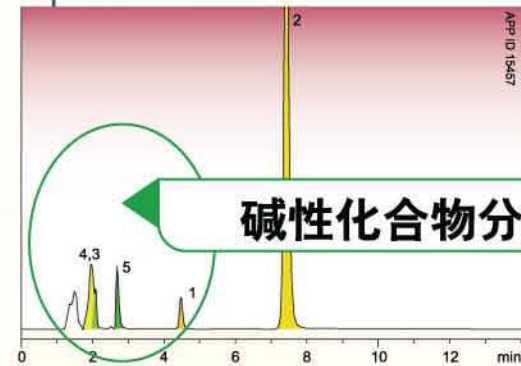


HPLC

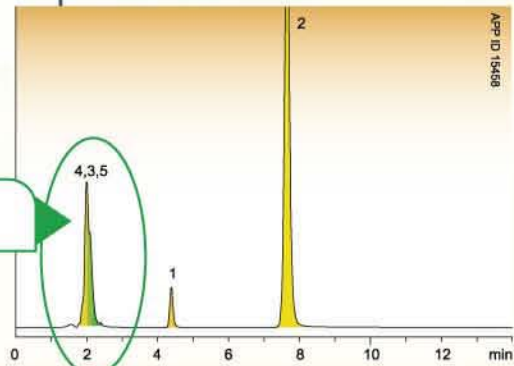
关注pH（在方法开发中）

pH 1.5
1.0% TFA 水溶液

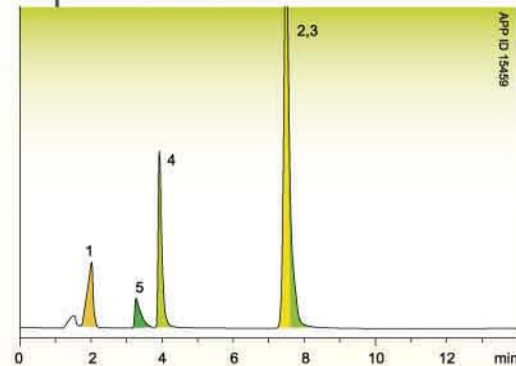


碱性化合物分离很差

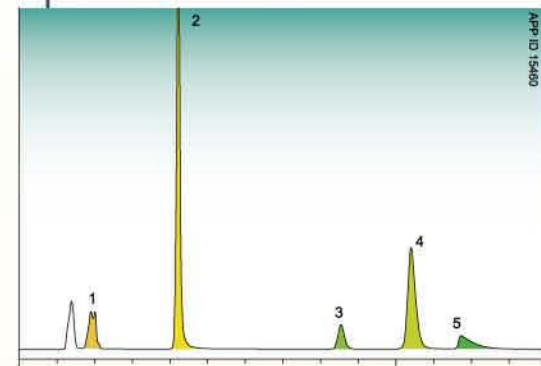
pH 4.0
20mM甲酸铵



pH 7.0
20mM磷酸盐缓冲液

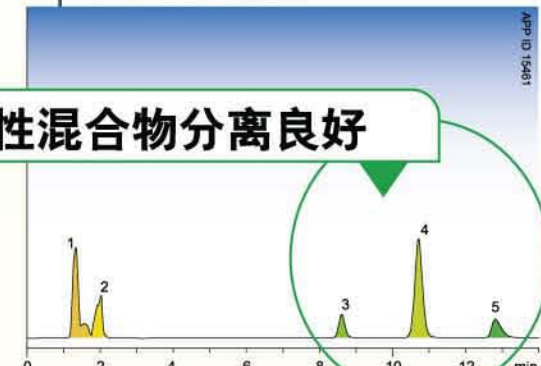


pH 10.0
10mM 碳酸氢铵缓冲液



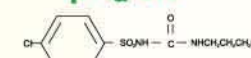
碱性混合物分离良好

pH 12.0
20mM三乙胺缓冲液

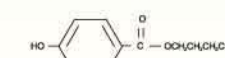


色谱柱: Gemini 5u C18
规格: 150*4.6mm
订货号: 00F-4435-E0
流动相: 乙腈-缓冲盐 (在各种pH) (50:50)
流速: 1ml/min
柱温: 22C
检测波长: UV@254nm
分析物:

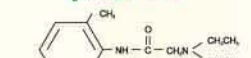
1. 氯磺丙脲
pKa 5.0



2. 尼泊金丁酯



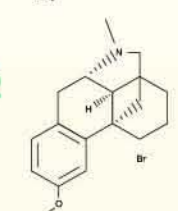
3. 利多卡因
pKa 7.9



4. 苯丙胺
pKa 6.5



5. 右美沙芬
pKa 9.2



Gemini™

State-of-the-art
Inside and Out



- pH稳定性1-12
- 高柱效
- 重现性好

方法开发 小技巧

色谱柱

- 用高纯度球形硅胶
- 宽广pH值稳定范围使方法开发更具灵活性

流动相

- 用甲醇和乙腈丰富选择性
- 选择pH至少高于或低于化合物pKa 1~2个单位

方法开发的缓冲盐选择

仅次于有机溶剂，在液相方法开发中缓冲盐选择是最重要的变量。选择适当缓冲盐有几个标准。首先就是选择缓冲盐的pKa值与理想的分析pH相近。其他标准像离子强度，离子配基及质谱兼容性也在考虑之列。

缓冲盐 [†]	pK _a	缓冲盐范围 (pH)	质谱兼容性
三氟乙酸	< 2	< 2.5	• ‡
磷酸盐 (pK ₁)	2.1	1.1 - 3.1	
柠檬酸盐 (pK ₁)	3.1	2.1 - 4.1	
甲酸	3.8	2.8 - 4.8	•
柠檬酸盐 (pK ₂)	4.7	3.7 - 5.7	
乙酸	4.8	3.8 - 5.8	•
柠檬酸盐 (pK ₃)	5.4	4.4 - 6.4	
碳酸盐 pK ₁	6.4	5.4 - 7.4	•
磷酸盐 (pK ₂)	7.2	6.2 - 8.2	
三乙醇胺	7.8	6.8 - 8.8	•
三羟甲基氨基甲烷	8.3	7.3 - 9.3	
二乙醇胺	8.9	7.9 - 9.9	•
氨水	9.2	8.2 - 10.2	•
乙醇胺	9.5	8.5 - 10.5	•
碳酸盐 (pK ₂)	10.3	9.3 - 11.3	•
二乙基胺	10.5	9.5 - 11.5	•
三乙基胺	11.0	10.0 - 12.0	•
哌啶	11.1	10.1 - 12.1	
磷酸盐 (pK ₃)	12.3	11.3 - 13.3	

Sources: Practical HPLC Method Development; L.R. Snyder, J.J. Kirkland, and J.L. Glajch. Wiley Interscience, 1997, and Introduction to Protein and Peptide HPLC; TP Brockway, Phenomenex, 1998.

[†] Common buffers are in bold.

[‡] 低浓度时TFA应用于质谱检测，但是会影响质谱图特性。

不同官能团的保留

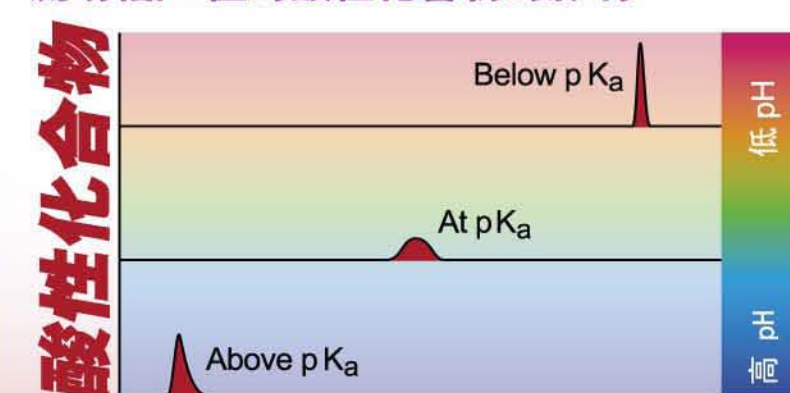
分析物带有的官能团会影响分析物在反相柱的保留。一个官能团是否质子化通常影响着化合物的色谱行为。改变分离的pH值通常会改变淋洗液。总的来说：酸性基团在pH低于pKa值时，会有很好的保留；而在pH高于pKa值时，保留会比较差。但是碱性化合物却恰恰相反：碱性基团在pH低于pKa值时，保留能力会比较差；而在pH高于pKa值时，保留能力更好，峰形也比较尖锐。

质子化官能团	去质子化官能团	大约 pK _a
		1.5
		2.0
		4.7
		5.3
		7.0
		9.8
		10.0
		10.6
		10.7

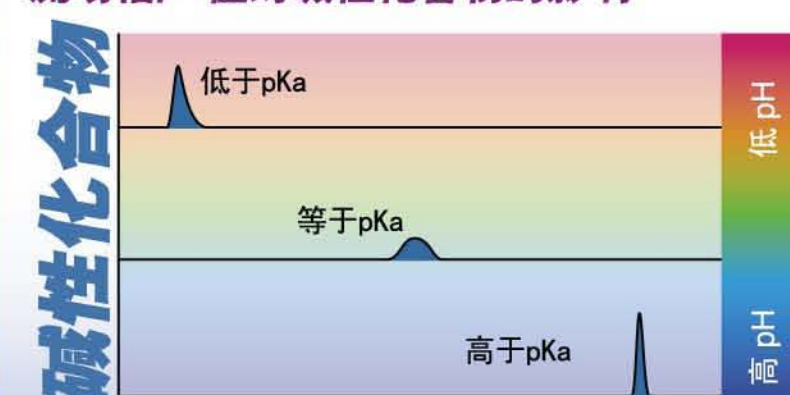
These values are approximate at best. Other nearby functionalities can DRAMATICALLY affect pK_a of functional groups.

Source: Introduction to Organic Chemistry - Streitwieser and Heathcock, MacMillan Publishing, 1981.

流动相pH值对酸性化合物的影响



流动相pH值对碱性化合物的影响



phenomenex®
...breaking with tradition™

广州菲罗门科学仪器有限公司
Guangzhou FLM Scientific Instrument Co., Ltd

<http://www.gzflm.com>

广州总部
地址：广州市天河区体育西
105号天文苑B2-801室
邮编：510620
电话：020-38785061/62/63
传真：020-38785300/38785082
E-mail: gz@gzflm.com

北京代表处
地址：北京市朝阳区西坝河北里27号
太阳国际公馆A3-201室
邮编：100028
电话：010-64468935/36/37
传真：010-64468933
E-mail: bj@gzflm.com

上海代表处
地址：上海市海宁路1399号众昌
金城大厦2317室
邮编：200070
电话：021-63807128
传真：021-63805113
E-mail: sh@gzflm.com

成都代表处
地址：四川省成都市高新区紫荆西
路49号清云阁4-2-18号
邮编：610041
电话：028-85194097
传真：028-85190497
E-mail: cd@gzflm.com

武汉联络处
地址：湖北省武汉市洪山区珞狮北路
2号樱花大厦B座904室
邮编：430072
电话：027-87668497
传真：027-87676411
E-mail: wuhan@gzflm.com

哈尔滨联络处
地址：哈尔滨市道外区黎华小区
A18栋1单元303室
邮编：150020
电话：0451-87527335
传真：0451-87527805
E-mail: haerbin@gzflm.com

重庆联络处
地址：重庆市渝中区大坪长江
支路2号3单元501室
邮编：400042
电话：023-68802875
传真：023-68802875
E-mail: chongqing@gzflm.com

西安联络处
地址：西安市碑林区南广济街广济小
区2号楼1单元604室
邮编：710002
电话：029-87613674
传真：029-87613674
E-mail: xian@gzflm.com