

# 柱温与凝胶色谱分离性能关系的研究

周德辉, 张伟红

(上海石油化学股份公司化工研究所质检室, 上海 200540)

摘要: 通过一系列实验, 发现在凝胶色谱中柱温对柱效的影响随相对分子质量的增大而增大; 溶质的淋洗体积与柱温有关, 而选择性因子与柱温无关; 升高柱温只改善大分子间的分离度, 对小分子间的分离度影响较小; 只要保持整个体系恒温以及在相应温度下制定一条可靠的校正曲线, 则柱温对测定结果无影响。

关键词: 凝胶渗透色谱法; 柱温; 相对分子质量; 相对分子质量分布

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2000)03-0256-03

## 1 前言

自 1964 年 Moore 创立凝胶渗透色谱(GPC)以来, 这门学科已得到迅速发展, 尤其是近期高效凝胶色谱仪的出现, 更促进了该技术在许多领域的应用。文献[1]对凝胶色谱的原理及应用作了全面的论述, 其中指出 GPC 的测定结果受柱温变化的影响, 且 GPC 的淋洗体积  $V_e$  与温度有关, 其温度系数  $dV_e/d\theta$  随相对分子质量 ( $M_r$ ) 的减小而增大, 但同时也认为 Moore 和 Canton 的工作仅在两个温度下进行实验, 未作更详细的研究。我们在 HP1100 GPC 色谱仪上对此进行了较全面地考察, 发现在凝胶色谱中, 柱温对柱效的影响随  $M_r$  的增大而增大; 溶质的淋洗体积与柱温有关, 而选择性因子与柱温无关; 升高柱温只改善大分子间的分离度, 对小分子影响较小; 只要保持整个体系恒温并在相应温度下制定一条可靠的校正曲线, 柱温对测定结果无影响。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

HP1100 GPC 色谱仪, 由 HP1100 单元泵、HP1100 柱温箱、HP35900E 数模转换器、HP1047A 示差检测器、HP1100 工作站和 Polymer Laboratory (PL) GPC 软件组成。单分散(分散度  $D = 1.0 \sim 1.06$ )聚苯乙烯系列标准样品(HP 公司), 四氢呋喃(THF, 色谱纯, 上海化学试剂研究所), 使用前均经过滤并脱气, 过滤膜  $0.45 \mu\text{m}$ (HP 公司)。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: PL MIXED D(300 mm  $\times$  7.5 mm i. d.,

5  $\mu\text{m}$ ) + PL MIXED E(300 mm  $\times$  7.5 mm i. d., 3  $\mu\text{m}$ ), 流动相: THF, 流速: 1.0 mL/min, 进样量: 20  $\mu\text{L}$ , 样品: 1 g/L 的四氢呋喃溶液。柱温以 5  $^\circ\text{C}/\text{min}$  的速率从 30  $^\circ\text{C}$  升到 50  $^\circ\text{C}$ (检测器温度保持与柱温一致)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 柱温对柱效的影响

在高效液相色谱(HPLC)中, 柱效随着柱温的升高而增加[2]。同样, 在 GPC 中, 柱温升高, 会使试样在凝胶上的吸附减少, 溶剂的粘度降低。试样分子扩散速度增大, 有利于柱效的提高[1], 结果如图 1 所示。

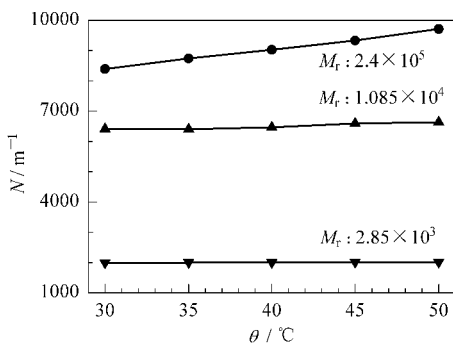


图 1 柱温与理论塔板数的关系图

Fig. 1 Curves for the relationship between column temperature and theoretical plate number

由图 1 可见, 随着  $M_r$  的增大, 柱温对柱效的影响也增大。大分子物质受柱温的影响较大, 小分子物质在柱温改变时只有轻微的变化。当柱温从 30  $^\circ\text{C}$  增加到 50  $^\circ\text{C}$  时,  $M_r$  为  $2.4 \times 10^5$  的聚苯乙烯的理论塔

板数增加了 1 307, 增加 15.6%, 而  $M_r$  为  $2.85 \times 10^3$  的聚苯乙烯的理论塔板数只增加了 23, 增加 1.2%。这是由于分子在溶液中的扩散不仅受溶液系统的粘

度影响, 还跟分子的大小有关<sup>[3]</sup>。

### 3.2 柱温对淋洗体积的影响

柱温对淋洗体积的影响见表 1。

表 1 柱温对淋洗体积的影响

Table 1 The effect of column temperature on elution volume

溶质号 Solute No.	$M_r$	淋洗体积 Elution volume ( $\mu\text{L}$ )					$(\Delta V_e / \Delta \theta) / \mu\text{L} \cdot \text{C}^{-1}$
		30 C	35 C	40 C	45 C	50 C	
1	240000	9666	9663	9621	9576	9555	5.55
2	10850	12298	12296	12243	12188	12166	6.60
3	4950	13254	13254	13192	13136	13118	6.80
4	2100	14381	14382	14319	14275	14235	7.30
5	1060	15234	15230	15175	15102	15077	7.85
6	162	17627	17613	17527	17448	17406	11.05

由表 1 可见, 溶质的淋洗体积随着柱温的升高而减小; 柱温从 30 C 升到 50 C 时, 淋洗体积的平均变化率即温度系数  $\Delta V_e / \Delta \theta$  随着  $M_r$  的减小而增大。

### 3.3 柱温对选择性因子的影响

选择性因子 ( $\alpha'$ ) 定义为相邻两峰保留时间或淋洗体积的比值<sup>[4]</sup>, 其表达式为

$$\alpha' = t_{R(2)} / t_{R(1)} = V_{e(2)} / V_{e(1)} \quad (1)$$

式中,  $t_{R(1)}$  为先淋洗出组分的保留时间,  $V_{e(1)}$  为其相应的淋洗体积;  $t_{R(2)}$  为后淋洗出组分的保留时间,  $V_{e(2)}$  为其相应的淋洗体积。显然,  $\alpha' > 1$ 。

将表 1 中各柱温下相邻两组分的淋洗体积依次相除, 结果如表 2 所示。由表 2 可见, 当柱温变化时, 选择性因子基本不变。

表 2 柱温对选择性因子的影响

Table 2 The effect of column temperature on selectivity

溶质号 Solute No.	选择性因子 Selectivity					均值 Average
	30 C	35 C	40 C	45 C	50 C	
1,2	1.272	1.272	1.273	1.273	1.273	1.273
2,3	1.078	1.078	1.078	1.078	1.078	1.078
3,4	1.085	1.085	1.085	1.087	1.085	1.085
4,5	1.059	1.059	1.060	1.058	1.059	1.059
5,6	1.157	1.156	1.155	1.155	1.154	1.155

在 HPLC 中,  $\alpha'$  值与柱温、固定相种类、流动相组成有关<sup>[4]</sup>, 而 GPC 的  $\alpha'$  值仅受色谱柱和溶剂的影响, 与柱温无关。

$$\text{由式(1)有 } V_{e(2)} = \alpha' V_{e(1)} \quad (2)$$

将式(2)左右两边同时对温度  $\theta$  求导, 并考虑到  $\alpha' > 1$ , 则

$$d(V_{e(2)}) / d\theta = \alpha' d(V_{e(1)}) / d\theta > d(V_{e(1)}) / d\theta \quad (3)$$

在 GPC 中, 小分子比大分子后淋洗出, 由此可见, 温度系数  $dV_e / d\theta$  随  $M_r$  的减小而增大。

### 3.4 柱温对分离度的影响

由图 2 可见, 大分子间的分离度 ( $R_s$ ) 随柱温的升高而增大, 但温度升高并不能改善小分子间的分离度。

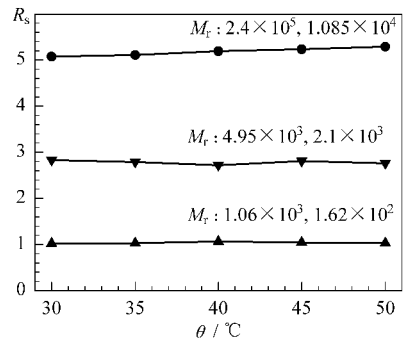


图 2 柱温与分离度的关系图

Fig. 2 Curves for the relationship between column temperature and resolution

$R_s$  与  $a'$ 、柱效  $N$  存在下列关系<sup>[4]</sup>:

$$R_s = (a' - 1)(N_1/5.54)^{1/2} \quad (4)$$

式中,  $N_1$  为“物质对”中出峰较早的化合物的柱效。

由式(4)可见, 分离度取决于柱效和选择性因子, 而柱温对选择性因子无影响; 但柱温变化对大分子的柱效影响较大, 而对小分子的柱效影响较小。因此, 大分子的分离度随柱温变化大, 而小分子的分离度随柱温变化小。

### 3.5 柱温对测定结果的影响

先用一个聚苯乙烯混合标样在不同温度下进行 GPC 分析, 在各温度下建立一条标准曲线。同时配制一个树脂样品, 在不同柱温下进行 GPC 分析, 其结果见表 3。

表 3 在不同柱温下树脂样品的测试结果

Table 3 Test results of hydrocarbon resins at different column temperatures

$\theta/^\circ\text{C}$	$M_n^{1)}$	$M_w^{2)}$	$D^{3)}$	$M_v^{4)}$	$M_z^{5)}$
30	1270	3450	2.72	2840	12240
35	1260	3430	2.72	2820	12210
40	1260	3340	2.65	2760	11590
45	1260	3420	2.71	2830	11990
50	1280	3420	2.67	2830	11740

1)  $M_n$ : 数均相对分子质量 (number average molecular weight); 2)  $M_w$ : 重均相对分子质量 (weight average molecular weight); 3)  $D$ : 分散度 (dispersity); 4)  $M_v$ : 粘均相对分子质量 (viscosity-average molecular weight); 5)  $M_z$ :  $Z$  均相对分子质量 ( $Z$ -average molecular weight)。

表 3 中的数据表明, 在各温度下测定的树脂样品结果基本一致, 均在 GPC 的误差范围内。但必须保持整个体系恒温以及在相应温度下制定一条可靠的校正曲线<sup>[1]</sup>, 只有这样方可得到准确的数据。当然, 实际的柱温要考虑到样品的性质、溶剂、柱效等因素。

### 参 考 文 献

- 1 Cheng Yue-zu (成跃祖). Development and application of gel permeation chromatography (凝胶渗透色谱法的进展及其应用). Beijing: China Petrochemical Press (北京: 中国石油化学出版社), 1993. 190-191
- 2 Zhu Peng-ling, Yun Zi-hou, Xie Guang-hua (朱彭龄, 云自厚, 谢光华). Modern liquid chromatography (现代液相色谱). Lanzhou: Lanzhou University Press (兰州: 兰州大学出版社), 1989. 161
- 3 Macrae R. Translated by Cao Zhi-jun, Li Xian-zhen, Song Shi-lian (曹志军, 李宪臻, 宋世廉译). Modern applied high performance liquid chromatography (现代实用高效液相色谱分析法). Shaanxi: Tianze Press (陕西: 天则出版社), 1991. 8
- 4 Zou Han-fa, Zhang Yu-kui, Lu Pei-chang (邹汉法, 张玉奎, 卢佩章). Ion pair high performance liquid chromatography (离子对高效液相色谱法). Zhengzhou: Henan Science & Technology Press (郑州: 河南科学技术出版社), 1994. 12-24

## Studies on the Effect of Column Temperature on Gel Permeation Chromatography

ZHOU De-hui, ZHANG Wei-hong

(Quality Inspection Department of Chemical Research Institute, Shanghai Petrochemical Co. Ltd., Shanghai 200540, China)

**Abstracts:** By experiments, we found that the effect of temperature on column efficiency increased with the increase of relative molecular mass. The elution volume was relevant to the temperature, while the selectivity was not. Besides, the resolution for macromolecules was improved significantly by increasing temperature while not for small molecules. Further, the same results were obtained at different temperatures in certain range.

**Key words:** gel permeation chromatography; column temperature; relative molecular mass; relative molecular mass distribution