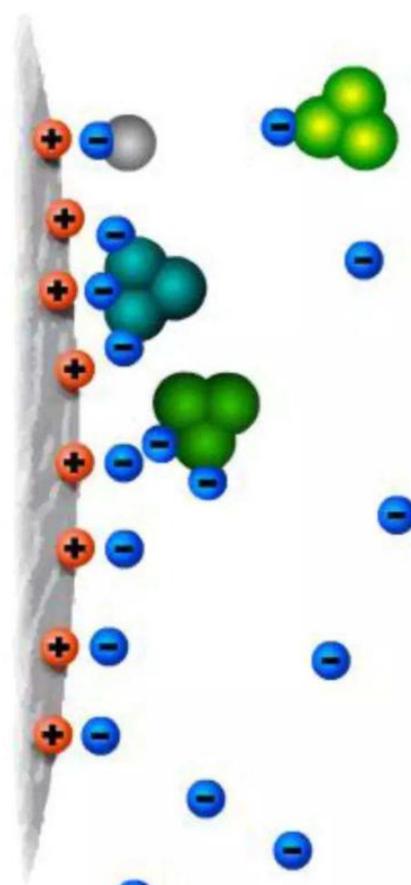


慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 147 期

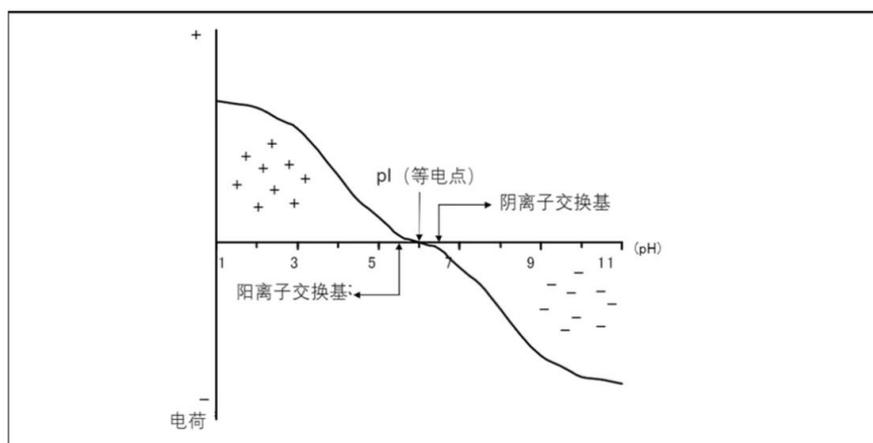
离子交换填料中离子交换基团的种类



第 147 期 离子交换填料中离子交换基团的种类

什么是离子交换色谱

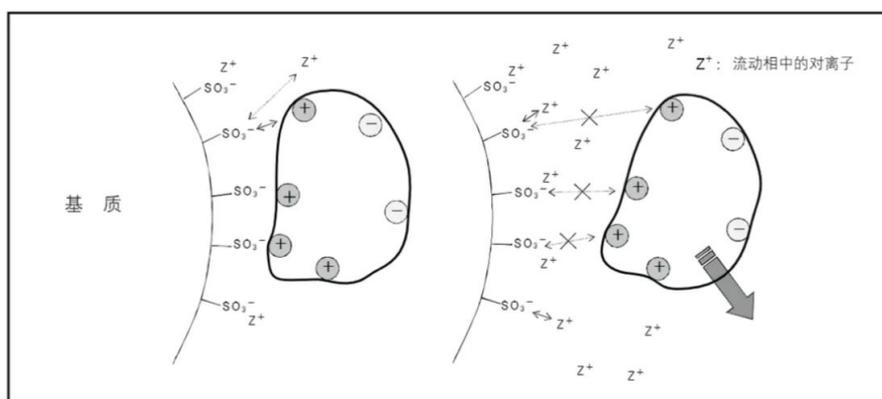
利用分析样品和填料中导入的离子交换基团之间的静电相互作用的差异的分离模式。根据离子交换官能团的电荷不同，可分为阴离子交换色谱和阳离子交换色谱。阴离子交换色谱用填料中，导入了阳离子性的叔氨基或季铵基等；阳离子交换色谱用填料中，导入了阴离子性的磺酸基或羧基等。蛋白的静电性质随 pH 值的变化而发生变化。正负电荷正好平衡时，整体不带电荷的固有 pH 值称为等电点（表示为 PI）。在更低 pH 值时，整体带正电荷；更高 pH 值时，整体带负电荷。见下图。



pH 变化引起蛋白电荷状态变化的示意图

因此在阴离子交换色谱中，用 pH 值略高于 (+0.5 至+1.0) 等电点的流动相；在阳离子交换色谱中，用 pH 值略低于 (-0.5 至-1.0) 等电点的流动相作为分离条件优化的初始起点。

与填料静电结合的分析样品一般使用盐浓度梯度洗脱法进行洗脱。增加流动相的离子强度(盐浓度)时，静电相互作用会逐渐减弱。当与离子交换基的静电结合断开时，分析样品会在色谱柱内移动，如下图。由于分析样品不同，脱离填料时的盐浓度也就不同。因此，样品中等电点不同的组分就在不同时间被洗脱而分离开。由于蛋白的静电性质随 pH 值的变化而变化，因此，也可以通过改变 pH 值进行分离（称为 pH 梯度洗脱法）。



蛋白离子交换反应的示意图（阳离子交换）

离子交换色谱具有分辨率高、吸附量大（载量高）等特点。并且，通过调整梯度洗脱的梯度，可以轻松调控或优化分离。

氨基酸和电荷

由于构成蛋白的氨基酸具有酸性、碱性或不带电荷的侧链，因此，蛋白本身的静电特性也会随着这些氨基酸组合的不同而变化。另外，由于末端存在未结合肽的羧基（C末端）和氨基（N末端），因此蛋白将始终显示离子性质。

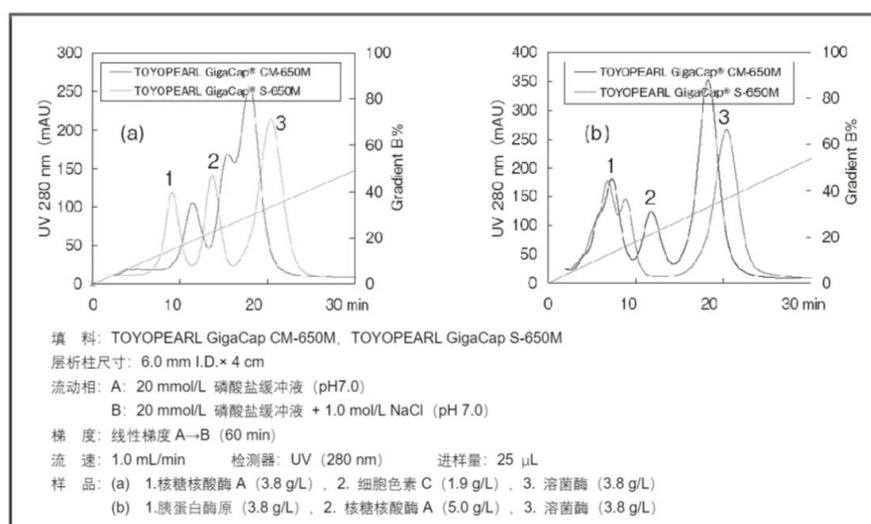
离子交换基团的种类

一般离子交换色谱用填料中，导入的离子交换基团的种类如下表所示。

离子交换	离子交换基团	结构式
强阴离子交换	QAE	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_3$
	Q	$\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
弱阴离子交换	DEAE	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
	NH ₂	$-\text{NH}_2$
强阳离子交换	SP	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$
	S	$-\text{SO}_3^-$
	Sulfate	$-\text{O}-\text{SO}_3^-$
弱阳离子交换	CM	$-\text{CH}_2\text{COO}^-$

离子交换基团的种类和构造

交换基团不同，吸附特性、分离选择性也不同。因此，选择适合要进行测定的分析样品的填料非常重要。因离子交换基团不同而造成的选择性差异如下图所示。下图 a 中，三种蛋白在磺酸基型填料上获得良好的分离；于此相对，使用羧基型填料时，细胞色素 C 和溶菌酶的洗脱峰接近，未能充分分离。另一方面，在下图 b 中，三种蛋白在羧基型填料上均获得了良好的分离；于此相对，使用磺酸基型填料时，胰蛋白酶原和核糖核酸酶 A 洗脱峰接近，未能充分分离。

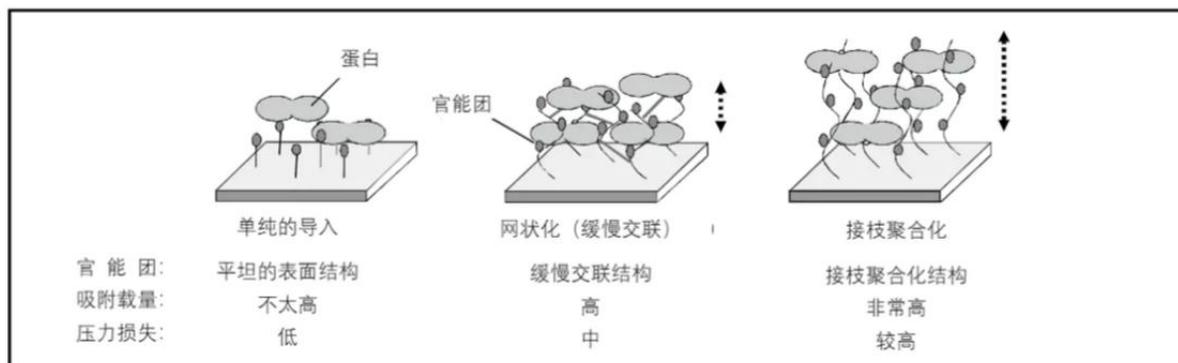


不同离子交换基团的选择性差异

离子交换基团导入方法的差异

传统的离子交换色谱用填料，一般在基质表面单纯地导入离子交换基团。最近，出现了为增加吸附载量，导入缓慢交换的离子交换基团的方法（网状化）以及在侧链中引入具有离子交换基团的单链聚合

物的方法（接枝聚合）等，如下图。通过网状化或接枝聚合化，可立体地导入离子交换基团，因为获得更高的吸附载量。另外，通过立体导入，有时还可获得不同的选择性。



官能团导入方法及其性质

* 如果需要更详细的资料，请联系我们。



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易