

## 测试报告

样品信息			
样品名称	脯氨酸和羟基脯氨酸	编号	NJ201507-002
样品重量	/	剂型	/
收样日期	2015/07/10	测试期间	2015/07/17
样品描述	白色颗粒		
测试需求			
测试成分	脯氨酸、羟基脯氨酸		
参考标准			
参考标准	有	标样	有
仪器信息			
测试仪器	高效液相色谱仪	仪器型号	岛津 LC-20A

## ● 色谱条件:

色谱柱:	月旭 Ultimate® Amino Acid (4.6×250mm, 5μm)
流动相:	流动相 A: 0.1mol/L 醋酸钠溶液 (pH6.50): 乙腈=93:7; 流动相 B: 水: 乙腈=20:80 梯度
检测器:	UV 254nm
柱温:	40℃
流速:	1.0ml/min
进样量:	10μl
注意事项:	无

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

## ● 流动相配置:

流动相 A: 0.1mol/L 醋酸钠溶液 (pH6.50): 乙腈=93:7;

流动相 B: 水: 乙腈=20:80

梯度程序:

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.01	100	0
11	93	7
13.9	88	12
14	85	15
29	66	34
32	30	70
35	0	100
42	0	100
45	100	0
60	100	0

## ● 样品溶液配制:

### 1.流动相的配制

A: 0.1mol/L 醋酸钠溶液 (pH 6.5): 乙腈=93.0: 7.0

配制方法: 准确称取三水合醋酸钠 13.6g 于 1000mL 水中, 搅拌均匀, 使之溶解, 用冰醋酸或氢氧化钠溶液调 pH 值至 6.50; 准确量取配制好的三水合醋酸钠溶液 930mL 和乙腈 70mL, 混合均匀, 抽滤过 0.22 $\mu$ m 滤膜;

流动相 B: 水: 乙腈=20.0: 80.0

配制方法: 准确量取水 200mL 和乙腈 800mL, 混合均匀, 抽滤过 0.22 $\mu$ m 滤膜;

### 2.样品溶液配制

精密称取脯氨酸和羟基脯氨酸对照品适量, 分别配制成浓度约为 1mg/ml 的溶液, 备用;

### 3.衍生化

(1) 分别将 A、B 两种衍生试剂用稀释剂稀释至原来浓度的 1/5 倍;

(2) 精密量取上述对照品溶液 160 $\mu$ L, 置于试管中, 加入稀释后的 A 溶液 100 $\mu$ L 和稀释后的 B 溶液 100 $\mu$ L, 摇匀, 室温反应 60min; 然后加入正己烷溶液 400 $\mu$ L 旋紧盖子后振摇 5~10s, 室温静置分层, 取下层 200 $\mu$ L 溶液, 加入 800 $\mu$ L 水混合均匀, 再取 200 $\mu$ L 加入 800 $\mu$ L 水混合均匀, 用孔径为 0.22 $\mu$ m 有机膜过滤, 待分析;

(3) 供试品的衍生步骤与对照品相同, 样品衍生后稀释体积可根据样品中氨基酸含量适当稀释。

(注意: 供试品样品前处理采用酸解提取, 需要在衍生之前进行酸挥发处理, 供

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

Tel:400-808-6760

邮编: 321000

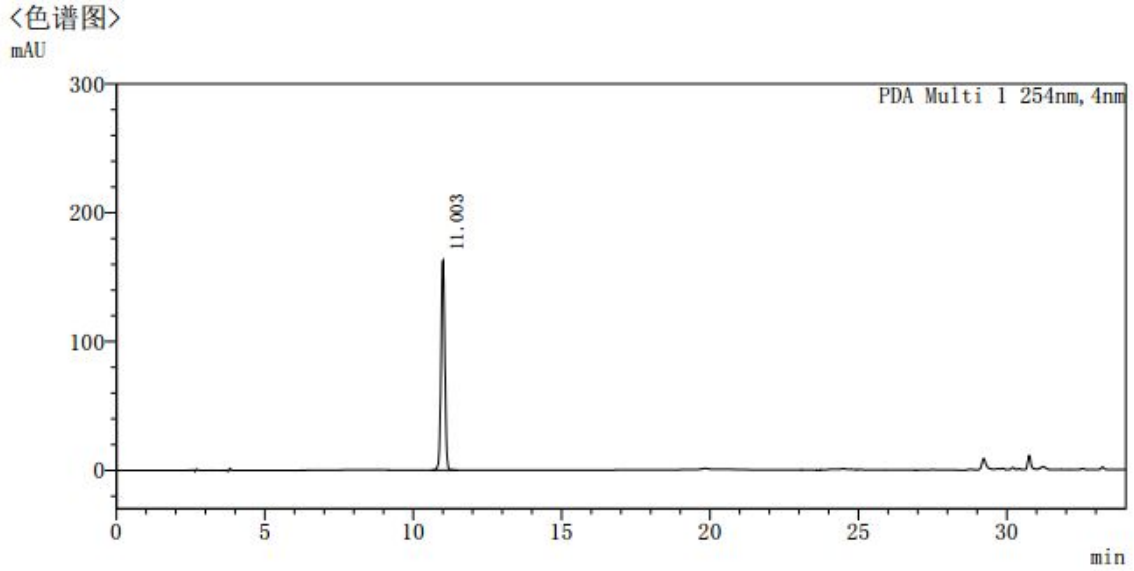
E-mail:zaijiechen@welchmat.com

试品中酸性

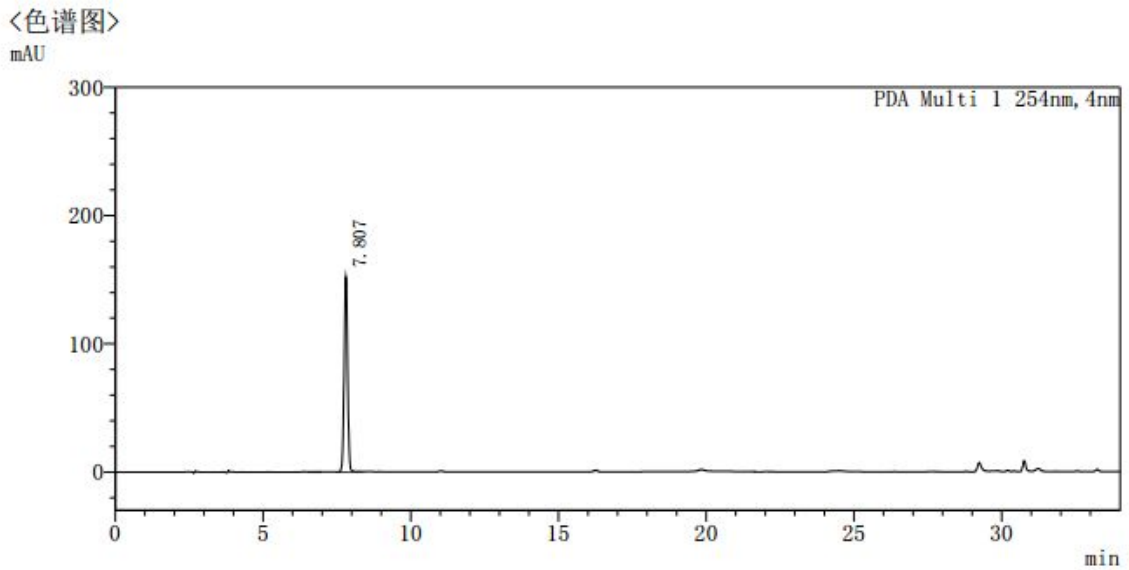
强度过大在衍生过程中会发生中和, 衍生过程必须在碱性条件下, 才能够起到衍生完全。)

● 谱图和数据:

(1) 脯氨酸的 HPLC 图



(2) 羟基脯氨酸的 HPLC 图



声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

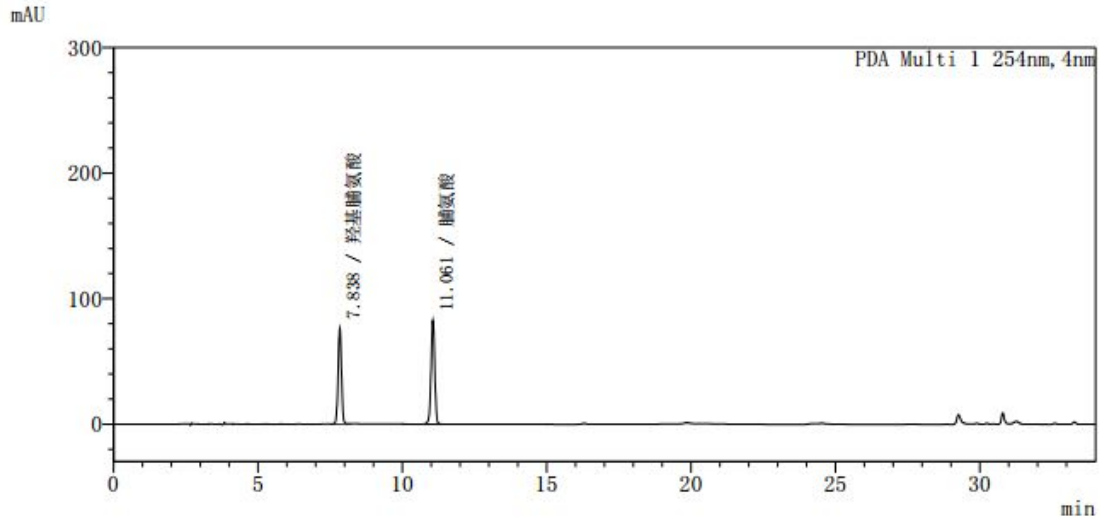
Tel:400-808-6760

邮编: 321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

(3) 混合对照的 HPLC 图

<色谱图>



结果:

使用月旭的氨基酸专用柱(月旭 Ultimate® Amino Acid(4.6×250mm, 5μm)), 采用月旭氨基酸分析方法包中的方法, 能够很好的分离脯氨酸和羟基脯氨酸。

报告签字

测试: 汪少峰

日期: 2015-07-20

审核: 陈再洁

日期: 2015-7-20