

## HPLC 检测技术简介

液相色谱法开始阶段是用大直径的玻璃管柱在室温和常压下用液位差输送流动相，称为经典液相色谱法，此方法柱效低、时间长。高效液相色谱法（HPLC）是在经典液相色谱法的基础上引入了气相色谱理论而迅速发展起来的。它与经典液相色谱法的区别是填料颗粒小而均匀，小颗粒具有高柱效、高阻力，需用高压输送流动相，故又称高压液相色谱法。又因分析速度快而称为高速液相色谱法，也称现代液相色谱。该方法已成为化学、医学、工业、农学、商检和法检等学科领域中重要的分离分析技术应用。

### 技术原理

色谱法检测原理：溶于流动相中的各组分经过固定相时，由于与固定相之间的相互作用（吸附、分配、离子吸引、排阻、亲和）的大小、强弱不同，样品各组分在固定相与流动相中的溶解各不相同，从而经过固定相时的滞留时间不同，先后从固定相中流出时间各不相同。

定性分析：通过对比分析待测品与标准样品保留值（通常是保留时间）的方法找到各色谱所对应的组份，如保留时间相同，可能是同样的组份保留时间不同，肯定不是同样的组份。

定量分析：液相色谱定量是相对定量的方法，即由已知量的纯被测物标样推算混合物中被测物的量。液相色谱法定量的依据：(1)被测组分的量与响应值（峰高或峰面积）成正比；(2)单位响应值（峰面积）所代表的被测组分的量；(3)由已知量的标样可求得定量标准曲线；(4)测定未知组分的响应值，通过定量校正因子即可求得其含量。

### 技术流程

- 1 分析方法确定
- 2 标准样品浓度配置
- 3 色谱图积分采集
- 4 标准曲线建立
- 5 待测样品上样
- 6 公式计算

### 常用方法

- 1 面积归一化法

特点：不需要标样、组分的灵敏度相近、得到大致浓度（不能用于准确定量）

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 010-5365 2239 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

## 2 校正面积归一化法

特点：需要所有组分的标样

## 3 内标法

利用被测物与内标物校正因子的比值不变来进行定量的。在待测的样品中准确加入一定量的内标物，根据被测物和内标物的量及其在色谱图相应的峰面积，确定此被测组分的含量。

特点：消除系统误差、可减小进样量的误差对结果的影响

## 4 外标法

特点：操作简单，计算方便

### 样品要求

- 液体样品：1mL 以上
- 粉末样品：5mg 以上
- 需要进行提取前处理、衍生化处理样品适量增加
- 不含有金属盐类物质以及大分子聚合物

### 技术优势

- 应用范围广
- 分离效率高
- 分离速度快
- 灵敏度高
- 能同时分离多种物质
- 样品量少、容易回收

### 参考文献

- [1] 贾泽慧. 复杂体系的高效液相色谱分析及相关化学计量学方法研究[D]. 西北大学, 2006.
- [2] 王昕. 高效液相色谱研究进展[J]. 光明中医, 2011, 26(1):3.
- [3] 李卓, 杨学军. 高效液相色谱法定性定量分析琥珀安神丸中的地西洋[J]. 中国现代应用药学, 2006(S1):3.
- [4] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 化学工业出版社, 2000.