

深航通讯

2012 年第 2 期 色谱柱专刊



www.SCIENHOME.com

目 录	刊首寄语	02
	公司简介	03
	SCIENHOME 色谱柱	04~08
	☛ C18色谱柱及琛航C18色谱柱简单介绍	04
	☛ 色谱峰拖尾与BDS柱的应用	06
	☛ 疏水坍塌与AQ色谱柱的应用	08
	应用在线	09~11
	☛ Comasil与Inertex填料色谱柱应用比较	09
	☛ 高效液相色谱柱后衍生化法检测玉米粉中的氨基甲酸酯类农药残留	11
	技术交流	12~14
	☛ 理想液相色谱柱的衡量标准	12
	☛ 死体积对柱效的影响	13
	☛ 色谱柱的正确使用	14
	前沿探索	15~16
	☛ 色谱柱技术的新进展	15
	谱图荟萃	17~18

刊首寄语

色谱主要是一种分离技术。色谱分离过程的本质是溶质在流动相和固定相之间分配的差异。不同溶质的这种差异，在多次反复进行分配之后被扩大，从而可以实现混合物的分离。作为分离的场所和工具，色谱柱性能的优劣，从根本上决定了分离效果的好坏，因此，色谱柱被誉为色谱仪的心脏，在色谱分离中发挥着最为核心的作用。

本期《琛航通讯》以色谱柱技术为主题，力求详尽地向您介绍琛航公司的色谱柱产品及其在分析应用中的优越性能，并与您共同探讨色谱柱的使用心得以及色谱柱技术的新进展。



天津市琛航科技仪器有限公司是一家专业的实验室产品供应商，多年从事液相色谱全线产品的开发、研制、生产和销售。公司自创业初始，就以“科技保证质量，服务完善产品”为宗旨，为广大分析仪器行业的用户提供先进的设备和一流的服务。公司拥有经验丰富的生产人员，强劲的研究开发队伍，严格的质量管理和全方位的顾客服务体系。



做为美国 **CoMetro** 公司的液相色谱仪及美国索福达 **SofTA** 公司蒸发光散射检测器在中国地区的独家代理,以及美国 **VICI** 和 **Hamilton** 公司的一级代理商,我们将长期为用户提供从仪器硬件配置到安装、调试、应用及维修服务等全过程的技术支持。



公司始终如一地贯彻国际质量管理体系，通过了 **ISO9001** 质量管理体系认证，进一步提升了琛航公司的质量控制能力。公司全体员工秉承“诚信、尊重、成就、创新”的企业精神，坚持“一切为了用户”的质量方针，为国内外的客户提供最高性价比的产品，竞争性的价格，及时的交货和完美的服务。

C18 色谱柱及琛航 C18 色谱柱简单介绍

液相色谱中使用 C18 柱的反相色谱法以生物体相关物质为分析对象，能够满足主要研究领域的需要，使用最为广泛。这里将对市场上品牌繁多的 C18 柱和本公司的 C18 柱作下简单介绍，以及选柱的一些小技巧。

如右图 1 所示，这是 C18 柱总体的键合思路。将具有烷基链的硅烷化剂与硅胶表面的硅醇基反应，因为使用了共价键和的方式将烷基链紧紧固定在硅胶表面，所以烷基链不会被流动相冲洗掉，作为色谱固定相稳定地发挥着作用。

这张图描述的 C18 填料的合成过程看似简单，但实际上固相与液相之间的反应比液相之间的反应更难控制。与一般化学品相比，对色谱填料再现性的要求也会高很多。如果实际使用的原料和反应条件稍有差别，最终产品的分离特性将会有很大改变。这种变化，随目的不同或者成为缺点，或者也可能成为优点。但是，如果不具有良好再现性，在实际应用中就不能被采用。这样，在市场上就出现了数百种具有不同分离选择特性的 C18 色谱柱。

右图 2 为填料合成的进一步详细说明，市场上的商品大多分为如下两个步骤进行合成。

首先，如刚才介绍的，将 C18 基团导入到硅胶表面。接下来进行第二步反应，将小分子试剂导入到第一步残留的硅醇基上，此过程被称为封尾。通过封尾，尽可能地减少原料硅胶的影响，确保与硅胶表面有较强相互作用的化合物的分离效果。另外，通过此步骤，能够比较容易的确保产品性能的再现性。不受原料硅胶自身特性影响，提供性能稳定的商品是厂家永恒的课题。另外，最近作为硅胶的替代物，含有机物的原料也在商品化并在出售，但是，这样的原料还没有超过硅胶，大半的商品仍然是以硅胶为原料。

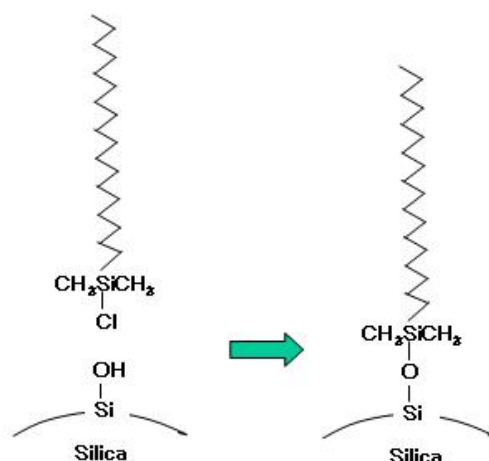


图 1 使用硅烷偶联剂 (Silane Coupler) 导入 C18 基团

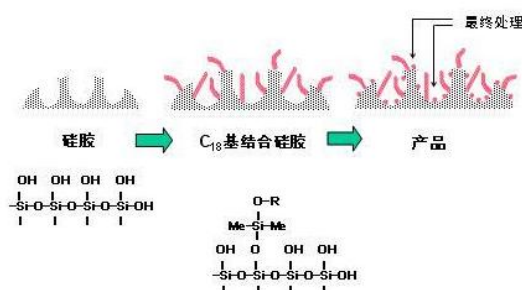


图 2 填料的合成

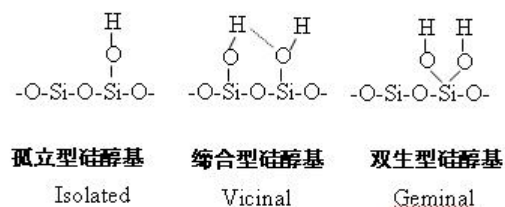


图 3 残留硅醇基的种类和性质

到这里我们可以简单猜测出造成 C18 键合型填料差别化的主要原因：

- 1、原料硅胶不仅在细孔径、粒径、表面积等几何学性质上有差别，而且其化学性质也有不同。
- 2、与烷基反应的硅醇基也有一官能性，二官能性和三官能性之分。并且，随反应条件不同，产品的最终性质也会有显著差别，如上图 3。
- 3、各公司色谱柱封尾反应的差异也是造成色谱柱性能差异的重大因素，而封尾方法也是作为各公司机密的存在。

以上这三点原因所造成色谱柱性能结果可以概括为以下七点：

- a. 色谱柱理论塔板数，使用寿命；
- b. 同批柱子重现性；
- c. 使用 LC-MS 观察到的色谱柱流失；
- d. 对化合物的保留能力；
- e. 对酸中性化合物的峰形；
- f. 对极性（碱性）化合物的峰形；
- g. 对配位化合物的峰形。



结合以上 7 点，这里我对琛航公司主要的几款 C18 柱作下简单评价（一般来说 a 至 e 这 5 点是我们公司对色谱柱的基本要求，基本构不成问题）。

Comasil C18

超高的载碳量，超低的金属离子含量是其突出优点，前者保证了色谱柱较强的保留能力与分离能力，后者保证了对配位化合物的良好峰形，同时金属离子含量低也使得残余硅羟基的 pH 较一般色谱柱大，因而有更好的惰性，其衍生产品 Comasil BDS C18 更是检测极性（碱性）化合物的首选。

Comatex C18

与 Comasil 类似的分离分析能力，但较低的柱压，超长的使用寿命是其突出优点，其衍生产品 Comatex C18-AQ 对亲水型的化合物有较好的保留能力和特殊的选择性。

Inertex C18

较 Comasil, Comatex 仅仅略低的载碳量，却大大降低了化合物的保留时间，非常适合用于强保留化合物的分析，例如人参皂苷，黄芪甲苷之类疏水性非常好的中药分析。同时 Inertex 使用的硅胶颗粒大小分布范围非常小，因而较一般色谱柱有更低的柱压，大大保证了其使用寿命，这是其突出优点。

本公司主要的 3 款色谱柱就介绍到这，各种色谱柱的应用实例会在后文中有详细介绍。一句话总结就是市场上没有任何一根色谱柱可以涵盖所有的应用，具体应用还得具体分析，实事求是化学分析工作的基本要求。

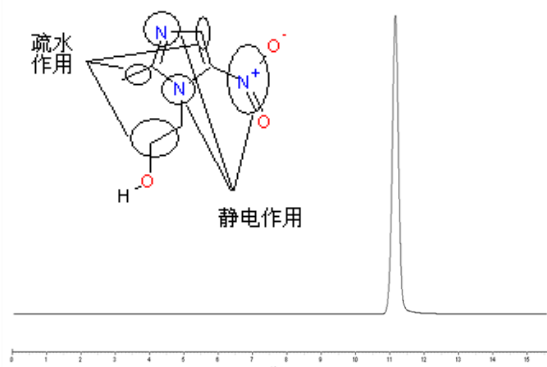
色谱峰拖尾与 BDS 柱的应用



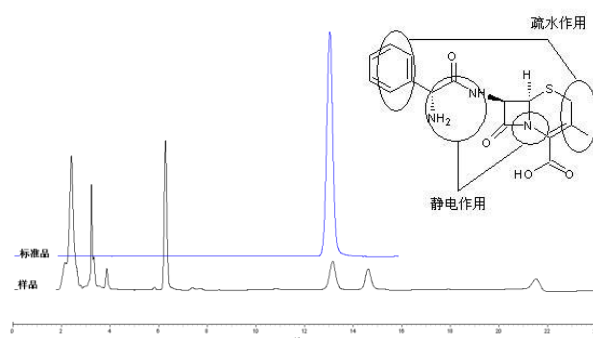
在高效液相色谱系统中，反相 C18 柱的应用及其广泛，传统的良好封尾的色谱柱能应对大多数物质。

如前文中图 2，C18 填料的基本生产工艺，其中残余的硅羟基大多时候是造成色谱峰拖尾的主要原因，因为通常它的 $pK_a=2-6$ （视硅胶原料不同而不同），呈酸性，可以与被分离化合物中的碱性基团发生静电作用而导致色谱峰拖尾，这个静电作用的大小往往就决定了峰拖尾的程度。而第三步最终处理就是使用小的硅碳烷进一步反应掉硅胶残余的硅羟基，可以想象反应进行的程度决定了色谱柱封尾的程度。

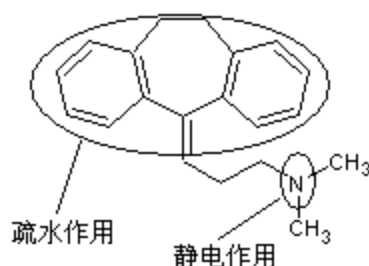
我们公司的代表产品 Comasil C18，Comatex C18 即实现了上述的良好封尾，通常情况下能对大多数的酸中碱性样品保持良好峰形，如下图有机碱甲硝唑在色谱柱中的保留作用：



上图我们会发现一个问题，为什么甲硝唑有如此多的静电作用而能达到如此完美的峰形呢？一方面是色谱柱封尾的优越性，另一方面笔者这里姑且引入一个“极性分布”的概念，如上图，物质的疏水基团与碱性基团均匀的分布在物质结构上，这种均匀分布的物质往往色谱峰的拖尾不严重，一个良好封尾色谱柱即能保证其峰形。类似的还有头孢氨苄等等：

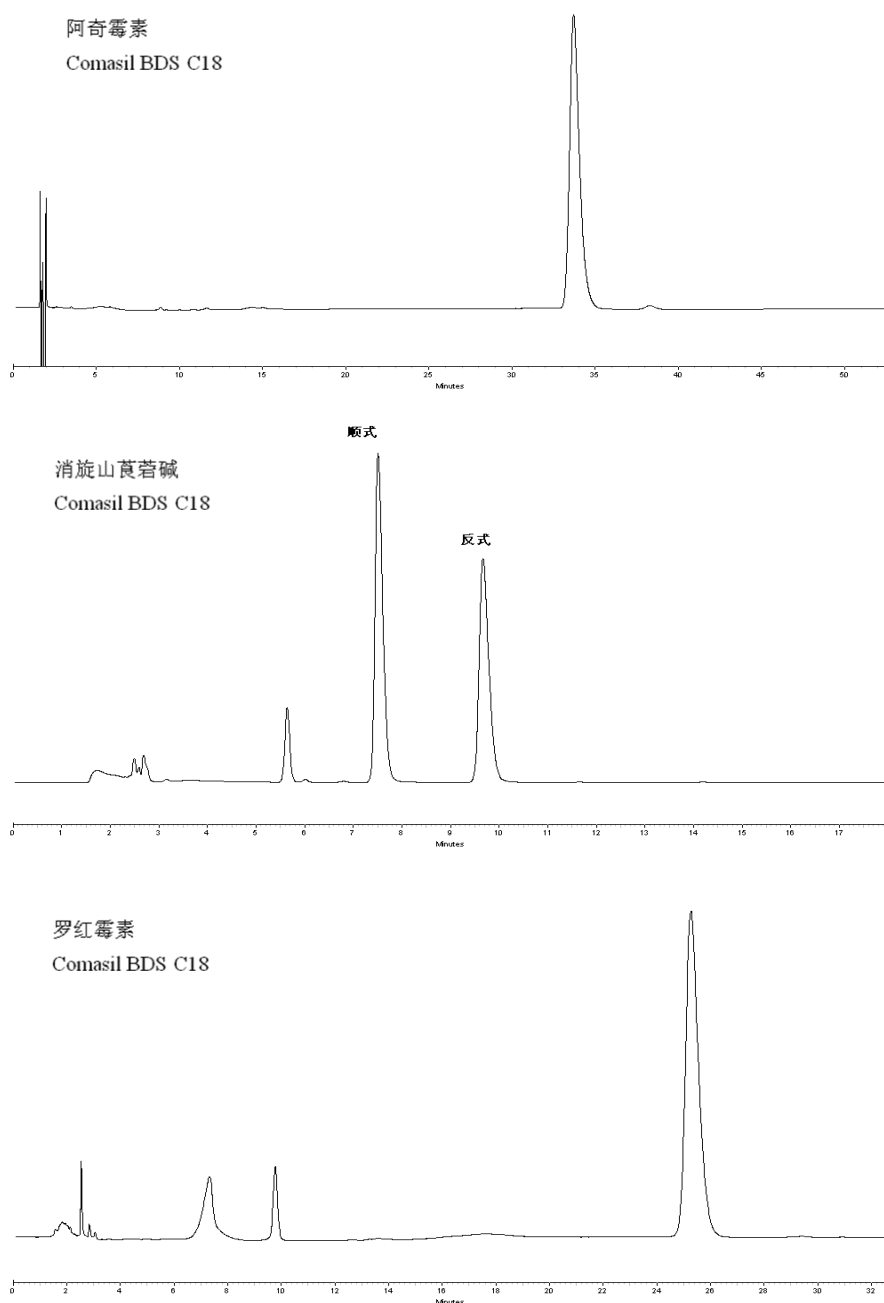


那必然还有一些碱性化合物，他们的疏水基团和碱性基团分布极不均匀，这些物质对色谱柱的残余硅羟基的数量要求达到了极其苛刻的程度，如下图阿米替林的结构：



这个物质的疏水部分与碱性部分分别在两端分布，这种物质的色谱峰拖尾就极其严重，因而常作为考察色谱柱封尾状况的指针。

这里就归结到了本文的重点 BDS C18 的应用, 这种色谱柱的技术特点就是把第一张图中第二步键合与第三步封尾调换步骤, 即硅胶单体键合前经过专门的碱钝化处理, 将残余硅羟基降至极限。此种色谱柱在对碱性样品的分离分析上效果远好于传统封尾的 C18 柱, 我们公司的代表产品是 Comasil BDS C18, 如下图是一些对苛刻碱性化合物的应用:



Comasil BDS

总结上面的理论, 笔者个人觉得, 没有任何一根色谱柱可以应对所有的应用, 色谱柱没有完美只有合适, 特殊样品得特殊分析以选择正确的色谱柱。

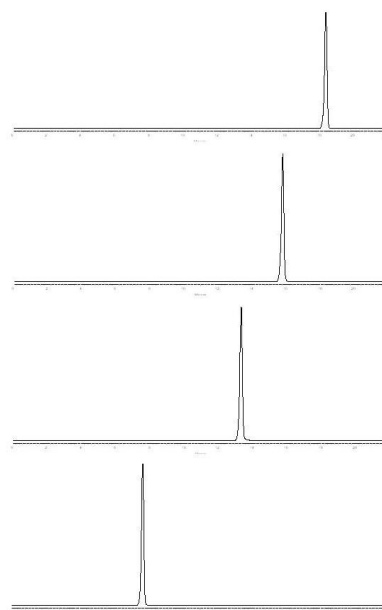
疏水坍塌与 AQ 色谱柱的应用

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，如右图，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：

- 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。
- 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。
- 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。

Comasil 与 Inertex 填料色谱柱应用比较

一、实验方法

Cometro 高效液相色谱系统;

色谱柱: Comasil C₁₈ 250*4.6mm, 5 μ m; Inertex C₁₈ 250*4.6mm, 5 μ m;

紫外检测器波长: 254nm;

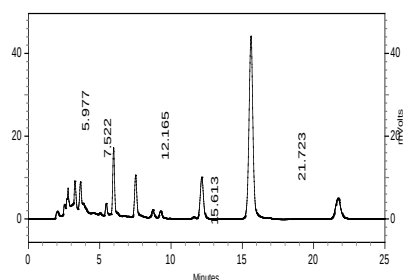
流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液 (85:15);

流速: 1.00ml/min;

样品: 大黄供试品;

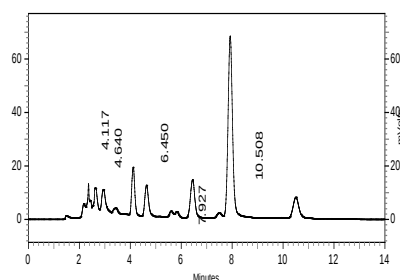
二、实验结果

1. Comasil C₁₈ 250*4.6mm, 5 μ m



Retention Time	Area	Theoretical plates (USP)	Resolution (USP)	Asymmetry
5.977	149339	10689	0.00000	1.13328
7.522	121891	10483	5.88475	1.23162
12.165	164025	13386	12.99876	1.06898
15.613	845852	15638	7.49639	0.99464
21.723	128104	16536	10.39870	1.03773

2. Inertex C₁₈ 250*4.6mm, 5 μ m



Retention Time	Area	Theoretical plates (USP)	Resolution (USP)	Asymmetry
4.117	148074	5737	0.00000	1.08738
4.640	117634	4895	2.16837	1.24753
6.450	170317	7035	6.31892	1.05674
7.927	820991	10009	4.72902	1.09947
10.508	126814	9842	6.97177	1.13304

三、结果与讨论

1. Comasil 填料具有超高的载碳量以及超低的金属离子含量, 因此, Comasil C₁₈ 色谱柱有较强的保留能力与分离能力; Inertex 填料较 Comasil 填料相比, 载碳量略低, 因此大大降低了化合物的保留时间, 非常适合用于强保留化合物的分析。
2. Comasil 和 Inertex 两种填料的 C₁₈ 色谱柱均能满足药典的要求, 五种主要组分均能得到良好的分离及峰形, 但比较两根柱子的保留时间, Inertex 填料柱子的分析时间仅为 Comasil 柱子的一半, 可以大大提高分析工作的效率。
3. 综上所述, 不同色谱柱适用于不同的样品, 色谱柱没有完美只有适合, 对于不同样品, 找到最适合的色谱柱能使分析工作达到事半功倍的效果。

高效液相色谱柱后衍生化法检测玉米粉中的氨基甲酸酯类农药残留

福建省农药检测所 黄琼辉 康文斌

氨基甲酸酯类农药的检测有气相色谱法、高效液相色谱紫外检测法、高效液相-柱后衍生法以及新近发展起来的气质联用法和液质联用分析法等。由于氨基甲酸酯类杀虫剂气相色谱检测时存在不稳定的问题,部分氨基甲酸酯类农药,如涕灭威、甲萘威易发生分解,导致检测结果不稳定;高效液相色谱-紫外检测的灵敏度达不到要求,出现有些样品低浓度时无法响应等问题。本文分析了玉米粉中5种氨基甲酸酯类农药,采用高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测器进行检测,该方法重现性好、回收率高和检测限低,适合玉米粉中的氨基甲酸酯类农药分析。

一、色谱条件

高效液相色谱-柱后衍生系统:

荧光检测器,激发波长339nm,发射波长445nm;
柱后衍生系统,柱后衍生80度,衍生剂:邻苯二甲醛(OPA)和NaOH溶液,流速0.5ml/min

色谱柱:辛烷基键合硅胶柱;

流动相:甲醇-乙腈-水梯度洗脱

流速:1.5ml/min

柱温:30℃

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A (水)	%B (甲醇)	%C (乙腈)
0	1.5	88	12	0
5.3	1.5	88	12	0
5.4	1.5	68	16	16
14.00	1.5	68	16	16
16.10	1.5	50	25	25
20.00	1.5	50	25	25
22.00	1.5	88	12	0
30.00	1.5	88	12	0



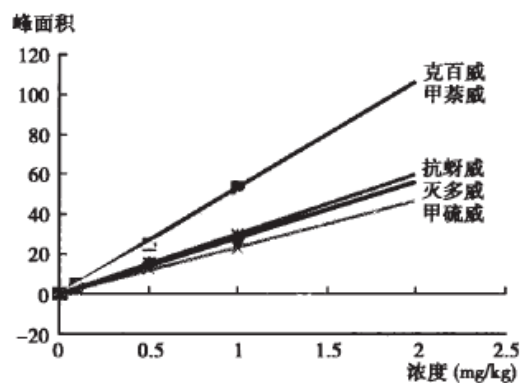
二、结果与讨论

1. 线性关系

配置灭多威、克百威、甲萘威、抗蚜威、甲硫威5种氨基甲酸酯类农药0.005、0.01、0.1、0.5、1.0mg/kg混合标准溶液,按设定好的色谱条件进行分析,以峰面积(y)对质量浓度(c, mg/kg)作图得工作曲线。

线性关系和检出限

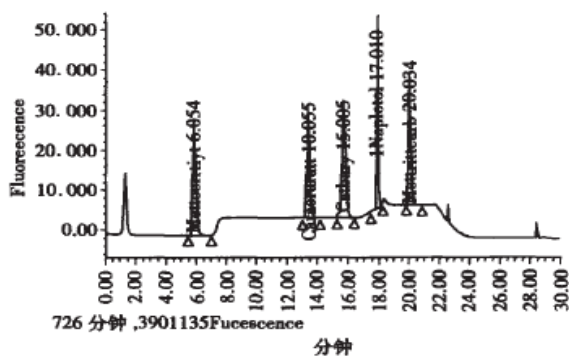
农药名称	线性方程	相关系数 r^2
灭多威	$y=27.966x+0.1877$	0.9979
克百威	$y=53.493x-0.4103$	0.9990
甲萘威	$y=49.448x-0.1395$	0.9993
抗蚜威	$y=30.119x-0.003$	0.9997
甲硫威	$y=23.173x+0.1222$	0.9987



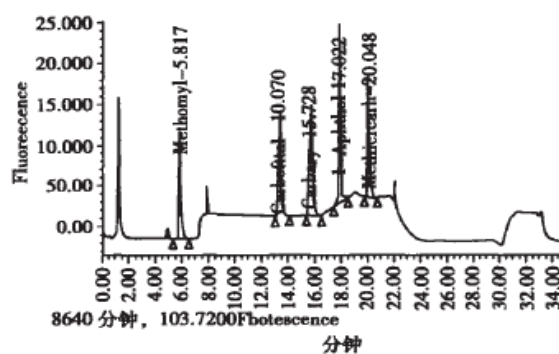
氨基甲酸酯类农药线性关系图

2. 最低检出浓度

通过进行最低检测浓度实验, 5种农药的最低检出浓度分别为: 灭多威 0.0042mg/kg; 克百威 0.0040 mg/kg, 甲萘威 0.0044 mg/kg; 抗蚜威 0.0032 mg/kg; 甲硫威 0.0043mg/kg。



5种氨基甲酸酯类农药标样色谱图



5种氨基甲酸酯类农药添加回收率色谱图

3. 方法回收率

在玉米淀粉中添加 5 种氨基甲酸酯类农药进行回收率试验, 添加量为 0.01、0.1、1.0mg/kg, 均取得比较好的结果。灭多威、克百威、甲萘威、抗蚜威、甲硫威的回收率分别在 86.7%~92.6%、82.7%~91.3%、82.7%~92.8%、83.2%~91.1%、82.5%~97.3%之间, 变异系数均<6.2%。

三、结论

本文建立了高效液相色谱-柱后衍生-荧光法检测玉米粉中 5 种氨基甲酸酯类农药残留的分析方法, 该方法重现性、回收率均满足农药残留分析要求, 为分析玉米粉中氨基甲酸酯类农药残留提供了参考。



6000 系列柱后衍生系统

理想液相色谱柱的衡量标准

一、峰形佳，柱效好

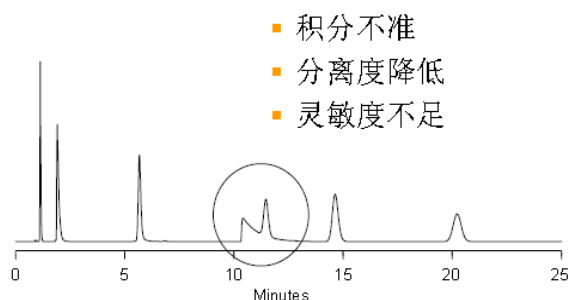
—— 对任何分析物（酸性，碱性和中性）

峰形不佳将导致：

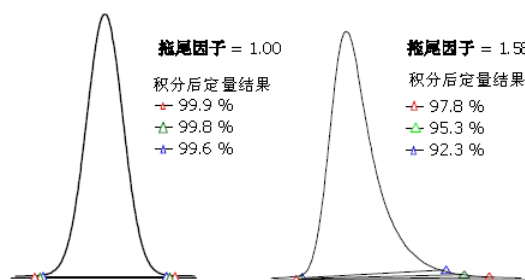
- ❖ 方法开发难度加大，过程拖长
- ❖ 分析结果不一致
- ❖ 色谱分离度不足
- ❖ 检测灵敏度降低



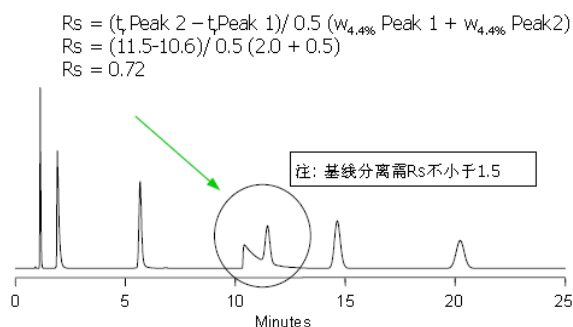
峰形不佳的后果：



峰形不佳对积分准确度的影响：

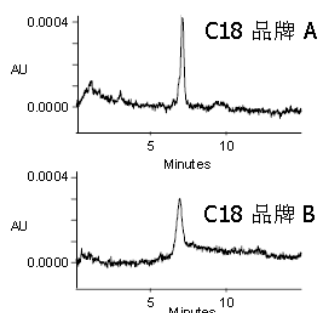


峰形不佳对峰分离度的不良影响：



峰形不佳对检测灵敏度的影响：

Tamoxifen(它莫西芬)



信噪比
A 11.0
B 6.5

注：对信噪比的要求
LOQ (最低定量限) > 10
LLOD (最低检测限) > 2

二、柱寿命长

—— 不同 pH 和柱温下均有良好表现

三、色谱分离可轻易放大

—— 从分析规模直接放大至制备规模

四、分离表现高度重现

—— 柱与柱间、不同批次填料间和不同粒径填料间均需如此

五、色谱柱产品质量的可溯源性和色谱柱生产流程是否符合最新 GMP 规范

六、价格适中

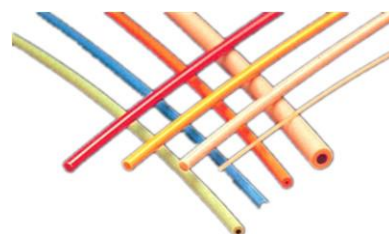
死体积对柱效的影响

我们可以设想这样一个场景，在一条湍急的河流中倒入一瓶墨水，墨水首先会是一个小小的点，渐渐顺水流而行一点点扩散，而到下游的时候肯定已不再是一个点，而是一个宽宽的谱带了。这个现象完全适用于 HPLC 的分析，试想样品由进样器起步为一个小小的点，流经输液管路和色谱柱，当到达检测池时必然也像墨水一样不可避免的有扩散，如果扩散小那么色谱图中峰宽就小，扩散大峰宽也大。为了得到较小的理想峰宽，我们就不得不讨论到一个常见的专业术语——死体积。

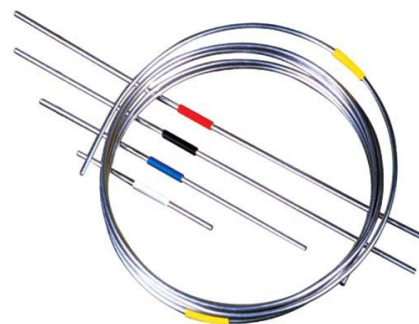
液相中的死体积，是指不被固定相滞留的组分，从进样到其出现最大峰值时，所消耗流动相的体积。死体积包括三个部分：进样器至色谱柱管路及色谱柱出口管路的体积；色谱柱内固定相颗粒间的间隙（被流动相所占据， V_m ）；检测器流动池的体积。本文中重点讨论系统管路对色谱峰宽的影响。



就像小河一样，如果河流窄的话，墨水肯定扩散就小，同样，液相系统管路细，扩散就小。那么管路的粗细到底对谱图的结果有多大的影响，笔者在长期检验色谱柱柱效的工作中有过这样的经历：把进样器到色谱柱这一段管路，内径由 0.25mm 更换成 0.5mm，笔者发现本来柱效合格的色谱柱变的远远低于合格标准，即由 80000N/m 的柱效下降到了 50000N/m，如下图，峰展宽明显。



PEEK 管路



不锈钢管路

而 0.5mm 在液相色谱系统中极其常见，一般多用于高压泵出口到进样器这一段，可以降低系统压力。而进样器之后则尽可能选择较细的管路。

因此，为避免柱效降低及峰展宽的发生，应尽量减少连接管路的长度，缩小连接管路的直径，减少系统中的死体积。

上面都为笔者工作中小小心得，有不科学的地方希望同行能给予指正，共同进步。

色谱柱的正确使用

色谱柱是一类昂贵的色谱耗材,正确的使用和维护对保证色谱柱的正常使用和延长寿命至关重要。

1、色谱柱使用前的注意事项

(1) 色谱柱内的存储液

一般色谱柱的存储液,如没有特殊说明,均为质检报告中所述流动相。氨基(NH₂)、氰基(CN)、硅胶柱(SiO₂)均为正相条件——正己烷/异丙醇体系,反相色谱柱均为甲醇/水体系。检测前,请用相互溶的试剂将其替换。

(2) 新色谱柱的平衡

新反相色谱柱:用纯甲醇冲洗色谱柱 30 个柱体积,再更换成能与检测流动相互溶的流动相冲洗 30 个柱体积,最后用流动相稳定系统至基线平稳。

新正相色谱柱:用异丙醇 0.5ml/min 冲洗色谱柱 30 个柱体积,再更换成检测流动相,稳定系统至基线平稳。

2、色谱柱的使用方向

在高效液相色谱柱标签上,所标注的箭头方向为流动相流向,使用时也按此方向。避免双向混用,导致两端填料同时污染,不利于色谱柱的再生和维护。

3、流动相和样品保持洁净

由于悬浮在样品或流动相中的细小颗粒会堵塞色谱柱两端的筛板,各种试剂尽量使用色谱纯级的,用量少的试剂纯度至少是分析纯。水最好是超纯水和全玻璃器皿双蒸水。使用前建议用 0.45μm 的滤膜过滤。样品溶液使用针筒过滤。

样品中的杂质是造成色谱柱污染、柱效下降的主要原因之一,最好使用相匹配的保护柱。样品溶剂与流动相要相匹配,不能出现样品不互溶,极性相差太大等现象,否则会造成色谱峰形变差以及鬼峰等现象。使用流动相溶解样品能有效的避免上述情况发生。

4、色谱柱允许使用的 pH 范围

每款色谱柱都有自己特定允许使用的 pH 范围,请参考你的色谱柱的使用 pH 范围。

Comasil 色谱柱 pH 耐受范围如下:

色谱柱类型	保存溶剂	pH 范围
反相柱 RP (C18、C8、C4、苯基键合相等)	甲醇或乙腈	2.0~7.0
聚合物反相柱	甲醇或乙腈	1.5~13.0
氰基柱(反相)	乙腈	2.0~7.0
氰基柱(正相)	正庚烷:异丙醇 =3:97	2.0~7.0
氨基柱、二醇基柱、 硅胶柱	正庚烷:异丙醇 =3:97	2.0~7.0

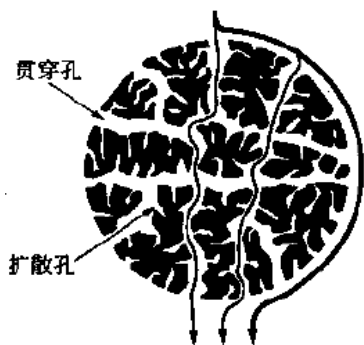
在 pH 范围以外使用,会使硅胶基质溶解或键合相水解,对色谱柱造成不可恢复的损伤,如果在临界 pH 处使用,分析结束后立即用适合于色谱柱保存并与当前使用的流动相互溶的淋洗液置换掉。

为了保障色谱柱的分离能力,请尽量专柱专用。

色谱柱技术的新进展

近年来,为适应科学的进步和工业技术的发展,色谱柱技术也取得了显著的进步。一方面,现有的色谱技术已可以满足当前各个领域中对色谱柱的需求;另一方面,色谱柱技术的改进与提高仍在不断进行之中。除生化分离的特殊要求外,发展新药和基因组研究等,也对色谱柱提出了高效、高选择性以及快速检测等要求。特别是组合化学和蛋白质组学研究的蓬勃开展,多通道快速分离分析的要求增强。因而,微型液相色谱柱、芯片式色谱柱乃至微芯片全色谱分析系统成了色谱技术中的另一个热点。此外,将色谱的多模式分离与毛细管电泳结合起来的毛细管电色谱,也需要特殊的微色谱柱系统。我们似乎可以说,未来液相色谱的发展的特点将是两极分化式的发展。面对生物高技术产业和制药工业的制备色谱系统,需要发展简单、高效、高速、低成本的色谱柱填料及制备型色谱柱;而面向基因组、蛋白质组及环境分析的高效、高选择性以及高通量、快速分析系统,将会向微型化方向发展。

一、贯流色谱填料



贯流色谱填料示意图

贯流色谱(perfusion chromatography)是20世纪80年代末至90年代初发展起来的一种色谱分离新方法。在这种填料上,既有通常的微孔或大孔,例如50~150nm的微孔,又有贯穿整个颗粒的,孔径约600~800nm超大孔存在。这种贯穿的大孔,可以允许流动相直接进入填料颗粒的内部并贯穿而过。这样,就相当于极大地降低了填料颗粒的直径,即以贯穿孔将填料分割成了很多更细小的颗粒,在这种小颗粒上的微孔已经短到不对传质过程构成明显的阻力。因此,在这种贯流色谱填料上,传质阻力已经非常小。同时,贯

穿孔内流动相的线速度正比于柱子中流动相的速度,即传质过程已由扩散传质变为对流传质。这就意味着,在一定范围内,及时提高流动相速度,也不会降低柱子的分离效率。由于填料上同时还存在着通常的多孔结构,其比表面积并未随贯穿孔的出现而大幅度降低。因此,在这种填料上的样品负载量也不随流速的增加而减少。再者,填料上600~800nm的贯穿孔,极大地增加了柱子的通透性,使得这种柱子即使工作于很高的流速下,其操作压力也不需要很高。所以,这种贯流色谱柱可以同时具有高流速、高效率、高样品负载量和低操作压力的特点。

二、石墨化碳填料

硅胶的化学稳定性较差,仅能在pH=2~8的环境下工作。但是,在很多场合下,需要使用极端的pH条件。为此,人们曾大力发展高分子微球、氧化铝、氧化锆等化学稳定性更好的基质材料。但是,很难有一种材料能全面地满足液相色谱基质的要求。例如,高分子微球在有机溶剂中会发生一些溶胀,因此难以应用于以含有机溶剂的流动相进行梯

度淋洗的场合；氧化铝和氧化锆与硅胶相比，虽然化学稳定性较好，但其表面修饰与键合比较困难。因此，化学稳定性好的碳材料便很自然地考虑作为色谱填料的基质。

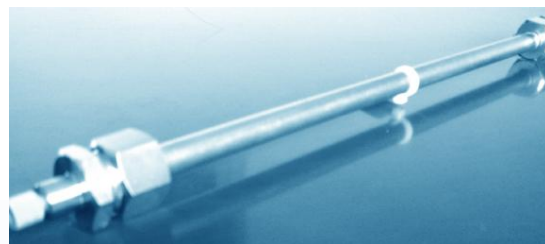
碳材料有极好的化学稳定性，可耐受宽达 $\text{pH}=1\sim 14$ 的环境；耐高温，石墨化碳可耐 3000°C 以上的高温而不受破坏；经适当加工的碳材料可具有很好的机械强度，具有优良的导电性、导热性及电磁屏蔽特性。更为难能可贵的是，多孔性碳材料以其结构的特点而具有很好的吸附性及选择性。正是碳材料的这些特性，使人们期待它在色谱领域中能有特殊的用途。

三、整体柱

整体柱 (monolithic column) 又称整体固定相 (monolithic stationary phase)、棒柱 (rod)、连续床 (continuous bed) 等，是在柱管内原位聚合或固定化了的连续整体多孔结构，可根据需要对整

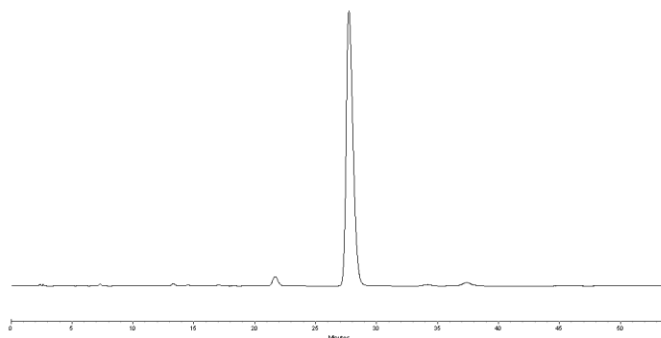
体材料的表面作相应的衍生化，是一种新型的用于分离分析或作为反应器的多孔介质。通过控制聚合条件来得到具有理想孔径分布的整体柱。整体柱中的空间由聚合物颗粒中的孔和颗粒间的缝隙组成，分离在样品流经孔结构时发生。可以减少路径的差异和纵向扩展。

整体柱的优点包括：可以原位制备，省去制备填料和装柱，也可以同法制成聚合物颗粒后再装柱；聚合物易于制备，柱子的长度和直径在一定程度上不受限制；聚合反应混合物中的单体可以灵活选择以得到适合的基质和性质；易于在柱衍生化，以得到具有合适性质的色谱柱；通过控制聚合反应的条件可以优化孔的性状。



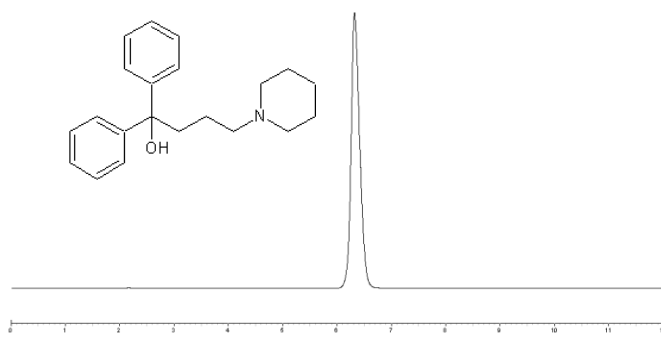
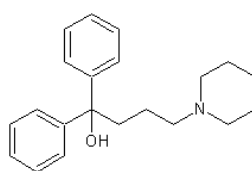
伊维菌素

- 色谱柱: Comatex C18
- 紫外检测器波长: 254nm
- 流动相: 乙腈-甲醇-水=53:35:12



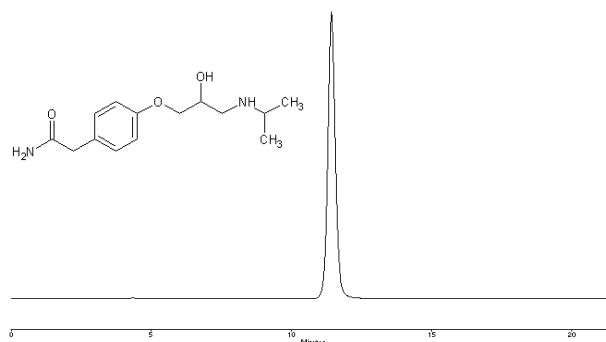
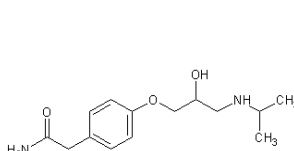
盐酸地芬尼多

- 色谱柱: Comatex AQ C18
- 紫外检测器波长: 210nm
- 流动相: 0.5%三乙胺溶液（用 20%的磷酸调节 pH=4）-甲醇=44:56



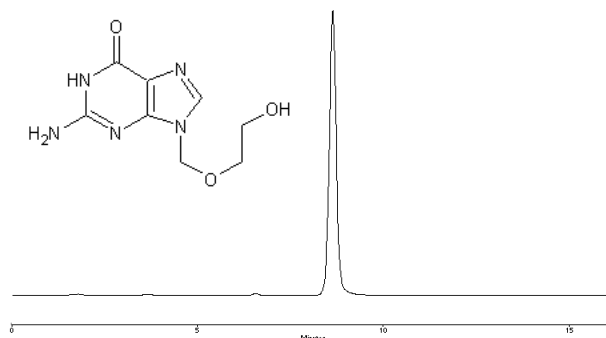
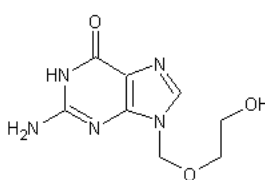
阿替洛尔

- 色谱柱: Inertex C18
- 紫外检测器波长: 275nm
- 流动相: 以磷酸盐缓冲液（取磷酸氢二钾 0.68g 加水溶解并稀释至 1000ml，用磷酸调节 pH 值至 3.0）700ml 加甲醇 300ml 与庚烷磺酸钠 2.5g



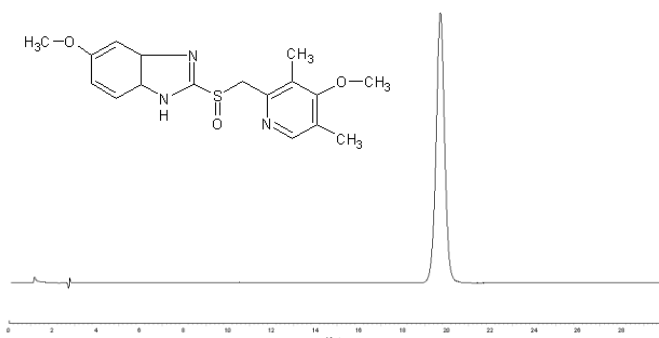
阿昔洛韦

- 色谱柱: Inertex C18
- 紫外检测器波长: 254nm
- 流动相: 甲醇-水=10:90



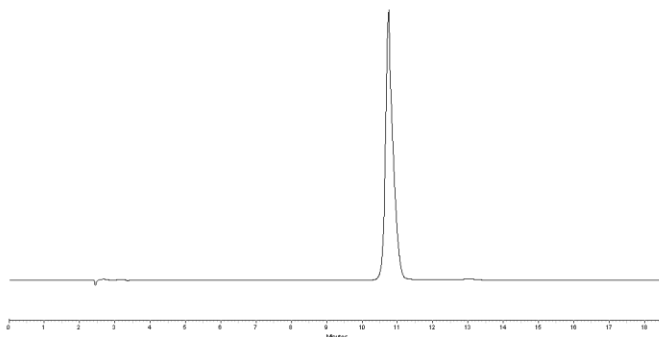
奥美拉唑

- 色谱柱: Inertex C18
- 紫外检测器波长: 302nm
- 流动相: 0.01mol/L 磷酸氢二钠 (用磷酸调 pH=7.6) - 乙腈=70:30



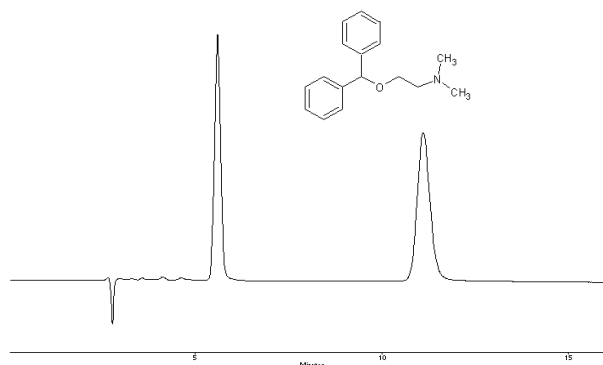
2-萘酚

- 色谱柱: Comasil C18
- 紫外检测器波长: 280nm
- 流动相: 甲醇-四氢呋喃-0.005mol/L 磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调 PH=4) =55:5:40



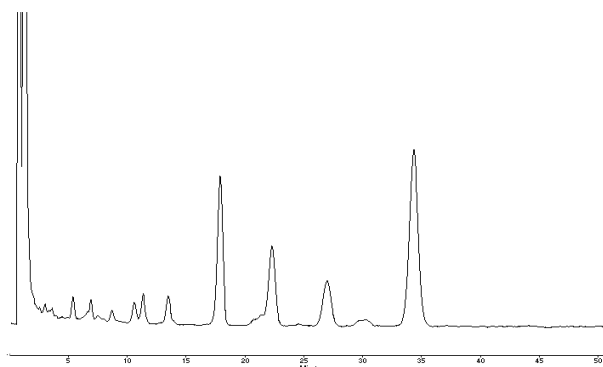
茶苯海明

- 色谱柱: Comasil C18
- 紫外检测器波长: 225nm
- 流动相: 甲醇-三乙胺溶液 (取磷酸 8ml, 三乙胺 14ml, 加水至 1000ml 用三乙胺调节 pH 值至 3.2, 再加水 500ml) =1:1



复方丹参片

- 色谱柱: Comasil C18
- 紫外检测器波长: 270nm
- 流动相: 甲醇-水=73:27



科技保证质量 服务完善产品

TECHNOLOGY ENSURING THE QUALITY
AND SERVICE COMPLIMENTING THE PRODUCTS



天津市琛航科技仪器有限公司

联系电话：022-58693245/46/47

传真：022-83716489

电子邮件：sales@scienhome.com

地址：天津市南开区华苑产业园榕苑路 16 号 G 座 CD 单元 4 层

邮编：300384