

药物分析之西药分析高效液相色谱法 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

[https://www.100test.com/kao\\_ti2020/18/2021\\_2022\\_\\_E8\\_8D\\_AF\\_E7\\_89\\_A9\\_E5\\_88\\_86\\_E6\\_c23\\_18303.htm](https://www.100test.com/kao_ti2020/18/2021_2022__E8_8D_AF_E7_89_A9_E5_88_86_E6_c23_18303.htm)

高效液相色谱法是用高压输液泵将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱，经进样阀注入供试品，由流动相带入柱内，在柱内各成分被分离后，依次进入检测器，色谱信号由记录仪或积分仪记录。

1.对仪器的一般要求 所用的仪器为高效液相色谱仪。色谱柱的填料和流动相的组分应按各品种项下的规定。常用的色谱柱填料有硅胶和化学键合硅胶。后者以十八烷基硅烷键合硅胶最为常用，辛基键合硅胶次之，氰基或氨基键合硅胶也有使用；离子交换填料，用于离子交换色谱；凝胶或玻璃微球等，用于分子排阻色谱等。注样量一般为数微升，除另有规定外，柱温为室温，检测器为紫外吸收检测器。在用紫外吸收检测器时，所用流动相应符合紫外分光光度法（附录 A）项下的对溶剂的要求。正文中各品种项下规定的条件除固定相种类、流动相组分、检测器类型不得任意改变外，其余如色谱柱内径、长度、固定相牌号、载体粒度、流动相流速、混合流动相各组分的比例、柱温、进样量、检测器的灵敏度等，均可适当改变，以适应具体品种并达到系统适用性试验的要求。一般色谱图约于20分钟内记录完毕。

2.色谱条件与系统适用性试验 按各品种项下的要求对仪器进行适用性试验，即用规定的对照品对仪器进行试验和调整，应达到规定的要求；或规定分析状态下色谱柱的最小理论板数、分离度和拖尾因子。

(1) 色谱柱的理论板数( $n$ ) 在选定的条件下，注入供试品溶液或各品种项下

规定的内标物质溶液，记录色谱图，量出供试品主成分或内标物质峰的保留时间 $t_R$ （以分钟或长度计，下同，但应取相同单位）和半高峰宽 $(W_h/2)$ ，按 $n=5.54(t_R / W_h/2)$ 计算色谱柱的理论板数，如果测得理论板数低于各品种项下规定的最小理论板数，应改变色谱柱的某些条件（如柱长，载体性能，色谱柱充填的优劣等），使理论板数达到要求。（2）分离度  
定量分析时，为便于准确测量，要求定量峰与其他峰或内标峰之间有良好的分离度。分离度（ $R$ ）的计算公式为：

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$
 式中  $t_{R2}$  为相邻两峰中后一峰的保留时间； $t_{R1}$  为相邻两峰中前一峰的保留时间； $W_1$  及  $W_2$  为此相邻两峰的峰宽。除另外有规定外，分离度应大于1.5。（3）拖尾因子 为保证测量精度，特别当采用峰高法测量时，应检查待测峰的拖尾因子（ $T$ ）是否符合各品种项下的规定，或不同浓度进样的校正因子误差是否符合要求。拖尾因子计算公式为：

$$T = \frac{W_{0.05}}{2d}$$
 式中  $W_{0.05}$  为0.05峰高处的峰宽； $d$  为峰极大至峰前沿之间的距离。除另有规定外， $T$  应在0.95 ~ 1.05间。也可按各品种校正因子测定项下，配制相当于80%、100%和120%的对照品溶液，加入规定量的内标溶液，配成三种不同浓度的溶液，分别注样3次，计算平均校正因子，其相对标准偏差应不大于2.0%。  
3.测定法 定量测定时，可根据样品的具体情况采用峰面积法或峰高法。但用归一法或内标法测定杂质总量时，须采用峰面积法。（1）面积归一化法 测定供试品（或经衍生化处理的供试品）中各杂质及杂质的总量限度采用不加校正因子的峰面积归一法。计算各杂质峰面积及其总和，并求出占总峰面积的百分率。但溶剂峰不计算在内。色谱图的记录时间应根据各品种所含杂质的

保留时间决定，除另有规定外,可为该品种项下主成分保留时间的倍数。 100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。  
详细请访问 [www.100test.com](http://www.100test.com)