

■ 成果報告

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 期中進度報告

使用多通道偵測器探討流動注入分析以及層析
空間和時間訊號的特質

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號： NSC 98-2113-M-009-018-MY3

執行期間： 100 年 08 月 01 日至 101 年 07 月 31 日

執行機構及系所：國立交通大學應用化學系

計畫主持人：余 艇

共同主持人：

計畫參與人員：吳沛穎、邱俐揚

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

- 赴國外出差或研習心得報告
- 赴大陸地區出差或研習心得報告
- 出席國際學術會議心得報告
- 國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

中 華 民 國 101 年 10 月 29 日

一、中英文摘要

第三年的研究重點有二：一為利用全管柱偵測系統觀察樣品在梯度沖堤中所產生的波形跳動現象，二為利用全管柱偵測系統觀察吸附型層析中，樣品的吸附情形。當樣品移動至管柱末端時，若是移動相沖堤能力突然增強，原本滯留於固定相的樣品便會加速被釋出到移動相中，此時，裝置在管外的偵測器會偵測到樣品訊號瞬間增強，而使樣品波形出現不規則的跳動。當訊號跳動發生時，單一樣品分子層析圖譜之波峰，隨著滯留時間會有先上升後下降的趨勢；當階梯式沖堤被應用於分離情況時，隨著移動相間的轉換時間不同，在波峰壓縮效應、擴散效應以及移動相沖堤能力之間交互作用下，層析波峰可能會有波峰高度上的消長，也有可能出現波形的跳動，甚至波峰分裂的現象。本研究觀察吸附型層析管柱內的樣品吸附情形，並和郵包模型理論所得之模擬數據互相比較。實驗中發現，若把管柱全長分為 n 段，隨著低濃度樣品持續注入管柱，樣品雖是如預期由第一段開始載入至第 n 段，但在載入時並不會先載滿第一段後才開始載入第二段，而是會受到各種因素，例如如樣品的 K' 值(動態平衡常數)、樣品濃度、溶劑種類，等等，影響其吸附效率。由於郵包模型忽略了部分會影響吸附效率之因素，使得計算出的理論圖形會和實驗圖型有所誤差。

關鍵詞：全管柱偵測、多通道偵測系統、時間效應、液相層析、梯度沖堤、波峰跳動、吸附型層析、樣品濃縮、郵包模型

The research of the final year focused on two subjects. The first was to investigate the "peak jump" of a sample in the gradient elution of liquid chromatography using the whole-column detection (WCD) system. The second was to examine the adsorption phenomenon of a sample in the column of adsorption chromatography. If the elution strength of the mobile phase increased at which sample molecules just move to the column outlet, sample molecules would be eluted out of the column in a faster rate. That would cause an abrupt signal increase detected by the post-column detector and results in a so-called peak jump. We used the WCD system and a post-column UV/Vis detector to investigate this peak jump phenomenon. Direct observation of the spatial and temporal signal profiles could be obtained simultaneously using the WCD system. When the peak jump occurred in a step-wise elution, the peak height increases first and decreases as a function of time. In addition to peak jump, peak splitting could also be observed in the experiment. The variation of the heights of the split peak appeared to be dependent on the mobile-phase switching timing, peak compression, diffusion effect, and solvent strength of the mobile phase.

Although adsorption chromatography has been widely used, the mechanism of adsorption and the adsorption efficiency have not been rigorously studied. We used the WCD system to observe the sample adsorption, and the experimental data were compared with the parcel model proposed in recent years. The column was assumed to be divided into n sections. While a sample of low concentration was continuously injected, section one in the column was expected first fully loaded with sample molecules. However, section two and the succeeding sections were observed loaded with sample even when section one had not been saturated. The sample adsorption appeared affected by

factors including the dynamic equilibrium constant K' , the sample concentration, and the mobile phase. Deviation has been observed between the experimental and the simulation data using the parcel model. This occurred partly due to some factors that had been overlooked in the parcel model. It was found that factors such as k value of sample, concentration of sample, the solvent type of sample would influence the adsorption efficiency. These factors were essentially neglected in the parcel model; thus resulted in deviation from the experimental data. However, their trends agreed very well.

Keywords: Whole-column detection, multi-channel detection, temporal effect, liquid chromatography, gradient elution, peak jump, adsorption chromatography, sample pre-concentration, parcel model

二、目錄

一、中英文摘要.....	I
二、目錄.....	III
三、報告內容.....	1
(1) 前言.....	1
(2) 研究目的.....	1
(3) 文獻探討.....	2
(4) 研究方法.....	3
(5) 結果與討論.....	4
四、參考文獻.....	10

三、報告內容

(1) 前言

在分析化學領域中，分析物在流體偵測系統的方式，通常是待樣品流析出管路後，以單通道偵測方式來獲得樣品隨時間所呈現之訊號，但由於樣品在通過偵測點時，其空間狀態(濃度、分佈範圍)持續在改變，故以單通道偵測法所獲得之時間函數的樣品訊號，會與其真實管內存在於空間的狀態有所不同，而此種差異可能導致實驗結果判斷錯誤、理論解釋錯誤、公式衍生推導錯誤等缺陷，本計畫設計一系列實驗，來觀察在流動注入分析系統與管柱層析系統中，時間及空間訊號之個別特質，並期許對產生錯誤的流體觀念進行修正。

液相層析的流析過程中會產生兩個分析峰壓縮的現象，其一是當樣品剛注入到液相層析管柱之時，由於不同的移動相會造成層析峰有不同的壓縮效應。第二是在進行梯度沖提時，於兩個不同移動相之介面，會產生層析峰壓縮之現象。我們以全管柱偵測系統對於此二現象來做最佳的觀察和研究。除了上述波峰壓縮現象之外，有一些層析在梯度沖提過程會發生波形跳動現象，為何會有此種現象，值得觀察。另外，對於吸附型層析中，研究樣品的吸附情形，也是我們所感興趣的。

(2) 研究目的

在流動注入分析法(Flow Injection Analysis, FIA)中，觀察 5 種不同管徑大小的管路裡時間訊號及空間訊號，藉此點出 2 種向量函數所得之實驗結果的明顯差異。在管柱層析系統中，設計一系列非線性層析實驗，觀察樣品在管柱內空間訊號與時間訊號的差異，藉此點出傳統計算理論板數公式之錯誤應用，並提出修正公式予以校正。

一般液相層析分離管柱，都是以不銹鋼製成，對於分離過程之觀察，僅止於附於管柱尾端之偵測器所得到之層析圖譜，此圖譜往往對於實際發生於管柱內之分離現象無法正確描述。因此，對於一般所說的兩種層析峰壓縮現象，我們以全管柱偵測系統來觀測，同時可以獲得管柱內以空間或是以時間為函數的層析峰，以這樣的數據，可以直接觀察到即時的壓縮現象，並且能夠分析分離時理論板數增加之情形，對於液相層析分離的機制，有助於進一步的瞭解。

在文獻中曾經利用電腦計算推導出，樣品在管柱末端感受到動相沖提能力改變時，原本滯留於靜相的樣品便會被釋出到動相中，此時，裝置在管外的 UV/Vis 偵測器可偵測到樣品吸收強度的增強。然而，一般液相層析分離管柱，都是以不銹鋼製成，對於分離過程之觀察，僅止於附於管柱尾端之偵測器所得到之層析圖譜，此圖譜往往對於實際發生於管柱內之分離現象無法正確描述。因此，本研究欲以全管柱偵測系統來觀測，同時獲得管柱內以空間或是以時間為函數的層析峰，來觀察管內外的波形跳動，以便對於液相層析分離的機制將有進一步的瞭解。至於吸附型層析法，現今雖然多為各實驗室所用，但大多只在乎吸附型層析所提供的濃縮及製

備型分離結果，對於管內樣品吸附情形與吸附效率探討則無深入研究。因此本研究以全管柱偵測系統來觀察吸附型層析管柱內的樣品吸附情形，並和 Pai 所提出的郵包模型(parcel model)理論互相比較，以驗證郵包模型理論，期望能了解吸附型層析管內影響吸附效率的機制，並且能以電腦系統來模擬樣品於管內的吸附情形。

(3) 文獻探討

郵包模型(parcel model)

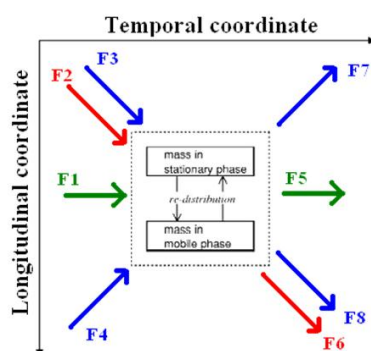
郵包模型(parcel model)的起源，即 Pai 於 2003 年發表於 Journal of Chromatography A.的論文 Parcel model for peak shapes in chromatography，並希望透過此模型解釋 HPLC 實驗中各種波型的變化。Pai 將傳統的平板理論(plate theory)加以延伸成為矩陣模型，用電腦運算此矩陣以模擬樣品在管柱中發生的各種層析行為。此種運算模式下，可推演計算出包括近高斯、拖尾或趨前的樣品波形。

分配型層析中，某特定郵包中樣品質量(mass flux)的進出情形

對某特定郵包而言，樣品質量的進出主要可區分為三種類型：

- 1.在動相中隨之流動的樣品，隨著流析時間在管柱內往偵測器方向移動。
- 2.被靜相滯留的樣品，隨著流析時間，其在管柱內的位置並不會有所改變。
- 3.樣品會自然的向四面八方擴散，也就是說，對某特定郵包而言，在上一個時間單位的樣品會由管柱前一個郵包和後一個郵包流入此郵包;到了下一個時間單位，此郵包內的樣品也同樣會藉著擴散(diffusion)原理注入管柱前一個郵包和後一個郵包。

上述三種樣品質量(mass flux)的移動可用圖 1 來表示，圖 1 中，橫軸表示流析時間，縱軸則代表管柱中的位置：



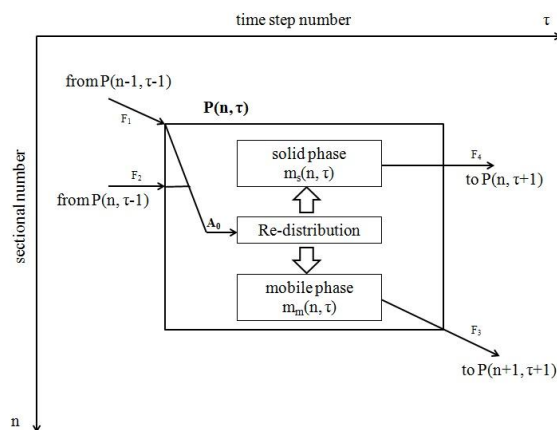
(圖 1) 樣品在單一郵包(parcel)內平衡示意圖

- F2、F6: 在動相中隨之流動的樣品，隨著流析時間在管柱內往偵測器方向移動。
F1、F5: 被靜相滯留的樣品，隨著流析時間，其在管柱內的位置並不會有所改變。
F3、F4: 在上一個時間單位，樣品由管柱前一個郵包和後一個郵包流入此郵包。
F7、F8: 下一個時間單位，此郵包內的樣品藉著擴散而注入管柱前一個郵包和後一個郵包。

吸附型層析中，某特定郵包中樣品質量流(mass flux)情形

基本概念和分配型層析之模型相同，唯其原理由「樣品於動靜兩相間不停分配達到平衡」轉為「樣品與動相互競爭靜相的吸附中心」。

其進出單一郵包 $P(n, \tau)$ 的情形如圖 2 所示，每單一時間 τ 所載入此單一空間 n 的分析物質量為 A_0 ，為 F_1 (來自 $P(n-1, \tau-1)$ 的存在於動相的分析物質量)與 F_2 (來自 $P(n, \tau-1)$ 的存在於靜相的分析物質量)的總和；在此 parcel 經過重新分配(re-distribution)平衡後，其存在於靜相的分析物質量將會經由 F_4 轉移至 $P(n, \tau+1)$ ，存在於動相的分析物質量則會經由 F_3 轉移至 $P(n+1, \tau+1)$ 。



(圖 2) parcel $P(n, \tau)$

(4) 研究方法

4-1 階梯式沖堤中的波峰跳動之研究

使用全管柱偵測系統搭配自行填充之玻璃管柱，觀察樣品在管柱末端之波形跳動，使用之樣品為 0.89 mmol L^{-1} Anthrarufin，進樣體積 $20 \mu\text{L}$ 。

首先配製兩種極性不同的動相，甲醇與水以體積比 70:30 混合均勻，此溶液為動相 A；純甲醇溶液作為動相 B。階梯式沖堤模式啟動前，先以動相 A、流速 2 mL/min 的條件進行管柱平衡，接著分別在樣品注之後不同時間之下，將動相瞬間跳動(jump)至動相 B。在樣品注入的同時，開啟 WCD 系統及 UV/Vis(425 nm)偵測器，收集樣品流經管柱過程的樣品空間波峰訊號以及管外訊號。最後，需做沒有注入樣品，只有動相跳動的實驗，得到的圖用來校正上述的實驗，此實驗得到的圖稱為「基線校正曲線」。

4-2 吸附型層析中的樣品吸附情形之研究

使用全管柱偵測系統，並將玻璃管柱填充 Waters 公司所研發的 sep-pak C_{18} 吸附劑，接著不斷注入低濃度、大體積的樣品以觀察樣品在管柱內之吸附情形。選擇的樣品為亞甲基藍及甲基橙。

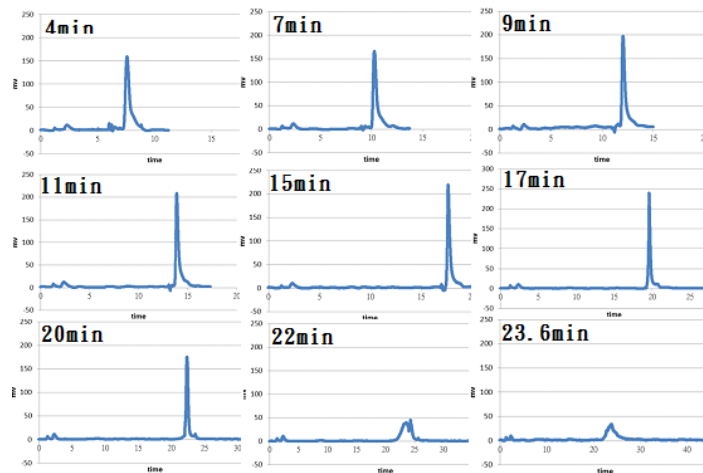
首先進行亞甲基藍與甲基橙之衝破實驗，經由計算可得到亞甲基藍與甲基橙之 K' 值(動態

平衡常數), 而可了解不同 k 值其於吸附型層析管內的流動情形之差異。接著進行亞甲基藍濃度、流速與溶劑變因實驗, 了解濃度、流速與溶劑對吸附效率所造成的影響。最後將所得數據與 parcel model 所算出的理論圖型相比較, 以檢驗 parcel model 理論。

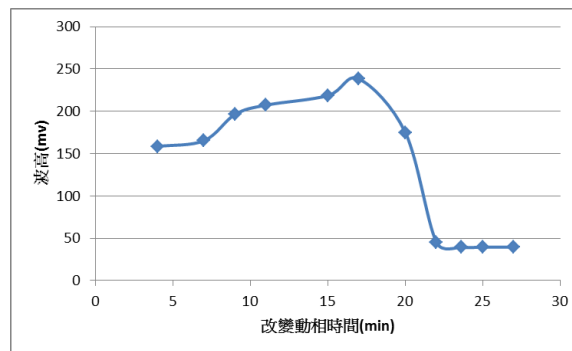
(5) 結果與討論

5-1 以 WCD 觀察階梯式沖堤中的波峰跳動情形

不同變換動相時間所收集之管外時圖, 經基線校正後可得無背景值干擾之圖譜(圖 3), 各層析圖譜中樣品波峰除了滯留時間各異之外, 波峰高度、波形也有很大的不同, 為了能更清楚的表示波峰高度隨著變換動相時間不同而改變, 將圖 3 中, 各圖譜的波峰高度取出, 另外製作波峰高度對變換動相時間圖(圖 4)。

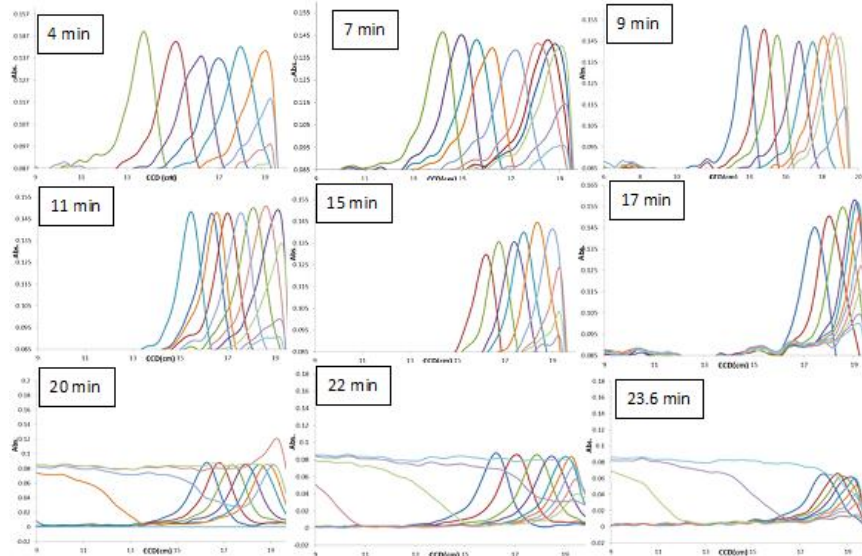


(圖 3) 動相在不同時間變換之管外時圖



(圖 4) 不同時間變換動相之時圖波高圖

由圖 4 中發現, 波高隨變換動相時間延後而有先升後降, 最後降至和初動相等位沖堤相同波高, 而在最後的波峰下降階段波形也產生跳動的現象(peak jump phenomenon), 此現象相當特殊。一般認為滯留時間(retention time)越長, 波峰應該越寬越矮, 因為樣品在流析的過程中會受擴散效應(diffusion effect)影響, 使波形持續變寬, 但在圖 4 中卻顯示有一段區間波峰高度隨著滯留時間變長而上升後又下降, 此部分須結合 WCD(whole-column detection)收集的管內空圖來觀察(圖 5)。



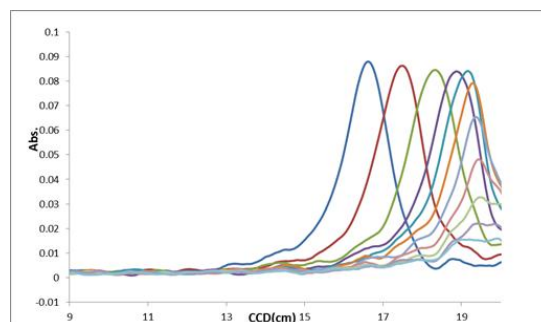
(圖 5) 個管外時圖所對應之管內空圖

由圖 5 中，確實可以看到管柱末端處空圖波形波高漸高的現象，波高隨流析時間漸高有三種可能：

1. 改變後的動相沖堤能力較強，讓原本滯留於靜相的樣品被釋放到動相中，最後被管外偵測器收集。
2. 管柱末端連接管外線路處，因管徑由大變小，造成背壓，進而使樣品空間波形改變。
3. 改變動相後，受到壓縮效應(compression effect)的影響，造成空間波寬變窄、高度變高。

可能原因 1. 中，樣品在動靜相間的分布(partition)是無法在管內空圖中看到的，無論樣品在動相或靜相中都會有吸收訊號，也就是說管內空圖中看到的樣品吸收訊號其實是動相、靜相中樣品的總和。但圖 5 中，改變動相時間為第 4、7、9、11、15、17 分鐘的管內空圖確實可以看到空圖波形波高漸高的現象，故此可能原因確定可排除。

可能原因 2. 所假設情形，只用圖 5 是無法判斷的，但若收集等位沖堤實驗中的管內空圖(圖 6)，就能清楚的看到，此實驗管柱末端設計和圖 5 中各實驗皆相同，但管柱末端空圖完全沒有波峰增高的現象，故管路背壓造成空間波峰增高的可能也可完全排除。



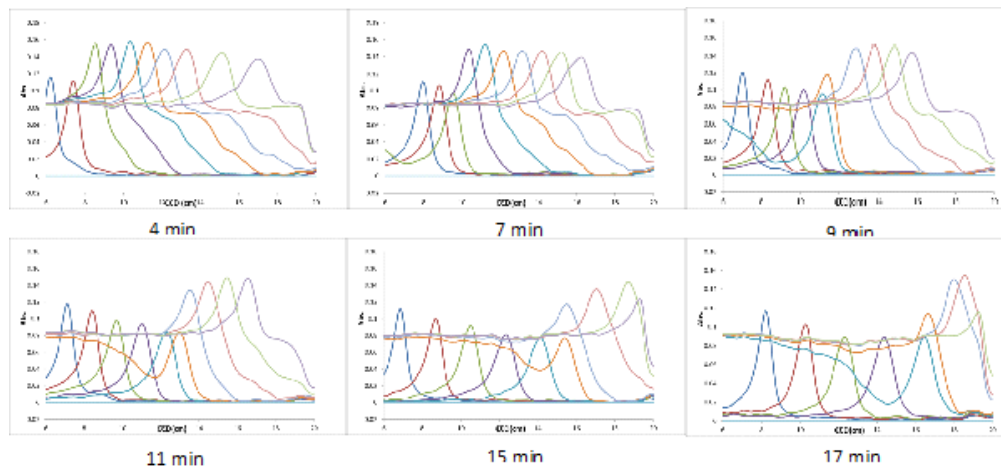
(圖 6) 初始動相對樣品的等位沖堤管內空圖

至於最後一個可能原因，波峰壓縮效應(compression effect)，則需管柱中段空圖(圖 7)做輔助才能更加釐清，即找出波峰壓縮於管柱中的起始位置。在此六組實驗中，越晚變換動相者，其空間波峰壓縮位置越接近管柱出口(CCD 約 20 公分處)，因較晚變換動相者，樣品在越接近管

柱出口處遭過後方的變換動相;但波峰壓縮最高波峰有略微下降的趨勢，因在遭遇變換動相之前，隨著流折時間管內的空間波形受擴散作用(diffusion effect)影響而越來越寬、矮，故在管柱後段遭遇動相者，其波峰較在管柱前段就被壓縮者來的矮。

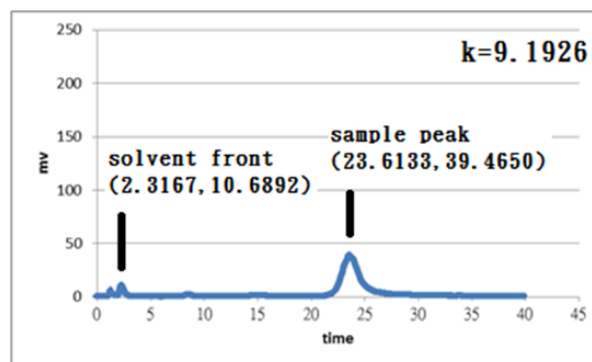
若單看壓縮波峰高度，可能會有所誤解，晚變換動相者，其波峰壓縮處的最高波峰較矮，何以流出管柱後可以得到訊號強度較高的管外時圖呢?參照圖 5 便可以得到解答，因為越先遭遇變換動相者，雖然波峰較高，但須經過較長距離才得以進入管外偵測器，而此遷移過程中，原先因壓縮效應增加的波高則會被擴散效應抵銷，使此管柱中的壓縮現象無法為管外時圖所觀察。反之，在管柱後端才遭遇變換動相者，其波峰雖無前段遭壓縮者高，但隨即流出管柱，還來不及被擴散效應所掩蓋。

至於，圖 3 中，第 22 分鐘變換動相圖譜之所以產生跳動，可以用圖 5 中相對應的管柱末端空圖解釋，樣品空間波峰已有一半在管柱外被管外偵測器偵測到，而尚留在管柱內的樣品又正好遭遇變換動相。空圖中明顯看到即將流出管柱的空間波峰並“沒有”增高的趨勢，但卻可在管外偵測器看到吸收訊號的突然變高，意味著樣品因變換的動相沖堤能力較強而由靜相被釋出到動相，又因為管內空圖所看到的訊號強度為動靜相中樣品之和，故不會有增高的波形出現，也就是 Pai 在其論文中所提到的特殊現象。



(圖 7) 變換動相時間 4~17 分鐘之管柱中段空圖

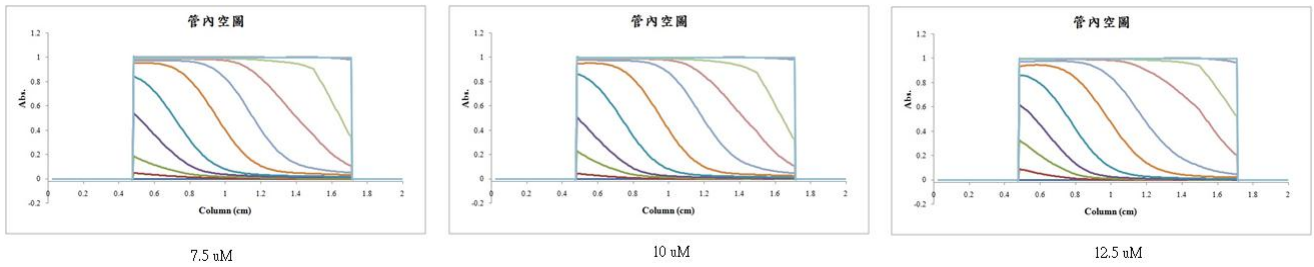
最後，在第 23.6 分鐘變換動相的管外時圖，圖 3，之所以和圖 8 等位沖堤圖形相似，由圖 5 對應的空圖可以明白，太晚變換動相的關係，變換的動相無法追趕上即將流出管柱的樣品，故樣品空間波峰不受變換動相影響，和等位沖堤無異。



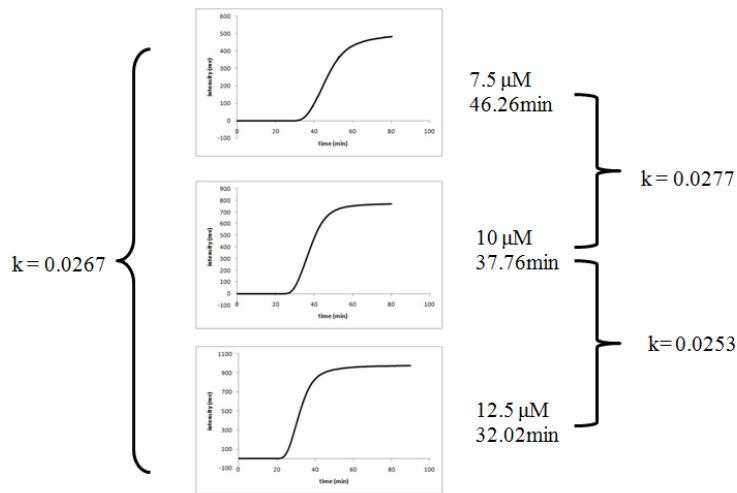
(圖 8) 初始動相對樣品做等位沖堤之管外時圖

5-2 以 WCD 觀察吸附型層析中的樣品吸附情形

亞甲基藍衝破實驗之管內空圖結果如圖9所示，可明顯觀察到其載入模式並非如肉眼所見的「先載滿第一層、再開始載入第二層」，而是在載滿第一層前，就已開始往後幾層開始載入。而經由衝破實驗結果數據計算，亞甲基藍之k值為0.0266，如圖10：



(圖9) 亞甲基藍衝破實驗管內空圖

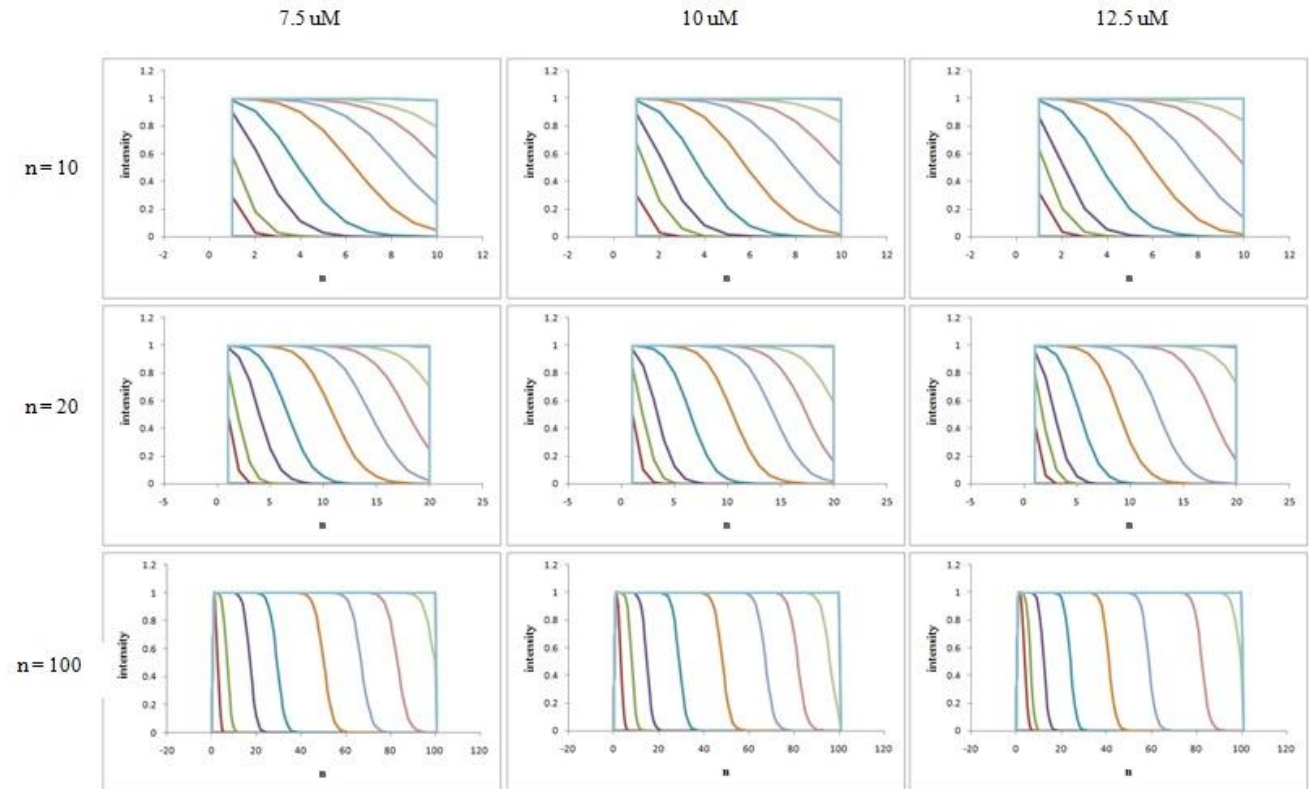


k= 0.0253, 0.0267, 0.0277
(mean=0.0266 ±0.0013 with 4.89% error)

(圖10) 亞甲基藍衝破實驗管外時圖

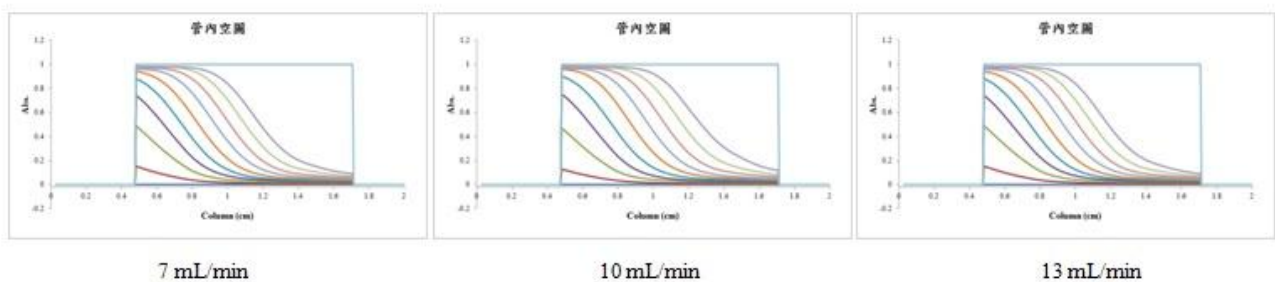
將此值代入 parcel model 中，可得到理論圖形，如圖 11，從中可以觀察到，根據整體的載入情況而言，parcel model 模擬出的理論圖形和實驗圖形的是大致相同的。然而，隨著 parcel model 所設定的 n 值越大，理論圖形反而越不符合實驗圖形，其原因可能為：

1. n 值越大，代表解析度越高，然而實際上，實驗所用的管柱為手動填充，並非十分緊密，故所能提供的解析度有限。
2. 由於實驗使用的流速為 10mL/min，其所提供樣品的衝力（因為流速頗高）可能影響其吸附效率。



(圖11) 利用亞甲基藍數據與parcel model所模擬之管內時圖

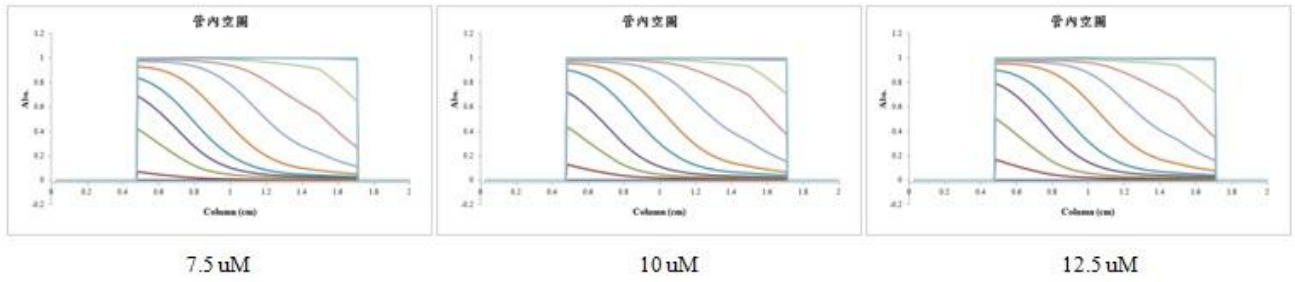
然而，在流速變因實驗中(圖 12)，卻發現不論是降低流速，亦或增加流速，都不影響亞甲基藍的管內吸附效率，由圖 12，可觀察到在填入相同量的亞甲基藍情況下，流速 7mL/min、10mL/min 與 13mL/min 所得到的管內空圖幾乎相同，代表流速並非影響吸附效率之主因。



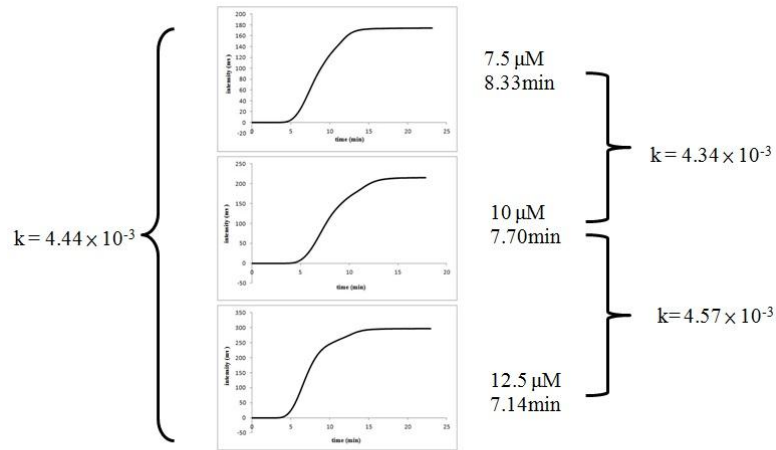
(圖12) 不同流速下，相同吸附量之亞甲基藍衝破實驗管內空圖

既然流速並非影響吸附效率之主因，則其他變因，如 k 值、濃度、溶劑、溫度等，將有可能是造成實驗圖形與理論圖形差異頗大之原因。

在 k 值變因實驗中，使用甲基橙與亞甲基藍互相比較，可發現圖 13 中的甲基橙衝破實驗管內空圖比起圖 9 的亞甲基藍衝破實驗管內空圖，其波線斜率較為平緩，代表其吸附效率較差，從管內空圖的圖形便可輕易斷定甲基橙之 k 值比亞甲基藍之 k 值小，而利用甲基橙之管外時圖(圖 14)數據計算，果然得到相同結論，甲基橙之 k 值為 4.45×10^{-3} 。



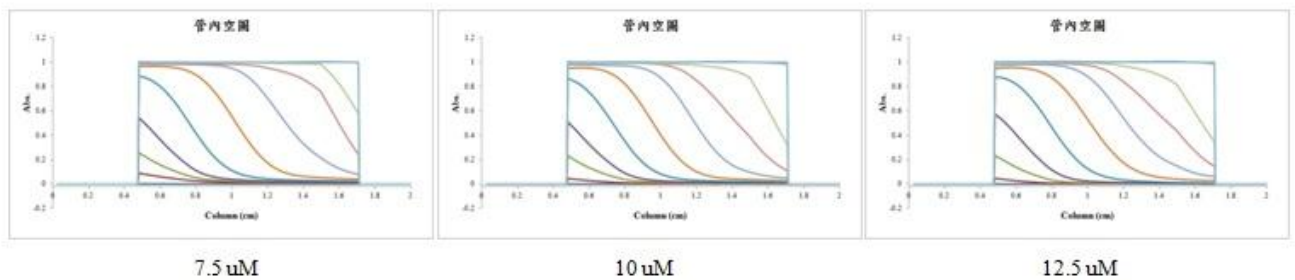
(圖 13) 甲基橙衝破實驗管內空圖



$k = 4.34 \times 10^{-3}, 4.44 \times 10^{-3}, 4.57 \times 10^{-3}$
(mean = $4.45 \times 10^{-3} \pm 1.2 \times 10^{-4}$ with 2.70% error)

(圖 14) 甲基橙衝破實驗管外時圖

而在濃度變因實驗中(圖 15)，也可發現，當濃度提高時，由於樣品液體黏度隨之提高，此黏滯性的差異導致在載入一定量的樣品分子時，較高濃度的樣品比起較低濃度的樣品，其載入速度相對較慢。由於因黏滯性而導致的載入速度較慢的因素並沒有大到足以影響一定時間內的樣品載入量，因此在衝破實驗中，高濃度的樣品還是會比低濃度的樣品更快衝破。



(圖 15) 不同濃度下，相同吸附量之亞甲基藍衝破實驗管內空圖

四.參考文獻

- [1] S.C.Pai, "Evaluation of the temporal effect to the peak tailing in flow injection analysis", *J. Chromatogr. A* 950(2002)271.
- [2] S.C. Pai, "Parcel model for peak shapes in chromatography numerical verification of the temporal distortion effect to peak", *J. Chromatogr. A* 988(2003)233.
- [3] S.H. Lin, K.C. Chen, T. Yu, S.C. Pai, "Examination of the temporal effect in a flow injection analysis system using multi-channel absorbance detection", *J. Chromatogr. A*(2008) In Press.
- [4] 張凱傑, "以多通道偵測器觀察流動注入訊號之空時差異", 國立交通大學, 應用化學研究所碩士論文, (2006)。
- [5] C.E. Evans, V.L. McGuffin, "Dual on-column fluorescence detection scheme for characterization of chromatographic peaks". *Anal. Chem.* 60(1988)573.
- [6] P.Jandera, J. Churacek, *Gradient Elution in Column Liquid Chromatography-Theory and Practice*, Elsevier, Amsterdam, 1985.
- [7] P. Jandera, J. Churacek, "Gradient elution in liquid chromatography: II. Retention characteristics (retention volume, band width, resolution, plate number) in solvent-programmed chromatography-theoretical considerations", *J. Chromatogr.* 91(1974)223.
- [8] P. Jandera, J. Churacek, "Gradient elution in liquid chromatography. IX. Selection of optimal conditions in stepwise-elution liquid chromatography", *J. Chromatogr.* 170(1979)1.
- [9] W. Gotkiewicz, "Optimization of stepwise gradient elution in reversed-phase chromatography" *Chromatographia* 21(1986)259.
- [10] S.T. Balke, R.D. Patel, "Gradient Elution Analysis and Prediction in HPLC", *J. Liq. Chromatogr.* 3(1980)741.
- [11] K.L. Rowlen, K.A. Duell, J.P. Avery, J.W. Birks, "Whole column detection: application to high-performance liquid chromatography", *Anal. Chem.* 61(1989)2624.
- [12] K.L. Rowlen, K.A. Duell, J.P. Avery, J.W. Birks, "Measurement of column efficiency in whole column detection chromatography", *Anal. Chem.* 63(1991)575.
- [13] D.G. Gelderloos, K.L. Rowlen, J.W. Birks, J.P. Avery, C.G. Enke, "Whole column detection chromatography: computer simulations", *Anal. Chem.* 58(1986)900.
- [14] J.W. Dolan, J.R. Gant, L.R. Snyder, "Gradient elution in high-performance liquid chromatography. II. Practical application to reversed-phase systems", *J. Chromatogr.* 165(1979)31.
- [15] L.R. Snyder, J.W. Dolan, J.R. Gant, "Gradient elution in high-performance liquid chromatography. I. Theoretical basis for reversed-phase system", *J. Chromatogr.* 165(1979)3.
- [16] L.R. Snyder, J.W. Dolan, "The linear-solvent-strength model of gradient elution", *Adv. Chromatogr.* 38(1998)115.
- [17] U.D. Neue, D.H. Marchand, L.R. Snyder, "Peak compression in reversed-phase gradient elution", *J. Chromatogr. A* 1111(2006)32.
- [18] Pai, S.C., Whung, P.Y. Lai, R.L., "Pre-concentration efficiency of Chelex-100 resin for heavy

- metals in seawater, Part 1, Effects of pH and salts on the distribution ratios of heavy metals", *Anal. Chim. Acta*, 1988, 221, 257-270.
- [19] Pai, S.C., "Pre-concentration efficiency of Chelex-100 resin for heavy metals in seawater, Part 2. Distribution of heavy metals on a Chelex-100 column and optimization of the column efficiency by a plate simulation method", *Anal. Chim. Acta*, 1988, 221, 271-280.
- [20] V.G. Berezkin (Compiler), "Chromatographic Adsorption AnalysisL Selected Eorks of Tswett, Ellis Horwood", New York, 1990; a:pp. 9-19; b:99.21-26; c:pp.27-34;d:pp.35-79.
- [21] Pai, S.C., Chen, T.C., Wong, G.T.F., Hung, C.C., "Maleic acid/ammonium hydroxide buffer system for preconcentration of trace metals from seawater", *Anal. Chem.*, 1990, Vol. 62, No.7. 774-777.
- [22] Pai S. C., Fang, T.H., Chen, A.C.T., Jeng, K.L., "A low contamination Chelex-100 technique for shipboard pre-concentration of heavy metals in seawater", 1990, *Mar. Chem.*, 29, 295-306.
- [23] 陳鎮東、張宏杰、白書禎，利用 Chelex-100 樹脂預濃縮管柱測定海水中的鈮。台灣海峽(1993), 12, 110-117。
- [24] 鍾仕偉、白書禎、陳秋姮、董正鈇、歐錫祺，海水中微量金屬元素濃縮問題的探討，第一部份：濃縮的基本原理，*化學(中國化學會)* (1997)，55(1), 21-28。
- [25] 鍾仕偉、白書禎、陳秋姮、董正鈇、歐錫祺，Chelex-100 鉗合樹脂濃縮海水中微量元素金屬元素之效率預測，*化學(中國化學會)* (1997)，55(3), 25-39。
- [26] Pai, S.C., Chung, S.W., Ho, T.Y., Tsau, Y.J., "Determination of Nano-molar levels of nitrite in natural water by spectrophotometry after pre-concentration using SEP-PAK C18 cartridge", *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 1996, 62, 175-189.
- [27] 林淑慧，以全管柱偵測法探討液相層析之分離，國立交通大學，應用化學研究所博士論文，(2009)。
- [28] 許育國，使用全管柱偵測法探討層析理論板數之計算，國立交通大學，應用化學研究所碩士論文，(2010)。
- [29] 周宜儒，以全管柱偵測法探討液相層析之波峰壓縮效應，國立交通大學，應用化學研究所碩士論文，(2011)。
- [30] 吳沛穎，以全管柱偵測法探討液相層析之波峰跳動現象，國立交通大學，應用化學研究所碩士論文，(2012)。
- [31] 邱俐揚，以全管柱偵測法探討吸附型管柱中之樣品衝破，國立交通大學，應用化學研究所碩士論文，(2012)。