

盐酸半胱氨酸中 7 种氨基酸 分析报告

——山东大学淄博生物医药研究院

一、检测方法参考标准：

样品信息：盐酸半胱氨酸

分析方法：盐酸半胱氨酸原料药中 7 种氨基酸的检测

参考标准：开发方法

二、仪器

岛津 LC2040C 3D

三、仪器条件

a) 色谱柱: Sunniest C18 4.6mm*250mm, 5um

b) 流动相: 流动相 A: 称取无水乙酸钠 3.56g 至 1000ml 水中 (含 0.1% 三乙胺), 用冰醋酸调节 pH 至 6.4.; 流动相 B: 乙腈-水 (50: 50), 按下表中的程序进行梯度洗脱

c) 流速: 1.0 mL/min d) 检测器: UV 360nm e) 柱温: 25°C f) 进样量: 10 μ L

时间/min	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.01	60	40
5	50	50
10	45	55
20	35	65
25	25	75
32	2	98
35	2	98
35.01	60	40
40	60	40

四、方法说明：分析方法的难点，注意事项，准确性，重复性等信息

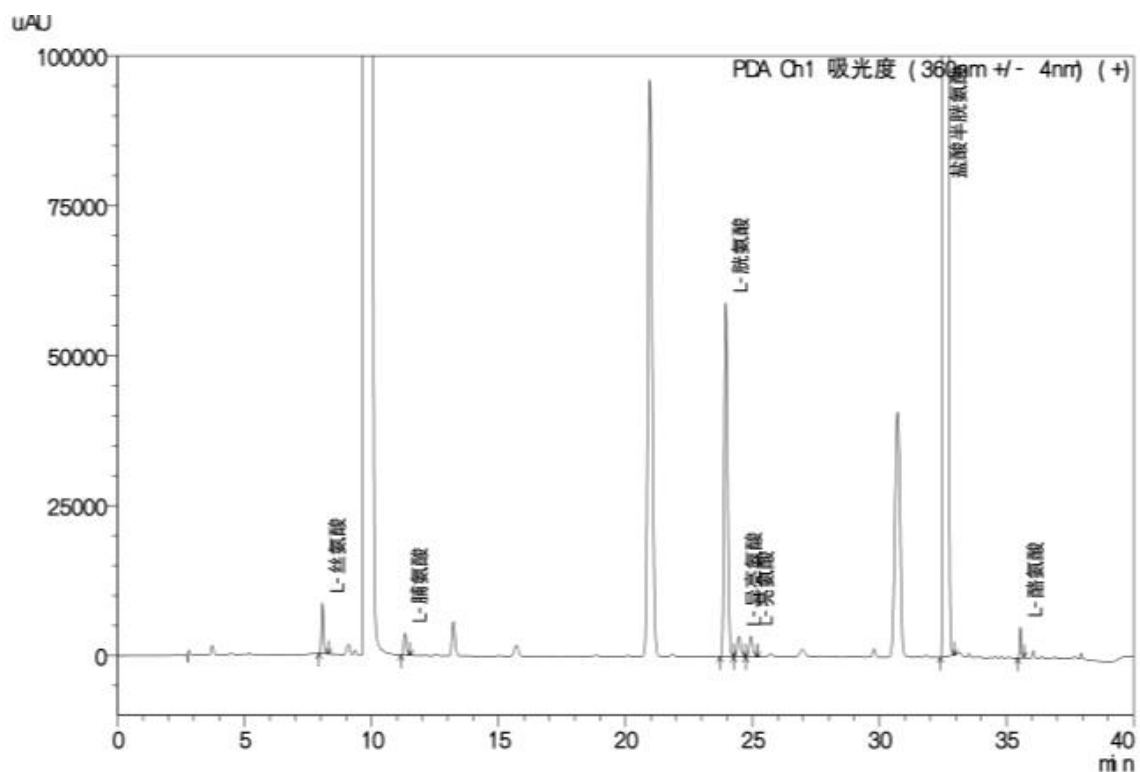
a) 方法难点：(1) 氨基酸在液相无紫外吸收，需要进行衍生化反应；(2) 7 种氨基酸分别为 L-丝氨酸、L-脯氨酸、L-胱氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-酪氨酸、半胱氨酸，其中 L-异亮氨酸和 L-亮氨酸互为异构体，基线不易分离。

b) 注意事项：流动相配制及 pH 调节的准确，确保出峰时间的稳定性，该色谱柱能保证出峰时间的稳定及基线的平稳。

c) 重复性及准确度良好，见图谱及数据。

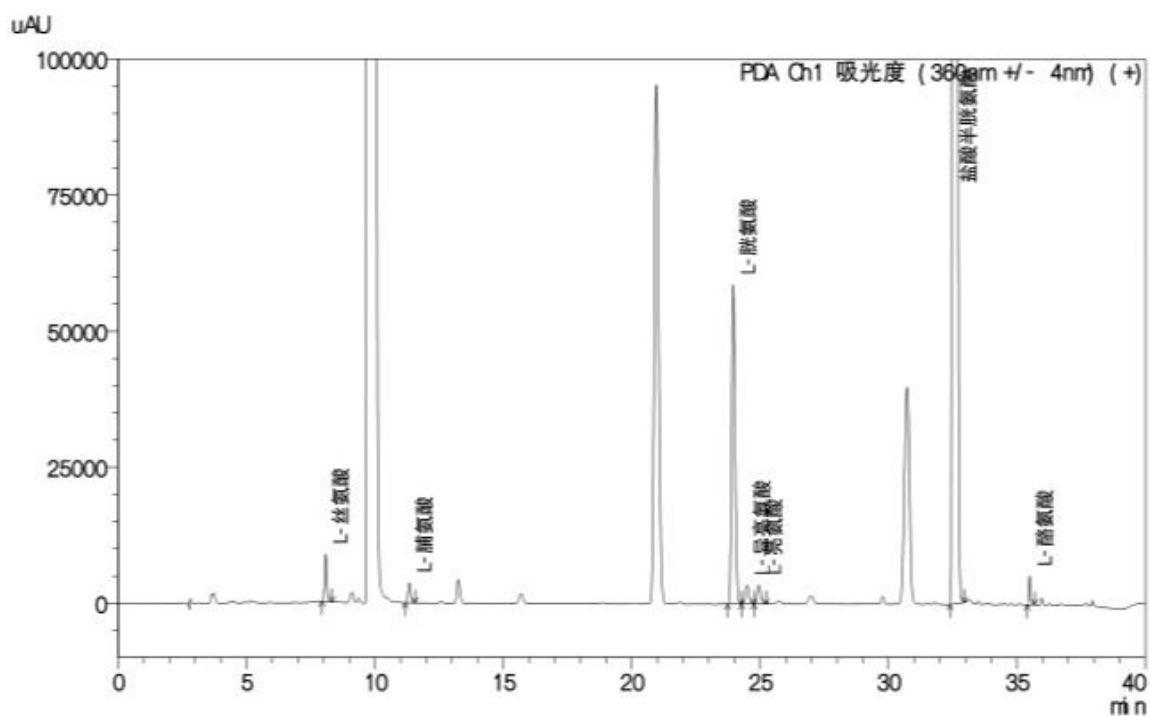
五、实验分析

5.17 种氨基酸典型谱图及结果



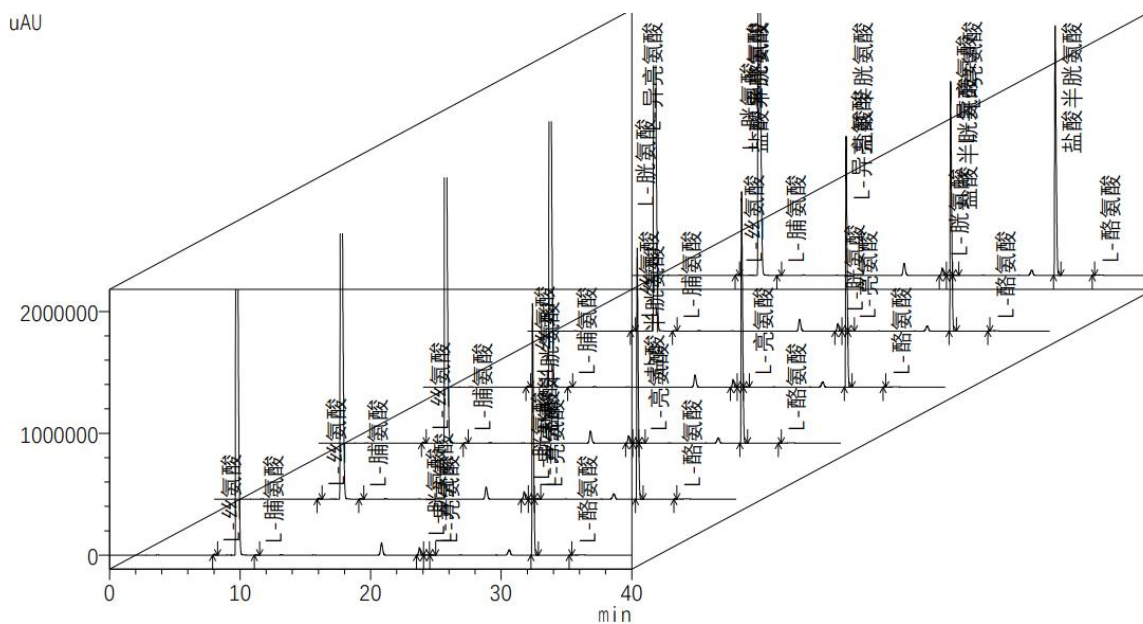
峰号	化合物名	保留时间	面积	分离度(USP)	理论塔板数(USP)	拖尾因子
1	L-丝氨酸	8.067	50261	--	40986	1.179
2	L-脯氨酸	11.315	27603	18.126	51703	1.133
3	L-胱氨酸	23.947	540346	57.166	155519	1.154
4	L-异亮氨酸	24.475	33975	2.075	135764	1.072
5	L-亮氨酸	24.939	33415	1.780	151632	1.102
6	盐酸半胱氨酸	32.536	16013866	31.647	337819	1.777
7	L-酪氨酸	35.551	25363	16.899	1146048	1.270
总计			16724830			

5.2 7种氨基酸质控溶液谱图及结果



峰号	化合物名	保留时间	面积	分离度(USP)	理论塔板数(USP)	拖尾因子
1	L-丝氨酸	8.082	52542	--	40467	1.184
2	L-脯氨酸	11.340	27678	18.075	51517	1.139
3	L-苏氨酸	23.951	538564	56.908	154991	1.156
4	L-异亮氨酸	24.495	34496	2.133	135102	1.071
5	L-亮氨酸	24.956	33915	1.761	150638	1.098
6	盐酸半胱氨酸	32.523	15922266	31.475	338402	1.758
7	L-酪氨酸	35.497	25411	16.934	1237922	1.269
总计			16634873			

5.3 重现性数据



ID#1 化合物名: L-丝氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	8.047	50238	42698	1.160	--
重复性试验溶液-2	8.045	49856	42802	1.161	--
重复性试验溶液-3	8.044	50074	42678	1.157	--
重复性试验溶液-4	8.041	50087	42779	1.161	--
重复性试验溶液-5	8.048	50122	42855	1.157	--
重复性试验溶液-6	8.043	50114	43091	1.159	--
	8.045	50082	42817	1.159	--
	0.032	0.249	0.349	0.155	0.000

ID#2 化合物名: L-脯氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	11.268	27637	54083	1.117	18.431
重复性试验溶液-2	11.265	27621	54028	1.116	18.428
重复性试验溶液-3	11.259	27693	54079	1.119	18.404
重复性试验溶液-4	11.256	27642	54347	1.115	18.446
重复性试验溶液-5	11.263	27691	54076	1.120	18.413
重复性试验溶液-6	11.257	27699	54117	1.117	18.444
	11.261	27664	54122	1.117	18.428
	0.042	0.124	0.210	0.169	0.092

ID#3 化合物名: L-胱氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	23.793	538678	158060	1.137	57.823
重复性试验溶液-2	23.782	537204	157757	1.136	57.768
重复性试验溶液-3	23.769	537955	158046	1.135	57.804
重复性试验溶液-4	23.764	538443	157594	1.135	57.831
重复性试验溶液-5	23.767	538173	157781	1.134	57.746
重复性试验溶液-6	23.741	538394	157795	1.134	57.711
	23.769	538141	157839	1.135	57.781
	0.073	0.097	0.115	0.123	0.081

ID#4 化合物名: L-异亮氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	24.315	34075	136482	1.056	2.078
重复性试验溶液-2	24.304	33841	136309	1.058	2.079
重复性试验溶液-3	24.292	33911	135637	1.055	2.080
重复性试验溶液-4	24.287	33845	135332	1.054	2.078
重复性试验溶液-5	24.289	33864	136127	1.055	2.079
重复性试验溶液-6	24.268	33934	135869	1.052	2.097
	24.293	33912	135959	1.055	2.082
	0.066	0.260	0.317	0.184	0.351

ID#5 化合物名: L-亮氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	24.779	33423	151816	1.092	1.794
重复性试验溶液-2	24.769	33272	151869	1.091	1.796
重复性试验溶液-3	24.756	33356	151575	1.084	1.793
重复性试验溶液-4	24.752	33296	151230	1.093	1.793
重复性试验溶液-5	24.754	33304	152589	1.085	1.799
重复性试验溶液-6	24.732	33171	152560	1.088	1.798
	24.757	33304	151940	1.089	1.795
	0.064	0.253	0.356	0.359	0.148

ID#6 化合物名: 盐酸半胱氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	32.430	16027522	355388	1.884	32.421
重复性试验溶液-2	32.423	15988778	357260	1.883	32.488
重复性试验溶液-3	32.419	16023335	359026	1.898	32.552
重复性试验溶液-4	32.414	16038195	359928	1.900	32.554
重复性试验溶液-5	32.416	16064701	357982	1.896	32.590
重复性试验溶液-6	32.400	16044300	359500	1.896	32.667
	32.417	16031138	358181	1.893	32.545
	0.031	0.158	0.470	0.400	0.260

ID#7 化合物名: L-酪氨酸

样品名	保留时间	面积	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
重复性试验溶液-1	35.353	23140	1536017	1.172	17.622
重复性试验溶液-2	35.342	23155	1540045	1.171	17.642
重复性试验溶液-3	35.334	24187	1514814	1.199	17.600
重复性试验溶液-4	35.325	24306	1523337	1.195	17.608
重复性试验溶液-5	35.325	24310	1524268	1.203	17.569
重复性试验溶液-6	35.301	24350	1541383	1.205	17.586
	35.330	23908	1529977	1.191	17.604
	0.050	2.475	0.701	1.301	0.146