

SPD-M30A 结合 i-PDeA 功能定量分析未完全分离的咖啡因和灭多威组分

LC-122

摘要：岛津 SPD-M30A 二极管阵列检测器具有世界领先水平的光谱分辨率、灵敏度，卓越的分离性能，并具备支持超快速分析的出色性能。该检测器结合 i-PDeA (intelligent Peak Deconvolution Analysis, 智能峰解卷积分析) 功能，可使未分离峰实现完全分离，同时还可对未完全分离的目标组分进行准确的定量分析。本文介绍了使用岛津 LC-30A 高效液相色谱系统，应用 LabSolutions 软件 i-PDeA 功能定量分析未完全分离组分的方法。本方法具有简便、快速、准确的特点。

关键词：i-PDeA 咖啡因 灭多威 SPD-M30A

i-PDeA 是一种全新的数据处理技术。对于未能完全分离的峰，i-PDeA 功能可以利用给定波长下吸光度斜率的显著差异，将未分离的峰作为单一的峰抽出。多个组分同时分析，在高效液相色谱法的应用中是十分普遍的，在对多个组分进行定性定量分析研究时，对分离度提出了要求。传统的方法中认为两个相邻的峰分离度未达到 1.5 以上，不能准确的进行定量分析，因此检测人员需要花大量的时间和精力去选择合适的流动相、色谱柱和梯度洗脱条件等对分析方法进行优化。为了解决这一难题，岛津推出了全新的 i-PDeA 数据处理技术。i-PDeA 技术基于导数光谱法，导数光谱法具有加强光谱的精细结构和对复杂光谱辨析能力的特点，是解决光谱干扰的一种技术。使用二极管阵列检测器结合 i-PDeA 数据处理功能，对未能完全分离的色谱峰，则可利用谱图的差异提取出单一峰，免去了未分离峰波形处理的烦恼。

本文介绍了使用岛津 LC-30A 高效液相色谱系统（配置 SPD-M30A 二极管阵列检测器），应用 LabSolutions 软件中 i-PDeA 功能对未能与咖啡因完全分离的灭多威组分进行定量分析的方法。该方法分析速度快，而且准确度高。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-30A 系统。具体配置为 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A5（在线

脱气机），SIL-30AC（自动进样器），CTO-30A（柱温箱），SPD-M30A（二极管阵列检测器），CBM-20A（系统控制器）和 LabSolutions Ver.5.54 SP3（色谱工作站）

1.2 色谱条件

洗脱方式：等度洗脱

流动相：甲醇 / 水 (40/60, v/v)

流速：1.0 mL/min

色谱柱：Shim-pack VP-ODS

(4.6 mm i.d. × 150 mm L., 5 μm)

进样体积：10 μL

柱温：40℃

1.3 样品制备

准确称取适量咖啡因和灭多威，分别加入甲醇溶剂，配制成 1000 mg/L 的咖啡因和灭多威储备液，于 4℃ 条件下保存。再用甲醇稀释咖啡因至浓度 200 mg/L，灭多威浓度分别为 0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L 和 50 mg/L 不同浓度的混合标准工作液。

结果与讨论

2.1 包含未完全分离杂质的主成分色谱图

按照 1.2 中的分析条件进行检测，咖啡因和灭多威的峰未达到基线分离要求，如图 1 所示。如果此时对灭多威峰进行积分并定量，结果会有明显误差。

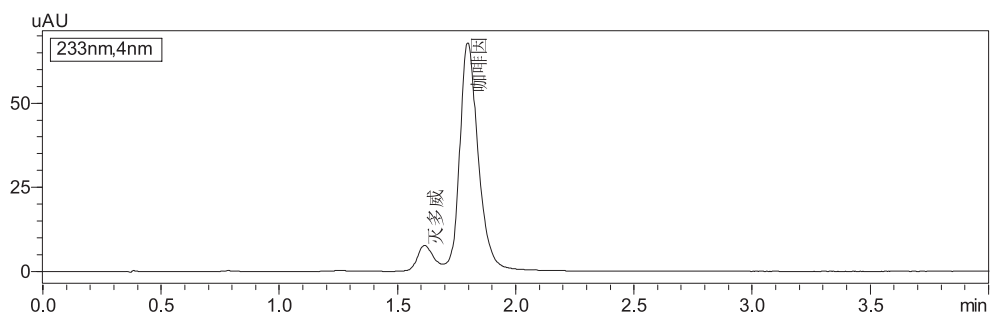


图1 未完全分离的灭多威和咖啡因色谱图

(灭多威浓度5 mg/L, 咖啡因浓度100 mg/L)

2.2 主成分光谱导出波长的确定

本查看 LabSolutions 软件再解析窗口的光谱视图可以得到咖啡因和的灭多威的 UV 光谱信息, 见图 2。使用 i-PDeA 功能需要确定咖啡因的光谱导数波长, 根据咖啡因的 UV 光谱信息, 由 LabSolutions 软件可以很容易检测出 UV 光谱一阶导数值为零的波长位置, 如图 3 所示。

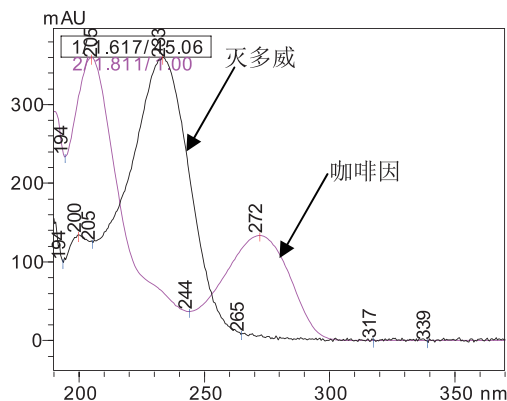


图2 咖啡因和灭多威的UV光谱信息



图3 咖啡因UV光谱一阶检测

本从一阶导数值为零的波长列表中, 选择 244 nm 作为咖啡因的光谱导数波长 (虽然在 272 nm 处咖啡因有最大吸收, 但灭多威在这个波长下没有吸收, 故不选择 272 nm 作为咖啡因的光谱导数波长), 用于灭多威的检测, 滤除来自咖啡因的光谱干扰。在 LabSolutions 软件再解析窗口的多色谱图表中, 选择导数, 并设置咖啡因的光谱导数波长, 见图 4。

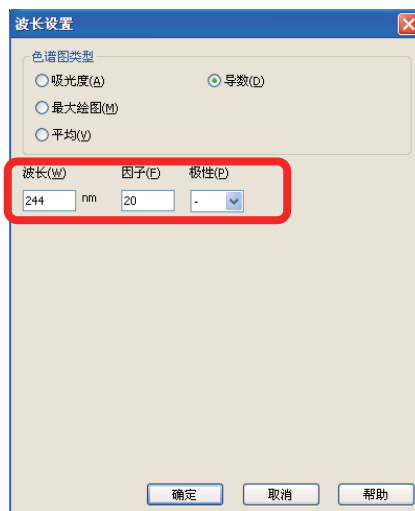


图4 咖啡因光谱导数波长的设置

2.3 i-PDeA 功能处理后的色谱图

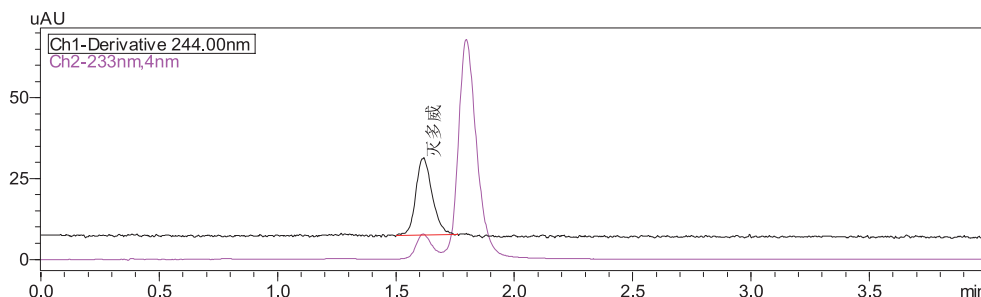


图5 滤除咖啡因后的灭多威色谱图和原色谱图图比较

2.4 滤除咖啡因后的灭多威定量曲线制作

含 0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L 和 50 mg/L 不同浓度灭多威的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，应用 LabSolutions 软件 i-PDeA 功能，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 6 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (45592.7)X + (533.534)$ ；相关系数 $R=0.9999$ 。

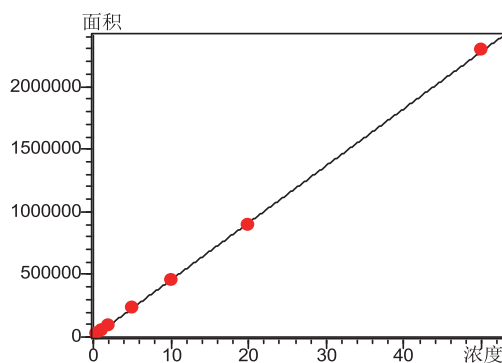


图6 灭多威的校准曲线

2.5 准确度实验

向 200 mg/L 的咖啡因溶液中添加相当于 6.00 mg/L 和 25.00 mg/L 浓度的灭多威，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用 i-PDeA 功能做灭多威的定量分析，结果如表 1 所示。

表1 灭多威分析准确度结果

化合物	添加量 (mg/L)	实测值(mg/L)	准确度(%)
灭多威	6.00	6.08	101.33
	25.00	25.34	101.36

2.6 数据比较

当选择 272 nm 作为咖啡因的光谱导数波长时，明显发现色谱图的差异，见图 7，该差异说明 SPD-M30A 的分辨率明显优于 SPD-M20A。将 SPD-M20A 与 SPD-M30A 的实验数据进行比较。

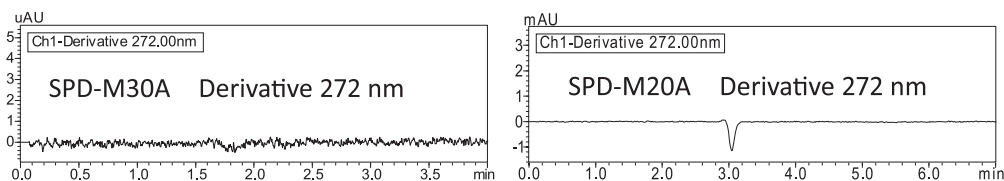


图7 光谱导数波长 272 nm 下两种检测器图谱比较

表2 SPD-M30A和SPD-M20A数据分析结果比较

	SPD-M30A	SPD-M20A
分辨率	++++	+++
线性范围	++++ 0.5~50 mg/L *	+++ 5~100 mg/L *
灵敏度	++++	+++
质控样准确度	++++ 101% *	++++ 102% *

* 灭多威定量分析结果

结论

使用岛津 LC-30A 系统，配置 SPD-M30A 二极管阵列检测器，结合 LabSolutions 软件 i-PDeA 功能定量分析了未能达到基线分离的灭多威。结果表明，所得校准曲线线性范围宽，且相关系数在 0.9999 以上；定量准确度良好，并且体现了 SPD-M30A 分辨率高，灵敏度高等特点。该方法分析速度快，操作简便，而且准确度高，适用于未完全分离组分的定量分析。