

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	细菌素纯化蛋白	项目编号	20241010-971
样品性状	透明液体	样品重量	5mg
收样日期	2024/10/12	测试期间	2024/10/21-2024/10/22
目标物信息			
客户粗品分析图：			
图 1 客户分析图			
目标物保留时间	杂质 1: /	面积归一化含量 (215nm, %)	/
实验要求			
筛选合适色谱柱，开发制备方法，要求 API 在色谱柱上有保留且制备收集 API 纯度达到 98%。			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
乙腈	色谱级	月旭	
乙腈	色谱级	月旭	
TFA	AR	阿拉丁	
纯水	一级	月旭	

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 6 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型液相色谱仪	LC-20AD	岛津
制备型液相色谱仪	Welprep2000	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

移取 200ul 样品，置于 5mL 离心管中，加入水稀释至 500ul，过滤至进样小瓶中，另取一份纯水置于进样瓶中，作为空白溶剂，按照以下色谱分析方法进行分析：

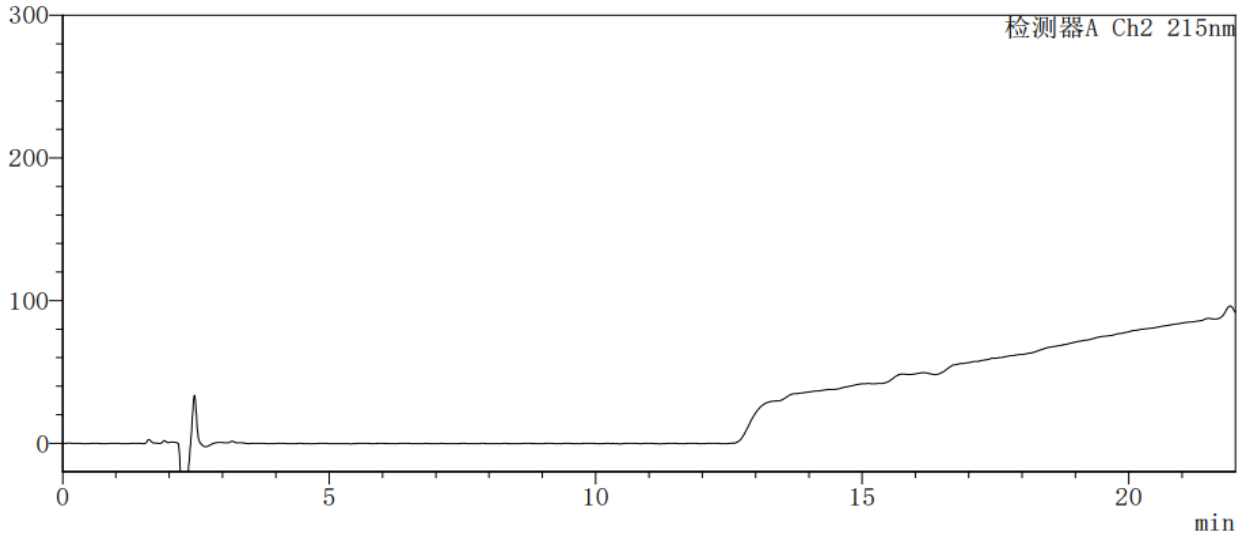
色谱柱	Ultimate XB-C18 4.6×150mm, 5μm		
流动相 A	0.05%TFA 水		
流动相 B	0.05%TFA 色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	20μl		
柱温	30°C		
检测波长	215nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	95	5
	10	95	5
	30	5	95
	35	95	5

分析图谱如图 2，图 3 所示：



<色谱图>

mV



<峰表>

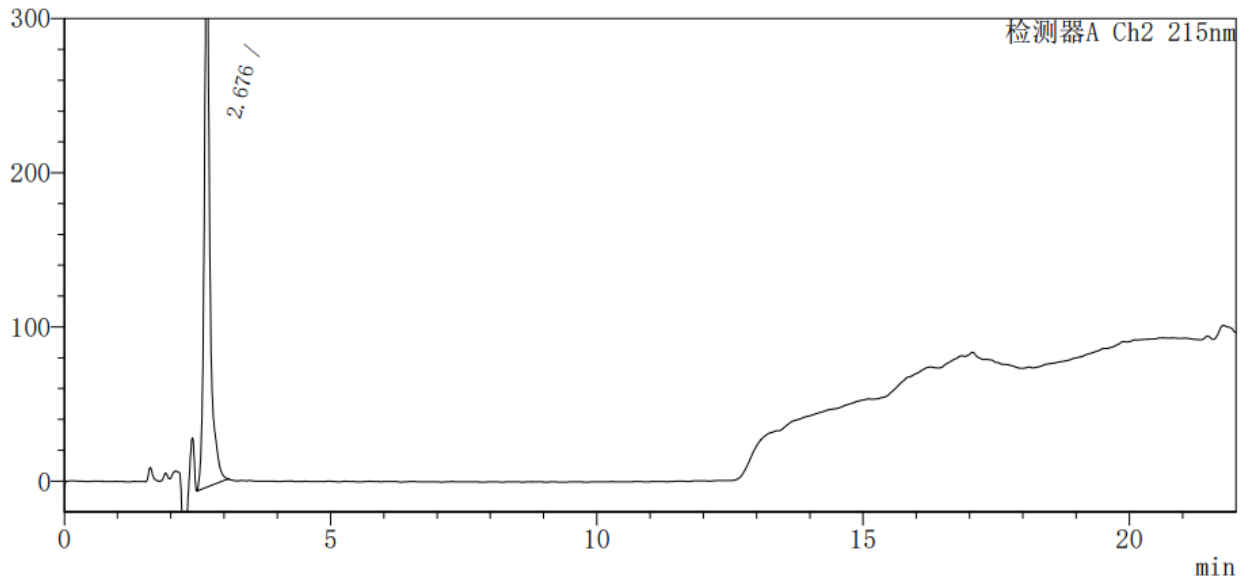
检测器A Ch2 215nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
总计							

图 2 空白图谱

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A Ch2 215nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		2.68	2634222	100.00	3160	1.36	--
总计			2634222	100.00			

图 3 方法重现图谱

结论：通过与图 1，图 2 进行比较，确定图 3 中 2.68min 为目标物，且在此色谱条件下无保留。

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



1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

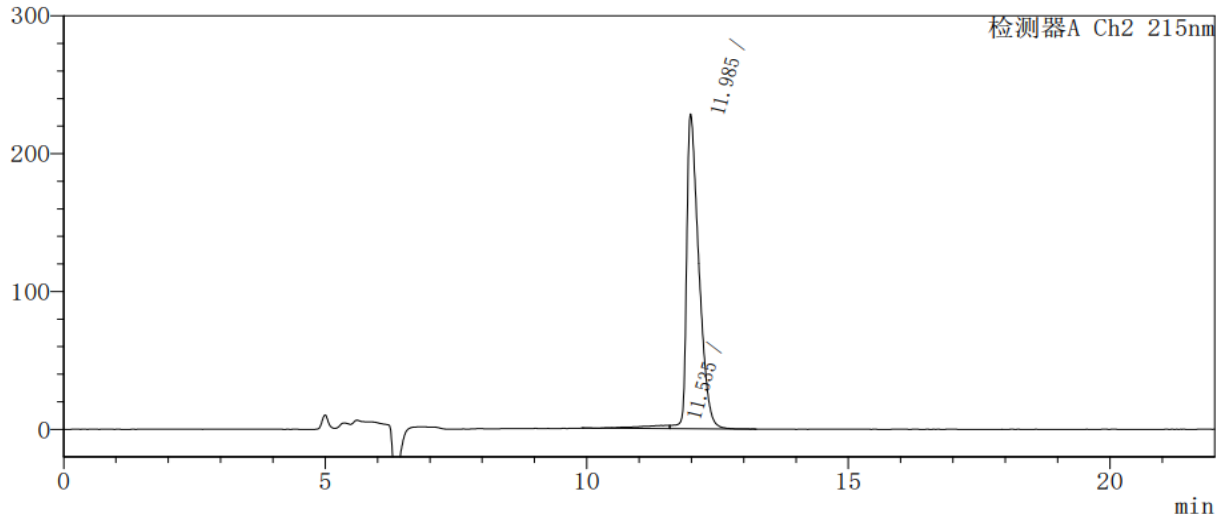
取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate AQ-C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	0.05%TFA 水		
流动相 B	0.05%TFA 色谱级乙腈		
流速	0.6ml/min		
进样量	20μl		
柱温	30°C		
检测波长	215nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	99	1
	20	99	1

分析图谱如下图 4 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A Ch2 215nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		11.54	91991	2.42	72	---	---
2		11.98	3702608	97.58	12230	1.78	0.2
总计			3794599	100.00			

图 4 方法开发图谱

1.2.2. 样品制备

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



移取客户提供液体 3ml（浓度为 1mg/ml），过滤备用，制备液相条件如下所示：

仪器	Welprep2000		
色谱柱	Ultimate AQ-C18 10×250mm, 5μm		
流动相 A	0.05%TFA 水		
流动相 B	0.05%TFA 色谱级乙腈		
流速	3ml/min		
进样量	3mL		
柱温	室温		
检测波长	215nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	99	1
	30	99	1

制备图谱如图 5 所示：

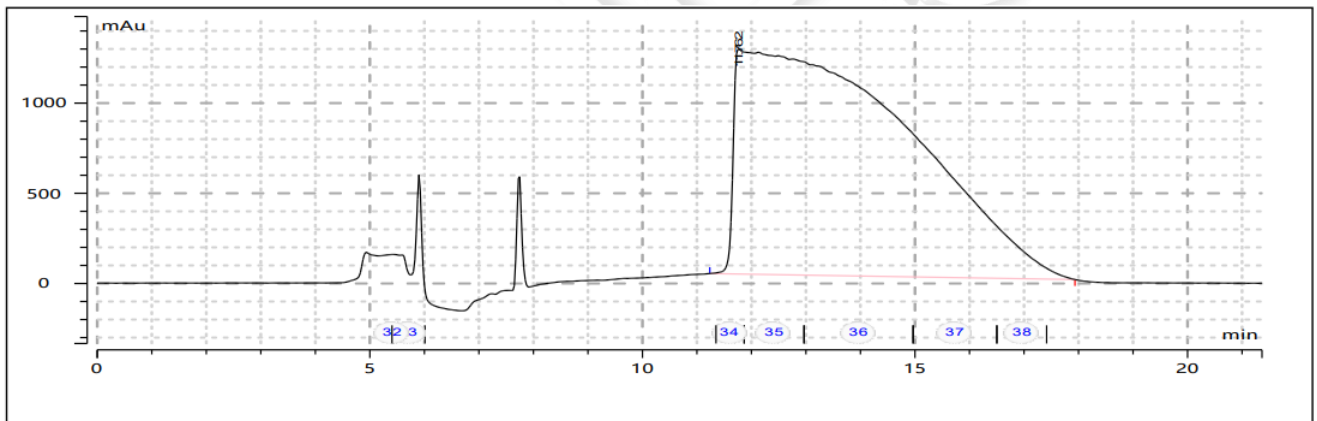


图 5 粗品制备图

经过制备，将目标馏分段收集到馏分瓶中，待分析合格后挂壁冻干。

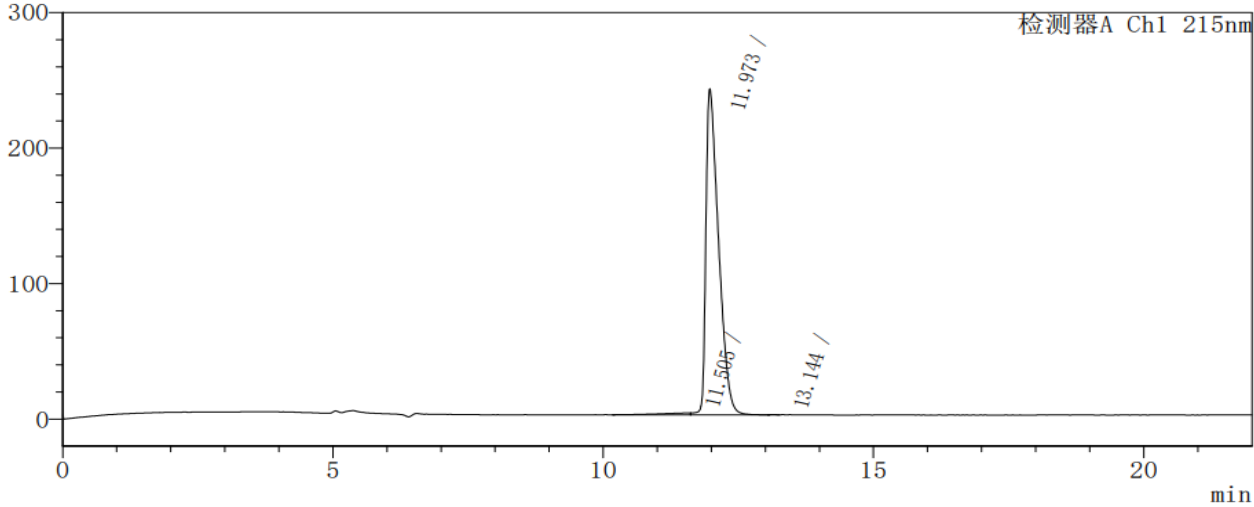
1.2.3. 杂质分析

从 1.2.2 中收集到的 35-37 馏分瓶中分别取适量样品混合后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 6 所示：



<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A Ch1 215nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数 (USP)	拖尾因子	分离度 (USP)
1		11.50	56242	1.41	474	--	--
2		11.97	3917614	98.55	11650	1.87	0.4
3		13.14	1446	0.04	114888	1.11	3.9
总计			3975302	100.00			

图 6 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 98.5%（215nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® AQ-C18, 10×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，制备收集到的目标物纯度为 98.5%（215nm），制备结果满足客户要求。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/10/22

