

## 测试报告

样品信息			
样品名称	叶酸片	项目编号	SHGZL-20230705-007
样品批号	/	样品性状	客户配置的溶液
收样日期	2023/07/10	测试期间	(2023/7/20~2023/8/4)
标样信息			
名称	规格	数量	
系统适用性溶液	约 1 mL/瓶	1	
杂质 A, 对氨基苯甲酸, 杂质 M, 杂质 J/K, 杂质 L, 杂质 C, 杂质 F, 叶酸, 杂质 E, 杂质 D, 杂质 G, 杂质 H	各约 1 mL/瓶	各 1	
叶酸原料	约 0.1 g/瓶	1	
实验要求			
客户做的杂质数目比应用报告多, 反馈参考应用报告的液相条件, 调整水相 pH 和梯度洗脱中的时间, 同一台液相, 不同天配置的流动相, 配置方式一样, 杂质 F 和 C、杂质 E 和 D 的分离重现性不好, 有时能分开, 有时会重合。因为杂质 J 和杂质 K 的结构式相似, 合并计算。怀疑方法不稳定, 杂质对流动相 pH 敏感, 想送样优化方法。要求分离度满足要求, 且方法重现性好。			
参考方法			
实验室方法			
色谱柱:	月旭 Ultimate® ALK C18 (4.6×250mm, 5μm)		
流动相:	时间 (分钟)	0.05M 磷酸二氢钾溶液 (pH 至 5.5) (%)	甲醇 (%)
	0	100	0
	5	100	0
	18	88	12
	30	88	12
	40	68	32
	41	100	0
	47	100	0
检测波长:	269nm		
柱温:	30℃		
流速:	2.0ml/min		

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: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾 (中山) 科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add: 江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel: 400-810-6969

第 1 页 共 4 页

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



进样量:	20 $\mu$ L	
注意事项:	/	
试剂信息		
试剂名称	级别	品牌
甲醇	色谱纯	月旭科技
磷酸二氢钾	分析纯	阿拉丁
仪器信息		
仪器厂家	仪器型号	
Agilent	1100	

## 1. 试验过程

### 1.1. 色谱条件

色谱柱:	Ultimate ALK-C18 (4.6 $\times$ 250mm,5 $\mu$ m)		
流动相:	流动相 A: 0.05M 磷酸二氢钾 (pH5.51); 流动相 B: 甲醇		
流速:	2.0mL/min		
进样量:	20 $\mu$ L		
柱温:	30 $^{\circ}$ C		
检测器:	紫外		
波长:	280nm		
洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0-5	100	0
	18-30	88	12
	40-43	68	32
	43.1-50	100	0
注意事项	样品溶液上机时已出现一定程度变质, 遂将此项目关注点放在同一流动相条件下的谱图重现性上, 优化流动相配置 pH 稳定性, 将优化后的方法转移至客户后, 由客户对分离度重现性进行考察。		

### 1.2. 溶液配制

#### 1.2.1. 流动相配制

精密称取 6.8g+0.001g 磷酸二氢钾, 溶于约 800mL 超纯水中溶解; 预先配置 0.1mol/L 氢氧化钠溶液, 称样量+0.001g, 用量筒准确量取 100mL 碱溶液备用。将量取的碱溶液缓慢加入已溶

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:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾(中山)科技园.紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969

第 2 页 共 4 页

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



解的磷酸二氢钾溶液中，观察 pH 变化，达到目标 pH 后，停止加入碱溶液，记录所需碱溶液体积。再在缓冲盐溶液中加入超纯水定容至 1L。

后续配置只需量取固定体积的碱溶液加入固定称样量的缓冲溶液中，即可达到固定的 pH。

配置前需注意 pH 计校准。

### 1.2.2. 对照品溶液配制

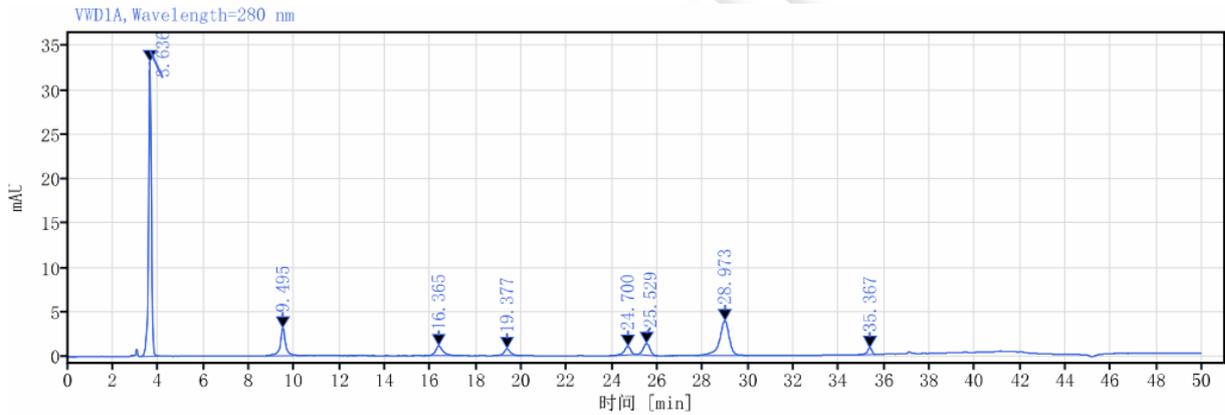
直接上机。

### 1.2.3. 供试品溶液配制

直接上机。

## 2. 谱图和数据

### (1) 系统溶液——使用人员 1 配置的流动相



信号: VWD1A, Wavelength=280 nm

保留时间 [min]	峰宽 [min]	峰面积	高度	峰面积%	峰 分离度 USP	峰 拖尾因子	峰 理论塔板数 USP
3.636	0.12	280.05	33.15	51.37		0.91190	4570.08771
9.495	0.24	52.00	3.11	9.54	20.27971	1.01086	10965.17859
16.365	0.34	25.69	1.08	4.71	14.63148	1.27734	12882.03644
19.377	0.29	15.09	0.76	2.77	5.62605	1.04375	24557.97931
24.700	0.29	18.95	0.97	3.48	10.77177	0.93774	40162.43959
25.529	0.33	26.92	1.30	4.94	1.58032	0.82039	33567.59557
28.973	2.33	115.91	3.92	21.26	5.41278	0.81321	26209.63233
35.367	0.22	10.49	0.74	1.93	11.87893	0.85715	154177.85871
总和		545.10					



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。

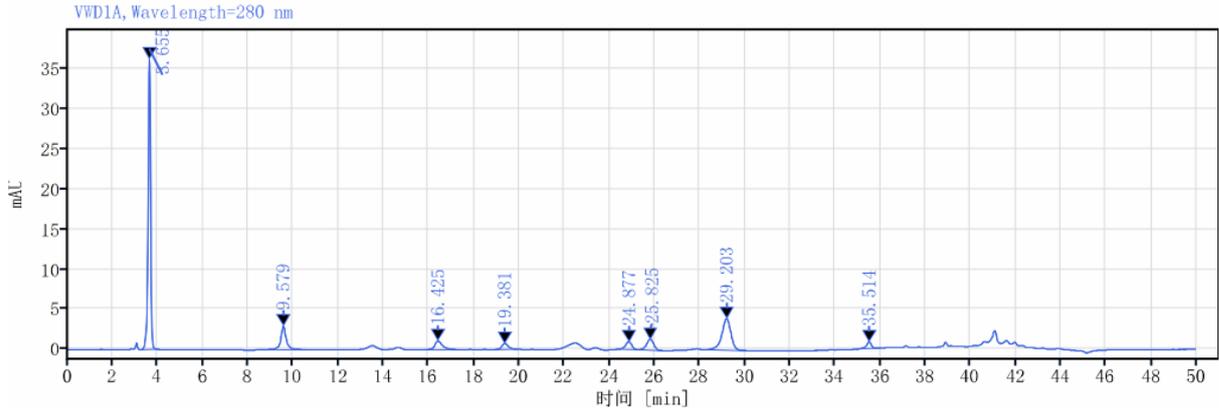
Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾 (中山) 科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add: 江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel: 400-810-6969

(2) 系统溶液——（次日）使用人员 2 配置的流动相



信号: VWD1A, Wavelength=280 nm

保留时间 [min]	峰宽 [min]	峰面积	高度	峰面积%	峰 分离度 USP	峰 拖尾因子	峰 理论塔板数 USP
3.655	0.11	274.61	36.33	50.77		0.85036	5941.27104
9.579	0.25	51.86	2.97	9.59	20.60468	1.07066	9879.44714
16.425	0.34	26.14	1.10	4.83	14.22271	1.37991	12974.71538
19.381	0.29	15.11	0.77	2.79	5.44602	1.26775	23220.30413
24.877	0.30	19.02	0.97	3.52	10.80995	0.82799	38273.98825
25.825	0.34	29.69	1.34	5.49	1.73143	0.82500	31228.63010
29.203	1.76	111.21	3.95	20.56	5.20844	0.84710	26873.73468
35.514	0.23	13.29	0.85	2.46	11.58288	0.98682	141470.88222
	总和	540.93					

### 3. 结论

使用月旭 Ultimate ALK-C18 (4.6×250mm,5μm, 300A) 在此色谱条件及流动相配置方法下, 满足重现性需求。方法转移客户, 测试后反馈分离重现性良好。

报告人:Aimee Kuang

审核人: Tim

日期: 2023/09/21

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:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾(中山)科技园.紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969

