参考国标 SN/T 4675.12-2016

采用 TSKgel Phenyl-5PW RP 分析溶菌酶

【基本信息】

溶菌酶（lysozyme）又称胞壁质酶（muramidase）或 N-乙酰胞壁质聚糖水解酶（N-acetylmuramide glycanohydrlase），是一种能水解细菌中黏多糖的碱性酶。溶菌酶主要通过破坏细胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间的 β-1,4 糖苷键，使细胞壁不溶性黏多糖分解成可溶性糖肽，导致细胞壁破裂内容物逸出而使细菌溶解。溶菌酶还可与带负电荷的病毒蛋白直接结合，与 DNA、RNA、脱辅基蛋白形成复合体，使病毒失活。 该酶广泛存在于人体多种组织中，鸟类和家禽的蛋清、哺乳动物的泪、唾液、血浆、乳汁等液体，以及微生物也含此酶，其中以蛋清含量最为丰富。 其中根据其来源的不同，可以将其分为四类，分别是植物溶菌酶、动物溶菌酶、微生物溶菌酶以及蛋清溶菌酶。

中文名称	英文名称	CAS 登录号	相对分子量
溶菌酶	lysozyme	9001-63-2	14000-15000Da

【试样的配制】

取溶菌酶（0.1% 酒石酸溶解）适量，加流动相B溶解并稀释制成每1 ml中各约含5 μg 或 50 μg，作为样品。

【分析条件】

色谱柱：TSKgel Phenyl-5PW RP （7.5 cm×4.6 mm I.D）
流动相：A: 0.2% TFA 50% ACN
B: 0.2% TFA 1% ACN

梯度：

时间/min	流动 A/%	流动 B/%
0	0	100
3	0	100
10	30	70
15	40	60
20	50	50
25	100	0
34	100	0
36	0	100
40	0	100

流速：0.8 mL/min
柱温：30 ℃
紫外波长：280 nm
荧光波长：激发波长（λex）276 nm 发射波长（λem）345 nm

进样量：50.0 μL
样品：溶菌酶 5 μg/mL 以及 50 μg/mL

【分析结果】

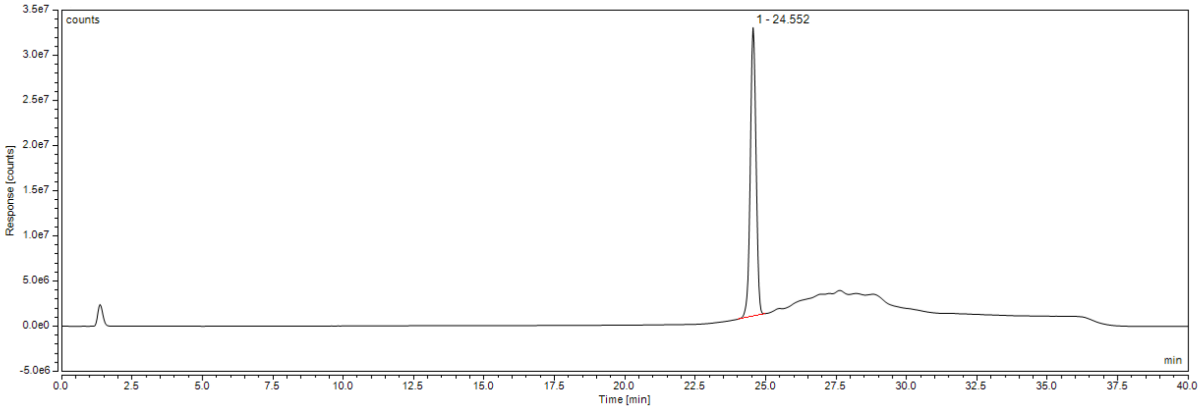

图 1： 溶菌酶 5 μg/mL 荧光检测器分离图谱

Peak No.	Peak Name	Ret.Time min	Rel.Area %	Area counts*min	Height counts	Type	Asym. EP	Resolution (USP)	Plates (USP)
1		24.552	100.00	7571356.5783	31955963.09	BMB*	0.99	n.a.	69842
Maximum			100.00	7571356.5783	31955963.09		0.99	0.00	69842
Minimum			100.00	7571356.5783	31955963.09		0.99	0.00	69842
Sum			100.00	7571356.5783	31955963.09				

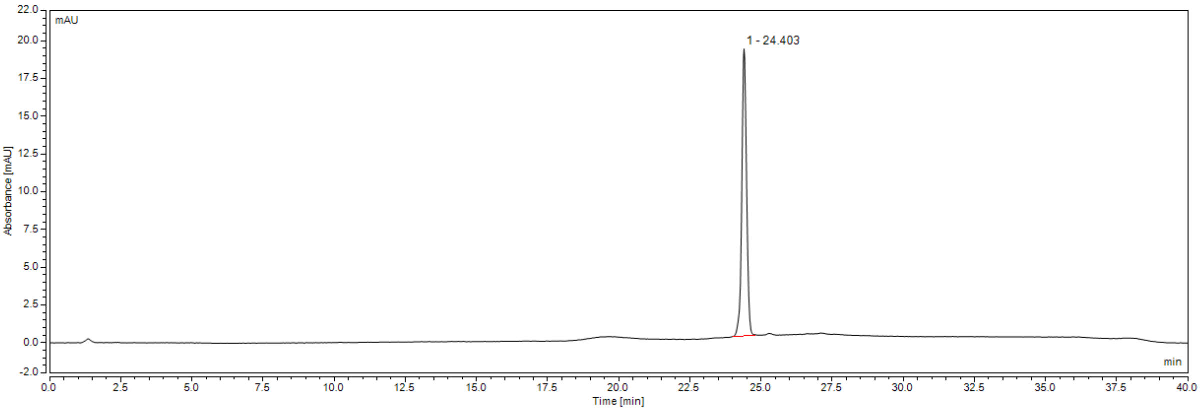

图 2： 溶菌酶 50 μg/mL 紫外检测器分离图谱

Peak No.	Peak Name	Ret.Time min	Rel.Area %	Area mAU*min	Height mAU	Type	Asym. EP	Resolution (USP)	Plates (USP)
1		24.403	100.00	3.6790	19.02	BMB	0.98	n.a.	108059
Maximum			100.00	3.6790	19.02		0.98	0.00	108059
Minimum			100.00	3.6790	19.02		0.98	0.00	108059
Sum			100.00	3.6790	19.02				

【结论】

采用东曹 **TSKgel Phenyl-5PW RP 4.6 mm（I.D.）*75 mm** 柱子，分析溶菌酶，分离效果优秀，达到国家标准的分离要求。