

## 5-氨基乙酰丙酸（衍生化 C18 色谱柱） 分析报告

### 一、检测方法：

福立方法。

### 二、客户要求：

样品中 5-氨基乙酰丙酸含量测定。

### 三、方法原理

试样中的 5-氨基乙酰丙酸经丹磺酰氯衍生，反相液相色谱分离，紫外检测器检测，根据色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

### 四、试剂和材料

#### 4.1 试剂

4.1.1 乙腈：色谱纯。

4.1.2 水：纯水。

4.1.3 丙酮：分析纯。

4.1.4 盐酸：分析纯。

4.1.5 乙酸铵：分析纯。

4.1.6 碳酸氢钠：分析纯

4.1.7 乙酸铵溶液(5mmol/L)：称取 0.38 g 乙酸铵（4.1.5），加水溶解，定容至 1L。

4.1.8 氢氧化钠溶液(2mol/L)：准确称取 8g 氢氧化钠，用水定容至 100mL。

4.1.9 0.2mol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  衍生反应缓冲液 (pH9.0)：称取 16.8g  $\text{NaHCO}_3$ ，用水溶解并定容至 1L。用 2mol/L 氢氧化钠溶液（4.1.8）调 pH 值至 9.0，冰箱中保存备用。

4.1.10 盐酸溶液(0.01 mol/L)：准确量取 0.83 mL 浓盐酸，用水定容至 1L。

4.1.11 丹磺酰氯衍生溶液(8mg/mL)：称取 0.8g 丹磺酰氯(CAS 号：605-65-2,  $\geq 99\%$ )，用丙酮（4.1.3）溶解，定容至 100 mL。4℃下保存备用。

4.1.12 5-氨基乙酰丙酸标准储备溶液(2.64mg/mL)：准确称取客户提供的 5-氨基乙酰丙酸标准品 26.4mg，用水溶解并稀释至 10mL。

4.1.13 标准系列溶液：确移取不同体积 5-氨基乙酰丙酸标准储备溶液(2.64mg/mL) (4.1.12)于 10mL 棕色容量瓶中，用 0.2mol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  衍生反应缓冲液 (pH9.0) (4.1.9)稀释定容配成系列标准溶液，浓度分别为: 0.01mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.3 mg/mL。临用现配。

## 4.2 材料与仪器

4.2.1 液相色谱仪: LC5090 液相色谱仪 (含 LC5090 在线脱气机+LC5090 二元高压输液泵+LC5090 自动进样器+LC5090 柱温箱+LC5090 双波长-紫外检测器)

4.2.2 分析天平: 感量 0.0001 g

4.2.3 微孔滤膜: 0.45 $\mu\text{m}$ , 聚四氟乙烯 (PTFE)

4.2.4 烘箱: 鼓风干燥箱, 控制温度。

## 五、衍生化样品溶液的制备

5.1 5-氨基乙酰丙酸样品溶液: 移取由客户提供的 5-氨基乙酰丙酸样品溶液 (**客户可以用 0.45 $\mu\text{m}$ , 聚四氟乙烯 (PTFE) 滤膜过滤后移取, 或可以与未过滤的溶液做对比实验, 本实验未过滤, 直接移取**) 200 $\mu\text{L}$  用 0.2mol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  衍生反应缓冲液 (pH9.0) (4.1.9)稀释定容至 10mL。 (**临用现配, 客户可以根据样品的含量稀释合适的倍数**)。

5.2 衍生化样品溶液: 准确移取样品溶液 (5.1) 0.1mL, 放入棕色进样小瓶中, 加入 0.1mL 丹磺酰氯衍生溶液(4.1.11), 混匀, 置 30 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中, 避光反应 30min。加入 0.01 mol/L 盐酸溶液 (4.1.10)0.2mL 终止反应, 混匀, 用 0.45 $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯微孔滤膜(4.2.3)过滤备用。

5.3 衍生化标准溶液: 精确移取标准系列溶液 (4.1.13) 各 0.1 mL 与试样溶液同时进行衍生。同时用 0.2mol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  衍生反应缓冲液 (pH9.0) (4.1.9)代替标准溶液做空白衍生化。

## 六、仪器条件

a) 色谱柱: Sunniest C18, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5  $\mu\text{m}$

b) 流速: 1.0 mL/min

c) 检测器: UV254 nm

d) 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

e) 进样量: 10  $\mu\text{L}$

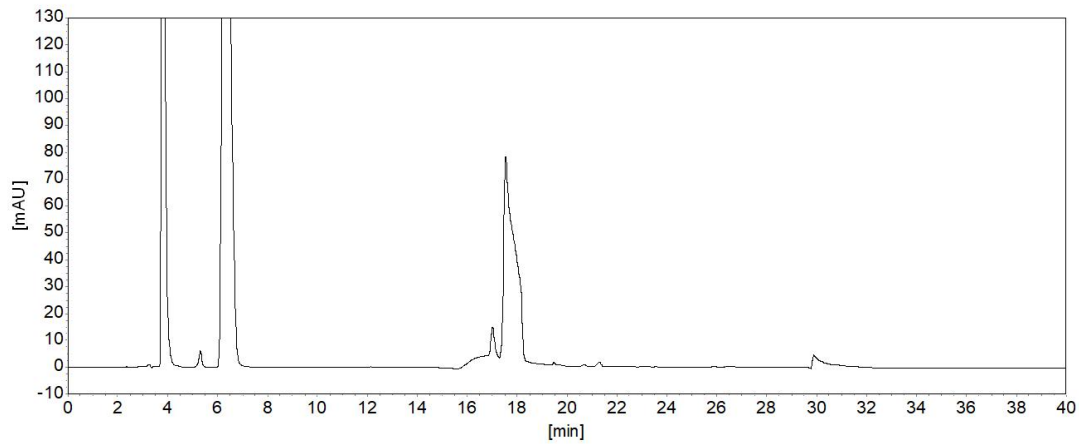
f) 流动相: A 相为乙腈, B 相为乙酸铵溶液(5mmol/L) (4.1.7) 流动相梯度洗脱程序如下:

时间[min]	流速[mL/min]	A[%]	B[%]
0.00	1.0	30	70
10.0	1.0	30	70
15.0	1.0	95	5
25.0	1.0	95	5
26.0	1.0	30	70
40	1.0	30	70

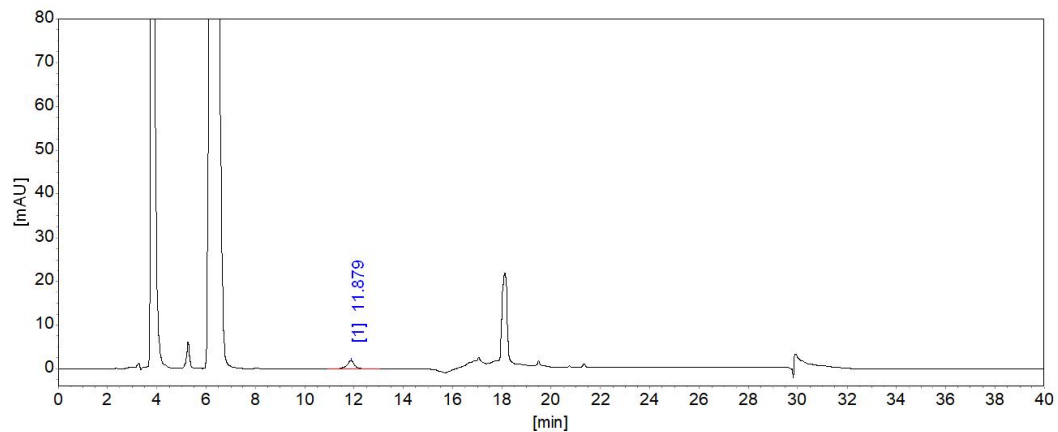
## 七、分析结果

### 7.1 系列标准溶液谱图及结果

#### 7.1.1 空白谱图及结果



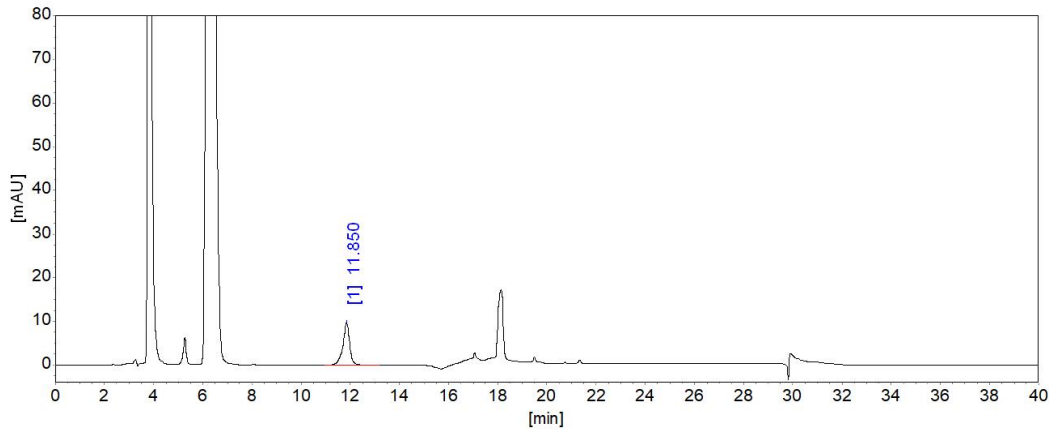
#### 7.1.2 0.01mg/mL5-氨基乙酰丙酸标准溶液谱图及结果



## 分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%
1	5-氨基乙酰丙酸	11.879	1904.1	37791.9	100.0000
总计：			<b>1904.1</b>	<b>37791.9</b>	<b>100.0000</b>

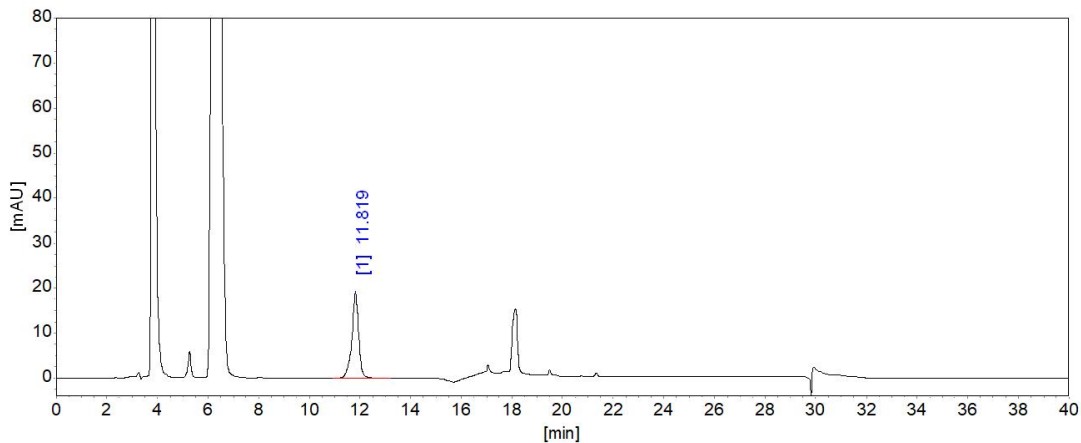
## 7.1.3 0.05mg/mL5-氨基乙酰丙酸标准溶液谱图及结果



## 分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%
1	5-氨基乙酰丙酸	11.850	9621.6	180254.7	100.0000
总计：			<b>9621.6</b>	<b>180254.7</b>	<b>100.0000</b>

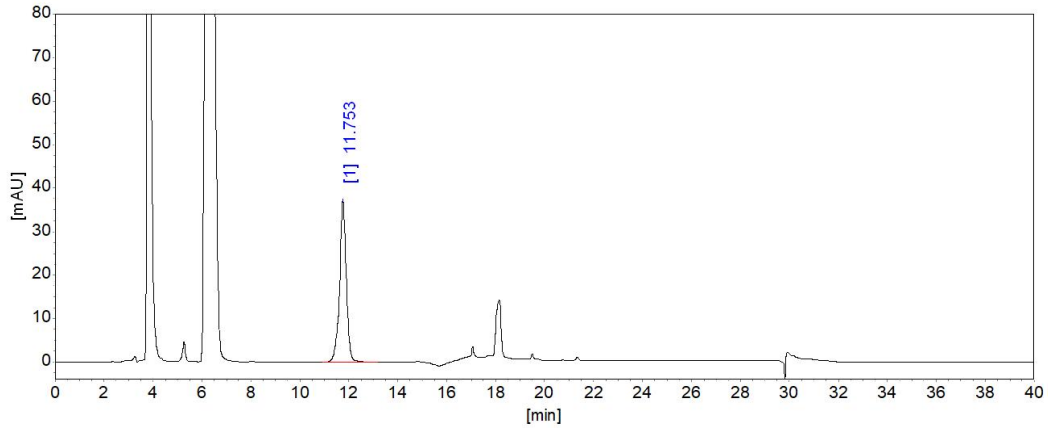
## 7.1.4 0.1mg/mL5-氨基乙酰丙酸标准溶液谱图及结果



## 分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%
1	5-氨基乙酰丙酸	11.819	18732.6	349117.7	100.0000
总计：			<b>18732.6</b>	<b>349117.7</b>	<b>100.0000</b>

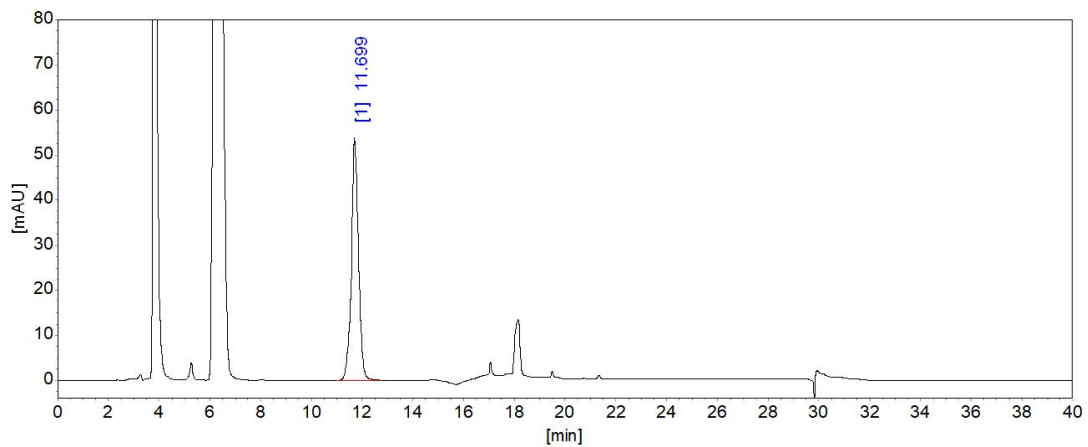
### 7.1.5 0.2mg/mL5-氨基乙酰丙酸标准溶液谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%
1	5-氨基乙酰丙酸	11.753	36951.4	701051.9	100.0000
总计:			36951.4	701051.9	100.0000

### 7.1.6 0.3mg/mL5-氨基乙酰丙酸标准溶液谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%
1	5-氨基乙酰丙酸	11.699	53056.8	1033782.9	100.0000
总计:			53056.8	1033782.9	100.0000

## 7.2 标准曲线方程及相关系数

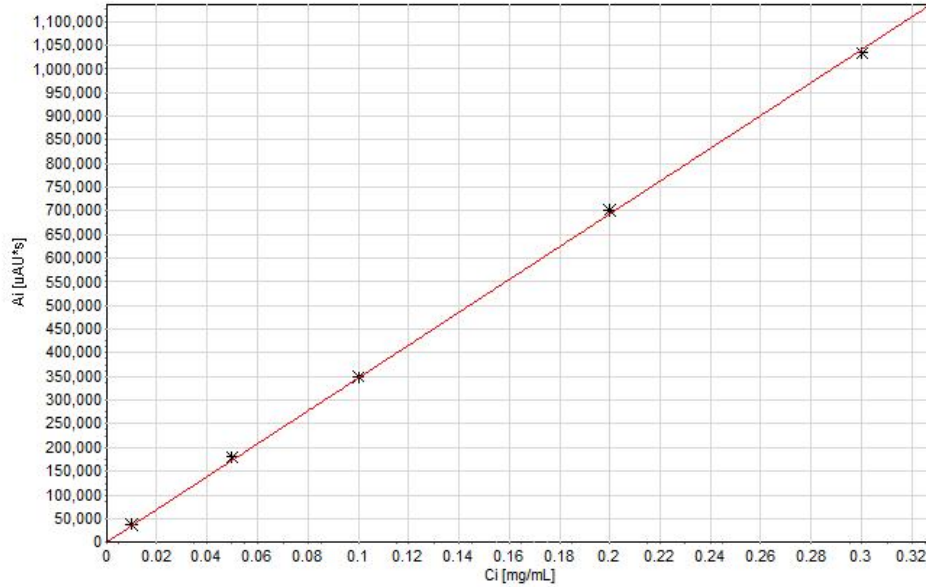
被校正的方法: 5-氨基乙酰丙酸

校正时间: 2023-10-20 14:37:22

曲线类型: 直线(使用并过零点)

组分[5-氨基乙酰丙酸]: 曲线方程:  $C_i = 2.88259E-007 * A_i$

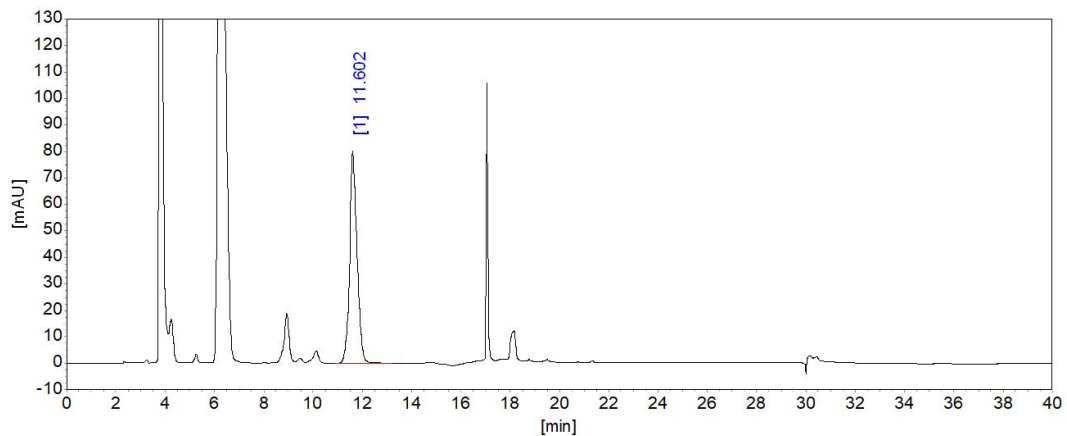
校正因子:  $f_0=0, f_1=2.88259E-007$  相关系数:  $r^2 = 0.99981$



谱图文件	面积Ai	浓度C	纯量Wi [mg]	Yi=Ai	Xi=Ci	偏差%
(002-002-01)5-氨基乙酰丙酸[1#, 0.01].std	37791.9	0.01	0.0001	37791.9	0.01	8.939
(003-003-01)5-氨基乙酰丙酸[1#, 0.05].std	180254.7	0.05	0.0005	180255	0.05	3.920
(004-004-01)5-氨基乙酰丙酸[1#, 0.1].std	349117.7	0.1	0.001	349118	0.1	0.636
(005-005-01)5-氨基乙酰丙酸[1#, 0.2].std	701051.9	0.2	0.002	701052	0.2	1.042
(006-006-01)5-氨基乙酰丙酸[1#, 0.3].std	1033782.9	0.3	0.003	1.03378E006	0.3	0.668

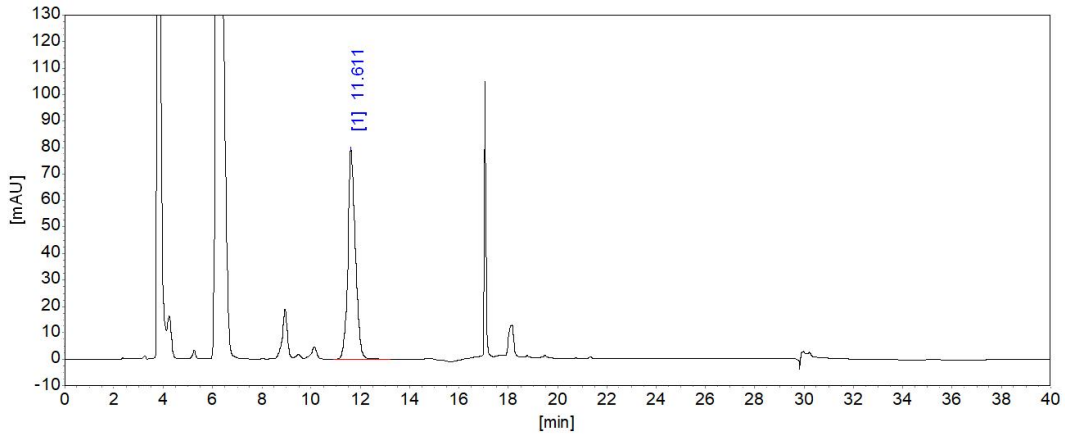
## 7.3 样品溶液谱图及结果

### 7.3.1 5-氨基乙酰丙酸样品溶液谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%	含量 [mg/mL]
1	5-氨基乙酰丙酸	11.602	79220.6	1657674.0	100.0000	23.8920
总计:			79220.6	1657674.0	100.0000	23.8920

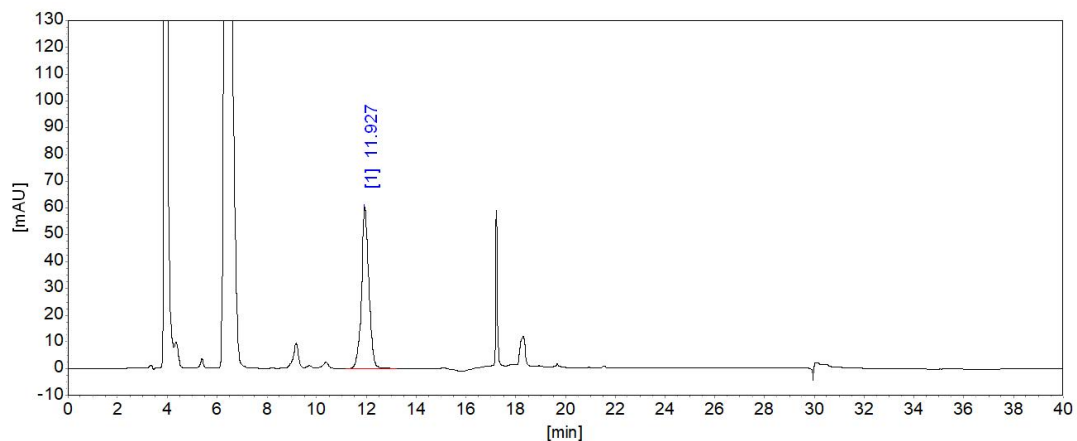


分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%	含量 [mg/mL]
1	5-氨基乙酰丙酸	11.611	79232.0	1662453.1	100.0000	23.9609
总计:			79232.0	1662453.1	100.0000	23.9609

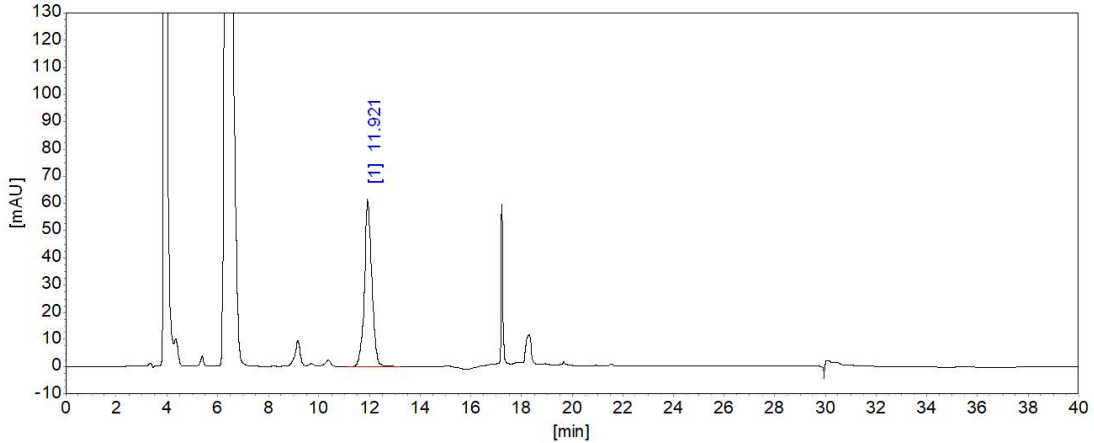
组分	序号	保留时间[min]	含量[mg/mL]	平均含量[mg/mL]
5-氨基乙酰丙酸	1	11.602	23.8920	23.9264
	2	11.611	23.9609	

### 7.3.2 5-氨基乙酰丙酸样品溶液加标 (0.1mg/mL) 回收率谱图及结果



## 分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%	含量 [mg/mL]
1	5-氨基乙酰丙酸	11.927	60185.5	1223052.5	100.0000	0.3526
总计:			<b>60185.5</b>	<b>1223052.5</b>	<b>100.0000</b>	<b>0.3526</b>



## 分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	面积%	含量 [mg/mL]
1	5-氨基乙酰丙酸	11.921	60485.3	1230657.6	100.0000	0.3547
总计:			<b>60485.3</b>	<b>1230657.6</b>	<b>100.0000</b>	<b>0.3547</b>

组分	序号	样品含量 [mg/mL]	加标 含量[mg/mL]	测定结果 [mg/mL]	回收率 [%]	平均 回收率[%]
5-氨基乙酰丙酸	1	0.2393	0.1	0.3526	113	114
	2	0.2393	0.1	0.3547	115	

说明: (1) 本方法采用 5-氨基乙酰丙酸经丹磺酰氯衍生化后, 使用 C18 色谱柱进行测定, 由于衍生化条件对最终衍生物产物有较大影响, 因此需要严格按衍生化条件进行实验操作。

(2) 本方法在测定范围 0.01-0.3mg/mL 之间, 有很好的线性关系, 标准曲线相关系数  $R^2$  为 0.99981。客户可以根据样品含量选择合适的浓度范围, 建议最少使用 5 个浓度点建立标准曲线。

(3) 本方法是将 5-氨基乙酰丙酸经过衍生化后测定, 因此每次实验必须做空白溶液的衍生化实验, 并且应尽量减小空白对样品溶液含量的影响。

以上数据仅供参考, 如有问题请电话联系。