

实验与技术

凝胶渗透色谱中的再循环分离技术

成跃祖

(兰州炼油厂石油炼制研究所)

前 言

为适应生产和科学技术的发展需要，凝胶渗透色谱法(GPC)正朝着快速、高分辨力和自动化的方向发展，陆续出现了一些新的仪器设计和实验技术。然而，如何进一步提高GPC的分离效率乃是广大色谱工作者共同关心的问题。要提高GPC的分离效率，除了选择高效凝胶填料外，也可采用增加分离柱的柱长的方法，以增加理论塔板数。但是，柱长的增加不但使柱接头增加，死体积增大，而且柱压也随之增加，不利于实验条件最佳化。

采用再循环技术，可以在不增加分离柱长和不增加输液泵的情况下，有效地提高分离效率(1,2)。所谓再循环技术，就是应用多通阀的切换，使样品在同一根(组)色谱柱中进行多次循环的方法。1962年，Porath和Bennich(3)首次报道了采用再循环技术分离两个重叠色谱峰获得成功的消息。从此，随着液体色谱技术的发展，再循环技术逐步得到广泛的应用。

Waters(4)利用再循环装置分离了窄分布的聚苯乙烯标准样品，采用长为976cm的柱子，进行16—18次再循环，有效地分离得到分布宽度指数 $\bar{M}_w/\bar{M}_n = 1.001$ 的聚苯乙烯标样。Biesenberger、Duvdevani和Tan(5—7)等人设计了一种具有再循环装置的GPC仪器，用于对多种聚合物的分离。

再循环分离技术是GPC分离方法的一个发展，由于它与常规GPC仪器相比，仅仅增加了一个再循环阀，然而却大大地增加了GPC对样品的负载能力，使其具有极高的分离度。

构造和原理

再循环GPC仪器就是在色谱系统中，装一个再循环阀，使泵、分离柱、检测器处在同一个密闭回路内，使经过分离柱的淋洗液重新回到泵，再次经过分离柱进行再分离分级。再循环装置可分为单柱

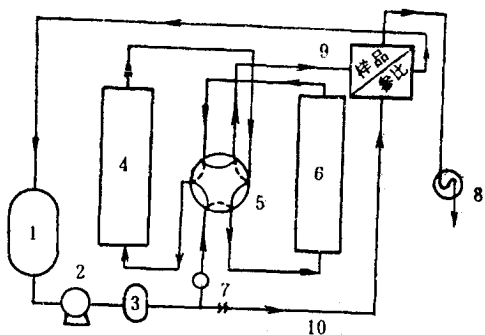


图1 双柱再循环系统流程示意图

- 1. 溶剂, 2. 泵, 3. 稳压器, 4. 分离柱, 5. 再循环阀,
- 6. 分离柱, 7. 进样阀, 8. 虹吸管, 9. 检测器, 10. 参比流路。

再循环和双柱再循环结构两种，图1表示双柱系统再循环装置。

假定被分离的色谱峰是符合高斯分布的，色谱峰的总底宽 W_T 可用下式表示，

$$W_T^2 = W_{2S}^2 + W_P^2 \quad (1)$$

式中， W_{2S} 、 W_P 分别为由于色谱峰的增加和聚合物本身多分散性所引起的底宽。当进行了n次循环后，则，

$$W_{Tn}^2 = W_{2Sn}^2 + W_P^2 \quad (2)$$

$$\text{而 } W_{2Sn}^2 = W_{2S}^2 \cdot n \quad (3)$$

$$W_{Tn}^2 = W_P^2 \cdot n^2 \quad (4)$$

$$\text{故 } \left(\frac{W_{Tn}}{n}\right)^2 = \frac{W_{2S}^2}{n} + W_P^2 \quad (5)$$

如果用 $(W_{Tn}/n)^2$ 对 $1/n$ 作图，并外推到 W_P^2 ，从 W_P 值很容易计算聚合物的重均分子量(\bar{M}_w)和数均分子量(\bar{M}_n)的比值(\bar{M}_w/\bar{M}_n)，这样，试样的分布宽度指数即可方便地确定。

增加再循环的次数，可提高分离效率。但是，随着循环次数的增加，色谱峰形也相应变宽。一般情况下，GPC的峰宽 W 正比于柱长。与此同时峰宽也随循环次数增加而加宽，两者存在着下述定量关系，

$$W = W_0 \cdot \sqrt{n} \quad (6)$$

W_0 为第一次循环时的峰宽，n为循环次数，

再循环时，由于循环系统的体积是恒定的，峰间距离的增加是循环次数的函数，因此，在某一特定循环时，最大循环次数是由系统的最初容量及溶质分布的宽度所决定的(8、9)。当n增加时，分布宽度可能超过系统的体积而产生重叠(即最后一次循环的高分子级分与前一次循环的低分子级分重叠)。为了避免峰的重叠，在实验过程中，应该收集已达分离的级分是十分必要的(9)。收集级分的方法如图2所示，聚乙烯氨基酚化合物经过六次循环后，由于低分子部分首先得到分离，先收集已分离的级分(图中阴影部分)，留下的高分子量部分进行再循环直至全部分离为止。

Bombaugh等(1)设计了单柱系统再循环装置(见图3)，这个系统比双柱再循环装置(图1)结构更为简单，而且便于移去再循环过程中需要收集的分级分。 V_2 为再循环阀，实线为再循环位置，虚线为停止再循环进行收集级分的位置。这种设计操作简单，美国Waters公司ALC/GPC系列产品上均装有这种兼顾循环、收集和排废液的多功用阀。

实例与讨论

GPC的分离度 R_s 可用下式表示，

$$R_s = \frac{2(V_{e2} - V_{e1})}{(W_1 + W_2)} \quad (7)$$

式中， V_{e1} 、 V_{e2} 分别为溶质1和溶质2的淋洗体积， W_1 、 W_2 分别为溶质1和溶质2的峰底宽。Bombaugh等用制备色谱仪加再循环装置研究了进样量与流速对分离度的影响。发现进样量增加，分离度降低，同一进样量增加再循环次数，分离度增加其部分结果如图4和图5所示。由图4可见，当进样量为3.5g时，一次循环根本分不开，当经过三次循环后，两组分却能分离得很好(见图6)。再循环次数对各进样量的分离度的影响见表1。由表1结果可以看出，3.5g样品一次进样循环三次比

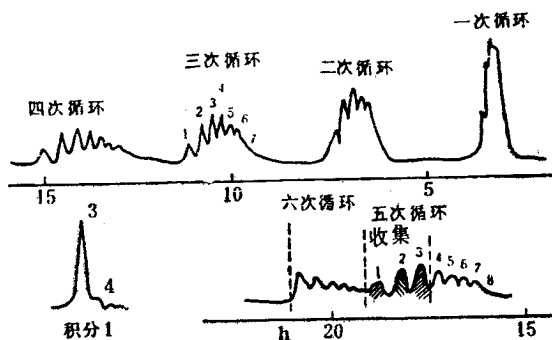


图2 循环过程中的级分收集

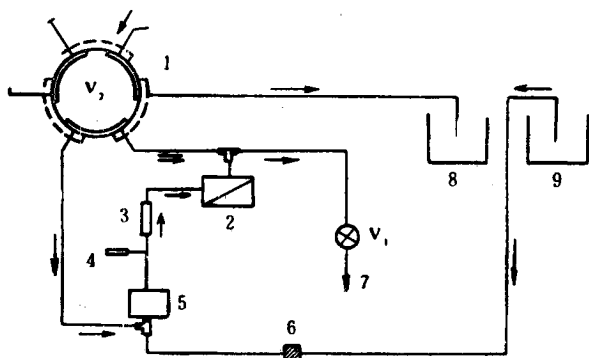


图3 单柱再循环流程图

1. 再循环阀，2. 示差折光检测器，3. 柱，4. 进样阀，
5. 泵，6. 过滤器，7. 冲洗液，8. 收集，9. 溶剂贮器。

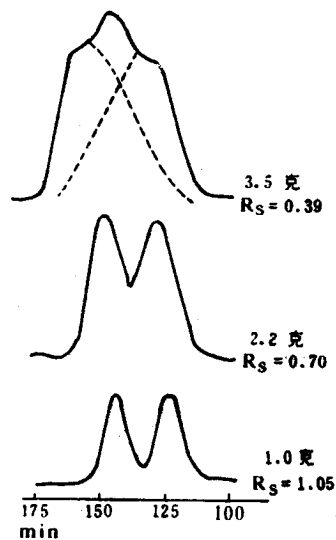


图4 样品负载量对分离度的影响(1)

色谱条件：
柱 2.5×10^4
Styragel，
溶剂：甲苯，样品：
聚苯乙烯混合物，
进样量：不定，
浓度10mg/ml。

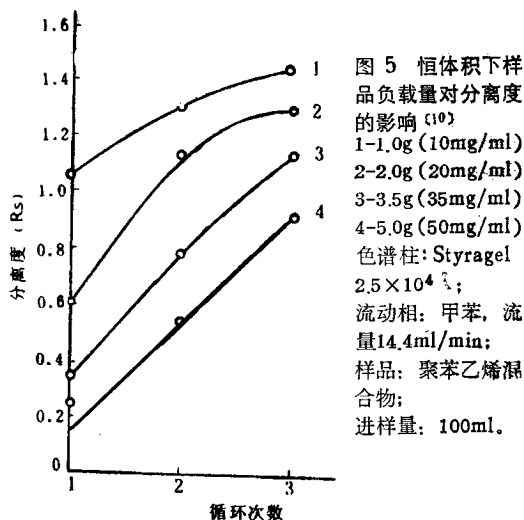


图5 恒体积下样品负载量对分离度的影响(10)
1-1.0g (10mg/ml)
2-2.0g (20mg/ml)
3-3.5g (35mg/ml)
4-5.0g (50mg/ml)
色谱柱：Styragel
 2.5×10^4 ；
流动相：甲苯，流
量14.4ml/min；
样品：聚苯乙烯混
合物；
进样量：100ml。

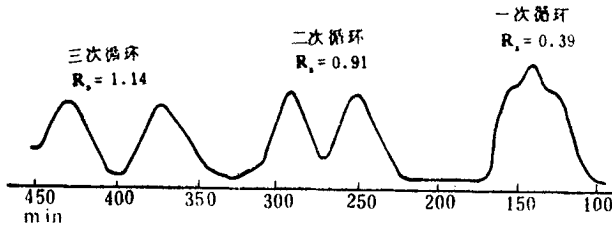


图 6 大进样量时再循环对分离度的影响⁽¹⁾
 色谱条件: 柱: $2.5 \times 10^4 \text{ \AA}$ Styragel, 溶剂: 甲苯,
 样品: 聚苯乙烯混合物, 浓度 10mg/ml,
 进样量: 3.5克(350ml)。

图 7 再循环GPC分离无灰添加剂和聚异丁烯

1. 聚异丁烯二酰亚胺无灰添加剂 2. 聚异丁烯(M=800~1000)
 色谱条件: 柱: $\mu\text{-Styragel } 1500 \text{ \AA} - 100 \text{ \AA} - 100 \text{ \AA}$ ($7.8 \times 300 \times 3$);
 流动相: 四氢呋喃, 流速: 1ml/min;
 检测器: 示差折光8 \times ; 进样量: 100 μ l(0.5%)。

表 1 浓度不变时再循环次数对各进样量分离度的影响⁽¹⁾

进样量 (g)	体 积 (ml)	分 离 度		
		一次循环	二次循环	三次循环
1.0	100	1.06	1.31	1.47
2.2	220	0.70	1.20	1.34
3.5	350	0.39	0.91	1.14

三次进样, 每次进样 1g 所得到的分离度要好。

本文作者⁽¹²⁾应用 GPC 再循环技术研究聚异丁烯二酰亚胺无灰添加剂和其原料低分子量(800~1000)聚异丁烯的组成时, 证实采用再循环技术可以使两者得到完全的分(见图7)。

由此可见, 在色谱柱过载的情况下, 或在两组分搭接很难用一次循环分开的情况下, 适当地应用再循环技术可明显地改善分离效率。

再循环中流动相流速对分离度 R_s 也有同进样量相类似的影响。一般说来, 随流速增大, 分离度降低。图 8 表示在三次循环中, 每一次的分离度与流速间的相互关系⁽¹⁰⁾。当流速为 120ml/min 时, 第三次循环后的分离度可与流速为 14ml/min 在第一次循环后的分离度相比拟。由此可见, 如果增

加流速, 并采用再循环技术, 在同样的分离度下, 就需要循环操作三次。

Bombaugh 仍用图 4 的实验条件研究了在不同循环次数下, 流速对分离度的影响, 其结果列于表 2。由表 2 可见, 当流速为 121ml/min 时, 循环三次的分离度高于流速为 14.4ml/min 下循环一次的分离度。因此, 对于 GPC 来说, 只要色谱柱具有足够大的容量, 采用再循环操作, 即使在大进样量和大流速下, 仍可得到良好的分离效率。

结 语

(一) 再循环分离技术特别适用于 GPC 分离, 因为 K 值不超过 1, 由色谱系统的容量大小规定了最大淋洗体积, 从而可不考虑诸如吸附色谱中经常出现的滞后峰⁽¹¹⁾。

(二) 在色谱柱过载或峰形搭

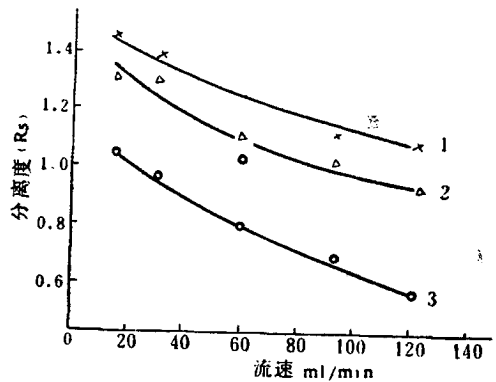


图 8 流速对分离度的影响⁽¹⁰⁾

○—一次循环 △—二次循环 ×—三次循环
 色谱条件: 柱: $2.5 \times 10^4 \text{ \AA}$ Styragel 溶剂: 甲苯,
 样品: 聚苯乙烯混合物, 进样量: 100ml, 负载量: 1g。

表 2 流速对分离度的影响⁽¹⁾

流速(ml/min)	分 离 度		
	一次循环	二次循环	三次循环
14.4	1.06	1.31	1.47
29.6	0.59	1.30	1.40
59.1	0.81	1.03	1.11
92.0	0.69	1.04	1.13
121.0	0.57	0.95	1.09

结 论

用宽分布的标样制定 GPC 校准线的方法, 可以大幅度减少误差, 节省实验时间, 适应性广, 编好计算机程序后, 可适用于多种高聚物。本文对此法进行了尝试, 但结果误差仍在10%左右。非线性校准线的峰加宽效应改正, 只有已知样品的 \overline{M}_n 、 \overline{M}_w 才可用^[15]的方法进行改正。本文因条件所限, 未能进行这项工作是一个缺陷。总之, 为了提高精度, 还有待于今后进一步研究和探讨。

致谢 本文所用的分级样品由本院80级学生郑青健分级制得; (η) 数据由青岛化工厂董育湘、姚红协助测定, 在此谨表谢意。

参 考 文 献

- (1) P. L. Dubin, S. Koontz et al., *J. Polym. Sci.*, A-1, 15, 2047(1977).
- (2) D. R. Scheuing, *J. Appl. Polym. Sci.*, 29, 2819 (1984).
- (3) G. Coppola, P. Fabbri et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, 16, 2829(1972).
- (4) J. V. Dawbins et al., *Die Makromol. Chemie*, 176, 1795(1975).
- (5) W. Ring et al., *Makromol. Chem.*, 103, 83 (1967).
- (6) J. R. Purdon et al., *J. Polym. Sci.*, A-1,

6, 243(1968).

- (7) S. T. Balke et al., *Eng. Chem. prod. Res. Develop.*, 8, 54(1969).
- (8) 高涛、杨遇普, *合成纤维工业*, (2), 37(1982).
- (9) 王佐英, *合成纤维*, (6), 11(1983).
- (10) P. Szewczyk, *Polym.*, 17, 90(1976).
- (11) P. Szewczyk, *J. Polym. Sci.*, C, 68, 191 (1980).
- (12) P. Szewczyk, *J. Appl. Polym. Sci.*, 26, 2727(1981).
- (13) 陈重酉, *合成纤维*, (2), 56(1986).
- (14) K. Kamide et al., *Polym. J.*, 14(8), 591 (1982).
- (15) 程镛时、薄淑琴, *高分子通讯*, (2), 93(1985).

(收稿日期: 1986年1月5日)

A New Method for Calibration of Gel Permeation Chromatographic Columns by Polydisperse Polymer Standards Chen, Chongyou, Shandong Institute of Textile Technology, Qingdao

By use of a polydisperse standard of any type of average molecular weight (e. g., number-, viscosity- and weight-average molecular weight) and the corresponding chromatogram as well as the concept of average volume the molecular weight calibration equation which is polynomial has been established. An iteration procedure is performed to determine the accurate calibration equation. The equation is linear or nonlinear. The accurate $M_n, M_w, M_v, M_w/M_n$ data can be obtained from the latest calibration equation. The average deviation of the calculated average molecular weight based on the equation (third-degree polynomial) is about 10%. This is a problem which need to be studied further.

(上接 165 页)

接难以一次循环分离的情况下, 采用多次再循环技术, 可有效地提高分离度。因此, 再循环技术是改善 GPC 分离效率的有效方法之一。

(三) 再循环流路要尽可能地短, 以将死体积减小到最低程度, 否则会降低分离效率。同时适用于 GPC 再循环操作的应是小体积的往复柱塞泵。

参 考 文 献

- (1) K. J. Bombaugh, R. F. Levangie, *Separ. Sci.*, 5, 751(1970).
- (2) K. J. Bombaugh, W. A. Dark, R. F. Levangie, *J. Chromatogr. Sci.*, 7, 42(1969).
- (3) J. Porath, H. Bennich, *Arch. Biochem. Biophys.*, Suppl., 1, 15(1962).
- (4) J. C. Waters, *J. Polymer Sci.*, part A-2, 8, 411(1970).

- (5) J. A. Biesenberger et al., *J. Polymer Sci.*, B-9, 353(1971).
- (6) J. A. Biesenberger, M. Tan, I. Duvdevani, *J. Appl. Polym. Sci.*, 15, 1549(1971).
- (7) I. Duvdevani, J. A. Biesenberger, M. Tan, *J. Polymer Sci.*, B-9, 429(1971).
- (8) K. J. Bombaugh, R. F. Levangie, *J. Chromatogr. Sci.*, 8(10), 560(1970).
- (9) K. J. Bombaugh, *J. Chromatogr.*, 53(1), 27 (1970).
- (10) A. J. P. Martin in "Gas Chromatography" (ed. V. J. Coates et al.) Academic, New York, P.237, 1958.
- (11) K. J. Bombaugh, in "Modern Practice of Liquid Chromatography" (ed. J. J. Kirkland), Wiley-Interscience, New York, 272, 1971.

(收稿日期: 1986年8月1日)