

## SPE 方法开发和问题解决

### 阳离子交换萃取过程

#### 一般的离子交换萃取过程

化合物带有可以离子化的官能团（羧酸、无机离子、磺酸氨等），可以用离子交换吸附剂从低离子强度的水溶液（ $<0.1M$ ）中将化合物萃取出来。常见萃取包括：

- 血浆中的儿茶酚胺
- 尿液中的碱性药物
- 土壤中的除草剂
- 尿液中的有机酸
- 细胞培养液中核糖核苷

#### 1. 吸附剂的活化

**溶剂化：**使用 1-2 个柱体积的甲醇或者乙腈润湿吸附剂

**冲洗：**用缓冲溶剂置换掉多余的溶剂，并调整到合适的 pH 值。详细描述请参考调整合适的 pH 值以保证最佳的保留和洗脱部分介绍。

#### 2. 上样

如有必要，请调节样品 pH 值，或者对其进行稀释以及降低离子强度，将样品添加到已经活化好的 Bond Elut 柱中。样品通过萃取柱的流速不能超过 4ml/min。

#### 3. 淋洗/去除干扰物

用合适 pH 的缓冲液淋洗柱管，去除基质干扰物，同时要维持目标分析物的保留

#### 4. 洗脱

将传输针头插入 Vac Elut 真空装置，并放入贴上标签的收集管，关闭真空，在柱管中加入洗脱溶剂。

打开真空，收集目标分析物。

洗脱溶剂的流速不超过 4ml/min。常用的洗脱溶剂有：

- 改变洗脱缓冲液的 pH 值
- 高离子强度的洗脱缓冲液
- 在洗脱缓冲液中使用更高选择性的离子对
- 在洗脱溶剂中加入 50% 的有机改性剂，常用的是甲醇

#### 弱阴离子交换

吸附剂	pKa
二乙基氨丙基 (DEA)	10.7
氨丙基 (NH <sub>2</sub> )	9.8
N-丙基乙二胺 (PSA)	10./10.9

#### 分析物

官能团带负电的化合物：

- 羧酸
- 磺酸
- 磷酸
- 无机阴离子

弱的阴离子交换常被用来萃取强阴离子化合物（例如磺酸）。通过调整 pH 值以中和吸附剂上的电荷，从而使强阴离子分析物发生洗脱。

#### 保留条件

对于弱的阴离子交换机理，当化合物带有负电荷而吸附剂带有正电荷时，会发生保留。样品的离子强度应小于 0.1M，才会得到最佳保留。

将样品的 pH 值调整到比分析物的 pKa 值至少高 2 个 pH 单位，而比吸附剂的 pKa 值至少低 2 个 pH 单位，例如分析物的 pKa 值为 5.0，则可将样品 pH 值调整到 7.0 左右。

#### 从弱的阳离子交换吸附剂上洗脱

对下面的洗脱技术和方法进行评估，从而找到一个可以得到最高回收率的萃取方法。

1. 用比分析物的 pKa 值至少低 2 个 pH 单位的缓冲液，去中和分析物上的电荷，进行洗脱。
2. 用比吸附剂的 pKa 值至少高 2 个 pH 单位的缓冲液，去中和吸附剂上的电荷，进行洗脱。
3. 用高离子强度（ $>0.1M$ ）的缓冲液进行洗脱。
4. 用包含高选择性离子对的缓冲液进行洗脱。
5. 用带有少量酸或者碱的溶剂洗脱分析物，例如：用含有 0.1N HCl、1% NH<sub>4</sub>OH、3% 乙酸氨或者 1% 三乙胺的甲醇、乙腈或丙酮溶剂进行洗脱。
6. 结合以上几种方法。

TEL : 0 2 1 - 6 2 1 1 8 9 4 6 , 6 2 1 1 8 9 4 9 , 6 2 1 1 9 4 8 7

<http://www.quandao.com.cn/>

## 强阴离子交换

吸附剂	pKa
季胺 (SAX)	一直荷电

### 分析物

官能团上带有负电荷的化合物，包括：

- 羧酸
- 磷酸
- 无机阴离子

强阴离子交换一般不建议用来萃取强阴离子化合物，例如磺酸，因为这类化合物易在强阴离子交换吸附剂上发生不可逆保留。

### 保留条件

强阴离子吸附剂会带正电荷，带有负电荷的化合物可以通过离子相互作用被保留。中和分析物上的负电荷，则可发生洗脱。

调整样品的 pH 值，使其比分析物的 pKa 值高 2 个 pH 单位，以确保阴离子分析物完全离子化，样品的离子强度应小于 0.1M，才会得到最佳保留

### 从强的阴离子交换吸附剂上洗脱

1. 对下面的洗脱技术和方法进行评估，从而找到一个可以得到最高回收率的萃取方法。
2. 用比分析物的 pKa 值低 2 个 pH 单位的缓冲液，去中和分析物上的电荷。
3. 用高离子强度 (>0.1M) 的缓冲液进行洗脱。
4. 用包含更强选择性离子对的缓冲液进行洗脱，例如，0.1-0.5M 的柠檬酸盐缓冲液。
5. 用带有少量稀酸或者稀碱的溶剂洗脱分析物，例如：用含有 0.1N HCl、1% NH4OH、3% 乙酸氨或者 1% 三乙胺的甲醇、乙腈或丙酮溶剂进行洗脱。
6. 以上几种洗脱技术相结合

## 阴离子交换萃取常见问题解决

1. 分析物和吸附剂必须被完全离子化，以保证充分保留
2. 高浓度的盐或离子会干扰离子交换萃取，如果样品离子浓度 > 0.1M，则可以用水稀释样品，以降低离子强度；或者先用非极性萃取对样品进行脱盐处理。
3. 离子交换是一种非常慢的相互作用，在使用 Vac Elut SPE 真空装置时，应调整真空控制阀，在上样和洗脱过程中尽量降低样品和溶剂的流速。
4. 在萃取之前将吸附剂上的离子对转换成更低选择性的离子对。
5. 键合吸附剂与分析物中的非极性部分之间的次级相互作用，会造成洗脱不彻底的现象，如在洗脱液中加入一些有机溶剂，则可以提高分析物的回收率。
6. 分析物在强离子交换吸附剂上无法洗脱时，可以使用弱离子交换吸附剂。注意：离子交换作用是比较性和非极性相互作用慢的作用过程，因此，为了保证可靠的萃取结果，流速的控制至关重要。

**注意：**常见的硅胶基体的吸附剂填料的 HPLC 色谱柱，所能耐受的 pH 值的范围为 2-8，与此相比，Bond Elut SPE 柱可适用的 pH 值范围要宽的多。在 pH < 2 和 pH > 8 的情况下，短时间内不会发生吸附剂的降解。但是，一般在极端 pH 条件下使用过的 SPE 柱，将无法再重复使用，因为在极端苛刻的条件下，吸附剂不可避免地会发生降解。

TEL : 021 - 62118946 , 62118949 , 62119487  
<http://www.quandao.com.cn/>