

应用纪要

通过优化检测器参数提高配备PDA检测器的 Alliance™ iS HPLC System的灵敏度

Lise Gauthier, Paula Hong

Waters Corporation, United States

发布日期：2025年6月23日

摘要

常规HPLC分析通常采用默认的PDA仪器方法设置。尽管默认设置在大多数情况下都适用，但要想获得理想的分离效果，可能需要对其做一些调整。本研究以测定布洛芬片剂中有机杂质的USP方法为例，展示了优化检测器设置对于提高分析灵敏度有何帮助。

配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System是沃特世全新设计的PDA检测系统，其中增加了多项有助于提升性能的辅助功能，包括狭缝宽度可调以及分辨率范围扩展至20 nm。本研究评估了数据采集速率、滤波器时间常数、狭缝宽度、分辨率和吸光度补偿这几项检测器设置对灵敏度（定义为USP信噪比(S/N)）的影响。相较于使用默认设置，优化检测器参数之后的USP S/N跃升了7倍之多。该研究表明，用户只需做简单调整，就能轻松优化检测器参数，从而提升灵敏度。

优势

- 配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System方便用户轻松调整PDA设置，有助于仪器在信噪比等方面展现理想性能
- 配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System有一系列参数，包括可调的狭缝宽度和较宽的分辨率范围，对于

优化方法很有帮助

- 优化PDA设置后，信噪比跃升了7倍之多
-

简介

运行HPLC方法时，通常会采用默认的PDA仪器方法设置。首次运行方法时，默认设置是一个很好的起点，色谱分离效果通常都不错。但是，要获得理想的分离效果，可能需要对检测器参数做一些调整。本研究以测定布洛芬片剂中有机杂质的USP方法为例，展示了如何通过优化参数来提升配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的灵敏度。灵敏度定义为USP信噪比。该方法是使用UV检测(254 nm)的反相等度方法。其系统适应性标准包括5 ppm 布洛芬溶液的S/N不低于(NLT) 10。

本研究对配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的以下几项设置进行优化，并评估了它们对灵敏度的影响：
：数据采集速率、滤波器时间常数、狭缝宽度、分辨率和吸光度补偿。

- 数据采集速率：数据采集速率定义了检测器采集数据的速率，以赫兹(Hz)为单位。数据采集速率的设置应当能产生可重现的峰面积和保留时间。数据采集速率过低会导致峰形不良；数据采集速率过高可能导致噪音增大。数据采集速率通常设置为在色谱图中最窄的峰内采集25-50个数据点。配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的数据采集速率可设置为1-160Hz。默认数据采集速率为10 Hz。
 - 滤波器时间常数：滤波器时间常数是滤除高频噪音的过滤条件。时间常数越快，峰越窄，滤除的基线噪音越少。较慢的时间常数会导致峰展宽并降低基线噪音。配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System有以下几个滤波器时间常数选项：No filter（不使用滤波器）、Slow（慢）、Normal（正常）、Fast（快）和Custom（自定义）。默认设置为Normal（正常）。
 - 狹缝宽度：狭缝宽度是配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System特别新增的参数。狭缝宽度决定了到达光电二极管阵列传感器的光通量，而光通量会影响分辨率。狭缝宽度越窄，分辨率就越高。狭缝宽度越大，噪音越低，灵敏度越高，但分辨率会降低。配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System具有可调狭缝，其宽度可调整为35 μm、50 μm、100 μm或150 μm。检测器的默认狭缝宽度为50 μm。
 - 分辨率：分辨率设置将决定带宽，而带宽是指计算特定波长的吸光度时平均二极管响应数量。分辨率设置得越大，噪音就越低，信噪比更高，但同时也会降低谱图分辨率并可能影响线性。配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的分辨率可设置范围为1-20 nm。默认值为4 nm。
 - 吸光度补偿：配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的吸光度补偿功能可减少与波长无关的噪音。其工
-

作原理是由用户指定一个分析物吸光度极低甚至没有吸光度的波长范围，仪器在该范围内采集吸光度数据并计算平均吸光度，然后从吸光度值中减去这个平均值。配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System的吸光度补偿默认设置为Off（关闭）。

我们使用USP方法分别评估和优化了这几项检测器设置。使用优化后的设置创建方法，并将所得结果与使用默认设置获得的结果做了比较。

实验

方法：测定布洛芬片剂中有机杂质的USP方法

样品说明

灵敏度溶液的制备

使用购自MilliporeSigma的布洛芬制备灵敏度溶液。用流动相将布洛芬连续稀释至最终浓度0.005 mg/mL。

LC条件

LC系统：	配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System
检测：	配备10 mm流通池的PDA检测器
波长：	254 nm
采集速率：	多个速率
样品瓶：	LCGC认证12 × 32 mm螺纹口透明玻璃样品瓶，配有瓶盖和预开口PTFE/硅胶隔垫，容积2 mL，100个/包 (p/n: 186000307C)
色谱柱：	XBridge™ BEH™ C ₁₈ , 250 × 4.6 mm; 5 µm (p/n: 186003117)

柱温:	25.0 °C
样品温度:	15.0 °C
进样体积:	10.0 μL
流速:	2.0 mL/min
流动相:	4 g/L氯乙酸溶于水:乙腈(40:60), pH 3.0
梯度:	等度
洗针液:	甲醇:水(90:10)
密封清洗液:	水:乙腈(90:10)

数据管理

色谱数据系统: EmpowerTM色谱数据系统(CDS)

结果与讨论

为了评估PDA设置对检测器噪音和方法信噪比的影响，我们开展了一项对照研究。每次调整一个变量，其他所有设置保留默认值或前一组实验确定的优化值。设计实验顺序是优先评估那些最常被调整或对灵敏度影响较大的参数。

实验顺序如下：数据采集速率、滤波器时间常数、狭缝宽度、分辨率(2D)、吸光度补偿

1. 数据采集速率

采用1、2、10和40 Hz的数据采集速率分析5 ppm布洛芬系统适应性溶液。滤波器时间常数、狭缝宽度、分辨率、吸光度补偿保留默认值。结果如表1所示。基于这些结果，该方法的理想数据采集速率是2 Hz。数据采集速率为2

Hz时，峰上有31个数据点，在目标范围（25-50个数据点）以内。USP信噪比为25，符合方法定义的可接受标准

◦

数据采集速率(Hz)	噪音(µ AU)	峰内数据点数量	USP S/N
1	16	24	25
2	20	31	25
10 (默认)	70	105	7
40	174	346	3

表1. 不同数据采集速率下得到的结果。

2. 滤波器时间常数

确定数据采集速率后，接着评估滤波器时间常数。在2 Hz的数据采集速率下，分别使用Slow（慢）、Normal（正常）、Fast（快）和No filter（不使用滤波器）这几种时间常数设置来分析系统适应性溶液。狭缝宽度、分辨率和吸光度补偿保留默认值。结果见表2。不应用滤波器时，结果不满足S/N的系统适应性标准。使用Slow（慢）滤波器时间常数设置获得的S/N最高。

滤波器时间常数	噪音(µ AU)	USP S/N
Slow (慢)	12	33
Normal (正常, 即默认设置)	20	25
Fast (快)	48	10
No filter (不使用滤波器)	64	6

表2. 使用不同滤波器时间常数得到的噪音和S/N

结果。

3. 狹缝宽度

我们研究了狭缝宽度对灵敏度的影响。分别采用35 µm、50 µm 和 150 µm的狭缝宽度分析5 ppm布洛芬系统适应性溶液。数据采集速率设置为2 Hz，滤波器时间常数、分辨率和吸光度补偿保留默认值。结果（如表4所示）显示，每种狭缝宽度下得到的结果均符合NLT 10的S/N可接受标准。不同狭缝宽度下的S/N只有微小差异。

狭缝宽度 (μm)	噪音 (μAU)	USP S/N
35	23	20
50 (默认)	20	25
150	17	28

表3. 狹缝宽度实验结果。

4. 分辨率

将数据采集速率设置为2 Hz，分别采用1、4、8、12、16和20 nm的分辨率设置分析5 ppm布洛芬系统适应性溶液。滤波器时间常数、狭缝宽度和吸光度补偿保留默认设置。结果如表3所示。总体而言，所有结果均符合NLT 10的S/N可接受标准，且不同分辨率设置下的结果差异很小。

分辨率 (nm)	噪音 (μAU)	USP S/N
1	25	20
4 (默认)	20	25
8	21	24
12	18	28
16	24	23
20	22	26

表4. 分辨率实验结果。

5. 吸光度补偿

本研究评估了吸光度补偿功能对S/N的影响。采用之前优化过的检测器参数（数据采集速率2 Hz；滤波器时间常数设为Slow（慢）；狭缝宽度50 μm ；分辨率设为4 nm），在启用和不启用吸光度补偿的条件下分析系统适应性溶液。用于补偿的波长范围应根据分析物的吸光度谱图范围来选择。本次分析使用默认补偿波长范围310-410 nm进行补偿，分析物在该范围内没有吸光度。吸光度补偿的影响如表5所示。启用吸光度补偿后，观察到噪音减少，S/N增大1.5倍。

数据采集速率 (Hz)	滤波器时间常数	分辨率 (nm)	补偿	狭缝宽度 (μ m)	噪音 (μ AU)	USP S/N
2	Slow (慢)	4	Off (关)	50	12	33
2	Slow (慢)	4	On (开) (310–410 nm)	50	8	51

表5. 启用和不启用吸光度补偿的结果。

基于前文所述的一系列实验，我们对数据采集速率、滤波器时间常数以及是否启用补偿通道等缺省设置做了调整。分辨率和狭缝宽度未作调整，因为它们对方法性能的影响很小。如表6以及图1和图2所示，应用经过优化的检测器设置后，USP S/N增大了7倍。

	数据采集速率 (Hz)	滤波器时间常数	分辨率 (nm)	补偿	狭缝宽度 (μ m)	噪音 (μ AU)	USP S/N
默认	10	Normal (正常)	4	Off (关)	50	70	7
优化后	2	Slow (慢)	4	On (开) (310–410 nm)	50	8	51

表6. 使用默认设置和优化设置得到的结果比较。

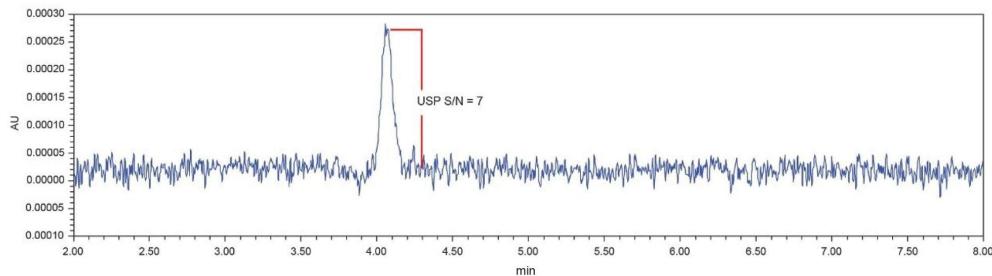


图1. 使用默认检测器设置得到的USP S/N。

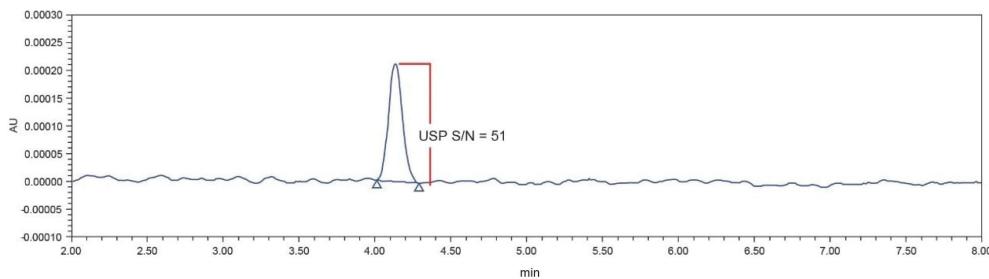


图2. 使用优化后的检测器设置得到的USP S/N。

结论

虽然默认PDA仪器方法设置对于常规HPLC分析通常都适用，但为了优化分离效果，可能需要做一些调整。本研究证明，配备PDA检测器的Alliance iS HPLC System方便用户轻松调整PDA设置，从而获得理想的分离效果。我们以测定布洛芬片剂中有机杂质的USP方法为例，优化了数据采集速率、滤波器时间常数、狭缝宽度、分辨率和吸光度补偿的设置。采用优化设置时的灵敏度相较于采用默认设置时的灵敏度提升了7倍之多。

参考资料

1. Monograph: USP. Ibuprofen Tablets. In USP-NF. Rockville, MD: USP; Dec 1, 2016. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M39890_01_01 <https://doi.org/10.31003/USPNF_M39890_01_01> .
2. Lakshmi Subbaro, Jacquelyn Cole, Rui Chen. Enhancement of UV Detection Sensitivity in SFC Using Reference Wavelength Compensation. Waters Application Note, [720003534](#), 2010.

特色产品

[Alliance iS HPLC System](#) <

[<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html)

Empower Chromatography Data System (CDS) <

[<https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/chromatography-software/empower-software-solutions/empower-cds.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/chromatography-software/empower-software-solutions/empower-cds.html)

720008901ZH, 2025年6月

^

© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私声明](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品经营许可证](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)