CH₃CN
55 % B (0 min)
→ 95 % B (0.8 min)
流速 : 0.8 mL/min
柱温 : 40°C
检测波长 : UV 247 nm (DAD)
进样量 : 2 μ L

<成分名>

1. 乙酰苯胺 6. 苯戊酮
2. 苯乙酮 7. 苯己酮
3. 苯丙酮 8. 苯庚酮
4. 苯丁酮 9. 苯辛酮
5. 苯甲酮

● 峰保留时间和峰面积的重现性 (n=6)

【保留时间】	Peak No.	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	0.084	0.054	0.079	0.076	0.076	0.077	0.082	0.083	0.076
【峰面积】	Peak No.	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	0.179	0.125	0.089	0.101	0.093	0.132	0.094	0.137	0.091

通过使用 UHPLC 色谱柱，可以在 1 分钟内完全分离 9 种烷基苯酮类化合物。反复测定 6 次，保留时间的重现性(%RSD)为 0.054 - 0.084%，峰面积重现性(%RSD) 为 0.089 - 0.179%，获得了优异的重现性。由此也可证明，快速高效的梯度分析同样可以得到稳定可靠的数据。

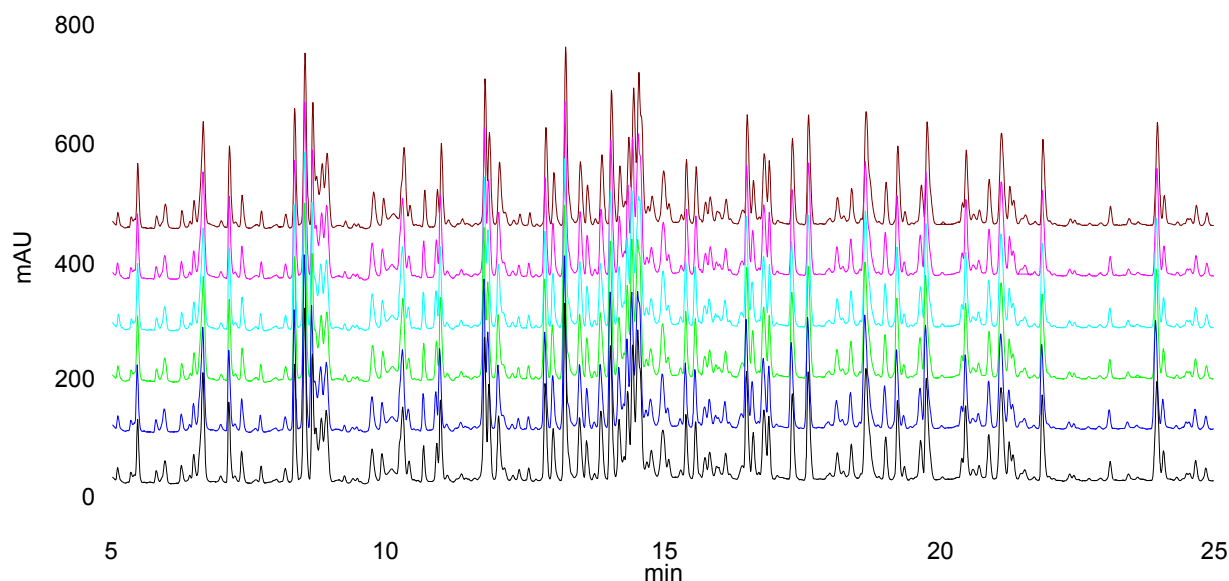
● 双螺旋低容量混合器的结构 ●

双螺旋混合器的结构
(容量: 55 μ L)



二元泵标配最新设计的微流体工学双螺旋混合器，在低容量的前提下，实现了较高的混合性能，因此在梯度分析时能够获得极其稳定的基线，实现更高灵敏度的分析。

● BSA (牛血清白蛋白) 消化物的测定实例



<色谱测定条件>

色谱柱 : LaChromUltra IIC18(1.9 μ m) 3.0 mm I.D. \times 250 mm
 流动相 : A) 0.05 % TFA / H₂O(v/v)
 B) 0.05 % TFA / CH₃CN(v/v)
 5 % B (0 min) \rightarrow 45 % B(30 min)
 流速 : 0.85 mL/min
 柱温 : 40°C
 检测波长 : UV 214 nm(DAD)
 进样量 : 5 μ L

● 峰保留时间和峰面积的重现性(n=6)

【保留时间】

Peak No.	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

【峰面积】

Peak No.	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

通过使用 UHPLC 色谱柱, 多个肽峰得到了很好的分离。反复测定 6 次, 保留时间的重现性(%RSD)为 0.032 - 0.103%, 峰面积重现性(%RSD) 为 0.336 - 2.070%, 获得了优异的重现性。

此分析的压力高达 120MPa, 表明日立全新的控制技术 LBT 技术在如此高的压力下也能得到重现性良好的分析结果。

●6170 二元泵的 LBT 控制技术 ●

LBT 控制技术 (液体压缩技术)

采用 LBT 控制技术, 可以修正溶剂体积弹性系数, 使输液稳定性不受压力和溶剂种类的影响。

从而使 6170 二元泵在低压区到 140MPa 的高压区, 均能得到稳定的液流。

仪器配置: ChromasterUltra Rs DAD system

(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: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。