

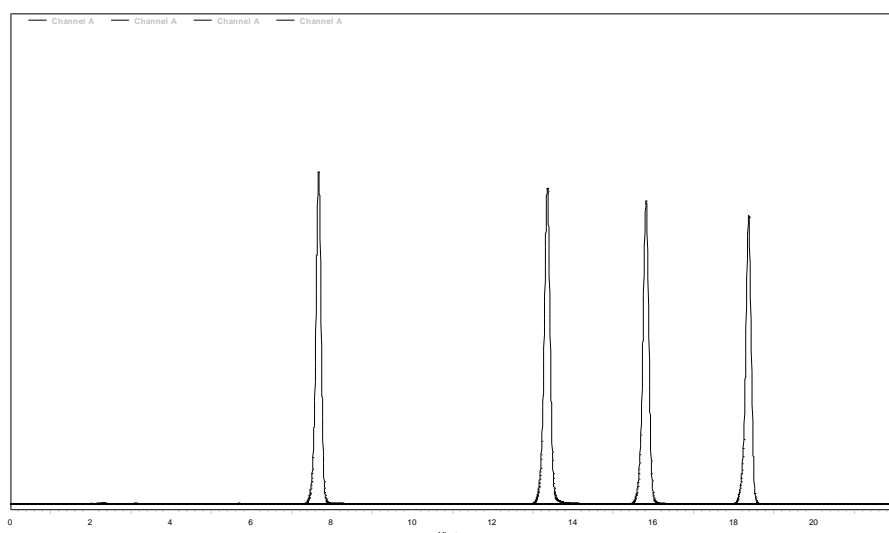
疏水坍塌与 AQ 色谱柱的应用

众所周知，生活中纯水是洗不干净头发的，因为纯水会让头发互相粘到一起，必须用洗发液让头发一根根分开，才能彻底洗干净。这个现象同样存在于反相高效液相色谱系统中，纯的水体系（包括纯水或纯盐溶液）做流动相时，C18 和 C8 柱的长长碳链会选择避开水而互相搅和到一起，导致色谱柱瞬间保留能力下降甚至无保留作用，此种现象称之为疏水坍塌。此情况虽然可逆（可用甲醇或乙腈等有机溶剂冲洗），但也是会对色谱柱造成一定的损坏，因而我们都会尽量避免使用纯水作流动相或者使用纯水洗柱子。

但是对有些亲水性较好或者极性较大的物质作 HPLC 分析时，为了使它的保留较好，不得不使用高水体系的流动相。如硫酸卡那霉素，没食子酸等样品药典规定的流动相就是 5% 以下的有机相。还有在做一些梯度实验的时候，起始的流动相比比例水含量过高。在这些实验中，如此高的水含量常常就会导致疏水坍塌现象的产生。

这里举一个氟达拉滨样品的例子：

使用的磷酸盐和甲醇走梯度，初始流动相中甲醇含量较低，因此在平衡柱子预览基线的过程中会造成疏水坍塌现象，如下图，样品的保留时间逐渐下降：



为了解决这些问题，诚然可以通过调节流动相来完成，但现代化的 HPLC 分析则更倾向于通过改进色谱柱来解决问题。这些技术一般都作为各公司机密存在，这里仅仅能介绍个概况。就笔者个人总结，这项技术大致有三种：

- 1， 硅胶基质表面修饰技术，即对硅胶基质作文章，在硅胶基质表面进行碳杂化修饰，使硅胶表面的亲水性更强。
- 2， 酰胺基嵌入技术，即对键合相作文章，在传统 C18 或 C8 柱的基础上在碳链与硅胶基质相连端嵌入酰胺基，酰胺基能与水形成氢键，使硅胶表面形成一个水膜。此种色谱柱不仅能防止疏水坍塌，更能对含氮含羟基的样品有更好的保留作用和更优的峰形，甚至还有不同于传统 C18，C8 柱的选择性。
- 3， 亲水基团封尾技术，即对硅胶残余硅羟基作文章，在传统 C18 或 C8 柱基础上使用亲水基团与残余硅羟基作用，使得色谱柱对极性亲水样品有更好的保留，此种色谱柱就是应用很广的 C18-AQ（C8-AQ）色谱柱。

我们公司的 Comatex AQ 色谱柱就是第三种技术的典型应用，适合用于高水流动相的亲水型样品，如硫酸卡那霉素，咖啡因代谢物，水溶性维生素等。