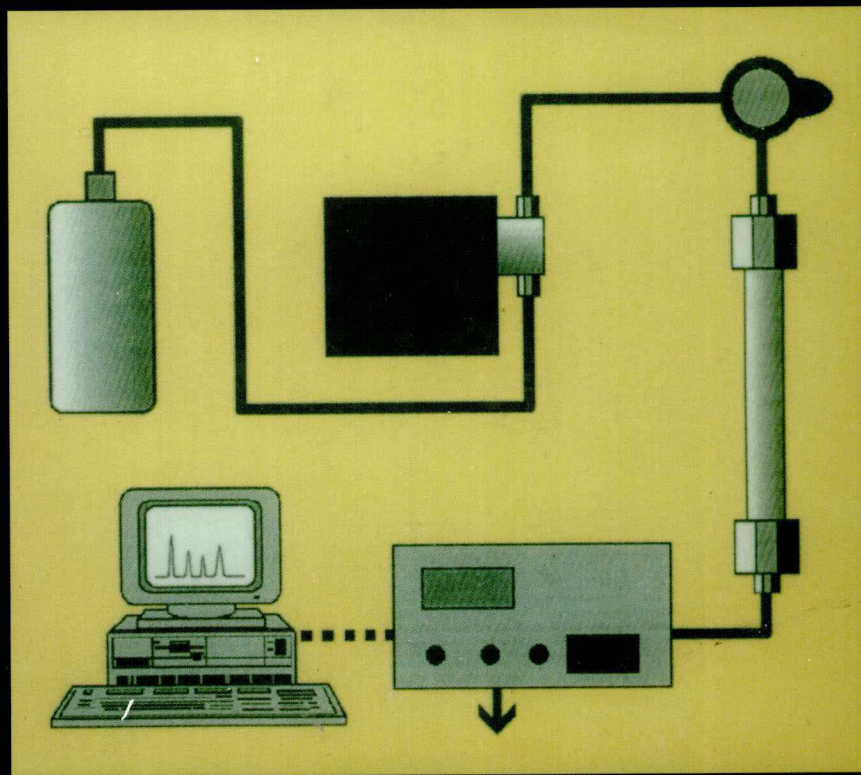


现代液相色谱技术导论

Introduction to Modern Liquid Chromatography

第3版



原著 Lloyd R. Snyder
Joseph J. Kirkland
John W. Dolan

译者 陈小明 唐雅妍

 人民卫生出版社

现代液相色谱技术导论

Introduction to Modern Liquid Chromatography

第3版

原著 Lloyd R. Snyder
Joseph J. Kirkland
John W. Dolan

译者 陈小明 唐雅妍



人民卫生出版社

Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3e

Copyright © 2010 by John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved. This translation published under license.

Originally Published in the English language by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstrasse 12, D-69469 Weinheim, Federal Republic of Germany.

Copies of this book sold without a Wiley sticker on the cover are unauthorized and illegal.

现代液相色谱技术导论 第3版

陈小明等译

中文版权归人民卫生出版社所有。

图字：01-2011-4531

敬告

本书的作者、译者及出版者已尽力使书中的知识符合出版当时国内普遍接受的标准。但医学在不断地发展，随着科学研究的不探索，各种诊断分析程序和临床治疗方案以及药物使用方法都在不断更新。强烈建议读者在使用本书涉及的诊疗仪器或药物时，认真研读使用说明，尤其对于新的产品更应如此。出版者拒绝对因参照本书任何内容而直接或间接导致事故与损失负责。

需要特别声明的是，本书中提及的一些产品名称（包括注册的专利产品）仅仅是叙述的需要，并不代表作者推荐或倾向于使用这些产品；而对于那些未提及的产品，也仅仅是因为限于篇幅不能一一列举。

本着忠实于原著的精神，译者在翻译时尽量不对原著内容做删节。然而由于著者所在国与我国的国情不同，因此一些问题的处理原则与方法，尤其是涉及宗教信仰、民族政策、伦理道德或法律法规时，仅供读者了解，不能作为法律依据。读者在遇到实际问题时应根据国内相关法律法规和医疗标准进行适当处理。

图书在版编目 (CIP) 数据

现代液相色谱技术导论：第3版/（美）施耐德（Snyder, L. R.）等著；陈小明等译. —北京：人民卫生出版社，2012.7

ISBN 978-7-117-15520-5

I. ①现… II. ①施…②陈… III. ①现代液相色谱 IV. ①0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 049649 号

门户网：www.pmph.com 出版物查询、网上书店
卫人网：www.ipmph.com 护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有，侵权必究！

现代液相色谱技术导论

译者：陈小明 唐雅妍

出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-59780011）

地址：北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮编：100021

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线：010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印刷：北京人卫印刷厂

经销：新华书店

开本：889×1194 1/16 印张：28 插页：4

字数：1148 千字

版次：2012 年 7 月第 1 版 2012 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号：ISBN 978-7-117-15520-5/R·15521

定价：98.00 元

打击盗版举报电话：010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

（凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换）

作者为中文版序

I'm excited to know that the third edition of our Introduction to Modern Liquid Chromatography is now available in Chinese. I recently met with one of the translators, Yayan Tang, who with her co-worker, Xiaoming Chen and People's Medical Publishing House, spent the last 8 months at this monumental task. My thanks go out to them, along with others who have helped to make this project come to completion.

I visited China in 2008 to teach some chromatography courses and was privileged to meet many chromatographers in private companies, educational institutions, and government laboratories. I was impressed with the ways you are using HPLC to help solve problems that make the world a better place for us all.

When I was beginning my career, I was asked to proof-read the manuscript for the second edition of this book. During that time I learned more about HPLC than I have at any other time in my life. Over the last 30 years, the Introduction to Modern Liquid Chromatography has become one of my most-used references. In fact, the cover is literally falling off from use! I hope that you will find the contents of this edition as useful to your work.

With best wishes.



John W. Dolan, Ph.D.

October 2011

Amity, Oregon, USA

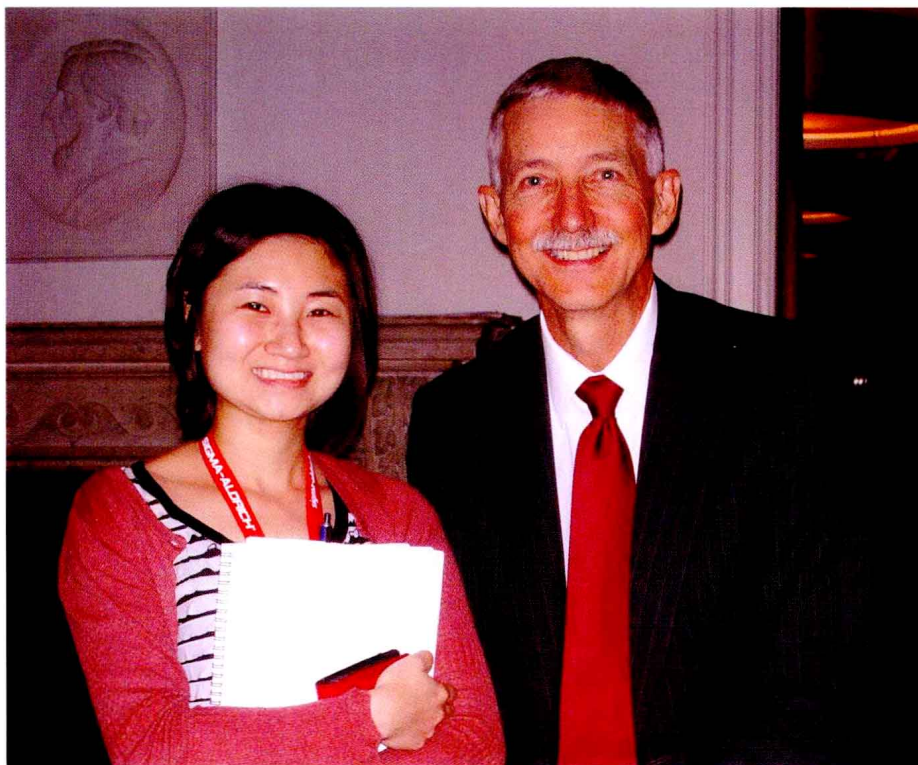
作者为中文版序

很高兴听到我们的书《现代液相色谱技术导论》(第3版)在中国出版的消息。最近在伦敦跟其中一位译者见面了,在此我想对这两位译者(唐雅妍和陈小明)以及其他参与本书翻译工作的相关人员表示感谢,谢谢他们在过去8个月为本书出版工作所作出的努力。也感谢人民卫生出版社将这本书带到中国色谱工作者的手中。

2008年我受邀到中国教授一些色谱法的课程。在此期间我有幸认识了许多企业、教育研究所以及政府实验室的色谱工作者;他们利用HPLC解决问题的方法让我印象深刻。

在我职业生涯的起初,我有幸受邀参与本书第2版的校对工作。在那段时间,我学到了比以往任何时间内更多的HPLC知识。在过去30年,这本《现代液相色谱技术导论》一直是最常用的参考书籍之一。事实上,由于使用太频繁,书的封面都快掉下来了!我衷心希望读者能受益于本书并将其中的知识运用到实际工作中。

谨致良好的祝愿。



John W. Dolan, Ph.D.

2011年10月

Amity, Oregon, USA

唐雅妍与 John W. Dolan

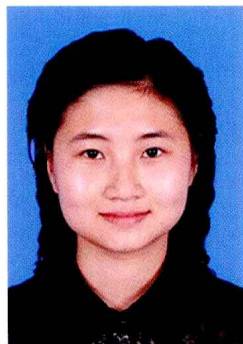
译者简介



陈小明:

毕业于新疆医科大学中医学院,曾经在阿里巴巴集团担任中、英文网站运营资深总监。后赴英国 University of Strathclyde 攻读药物分析硕士学位,获得 Merit Degree,毕业论文入选第二届爱丁堡全英博士论坛优秀论文巡展,随后获取全球知名大学 University of Glasgow 全额奖学金博士,目前攻读基因组、代谢组跨学科分析研究,熟知各种药物和生化分析技术。

联系方式:邮箱:dustinchen@gmail.com 联系电话:00447988969448



唐雅妍:

毕业于广东药学院药学专业,后赴英国 University of Strathclyde 药物研究所攻读药物分析硕士学位,并获得 Distinction Degree。现于全球综合性生物制药企业阿斯利康(AstraZeneca)英国研发总部新药研发中心担任分析研究员。对如何应用各种分析手段辅助药物分子筛选,尤其对色谱学及液质联用等技术的应用具有深刻理解。

联系方式:邮箱:tangyayan@hotmail.com 联系电话:00447780769699

对书中内容有任何疑问,欢迎读者来信或致电。

符号和缩写词汇表

经常使用的符号和缩写

A	在双溶剂组成的流动相(A/B)中比较“弱”的组成溶剂;在RPC中,A-溶剂是水或者水性缓冲液;当然,也指“A类”的硅胶(较早期的,酸性更强的硅胶)
ACN	乙腈
B(%B)	在双溶剂组成的流动相(A/B)中比较“强”的组成溶剂(它以%-体积来计算);在RPC中,B-溶剂是一种有机溶剂,比如说乙腈,当然,也指“B类”硅胶(较新的,酸碱较弱的硅胶;请参阅本书章节 5.2.2.2)
CSP	手性固定-相
CV	变异系数(等于%-相对标准偏差);也指,柱子的体积(请参阅本书章节 13.9)
C ₈ , C ₁₈	反相柱填充物名称,指键合在填充颗粒上的烷基取代基的长度
dc	柱子内径(mm)
dP	柱子-填充颗粒-直径(μm)
F	流动相流速(ml/min)
H	柱子塔板高度(等于 L/N);同时也请参考后面“非常用符号”
HIC	疏水性作用色谱法
HILIC	亲水性作用色谱法
i.d.	柱子或者管线的内径(mm)
IEC	离子-交换色谱法
IPC	离子-对色谱法
k	保留因子(和容量因子 k' 相同);等于 (t _R /t ₀)-1
k*	梯度保留因子;公式(9-5)
L	柱子长度(mm)
LC-MS	液相色谱-质谱
LC-MS/MS	LC-MS 和三重四极杆质谱仪联用
M	分子量(Da)
MeOH	甲醇
MS	质谱
N	柱子塔板数;等式(2-9)
nC	“等于”峰容量,通常是指“有条件的”或者“样品”的峰容量
NPC	正-相色谱法
P	色谱柱的压降(磅/平方英寸);bar 或者大气压=14.7 磅/平方英寸;megaPascal(MPa)=10bar=147 磅/平方英寸;分配系数(请参阅本书章节 6.2)
PC	峰容量;等式(2-30),图 2-26a(等度的);等式 9-20,图 9-20(梯度)
pK _a	酸,碱物质的酸性常数指数;等式(7-2), (7-2a)
RF	在 TLC 中溶质分子的部分迁移;等式(8-6),图 8-8
RI	折光系数
RPC	反相色谱法
R _s	分离度;等式(2-23)
S	log k 对 φ (dlog k/dφ) 作图的斜率;等式(2-26)

SEC	体积排阻色谱法
SPE	固相萃取法
T	温度 (°C)
t_D	滞留时间 (min); 等于 V_D/F
TFA	三氟乙酸
t_G	梯度洗脱时间 (min); 图 9-10
t_0	柱子的死时间 (min); 也是非 - 保留分子的保留时间; 等于 V_m/F ; 等式 (2-4a), (2-7)
T-P	触 - 峰; 图 15-9b
t_R	保留时间 (min); 等式 (2-5)
type-A	较旧, 酸性更强的硅胶 (请参阅本书章节 5.2.2.2)
type-B	较新, 酸性较弱的硅胶 (请参阅本书章节 5.2.2.2)
UV	紫外线吸收
V_D	仪器的滞留体积; 请参阅本书章节 9.2.2.4
V_m	柱子“死 - 体积”; 柱子里面的流动相体积 (ml); 等式 (2-7a)
W	基线峰宽 W ; 图 2-10a
ws	柱子的饱和容量 (g)
wx	溶质的进样量 (g)
α	分离因子; 等式 (2-24a)
$\Delta\phi$	梯度洗脱期间 ϕ 的变量; 图 9-2g
ε	NPC 中的流动相溶剂强度; 等式 (8-2), (8-5); 也指电介常数
ε^0	NPC 中纯溶剂的 ε 值
ϕ	B 溶剂的体积分数
ϕ^*	当峰带到达柱子中点时, 溶质在梯度洗脱期间的 ϕ 值
ν	较低的速度; 等式 (2-18)
η	流动相粘度 (cP)

非 - 常用的 (或较少一般被理解的) 符号和缩写

A	吸收度
A	柱子氢键合酸度; 等式 (5-3)
AAPS	全美药物科学家协会
AIQ	分析仪器质量资格 (或验证)
AMT	分析方法转移
AOAC	官方分析化学师协会
APCI	大气压化学电离法
API	活性药物成分 (也指大气压电离法)
As	峰的非对称因子; 图 2-16a
AU	吸光度单位 (UV 检测)
b	基础梯度洗脱斜率参数; 等式 (9-4)
B	柱子氢键的碱性; 等式 (5-3)
C	柱子的离子交换容量或者静电作用; 等式 (5-3)
CCD	化学组成分布
CD	环糊精
CDR	手性衍生试剂
CE	毛细管电泳法
CEC	毛细管电色谱法
CCC	逆流色谱法
CLND	氮化学发光检测器
C_m	流动相中溶质的浓度
CMPA	手性流动相添加剂
CS	手性选择剂

C-S	色谱柱切换
C_s	固定相里的溶质浓度
Da	Dalton (分子量)
DAD	二极管阵列检测器
D_m	分子扩散系数 (cm^2/s); 等式 (2-19)
DMSO	二甲亚砜
EC	电化学
EDTA	乙二胺四乙酸
ELSD	蒸发光散射检测器
EPA	US Environmental Protection Agency
FDA	US Food and Drug Association
F_{opt}	优化流动相流速 (ml/min) (请参阅本书章节 2.4.1)
F_s	柱子 - 比较的功能; 等式 (5-4)
$F_s (-C)$	非离子化样品的 F_s 值; 等式 (6-3)
G	梯度压缩因子; 等式 (9-15a)
H	柱子疏水性; 等式 (5-3)
H-B	氢键
HFBA	七氟丁酸
h	较低的塔板高度; 等式 (2-18)
hp	峰高
HP-TLC	高效薄层色谱法
HVAC	加热, 通风, 和空调系统
ICH	International Conference on Harmonization
ILE	固 - 液萃取法
IMAC	固态金属亲和色谱法
IPA	异丙醇
IQ	安装验证
ISO	International Organization for Standardization
IS	内标物
K	等于 (C_s/C_m)
K_D	SEC 分配系数; 图 13-39; 也指 Nernst 分配定律系数; 等式 (16-1)
k_{EB}	乙苯的 k 值 (不同的柱子, 标准条件); 等式 (5-3)
k_w	水作为流动相时, 溶质 X 的外推 k 值; 等式 (2-26)
k_0	梯度洗脱开始时溶质的 k 值
LCxLC	全二维液相色谱法
LLE	液 - 液萃取法
LOD	检测限 (有时成为最低检测限, LLOD)
LOQ	定量限 (有时成为最低定量限, LLOQ)
mAU	毫 - 吸光度单位 (UV)
MIP	分子印迹聚合物
MTBE	甲基叔丁基醚
m/z	质荷比
NARP	非水反相色谱
NP	正相 (只对于 CSP 分离而言)
MWD	分子质量分布
N^*	梯度洗脱中的有效塔板数
O.d.	色谱柱或管线的外径 (in.)
OQ	运行验证
P'	溶剂的总体极性 (章节 2.3.2)
PAH	多环芳烃
PDA	光电二极管 (检测器); 也称 DAD

PEEK	聚醚醚酮(用作接头和管线的材料)
PFE	加压流体萃取
PTFE	聚四氟乙烯
PVC	聚氯乙烯
PO	极性 - 有机的(只对于 CSP 分离而言, 章节 14.6.1)
PQ	性能验证
QA	质量保证
QC	质量控制
QuEChERS	快速, 容易, 便宜, 有效, 耐受和安全; 章节 16.6.7.5
R	流动相中溶质分子的分率
R+	阳离子 IPC 试剂, 或者阴离子交换柱上的阳离子基团
R-	阴离子 IPC 试剂, 或者阳离子交换柱上的阴离子基团
R ±	指 R+ 或 R-
RAM	限进媒介
RP	反相(只对于 CSP 分离而言)
RSD	相对标准偏差
S*	色谱柱的空间作用; 等式 (5-3) (固定相对大体积溶质的渗透的阻止)
SAX	强阴离子交换色谱法
SCX	强阳离子交换色谱法
SD	标准偏差
SDME	单滴微萃取
SE	标准误差
SFC	超临界流体色谱法
SLE	固相支撑的液液萃取
S/N	信噪比
SOP	标准操作程序
<i>TF</i>	峰 - 拖尾因子 <i>TF</i> ; 图 2-16a
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱法
TOF	飞行时间
Tk	温度 (K); 等式 (2-8)
USP	美国药典
ux	溶质迁移的速度 (mm/min)
U-HPLC	超高速高效液相色谱法
ULOQ	定量上限(或只是上限)
V_G	梯度体积(梯度时间 $\times$ 流速) (ml)
V_M	梯度混合体积 (ml); 章节 9.2.2.4
V_P	峰体积 (ml)
V_R	溶质保留体积 (ml); 等于 t_{RF}
V_S	样品体积; 等式 (2-29a); 也可指色谱柱内的固定相体积 (ml)
WAX	弱阴离子交换色谱法
WCX	弱阳离子交换色谱法
W_0	不存在柱外峰展宽时的 W 的值(章节 2.4.1)
$W_{1/2}$	半峰高的峰宽; 章节 2.10a
X	摩尔分数
α^*	梯度洗脱中的分离因子
α	溶质的氢键酸性; 等式 (5-3)
α_H	流动相的氢键酸性; 等式 (2-36)
β_2	流动相的氢键碱性(章节 2.3.1); 等式 (2-36)

β	溶质的氢键碱性;等式(5-3)
Δt_R	溶质的不同梯度洗脱时间(min);图 9-5
ϵ	双电常数 ϵ ;也可以表示摩尔吸光常数
ϵ_e	颗粒间多孔性
ϵ_i	颗粒内多孔性
ϵ_T	色谱柱的总体多孔性
ϕ_f	梯度分离中 ϕ 的终值;等式(9-2a)
ϕ_0	梯度分离中 ϕ 的初值;等式(9-2a)
η	溶质的疏水性;等式(5-3)
κ	溶质 - 有效的离子电荷;等式(5-3)
π	流动相的双极性;章节 2.3.1
σ	高斯曲线的标准偏差;等式(2-9b)
σ	溶质的“庞大”;等式(5-3)
Σ	流动相的 α, β 和 π 值的总和(章节 2.3.1)
ψ	相比;等于 V_s/V_m
u	流动相的线性速度(mm/min)
u_e	流动相的间隙流速(mm/min); $u_e > u$

目 录

第一章 简介	1	2.7.1 色谱柱平衡	37
1.1 背景信息	1	2.7.2 梯度洗脱	37
1.1.1 什么是 HPLC?	1	2.7.3 峰容量和二维分离	37
1.1.2 HPLC 能用作什么?	2	2.7.4 峰跟踪	38
1.2 HPLC 的历史简介	4	2.7.5 二次平衡	39
1.3 HPLC 的一些替代技术	6	2.7.6 色谱柱切换	39
1.3.1 气相色谱法 (GC)	6	2.7.7 基于溶质的结构预测保留时间	40
1.3.2 薄层色谱法 (TLC)	6		
1.3.3 超临界流体色谱法 (SFC)	6	第三章 设备	44
1.3.4 毛细管电泳法 (CE)	6	3.1 介绍	44
1.3.5 逆流色谱法	7	3.2 储液瓶和溶剂的过滤	45
1.3.6 HPLC 的特殊形式	7	3.2.1 储液瓶的设计和使用	45
1.4 HPLC 的其他信息资料	7	3.2.2 流动相的过滤	46
1.4.1 书籍	7	3.3 流动相的脱气	46
1.4.2 期刊	7	3.3.1 脱气的要求	46
1.4.3 综述	7	3.3.2 氦气喷洗	47
1.4.4 短期课程	8	3.3.3 真空和管内脱气	47
1.4.5 互联网	8	3.4 管线和接头	48
		3.4.1 管线	48
第二章 基础概念和色谱分离的控制	11	3.4.2 接头	49
2.1 介绍	11	3.5 泵系统	52
2.2 色谱分析的过程	11	3.5.1 往复式泵	52
2.3 保留	13	3.5.2 在线混合	53
2.3.1 保留因子 k 和色谱柱的死时间 t_0	13	3.5.3 梯度系统	55
2.3.2 分离条件和样品组成的角色	15	3.5.4 特殊应用	55
2.4 峰宽和柱塔板数 N	18	3.6 自动进样器	56
2.4.1 N 对色谱条件的依赖性	19	3.6.1 六通口进样阀	56
2.4.2 峰形	25	3.6.2 自动进样器的设计	57
2.5 分离度和方法建立	26	3.6.3 进样量大小的影响	60
2.5.1 优化保留因子 k (等式 2-24 中的 a 项)	28	3.6.4 阀门的其他应用	61
2.5.2 优化选择性 α (等式 2-24 中的 b 项)	29	3.7 色谱柱恒温箱	62
2.5.3 优化色谱柱的塔板数 N (等式 2-24 中的 c 项)	30	3.7.1 温度控制的要求	62
2.5.4 方法建立	32	3.7.2 恒温箱的设计	63
2.6 进样量大小的影响	34	3.8 数据系统	63
2.6.1 体积超载: 样品体积对分离效果的影响	34	3.8.1 实验的辅助	63
2.6.2 质量超载: 样品重量对分离效果的影响	35	3.8.2 系统控制	64
2.6.3 避免进样过多所引起的问题	36	3.8.3 数据采集	64
2.7 其他相关的问题	36	3.8.4 数据处理	64
		3.8.5 报告生成	65

3.8.6 监管的功能	65	5.3.1 “键合”固定相	106
3.9 柱外效应	65	5.3.2 其他基于有机物的固定相	108
3.10 设备维护	65	5.3.3 柱子的功能性(配合基种类)	109
3.10.1 系统性能测试	65	5.4 色谱柱的选择性	110
3.10.2 预防性维护	68	5.4.1 反相柱(RPC)选择性的基础	110
3.10.3 维修	70	5.4.2 柱子重现性和“等同的”柱子	114
第四章 检测器	73	5.4.3 正交分离	115
4.1 介绍	73	5.4.4 柱子选择性的其他应用	115
4.2 检测器的特征	74	5.5 色谱柱的硬件	116
4.2.1 一般设计	74	5.5.1 柱子接头	116
4.2.2 检测技术	75	5.5.2 柱子配置	116
4.2.3 信号、噪声、漂移和分析精确度	75	5.6 色谱柱的填充方法	117
4.2.4 检测限	77	5.6.1 干填充法	117
4.2.5 线性	78	5.6.2 硬颗粒的匀浆填充法	117
4.3 各类检测器的介绍	78	5.6.3 软凝胶	118
4.4 UV-可见光检测器	79	5.7 柱子的规格	118
4.4.1 固定波长检测器	80	5.7.1 生产标准	118
4.4.2 可变波长检测器	80	5.7.2 柱子塔板数	119
4.4.3 二极管阵列检测器	80	5.8 色谱柱的处理	120
4.4.4 一般 UV 检测器的特征	81	第六章 中性样品的反相色谱法	124
4.5 荧光检测器	82	6.1 介绍	124
4.6 电化学(安培)检测器	83	反相色谱法的简单历史回顾	125
4.7 放射性检测器	84	6.2 保留	125
4.8 电导检测器	85	6.2.1 溶剂强度	126
4.9 氮化学发光检测器	85	6.2.2 反相色谱的保留过程	126
4.10 手性检测器	86	6.3 选择性	128
4.11 示差折光检测器	87	6.3.1 溶剂强度选择性	128
4.12 光散射检测器	88	6.3.2 溶剂类型选择性	130
4.12.1 蒸发光散射检测器(ELSD)	88	6.3.3 温度选择性	131
4.12.2 凝结核光散射检测器(CNLS)	89	6.3.4 色谱柱的选择性	133
4.12.3 激光光散射检测器(LLSD)	89	6.3.5 异构体分离	133
4.13 电晕放电检测器(CAD)	90	6.3.6 其他的选择性考量	135
4.14 质谱检测器(MS)	90	6.4 方法建立和优化选择性的策略	139
4.14.1 接口	90	6.4.1 多变量优化	140
4.14.2 四极杆和离子阱	91	6.4.2 优化色谱柱的条件	143
4.14.3 其他质谱检测器	92	6.5 非水性反相色谱法	144
4.15 其他的联用检测器	92	6.6 特殊问题	145
4.15.1 (傅里叶变换)红外光谱仪(FTIR)	93	6.6.1 极性很强的样品保留较弱	145
4.15.2 核磁共振(NMR)	93	6.6.2 色谱峰拖尾	145
4.16 样品衍生化和反应检测器	94	第七章 离子样品:反相、离子对和离子 交换色谱法	148
第五章 色谱柱	97	7.1 介绍	148
5.1 介绍	97	7.2 酸碱平衡和反相保留	148
5.2 色谱柱载体	97	7.2.1 缓冲液的选择	152
5.2.1 颗粒特征	98	7.2.2 pK_a 与化合物结构的函数关系	154
5.2.2 硅胶载体	99	7.2.3 有机溶剂和温度对流动相 pH 和 样品 pK_a 值的影响	155
5.2.3 多孔聚合物	102	7.3 反相色谱(RPC)对离子化合物的分离	155
5.2.4 整体柱	103	7.3.1 调控保留时间	156
5.2.5 其他无机颗粒	104		
5.3 固定相	105		

7.3.2 控制选择性	156	9.2.1 色谱柱条件改变的影响	203
7.3.3 方法的建立	160	9.2.2 梯度洗脱条件改变的影响	204
7.3.4 特殊的问题	160	9.2.3 “非常规”的样品	209
7.4 离子对色谱法 (IPC)	161	9.2.4 定量测定的关系	210
7.4.1 保留的基本原理	162	9.3 方法建立	212
7.4.2 方法建立	165	9.3.1 起始的梯度分离	212
7.4.3 特殊问题	168	9.3.2 优化 k^*	216
7.5 离子交换色谱法 (IEC)	169	9.3.3 优化梯度选择性 α^*	216
7.5.1 保留的基本原理	170	9.3.4 优化梯度范围	216
7.5.2 反离子的角色	170	9.3.5 分段(非线性)洗脱	217
7.5.3 流动相的 pH	171	9.3.6 优化色谱柱的塔板数 N^*	217
7.5.4 IEC 柱	171	9.3.7 测量色谱柱的必要平衡时间	217
7.5.5 其他条件的角色	171	9.3.8 方法的重现性	218
7.5.6 方法建立	171	9.3.9 色谱峰容量和快速分离	219
7.5.7 碳水化合物分离	172	9.3.10 全面的二维 HPLC	222
7.5.8 混合模式的分离	172	9.4 大分子的分离	225
第八章 正相色谱	175	9.5 其他分离模式	226
8.1 简介	175	9.5.1 理论	226
8.2 正相色谱的保留行为	176	9.5.2 正相色谱法 (NPC)	226
8.2.1 理论	177	9.5.3 亲水作用色谱法 (HILIC)	226
8.2.2 B 溶剂和 %B 对溶剂强度的影响	180	9.5.4 离子交换色谱法 (IEC)	227
8.2.3 以 TLC 的数据预测 NPC 的保留 行为	180	9.6 问题	228
8.3 选择性	182	9.6.1 溶剂混合	228
8.3.1 溶剂强度的选择性	182	9.6.2 鬼峰	228
8.3.2 溶剂类型的选择性	182	9.6.3 基线漂移	228
8.3.3 温度的选择性	184	第十章 计算机辅助的方法开发	231
8.3.4 色谱柱的选择性	184	10.1 介绍	231
8.3.5 异构体的分离	186	10.1.1 计算机模拟的基础和历史	231
8.4 方法建立的总结	187	10.1.2 什么时候使用计算机模拟	233
8.4.1 NPC 方法建立的初始条件:流动相 强度和色谱柱类型的选择	188	10.2 计算机模拟软件	234
8.4.2 选择性优化的策略	189	10.2.1 DryLab 操作	234
8.4.3 NPC 方法建立示例	189	10.2.2 梯度优化	235
8.5 NPC 应用的常见问题	191	10.2.3 其他特点	235
8.5.1 重现性不佳	191	10.2.4 色谱峰跟踪	238
8.5.2 溶剂分层和平衡时间过长	191	10.2.5 计算机模拟软件的来源	239
8.5.3 色谱峰拖尾	192	10.3 其他方法建立的软件	239
8.6 亲水作用色谱法	192	10.3.1 溶质保留和分子结构	239
8.6.1 保留机制	192	10.3.2 溶质 pK_s 值与分子结构	239
8.6.2 色谱柱	193	10.3.3 反相色谱柱的选择	239
8.6.3 亲水作用色谱方法建立	193	10.3.4 用于方法建立的专家系统	239
8.6.4 亲水作用色谱的常见问题	194	10.4 计算机模拟与方法建立	239
第九章 梯度洗脱	197	10.4.1 举例 1: 药物混合物的分离	240
9.1 引言	197	10.4.2 举例 2: 方法建立的不同策略	240
9.1.1 使用梯度洗脱的其他原因	198	10.4.3 验证方法的耐受性	241
9.1.2 梯度的形状	199	10.4.4 总结	241
9.1.3 等度洗脱和梯度洗脱的相似之处	199	第十一章 定性与定量分析	244
9.2 实验条件及它们对分离的影响	202	11.1 介绍	244
		11.2 信号测量	244
		11.2.1 积分操作	244

11.2.2 保留	247	12.10 总结	274
11.2.3 峰的大小	248		
11.2.4 误差的来源	248	第十三章 生物化学与合成聚合物的分离	277
11.2.5 检测限	250	13.1 生物大分子	277
11.3 定性分析	251	13.2 分子的结构与构象	277
11.3.1 保留时间	252	13.2.1 肽类和蛋白质(多肽)	278
11.3.2 在线定性分析	252	13.2.2 核酸	280
11.4 定量分析	253	13.2.3 碳水化合物	281
11.4.1 校正	253	13.2.4 病毒	281
11.4.2 痕量分析	258	13.3 生物分子高效液相色谱的特殊考虑	281
11.5 总结	258	13.3.1 色谱柱的特性	283
第十二章 方法验证	260	13.3.2 蛋白质结构对色谱行为的影响	284
12.1 前言	260	13.4 肽类和蛋白质的分离	285
12.2 术语及定义	261	13.4.1 反相色谱法(RPC)	285
12.2.1 准确度	262	13.4.2 离子交换色谱(IEC)和相关技术	291
12.2.2 精确度	262	13.4.3 疏水性相互作用色谱(HILIC)	297
12.2.3 专属性	263	13.4.4 亲水作用色谱(HILIC)	298
12.2.4 检测限及定量限	263	13.4.5 多维液相色谱(MDLC)在蛋白质 组学上的应用	300
12.2.5 线性及范围	263	13.5 核苷酸分离	301
12.2.6 耐受性	264	13.5.1 阴离子交换色谱	301
12.3 系统适应性	264	13.5.2 反相色谱	302
12.4 文件	265	13.5.3 疏水作用色谱分析法	304
12.4.1 确证草案	265	13.6 分离碳水化合物	305
12.4.2 检测方法	265	13.6.1 亲水作用色谱	305
12.4.3 确证报告	266	13.6.2 离子对分配色谱	306
12.5 不同药品分析方法的确证	266	13.6.3 高效阴离子交换色谱	306
12.5.1 第一类方法	266	13.7 病毒的分离	306
12.5.2 第二类方法	266	13.8 尺寸排阻色谱法(SEC)	308
12.5.3 第三类方法	267	13.8.1 尺寸排阻色谱法的保留过程	308
12.5.4 第四类方法	267	13.8.2 凝胶过滤色谱柱	309
12.6 生物分析方法	267	13.8.3 凝胶过滤的流动相	310
12.6.1 参考标准物的制备	267	13.8.4 操作的考虑因素	310
12.6.2 生物分析法的建立与确证	267	13.8.5 SEC 的优点和局限性	311
12.6.3 生物分析法常规应用	269	13.8.6 SEC 的应用	311
12.6.4 生物分析法文件	269	13.9 生物大分子的大规模纯化	312
12.7 分析方法的移交(AMT)	269	13.9.1 背景	312
12.7.1 分析方法移交选项	270	13.9.2 重组人胰岛素的生规模度的纯化	312
12.7.2 AMT 精要	271	13.9.3 制备液相色谱分离蛋白质的一般 要求	315
12.7.3 AMT 潜在缺陷	272	13.10 合成聚合物	315
12.8 方法调整或方法修正	272	13.10.1 背景	315
12.8.1 pH 的调试	273	13.10.2 聚合物的分析技术	316
12.8.2 缓冲盐溶液的浓度	273	13.10.3 聚合物分析的液相色谱模式	317
12.8.3 流动相组成成分的比例	273	13.10.4 二维色谱分离聚合物	319
12.8.4 紫外可见光检测器的波长	274		
12.8.5 温度的调节	274	第十四章 对映异构体的分离	325
12.8.6 柱长、直径和颗粒大小的调整	274	14.1 引言	325
12.9 质量控制和质量保证	274	14.2 背景和定义	325
12.9.1 质量控制	274	14.2.1 异构和手性	326
12.9.2 质量保证	274		

14.2.2 手性的识别和对映异构体的分离	327	16.3.3 过滤	373
14.3 间接方法	327	16.4 液体样品的制备	374
14.4 直接方法	329	16.5 液-液萃取	374
14.4.1 手性流动相-添加物模式(CMPA)	329	16.5.1 理论	374
14.4.2 手性固定相模式(CSP)	330	16.5.2 实践	375
14.4.3 手性识别的原则	331	16.5.3 问题	376
14.5 色谱峰的展宽和拖尾	332	16.5.4 液-液萃取的特殊方法	376
14.6 手性固定相和它们的特征	332	16.6 固相萃取	377
14.6.1 基于多糖的 CSPs	332	16.6.1 SPE 和 HPLC 比较	377
14.6.2 合成聚合物 CSPs	336	16.6.2 使用 SPE	377
14.6.3 蛋白质相	338	16.6.3 SPE 的仪器	378
14.6.4 基于环糊精的 CSPs	341	16.6.4 SPE 的工具	379
14.6.5 大环抗生素 CSPs	342	16.6.5 SPE 方法建立	380
14.6.6 手性冠醚 CSPs	346	16.6.6 SPE 方法建立的例子:从人血浆中分离 沙丁胺醇	381
14.6.7 供体-受体相	346	16.6.7 SPE 中的特殊问题	383
14.6.8 手性离子交换剂	348	16.7 样品制备中的膜技术	385
14.6.9 手性配体-交换 CSPs	350	16.8 固体样品的制备方法	385
14.7 热力学的考虑	350	16.8.1 传统萃取方法	385
14.7.1 溶质-选择剂结合的热力学问题	350	16.8.2 现代固体萃取方法	387
14.7.2 对映异构体直接色谱分离法的热力学 问题	351	16.9 色谱柱的切换	388
14.7.3 位点选择性的热力学问题	351	16.10 生物色谱法的样品配备	388
第十五章 制备色谱	357	16.11 LC-MS 的样品配备	389
15.1 引言	357	16.12 应用于 HPLC 的衍生化技术	390
15.1.1 色谱柱超载及其后果	357	第十七章 故障排除	395
15.1.2 分离的规模	358	快速修复	395
15.2 制备-LC 分离的装置	359	17.1 前言	395
15.2.1 色谱柱	359	17.2 如何阻止问题的产生	396
15.2.2 样品引入	359	17.2.1 系统表现测试	396
15.2.3 检测器	360	17.2.2 周期性的维护	396
15.2.4 试样收集	361	17.2.3 系统适应性测试	396
15.2.5 产品回收(流动相的去除)	361	17.2.4 历史记录	397
15.3 等度洗脱	362	17.2.5 建议和技巧	397
15.3.1 样品重量和分离	362	17.3 故障分割的策略	399
15.3.2 触-峰分离	363	17.3.1 划分与征服	399
15.4 严重超载的分离	366	17.3.2 简易的与有效的	400
15.4.1 回收率与纯度	366	17.3.3 每次只改变一个变量	400
15.4.2 方法建立	366	17.3.4 解决重现性的问题	400
15.5 梯度洗脱	368	17.3.5 单元组件的替换	400
15.5.1 等度和梯度制备-LC 的比较	368	17.3.6 还原	400
15.5.2 梯度制备-LC 的方法建立	369	17.4 HPLC 故障的常见特征	400
15.6 大规模分离	370	17.4.1 漏泄	400
第十六章 样品的制备	371	17.4.2 非正常的压力	404
16.1 引言	371	17.4.3 保留时间的变动	406
16.2 样品的类别	372	17.4.4 峰面积	408
16.3 固体和半固体样品的初步处理	373	17.4.5 其他与色谱有关的故障	409
16.3.1 样品颗粒的减小	373	17.4.6 系统表现测试的解析	417
16.3.2 样品的干燥	373	17.5 故障排除的表格	421

附录 I HPLC 溶剂的特点	427	I.3 溶剂安全性	429
I.1 溶剂 - 检测器兼容性	427		
I.1.1 UV 检测	427	附录 II 缓冲流动相的制备	432
I.1.2 RI 检测器	427	II.1 操作顺序	432
I.1.3 MS 检测器	427	II.2 常用缓冲液的制法	432
I.2 溶剂的极性与选择性	429		