

基于高效微流电动液相色谱系统分离检测强阳离子交换亲水性多肽

1. 背景介绍

毛细管电色谱 (CEC) 是一种集高效液相色谱 (HPLC) 的高选择性和高效毛细管电泳 (CE) 为一体的小型液相色谱技术。自 1974 年第一次报道 CEC 以来, 随着理论和应用的发展, CEC 已成为一种强大的分离技术。然而, 这种技术的发展速度受到了实际问题和困难的阻碍, 主要包括色谱柱的制造, 再生和仪器有关。在“纯”CEC 中, 由于焦耳加热, 经常遇到形成气泡和干涸的问题。并且因其没有注射阀, 难以实现样品的定量注射。

为了减少气泡的形成, HPLC 泵已经与 CEC 系统相耦合, 最终形成一种被称为高效微流电动液相色谱系统 (eHPLC) 的混合技术。在这种新颖的分离技术中, 压力和电场都可以施加在填充的毛细管色谱柱上, 有利于中性和带电物质的分离。此外, eHPLC 可实现溶剂的梯度洗脱和定量注射。

我们研制的 eHPLC 系统, 可用于高效微流电动液相色谱、微流液相和毛细管电泳等实验。并研究了 eHPLC 在亲水性和强离子交换混合模式下多肽的分离。对于多肽等带电物质, eHPLC 模式下的保留机制是基于色谱分离和电泳迁移。因此, 可以通过改变电场和压力来调节多肽的洗脱。并且我们评价了亲水性相互作用、离子交换和电迁移对多肽分离的贡献, 并讨论了保留机制。用梯度洗脱法分离 eHPLC 系统中的多肽, 研究了压力、电场、有机溶剂、pH 值、离子强度等因素对多肽混合物分离的影响。

2. 测试条件

仪器:	TriSep [®] -3000 高效微流电动液相色谱系统
-----	--

3. 测试结果

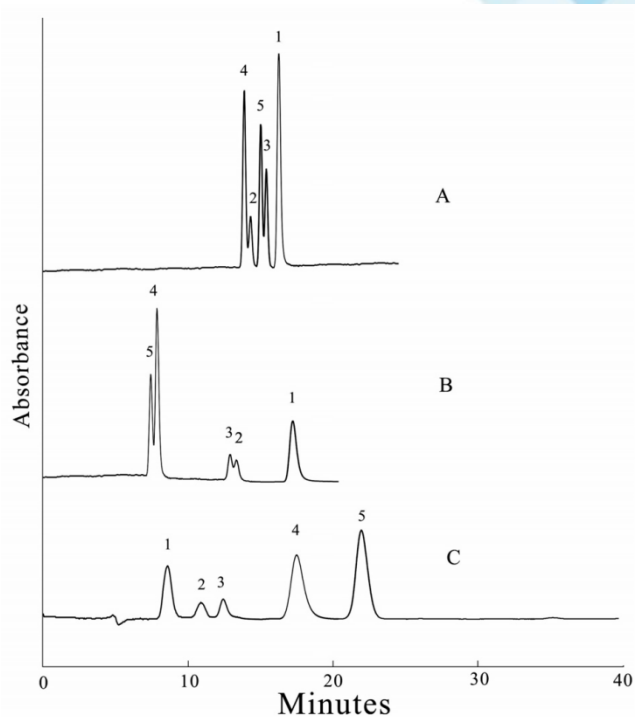


图 1 eHPLC 系统分离检测多肽

注： 1 Met-Met; 2 Gly-Leu; 3 Leu-Gly-Gly; 4 Gly-Cys; 5 Gly-Gly-Gly。

A CE; B RP-eHPLC; C SCX-eHPLC。

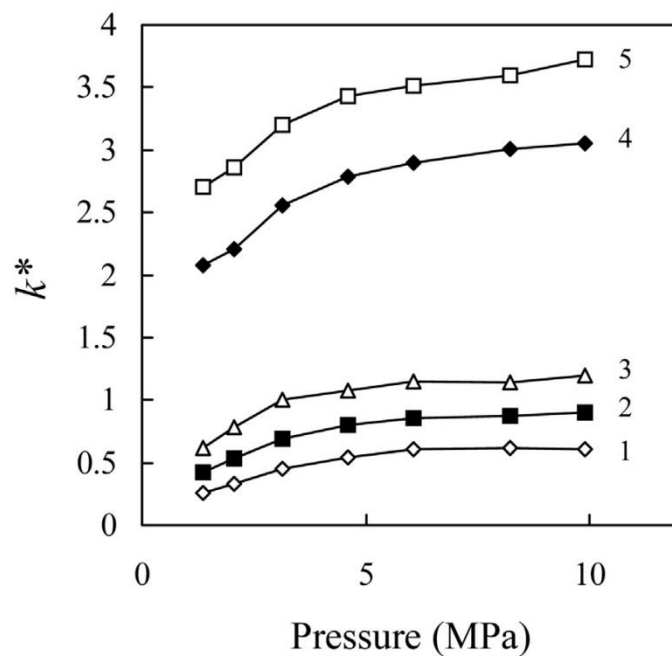


图 2 eHPLC 系统中压力对物质保留性的影响

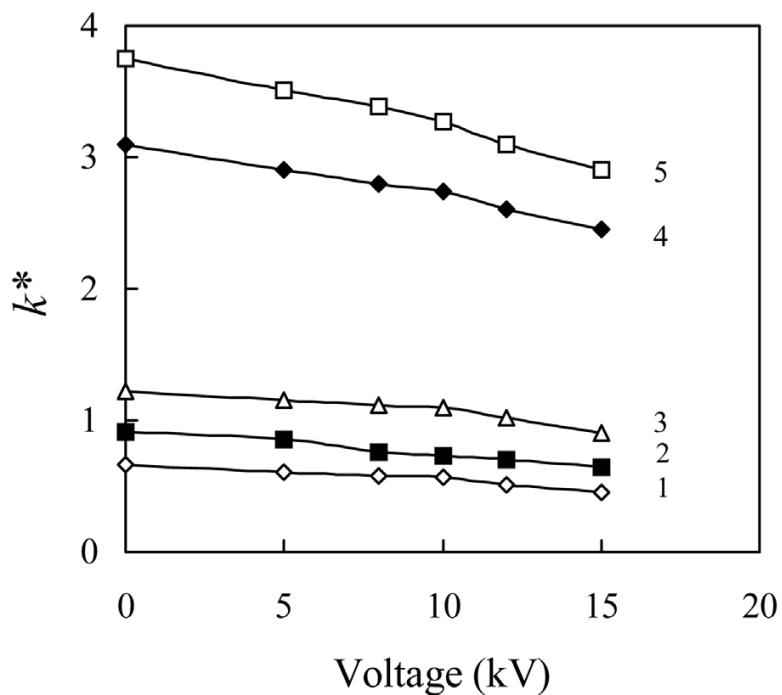


图 3 eHPLC 系统中施加电压强度对物质保留性的影响

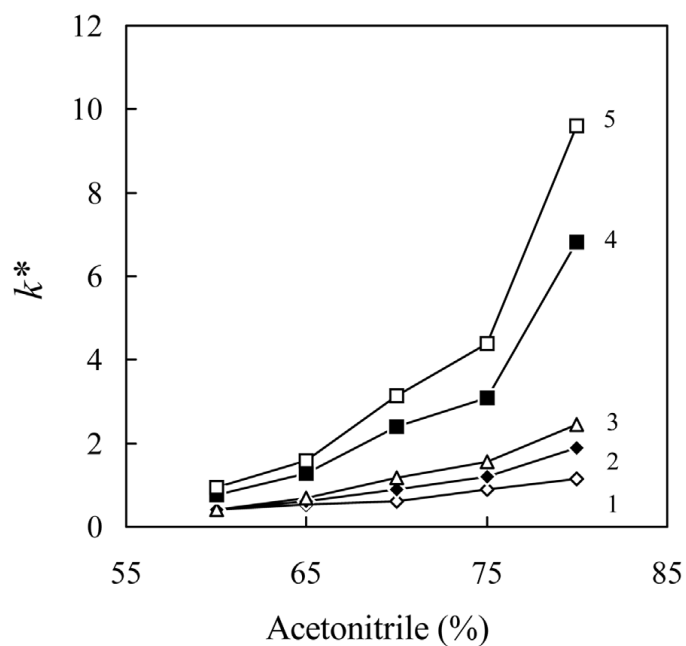


图 4 eHPLC 系统中有机溶剂浓度对物质保留性的影响

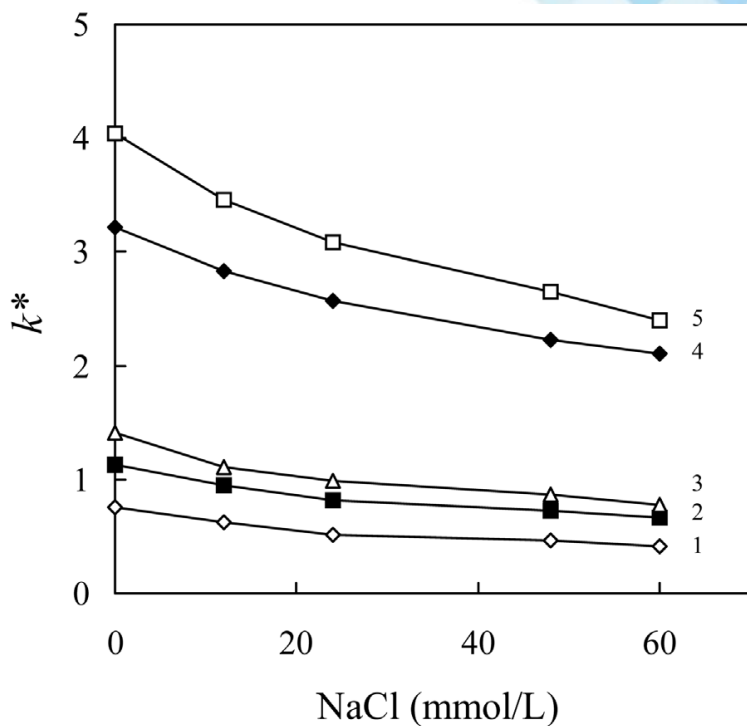


图 5 eHPLC 系统中离子强度对物质保留性的影响

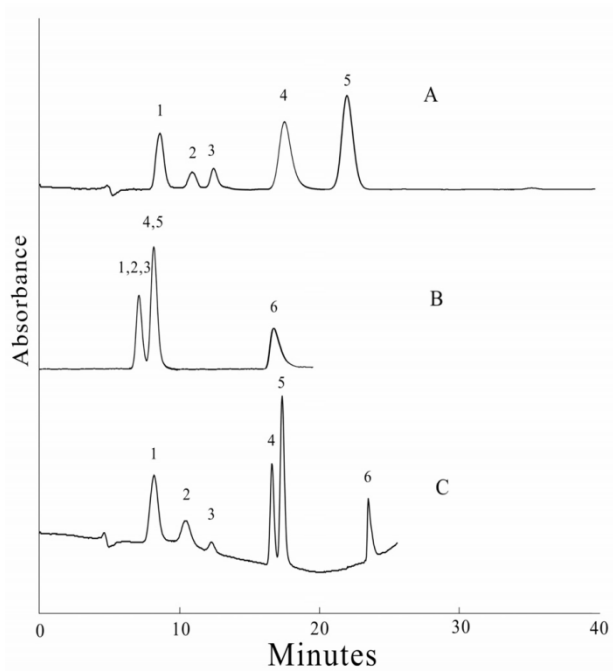


图 6 eHPLC 系统中等度洗脱和梯度洗脱 6 种多肽的比较

注：A 等度（75%乙腈）； B 等度（50%乙腈）； C 梯度。

4. 结论

采用 TriSep[®]-3000 高效微流电动液相色谱系统，可以通过改变外加电压和压力来调节多肽等带电化合物的选择性，克服了纯 CEC 中形成气泡的问题。系统的研究了压力、电

场、有机溶剂、pH 值、离子强度等因素对多肽混合物分离的影响。实验结果表明，高效微流电动液相色谱系统，可方便地进行连续梯度洗脱，并可通过液相型注射阀实现定量注射。并且是分离亲水性多肽的一种有效方式。

5.配置列表

仪器配置	TriSep [®] -3000 高效微流电动液相色谱系统（配二元梯度泵、柱温箱、UV 检测器、高压电源、自动进样器、微流控、控制器）
	Clarity Lite 色谱工作站