

激光小角光散射仪测定右旋糖酐分子量

周如真 耿培侃

(总后卫生部药品仪器检验所, 北京100071)

激光小角光散射仪(LALLS)由于采用了激光光源,具有光强度高、单色性强、准直性好等特点,可以在微量样品池及很低浓度的溶液中进行小角度($3^\circ \sim 7^\circ$)散射光强的测量,溶质的瑞利系数与其分子量有如下关系⁽¹⁾:

$$KC/\bar{R}_\theta = 1/\bar{M}_w + 2A_2C \quad (1)$$

$$K = 408 \times 10^{-8} n^2 (dn/dc)^2 \quad (2)$$

式中: C 为溶液的浓度(g/ml); \bar{R}_θ 为剩余瑞利系数; \bar{M}_w 为重均平均分子量; A_2 为第二维利系数; n 为溶液的折光指数; dn/dc 为溶液的折光指数增量。

用 LALLS 仪测定聚合物的重均分子量时不需要对散射角外推,如 Zimm 作图⁽²⁾,只需考虑溶质的第二维利系数。因此,测量计算简便,而且在测定较低和较高分子量时精确度较高。近年来 LALLS 仪被广泛应用于石油、化工等有机体系测定高聚物的各种参数。但至今尚未见到国内外用 LALLS 仪测定水相体系高聚物参数的报道。

本文用进口的几种右旋糖酐(dextran)标准品对 LALLS 仪进行了标定,并对国产的中分子右旋糖酐进行了初步测定,其结果比较准确、精密($r=0.95$)。

仪器和试剂

一. 仪器和测试条件

激光小角光散射仪(LALLS, KMX-6, 美国 Chro-matix 公司制造); 过滤膜 0.22 μm 硝/醋酸纤维膜(日本 Millipore 公司制造); 溶剂为三重蒸馏水; 测定用立体角 $6^\circ \sim 7^\circ$; 场阑为 0.2; 测试温度 25°C 。

二. 试剂和样品溶液

右旋糖酐标准品: Dextran T500 (4094), T70 (1730) (分子量分别为 5.00×10^5 , 7.00×10^4 ; 瑞典产); 中分子右旋糖酐(870624—3, 沈阳市康利制药厂产)。精密称取干燥的样品用滤过的新鲜纯水配制成适宜浓度的溶液,经垂熔漏斗(G5)滤过,备用。

试验和结果

一. 测定条件的选择

(一) 测试溶液浓度的选择 将上述备用溶液稀释成数个不同浓度的供试溶液,经 0.22 μm 硝/醋酸纤维膜滤过缓慢注入 KMX-6 仪的测定样品池,测其瑞利系数(R_θ)用 KC/\bar{R}_θ 对 C (浓度)作图,求其重均分子量。经多次试验,其结果表明,在较窄[的浓度范围内($0.2 \times 10^{-3} \sim 2.7 \times 10^{-3}$ g/ml)的外推结果准确可靠。

(二) 入射光强度的选定 用已知分子量的右旋糖酐标准品水溶液在 KMX-6 仪上测定其分子量,经多次试验摸索,发现调整入射光强度测纯水的瑞利系数值在 $1.1346 \times 10^{-6} \sim 1.1884 \times 10^{-6}$ 时较为适宜。

二. 右旋糖酐重均分子量的测定

取 dextran 标准品溶液和中分子右旋糖酐供试品溶液分别按上述测定条件测量, 将测定结果分别用作图外推法及最小二乘法计算, 得重均分子量和第二维利系数, 结果见图(1~3)和表(1~3)。

Tab 1. Results of dextran T500 determined

Concentration ($C \times 10^3$ g/ml)	$KC/\bar{R}\theta \times 10^5$	Extrapolation equation	$\bar{M}_w \times 10^{-5}$ *	$A_2 \times 10^4$	r
1.0940	0.2359				
1.3670	0.2609				
1.8230	0.2776	(1)	4.993	1.99	0.9736
2.7340	0.3058				

*The calculated results with the least square method; All results in the following tables were derived from the same method.

Tab 2. Results of dextran T70 determined

Concentration ($C \times 10^3$ g/ml)	$(KC/\bar{R}\theta) \times 10^4$	Extrapolation equation	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$	$A_2 \times 10^3$	r
0.5094	0.1674				
0.6792	0.1757	(1)	7.077	2.57	0.9978
0.9056	0.1892				
1.1320	0.1988				

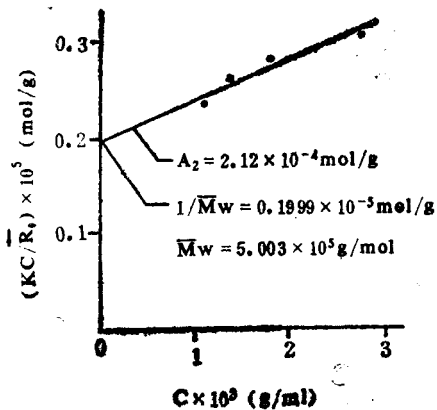


Fig 1. $KC/\bar{R}\theta$ vs C plot from a KMX-6 molecular weight determination on dextran T500. Solvent: Pure water; Filter: $0.22\mu\text{m}$ (Millipore Corp.); $dn/dc=0.1488$ ml/g ($\lambda=6328\text{\AA}$, $t=25^\circ\text{C}$); Annulus= $6^\circ\sim 7^\circ$; Field stop: 0.2.

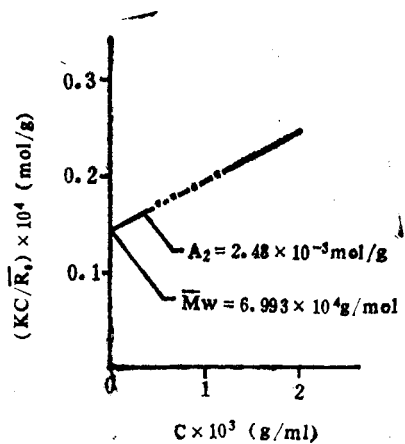
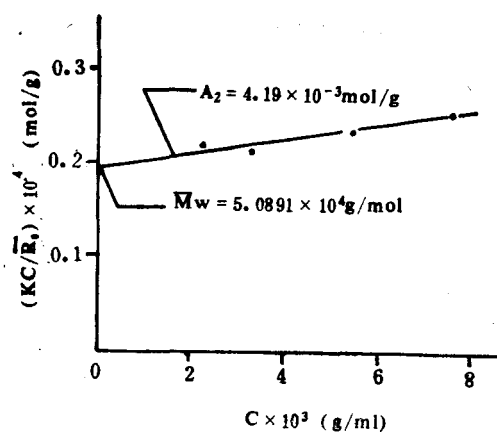


Fig 2. $KC/\bar{R}\theta$ vs C plot from a molecular weight determination on dextran T70. Solvent: pure water; Filter: $0.22\mu\text{m}$ (Millipore Corp.); $dn/dc=0.1458$ ml/g ($\lambda=6328\text{\AA}$, $T=25^\circ\text{C}$); Annulus= $6^\circ\sim 7^\circ$; Field stop: 0.2.

Tab 3. Results of dextran 70 determined

Concentration ($C \times 10^3$ g/ml)	$(KC/\bar{R}_\theta) \times 10^4$	Extrapolation equation	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$	$A_2 \times 10^3$	r
0.2149	0.2211				
0.3223	0.2149				
0.5372	0.2387	(1)	5.0269	3.70	0.9486
0.7521	0.2561				

Fig 3. KC/\bar{R}_θ vs C plot for an analysis of dextran 70. Condition as in Fig 2.

讨 论

一. 右旋糖酐系蔗糖经肠膜状明串珠菌 *L. M-1226* 号菌 (*Leuconostoc mesenteroides*) 发酵聚合而成的高分子聚合物, 经水解、沉淀划分 (4 级或 5 级) 而得适宜平均分子量的血浆代用品。不同分子量的右旋糖酐, 临床上有不同的用途, 各国药典对其分子量都有严格的规定。故测准制品的分子量对其疗效至关重要。但迄今对右旋糖酐分子量的测定各国药典大都采用相对的间接方法。本文用激光小角光散射仪测定右旋糖酐的绝对分子量, 不需依赖标准品, 是一个绝对的方法。

二. 激光小角光散射仪在有机体系用于测定塑料、石油、橡胶等高聚物的参数, 方法较成熟, 应用较广。但用于水相体系测定多糖类高聚物参数, 尚未见有文献报道。因此, 本文首先用进口的不同数量级分子量的 dextran 标准品对仪器进行了标定。从图 1, 2 及表 1, 2 看, $dextran$ 的测定值接近标称值 (相对误差为 0.03~0.55%), 平均分子量越大, 误差越小。从表 3 看, 中分子右旋糖酐的测定值比较精密 ($r=0.9486$)。

三. 用激光小角光散射仪测定不同数量级的右旋糖酐分子量时, 需选用不同的浓度范围, 见表 1~3。对同一数量级的右旋糖酐, 用不同的浓度范围, 其结果差别较大。笔者的经验是测定未知物分子量时, 首先在较宽的浓度范围内测其瑞利系数值, 作 $R_\theta-C$ 曲线, 选用陡坡曲线的浓度范围较为理想。

四. 从图 1~3 和表 1~3 的结果看, 用作图外推法与用最小二乘法计算得出的重均分子量非常接近, 提示两法得出的结果均可靠。

关键词 右旋糖酐; 激光小角光散射仪

参 考 文 献

1. Chromatix. Measurement of molecular parameters by low angle light scattering methods. *KMX-6 Application Note*. 1976; LS1:1.
2. 虞志光. 高聚物分子量及其分布的测定. 第一版. 第一册. 上海科学技术出版社, 1984: 157.

MEASUREMENT OF MOLECULAR WEIGHT OF DEXTRAN BY LOW ANGLE LASER LIGHT SCATTERING PHOTOMETER

RZ Zhou and PK Geng

(*Institute for Drug and Instrument Control of PLA, Beijing 100071*)

ABSTRACT The molecular weight of two dextran standards imported from Sweden of known molecular weight and one batch of Chinese made dextran 70 were determined by low angle laser scattering photometer. The resulting values of the standards were in good agreement with the labelled values. The determined results of samples were high in precision ($r=0.95$). Calculated results of the least square method were approximately the same as those of the plotting method.

LALLS conditions;

Solvent: pure water ($n_D^{25}=1.3314$); filter: $0.22\mu\text{m}$ VG (Millipore Corp.);
Annulus= $6^\circ\sim 7^\circ$; field stop: 0.2; $T=25^\circ\text{C}$.

Key words Dextran; Low angle laser light scattering