

高效液相色谱法 分析中药成分手册

赵陆华 主编

中国医药科技出版社

R221
Z44

中国医药出版社
北京

101209

高效液相色谱法分析中药成分手册

赵陆华 主编
李丰文 朱兴祥 副主编
安登魁教授 主审

中国医药科技出版社



登记证号:(京)075号

内 容 提 要

高效液相色谱(HPLC)分析技术在中药成分分析方面应用日趋广泛,已成为控制中药质量的重要手段之一。本手册分上、下两篇,上篇共分四章24节,介绍了HPLC的一些基础知识和样品的预处理方法,下篇侧重介绍了80年代以来国内外学者对130余种中药成分的HPLC分析,除介绍每一种中药成分,结构外,重点介绍了各方法的色谱条件,有关参数及样品分析方法等。

本手册供从事中药新药开发,药品检验以及在基层从事HPLC分析,研究中药成分的同志参考。

高效液相色谱法分析中药成分手册

赵陆华 主编

李丰文 朱兴祥 副主编

安登魁教授 主审

*

中国医药科技出版社 出版

(北京西直门外北礼士路甲38号)

天津信达新技术发展公司 激光照排

天津宝坻第二印刷厂印刷

全国各地新华书店经销

开本 787×1092 1/16 印张 42.75

字数 1022 千字 印数 1-1500

1994年11月第1版 1994年11月第1次印刷

· ISBN 7-5067-0955-4/R · 0848

定价:88.00元

前 言

近几年来高效液相色谱(HPLC)分析技术已成为分析仪器中发展较快的一种方法,和其它分离方法相比 HPLC 具有柱效高、灵敏度高、分离速度快、适应范围广、重复性好和操作方便等优点。目前其应用范围已大大超过气相色谱(GC)。在 1991 年全国药物分析学术文报告会(武汉)上,HPLC 法在交流的论文中占三分之一。其应用范围已从以合成药物分析为主,发展到对中药成分分析、体液中药物的分析。特别是在中药成分分析方面,HPLC 的应用日趋广泛,不仅限于含量测定、品种的鉴别和分类以及分离、制备纯化合物,还用于中药成分稳定性和加工炮制方法、药材部位、产地、采收季节和贮存条件等各个方面的研究。应用 HPLC 分析中药成分已成为控制中药质量的重要手段之一。在含量测定方面几乎各种结构类型的中草药活性成分均有使用 HPLC 测定含量的报道;许多用薄层色谱不能分离的化合物,而用 HPLC 却得到了很好的分离,如在五味子的研究中,用经典柱色谱法所得到的有效单体五味子酯甲,经用薄层色谱检验为单一斑点,但药理毒性实验不稳定。经用 HPLC 法对该有效单体样品分离后,发现五味子酯甲中还混有少量的酯乙、酯丙两种杂质,从而找出了五味子有效单体样品药理毒性实验不稳定的原因;在植物分类方面,经典方法绝大多数以繁殖器官作为分类的依据,HPLC 法则是以营养器官所含化学成分的差别来区别植物。如用 HPLC 鉴定五种香茶菜属植物方法简便,适用于大量收购叶片生药时的品种鉴定。

编著者发表了近 20 篇 HPLC 分析中药成分的文章,曾收到国外同行多封索取有关中药的 HPLC 分析条件和数据的信件,从而萌发了我们编写此手册的设想。本手册上篇共分四章 24 节,介绍了 HPLC 的一些基础知识和样品的预处理方法。下篇为本手册的重点,侧重介绍了 80 年代以来国内外学者对 130 余种中药成分的 HPLC 分析。附录列出了各国标准筛目数与网孔直径,以便读者查阅。

此手册有利于从事中药新药开发,药品检验以及在基层从事 HPLC 分析、研究中药成分的同志参考。

本手册蒙安登魁教授主审,在编写过程中安登魁教授、楼凤昌教授均提出了许多有益的建议,在此一并致谢。

由于我们水平有限,实践经验尚少,加之 HPLC 的技术发展迅速,在中药研究方面应用日益广泛。因此本手册编著时难免有不足和错误之处,深切希望读者不吝指正。

编著者

1992 年 11 月

目 录

上 篇	(1)
第一章 概述	(1)
第一节 色谱法的发展史	(1)
第二节 色谱法的分类	(3)
第三节 高效液相色谱的定义及特点	(4)
第二章 基础知识	(6)
第一节 液相色谱图	(6)
2-1-1 基线	(6)
2-1-2 色谱峰	(6)
2-1-3 色谱峰的类型	(6)
2-1-4 进样标记	(7)
2-1-5 不被滞留的组份峰	(7)
第二节 液相色谱主要参数	(8)
2-2-1 保留值	(8)
2-2-2 分配系数(K)	(8)
2-2-3 容量因子(k')	(8)
2-2-4 分离系数(α)	(9)
2-2-5 理论塔板数(N)	(9)
2-2-6 分离度(R_s)	(9)
第三节 影响分离度的诸因素	(11)
2-3-1 改变容量因子	(11)
2-3-2 改变分离系数	(11)
2-3-3 改变理论塔板数	(12)
第四节 分离作用及分离过程	(13)
2-4-1 分离作用	(13)
2-4-1-1 吸附作用	(13)
2-4-1-2 分配作用	(14)
2-4-1-3 离子交换作用	(14)
2-4-1-4 分子筛作用	(15)
2-4-2 分离过程	(15)
第五节 固定相	(19)
2-5-1 吸附色谱用固定相	(19)
2-5-2 分配色谱用固定相	(25)
2-5-3 离子交换剂	(27)
2-5-4 排阻色谱柱用填料	(30)
第六节 流动相	(38)

2-6-1 吸附色谱用流动相	(39)
2-6-2 分配色谱用流动相	(41)
2-6-3 离子交换色谱用流动相	(43)
2-6-4 排阻色谱用流动相	(43)
2-6-5 选择流动相的要求	(44)
2-6-6 洗脱方式	(44)
第七节 色谱定性和定量分析	(45)
2-7-1 定性分析	(45)
2-7-1-1 保留值定性法	(46)
2-7-1-2 标准分离度曲线法	(46)
2-7-2 定量分析	(48)
2-7-2-1 峰面积的测量	(49)
2-7-2-2 校正因子	(49)
2-7-2-3 定量计算方法	(50)
第三章 高效液相色谱仪	(53)
第一节 输液系统	(53)
3-1-1 高压泵	(53)
3-1-1-1 恒压泵	(53)
3-1-1-2 恒流泵	(54)
3-1-2 梯度洗脱装置	(55)
第二节 进样系统	(56)
3-2-1 注射器进样	(56)
3-2-2 定量阀进样	(56)
3-2-3 自动进样	(57)
第三节 分离系统	(57)
3-3-1 色谱柱	(57)
3-3-2 柱控温装置	(60)
3-3-3 保护柱	(60)
3-3-4 色谱柱的装填方法	(60)
3-3-4-1 干装法(干式填充法)	(60)
3-3-4-2 半干装法	(61)
3-3-4-3 匀浆法	(61)
3-3-5 柱效的测定方法	(62)
第四节 检测器	(63)
3-4-1 紫外检测器	(63)
3-4-2 示差折光检测器	(65)
3-4-3 荧光检测器	(67)
3-4-4 氢火焰离子化检测器	(69)
3-4-5 二极管阵列检测器	(69)

第五节 记录器和数据处理设备	(70)
3-5-1 记录仪	(70)
3-5-2 积分仪	(70)
3-5-3 微型计算机	(71)
第六节 仪器的维护及检修	(71)
3-6-1 仪器的维护	(71)
3-6-2 仪器常见故障的分析和排除方法	(72)
3-6-3 SYZ-211 型高效液相色谱仪的常见故障及排除方法	(77)
3-6-4 SY5000 型高效液相色谱仪的常见故障及排除方法	(79)
3-6-5 UV-100 检测器常见故障及排除方法	(82)
3-6-6 荧光检测器常见故障及排除方法	(84)
第四章 样品的预处理	(85)
第一节 样品提取的基本操作	(85)
4-1-1 冷浸渍法	(85)
4-1-2 渗漉法	(85)
4-1-3 分次加热提取法	(86)
4-1-4 连续加热提取法	(86)
4-1-5 水蒸汽蒸馏法	(86)
4-1-6 提取液的浓缩	(88)
4-1-6-1 蒸发浓缩法	(88)
4-1-6-2 常压蒸馏法	(88)
4-1-6-3 减压蒸馏法	(89)
4-1-6-4 薄膜蒸发浓缩法	(91)
第二节 生物碱	(91)
4-2-1 生物碱的分类	(92)
4-2-2 生物碱的一般性质	(93)
4-2-3 生物碱的提取方法	(93)
4-2-4 醇类溶剂提取法	(93)
第三节 甙类	(95)
4-3-1 甙类的分类	(95)
4-3-2 甙类的通性	(95)
4-3-3 强心甙	(95)
4-3-4 黄酮甙	(97)
4-3-5 皂甙	(101)
4-3-6 蒽醌甙	(103)
4-3-7 香豆精甙	(107)
4-3-8 氰甙	(108)
4-3-9 酚甙	(109)
4-3-10 含硫甙	(109)

第四节 内酯	(110)
4-4-1 内酯的性质	(110)
4-4-2 内酯的提取方法	(111)
第五节 醌类	(111)
4-5-1 苯醌类	(111)
4-5-2 萘醌类	(112)
4-5-3 菲醌类	(113)
4-5-4 醌类理化性质及检识反应	(114)
4-5-5 醌类提取方法	(116)
第六节 有机酸	(116)
4-6-1 有机酸的分类	(116)
4-6-2 有机酸的性质	(116)
4-6-3 有机酸的提取方法	(117)
第七节 糖类	(117)
4-7-1 单糖类	(117)
4-7-2 低聚多糖类	(119)
4-7-3 多聚多糖类	(120)
第八节 氨基酸	(120)
4-8-1 氨基酸的分类	(120)
4-8-2 氨基酸的性质	(121)
4-8-3 氨基酸的提取方法	(122)
4-8-4 衍生方法	(122)
4-8-4-1 柱后衍生法	(122)
4-8-4-2 柱前衍生法	(122)
主要参考资料	(124)
下 篇	(126)
各论	(126)
二画	
1. 八角莲(六角莲)	(126)
2. 人参	(130)
三画	
3. 三尖杉	(142)
4. 大枣	(152)
5. 大黄	(155)
6. 大渡乌头	(170)
7. 大蒜	(171)
8. 马钱子	(175)
9. 马兜铃	(181)
10. 马蔺子	(182)

11. 土木香	(185)
12. 川芎	(186)
13. 山楂	(189)
14. 山茶萸	(191)
四 画	
15. 天麻	(193)
16. 元胡	(202)
17. 云南红豆杉	(210)
18. 木防己	(214)
19. 五味子	(216)
20. 车前	(226)
21. 牛黄	(228)
22. 牛蒡子	(242)
23. 长春花	(243)
24. 乌头、附子	(249)
25. 乌骨鸡	(262)
26. 化橘红	(263)
27. 丹参	(266)
五 画	
28. 功劳木	(273)
29. 节节草	(275)
30. 甘草	(276)
31. 石韦	(294)
32. 龙胆	(296)
33. 四季菜	(303)
34. 白芷	(304)
35. 白头翁	(309)
36. 冬虫夏草	(310)
六 画	
37. 地黄	(314)
38. 当归	(315)
39. 肉桂	(318)
40. 肉豆蔻	(323)
41. 肉苁蓉	(325)
42. 血竭	(326)
43. 防己	(327)
44. 防风	(331)
45. 红花	(334)
七 画	

46. 麦角	(336)
47. 麦门冬	(338)
48. 杜仲	(342)
49. 苏合香	(343)
50. 赤芍药	(345)
51. 牡丹皮	(359)
52. 灵芝	(367)
53. 阿片	(371)
54. 何首乌	(375)
55. 怀牛膝	(378)
八 画	
56. 青蒿	(380)
57. 青黛	(384)
58. 青风藤	(387)
59. 刺五加	(390)
60. 苦木	(393)
61. 苦参	(398)
62. 苦豆子	(401)
63. 虎杖	(403)
64. 岩白菜	(407)
65. 罗布麻	(408)
66. 侧柏叶	(410)
67. 侧金盏花(福寿草)	(411)
68. 金银花	(415)
69. 泽泻	(422)
九 画	
70. 珍珠	(423)
71. 毒扁豆	(425)
72. 枳实枳壳	(427)
73. 柑皮	(433)
74. 胡椒	(439)
75. 胡芦巴	(442)
76. 厚朴	(443)
77. 钩藤	(453)
78. 香附	(455)
79. 香加皮	(457)
80. 香茶菜	(460)
81. 独活	(466)
82. 洋地黄	(469)

83. 洋金花	(477)
84. 穿山甲	(480)
85. 穿心莲	(482)
86. 姜黄	(486)
87. 芫荽	(491)
十 画	
88. 秦皮	(493)
89. 桃耳七	(495)
90. 葇苈	(498)
91. 夏天无	(509)
92. 柴胡	(511)
93. 党参	(520)
94. 峨眉千里光	(524)
95. 狼毒大戟	(526)
96. 海螵蛸	(527)
97. 益智仁	(528)
十一画	
98. 梔子	(530)
99. 萝芙木	(532)
100. 黄芪	(534)
101. 黄芩	(539)
102. 黄连	(548)
103. 黄柏	(560)
104. 黄花夹竹桃	(566)
105. 眼镜蛇	(568)
106. 蛇床子	(570)
107. 银杏叶	(571)
108. 甜瓜	(576)
109. 甜叶菊	(578)
110. 麻黄	(582)
111. 鹿蹄草	(592)
112. 淫羊藿	(594)
十二画	
113. 棉籽	(600)
114. 葛根	(606)
115. 落新妇	(614)
116. 紫草	(615)
117. 紫河车	(617)
118. 蝮蒿	(620)

十三画以上	
119. 槐花	(621)
120. 蒲黄	(623)
121. 雷公藤	(624)
122. 蜂乳	(627)
123. 葶草	(633)
124. 辣椒	(635)
125. 熊胆	(637)
126. 槲寄生	(647)
127. 澳洲茄	(650)
128. 藤黄	(653)
129. 蟾酥	(654)
130. 魔芋	(662)
131. 麝香	(663)
132. 附: 多糖、单糖及中药煎膏剂中糖类的 HPLC 测定	(665)
附录:	(671)
一、中华人民共和国药典(1990年版一部)规定的筛号与筛孔的内径	(671)
二、各国标准筛目数与网孔直径对照表	(672)

第一章 概 述

第一节 色谱法的发展史

高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography 简称 HPLC) 又称高压液相色谱法 (High Pressure Liquid Chromatography)、高速液相色谱法(High Speed Liquid Chromatography), 是液相色谱法的一种, 亦是色谱法的一个分支。

色谱法是一种比较新的分离分析方法, 最早出现于本世纪初。1096 年俄国的植物学家茨维特(μBET) (1872~1919)研究了叶绿体中的色素。当他把此物的石油醚溶液通过一根装了碳酸钙的细玻璃柱时发现, 根据叶绿素在柱上的吸附强度, 原混合物开始被分离成一些有色的区带(图 1-1)。这些区带以不同速度通过柱子。如果往柱中灌入的不是带颜色的混合物溶液, 而只是纯的溶剂, 那么这些区带移动直到其分离结束为止。μBET 把这样过程的结果称之为色谱图, 并将该方法命名为色谱法 (Chromatography)。这一词汇是由希腊文 Chroma(色)和 graphos(记录)组成的。原因在于这种方法是将叶绿素这样一些有色物质在柱中作为不同颜色的吸附带来加以分离的, 因而这种方法具有记录颜色的意义。正因为如此, μBET 才被推崇为当今色谱法的创始人。

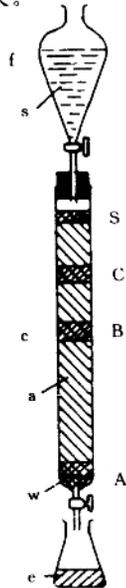


图 1-1 μBET 吸附色谱法的原理

a—吸附剂 c—柱子 e—流出物 f—分液漏斗 s—洗脱液 W—脱脂棉。最初在 S 位置处被吸附的 A、B 和 C 三种物质的混合物通过适当溶剂 s(洗脱液)的洗脱, 分离成为各个单独的区带; 这些区带朝着柱子出口的方向移动

μBET 所报道的方法是将叶绿素的柱内作为吸附带加以分离, 但必须将这一部分和固

定相一起取出,操作非常麻烦。1931年 Kohn, Lederer 和 Winterstein 对此法加以改进,利用氧化铝和碳酸钙层析柱分离制备了胡萝卜素取得成功之后,色谱法才得到真正发展。

1938年 Reichstein 报道了流动色谱法(Flowing Chromatography)即借助于流动相(溶剂)的作用,使试样从柱的下端流出。这种方法的特点,是将试样成分从柱中洗脱后,既可得到溶液状态的溶出物,又可采用适当的方法,对溶液中的无色物质进行检测。

1941年 Martin 等人报道了分配色谱法,其原理是利用化合物在流动相和固定相中的溶解现象。他提出了在分配理论方面著名的塔板理论,还曾发表过很多有关色谱理论方面的研究报告。1952年 Alm 则报道了采用两种流动相的梯度洗脱法(Gradient elution)。

1944年 Consden, Grodon 和 Martin 等人又研究成功了采用滤纸做固定相的纸色谱法(Paper Chromatography 简称 PC)。纸色谱法的出现使氨基酸等一些极性化合物能够很好地进行分析。在纸色谱法出现之前,1938年 Shraiber 首先用氧化铝铺在玻璃板上分离生物碱,形成了薄层色谱的雏形,但由于吸附剂粒度、粘合等问题影响了发展。到1951年时 Kirchner 开始使用淀粉作粘合剂分离精油成功,又发表了许多文章。Stahl 对这项技术又作了许多工作并使之标准化。到1956年通过国际学术会议正式确定了薄层色谱(Thin Layer Chromatography 简称 TLC)。这两种色谱法的设备和操作都比较简单,至今仍在许多化学领域中得到广泛的应用。

1952年 Martin, James 等人提出了用气体做流动相的气相色谱(Gas Chromatography 简称 GC)。气相色谱和其他一些采用液体做流动相的色谱法比较,由于这种方法的流动相采用的是气体,因而使得样品通过色谱柱的速度大大提高,从而使色谱法成为一种快速的分析方法。加之当时已经有可能利用记录仪进行自动记录了,从而使得气相色谱得到了急速的发展,成为当今分析领域中最重要的手段之一。

在离子交换色谱法方法, Addams 等人于1935年合成了离子交换树脂, Tompkins 则于1947年将这种方法应用于稀土元素的分离。Spackman 将此法用于氨基酸分析仪,其后又用于许多离子性有机化合物的分离。近几年为了对离子性物质进行分离,在高效液相色谱方面广泛采用了一些实用的方法,诸如离子对色谱法,以及离子抑制色谱法等分配色谱法。

在凝胶渗透色谱方面, Weaton 等人于1953年报道了多孔性无机物(沸石)所具有的分筛现象,1962年 Porath 发表了利用软质葡聚糖凝胶分离水溶性高分子的报告,并将这一方法命名为凝胶渗透色谱法。Moore 在1964年采用硬质聚苯乙烯凝胶对可溶于有机溶剂的高分子进行了分离,并且对其分子量分布做了测定,终于建立了凝胶渗透色谱法。

1967年 Horvath 等报道了微柱液相色谱法(Micro-LC)。嗣后 Scott 等在液相色谱中采用体积较小的微径柱,即能节省流动相,又能提高灵敏度。1977年 Ishii 等详细报道了 Micro-LC 法。近年来对该技术的研究十分活跃,应用渐趋广泛。

离子色谱(Ion Chromatography, IC)是 H. Small 等人于1975年发展的一种新的液相色谱技术。根据分离方式,离子色谱可分为高效离子色谱(HPIC),离子排斥色谱(HPICE)及流动相离子色谱(MPIC)。

1979年 Armstrong 首先提出了胶束液相色谱(Micellar Liquid Chromatography),又叫假相液相色谱(Pseudophase Liquid Chromatography)。它使用高于临界胶束浓度(CMC)的表面活性剂溶液作流动相,代替液相色谱传统的水-有机物流动相。这项技术已越来越受到人们的重视。

真空液相色谱法(Vacuum Liquid Chromatography, VLC)是一种简易、高效、快速和便宜的色谱分离技术。早在1969年澳大利亚J. C. Coll等人就用过。但迟至1977年始见报道。1979年由Targett教授起名真空液相色谱法。该法的实质是柱色谱、制备薄层色谱(PTLC)和真空抽滤技术的综合。目前已成功地用于复杂天然产物:萜类、类脂、双稠吡咯啉生物碱和二萜类生物碱或其反应混合物等的分离。

由此可见,色谱法是从以分离分析和分离精制为目的的液相色谱开始的,而后随着气相色谱的出现,才正式确立为一种能进行分离、定性、定量的分析方法。与气相色谱相比液相色谱实现快速分析化要来得较迟,这是因为伴随着高速化所必须的一些装置,如高压定量泵,高压进样器、高灵敏度检测器,以及耐压填充剂等开发的都比较迟的缘故。液相色谱的高速化始于Huber 1967年发表的高速液液分配法,同年Horvath等人发明了表面交换体,Kirkland等人进而在1969年、1971年研制成功了表面多孔性填充剂及化学键合型填充剂,随着设备的改良和不断创新,高效液相色谱也逐渐完善,使之具有其他仪器不可比拟的优点,从而使这项技术在各个分析领域中的定量、定性分析方面得到了飞速发展。表1-1列举了色谱法的发展简史。

表1-1 色谱法的简史

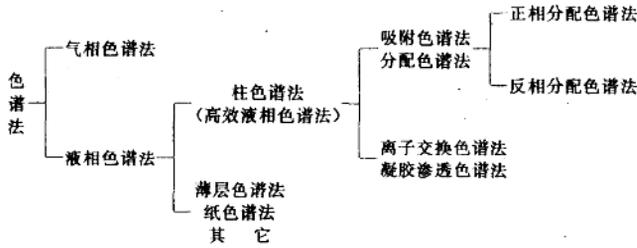
年 代	研究者	成 果
1845	Spence, Thompson	发现离子交换现象
1861	Schonbein	研究毛细管现象
1906	WIBET	分离叶绿素 命名色谱法
1931	Kuhn	分离植物色素
1935	Adams, Holmes	研制离子交换树脂
1938	Reichsteden	流动色谱法
1941	Martin, Synge	分配色谱法
1944	Martin, Synge	纸色谱法
1947	Tompkins	分离稀土元素 离子交换色谱
1952	Martin, James	气相色谱法
1952	Alm	梯度洗脱法
1953	Wheaton, Bauman	发表了不相容原理
1958	Stall	薄层色谱法
1962	Flodin, Porath	凝胶渗透色谱法
1964	Moore	凝胶渗透色谱法
1967	Horvath	研制表面交换体
1967	Horvath 微柱液相色谱法	
1967	Huber, Hulsam	高速液液色谱法
1969	Kirkland	研制表面多孔性填充剂
1971	Kirkland	研制化学键合型填充剂
1975	Korpi, Wittmey, Haney	离子对色谱法
1975	Small, Stevens, Bauman	离子色谱
1979	Armstrong	胶束液相色谱
1979	Targett	真空液相色谱
80年代初	Yoichiro	高速逆流色谱

第二节 色谱法的分类

色谱法有多种分类方式,一般可根据流动相的不同进行大分类,进而可根据流动相和固

定相的组合进行中分类,最后还可以按分离机制进行小分类。根据流动相的不同,大致可将色谱法分成两类:一种是以气体做流动相的气相色谱法,另一种是以液体做流动相的液相色谱法(Liquid chromatography)。液相色谱法又可根据所用固定相的种类再分为柱色谱法(Column chromatography)、薄层色谱法、纸色谱法以及其它以液体流动相的色谱法。高效液相色谱法实质是一种以快速分析为目的,采用特殊装置的柱色谱法,若按分离原理可分为四种类型:吸附色谱(Adsorption chromatography)、分配色谱(Partition chromatography)、离子交换色谱(Ionexchange chromatography)及凝胶渗透色谱(Gel Permeation chromatography)。有关色谱的分类情况见表1-2。

表1-2 色谱法分类



第三节 高效液相色谱法的定义及特点

高效液相色谱法是液相色谱中的一种,它用液体作流动相,通过耐压定量泵(最高可达800kg/cm²)来输送液体,让可溶于流动相的混合物通过充填有高分离能力的填充剂的色谱柱,从而使之迅速分离洗脱的一种方法。

高效液相色谱法,只要求样品制成溶液,而不象气相色谱要求样品必须在气化状态下,通过柱及检测器,受到温度和样品分子量的约速。高效液相色谱与热稳定性、挥发性、水溶性、脂溶性无关,从低分子到高分子,以及各种各样异构体都列在适用范围之内。如氨基酸、蛋白质、生物碱、核酸、甙体、类脂、维生素、抗菌素、其它合成药物以及无机盐类,都可用高效液相色谱法进行分离分析。高效液相色谱法已广泛用于天然产物的分析,成为中草药、中成药化学成份的纯度鉴定、含量测定及制剂研究的有力工具。

高效液相色谱法与经典液相色谱法比较如表1-3。

表1-3 高效液相色谱与经典液相色谱法比较

固定相	经典液相色谱法	高效液相色谱法
	一般规格	特殊规格
固定相粒度(μm)	75-600	5-10
固定相粒度分布(变异系数)	20-30%	<5%
柱长(cm)	10-100	10-50
柱内径(cm)	2-5	0.1-8.0
柱入口压强(kg/cm ²)	0.01-1.0	20-300
柱效(每m理论塔板数)	2-50	10 ³ -10 ⁴
样品用量(g)	1-10	10 ⁻⁷ -10 ⁻²

	经典液相色谱法	高效液相色谱法
分析所需时间(h)	1-20	0.05-1
装置	非仪器化	仪器化

高效液相色谱,经典液相色谱和薄层色谱的形式比较如图 1-2。

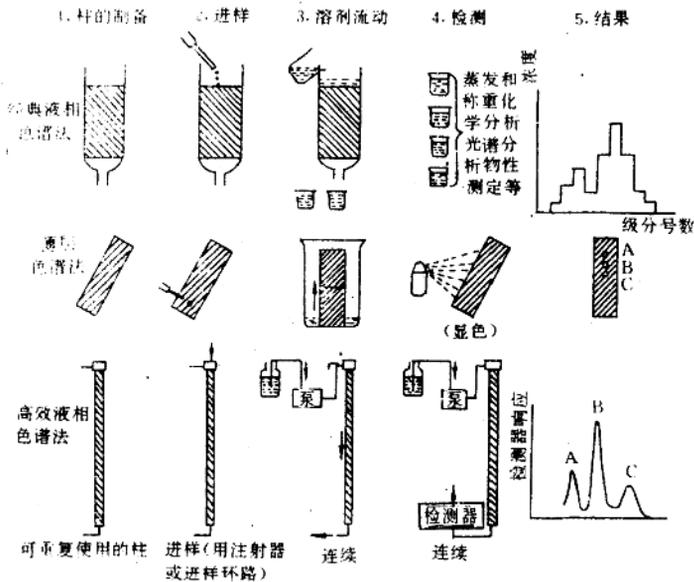


图 1-2 液相色谱各种形式比较

高效液相色谱法的特点:适用范围广;分离效率高;速度快;流动相可选择范围宽;灵敏度高;色谱柱可反复使用;流出组分容易收集;安全。