

耐溶剂交换型高性能 GPC 色谱柱： TSK-GEL H_{HR} 系列

目录

1. 简介	1
2. 特点	1
3. 基本特性	5
3-1 分离度	5
3-2 HETP 的流速依赖性	7
3-3 溶剂兼容性	9
3-4 机械强度	11
3-5 超高分子量聚合物的分离	11
3-6 混合柱（线性型）	16
3-7 特殊溶剂中加盐的影响	23
4. 应用	27
5. 结论	33

1. 简介

凝胶渗透色谱法（GPC）是尺寸排阻色谱法（SEC）的一个分支，是用于研究高分子物质分子特性（如分子量和分子量分布）的主要分析方法。该方法的重复性高、操作相对简单、快速，因此，得到了广泛应用。

1983年，东曹开发生产了用于有机溶剂体系的高性能GPC色谱柱——TSK-GEL H_{XL}色谱柱，其优秀特性得到了工业界和学术界的高度认可。

近代，人们开发商业化了许多超高性能的功能性聚合物，如工程塑料等。这些聚合物的高性能和高功能性导致其不易溶于（或不溶于）GPC中常规使用的溶剂，如四氢呋喃（THF）和氯仿。因此，目前针对这些聚合物进行GPC分析时，人们使用了各种溶剂，包括氟化醇（如2,2,2-三氟乙醇（TFE）和六氟异丙醇（HFIP））^{1,4}、五氟苯酚（PFP）/氯仿⁵、N-甲基吡咯烷酮（NMP）、二甲基甲酰胺（DMF）、二甲基亚砷（DMSO）等，来替代THF和氯仿。大多数情况下，这些溶剂的极性和粘度都高于四氢呋喃和氯仿，从色谱柱的耐久性和稳定性角度看，并不适用于搭配常规TSK-GEL H_{XL}色谱柱使用。另外，从THF转换到此类溶剂，对于TSK-GEL H_{XL}色谱柱，是一直存在的问题，这在一定程度上也限制了其推广使用。而且，分析时如果溶剂（流动相）使用不当还会导致吸附一种或多种样品组分。

因此，目前在常规分析条件下（例如，以THF为溶剂配合使用TSK-GEL H_{XL}色谱柱），对各类聚合物进行GPC分析时，其重复性、稳定性和准确性已经难以得到有效保证。

TSK-GEL H_{HR}色谱柱是采用的填料十分坚固，能够耐受的有机溶剂范围更广的一系列GPC色谱柱。该系列色谱柱不仅可以耐受从一种溶剂转换到另一种溶剂；而且，与TSK-GEL H_{XL}色谱柱相比，在特殊条件下或使用特殊溶剂时，该系列色谱柱的分析性能更加稳定。

本报告将就TSK-GEL H_{HR}色谱柱的特点和基本特性及其应用实例展开说明。

2. 特点

TSK-GEL H_{HR}色谱柱填料为高度交联的苯乙烯-乙烯基苯共聚物，不仅非常坚固，同时还保持了TSK-GEL H_{XL}色谱柱的孔性能，几乎没有溶胀或收缩。因此，不仅能够耐受溶剂变化，还提高了聚合物分析的质量水平。

表1比较了TSK-GEL H_{HR}和H_{XL}色谱柱的特性。聚合物分析时所用的不同等级的色谱柱（TSK-GEL G5000H_{HR}-G7000H_{HR}和TSK-GEL GMH_{HR}-M、-H）使用的是5 μm填料，相对的，常规TSK-GEL H_{XL}色谱柱使用的是10 μm填料。因此，保证的理论塔板数从14,000/30 cm增加到了16,000/30 cm，同时样品分离度也得到了提高。此外，低分子量物质分析时所用等级的色谱柱（TSK-GEL G1000H_{HR}-G4000H_{HR}和TSK-GEL GMH_{HR}-L）其效率水平与TSK-GEL H_{XL}系列中对应的色谱柱相同。而且，进行聚合物分离时，针对超高分子量物质进行高温分析时，我们还推出了S型等级的色谱柱可供选择。

表2列出了TSK-GEL H_{HR}色谱柱适用的溶剂。如表所示，TSK-GEL H_{HR}色谱柱可适用多种有机溶剂，而且针对不同的溶剂均表现出了出色的耐久性。此外，该系列色谱柱的出厂溶剂是四氢呋喃，可直接转换为各种其他有机溶剂。

图1至8所示为，使用不同溶剂分析不同标准样品时生成的TSK-GEL H_{HR}色谱柱的校准曲线。

表 1 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 色谱柱的性能比较

TSKgel 色谱柱	TSK-GEL H _{HR}		TSK-GEL H _{XL}	
	粒径 (μm)	保证理论塔板数 (N/柱)	粒径 (μm)	保证理论塔板数 (N/柱)
G1000H	5	16,000	5	16,000
G2000H	5	16,000	5	16,000
G2500H	5	16,000	5	16,000
G3000H	5	16,000	5	16,000
G4000H	5	16,000	5	16,000
G5000H	5	16,000	10	14,000
G6000H	5	16,000	10	14,000
G7000H	5	16,000	10	14,000
G5000H (S)	13	8,000	—	—
G6000H (S)	13	8,000	—	—
G7000H (S)	13	8,000	—	—
GMH-H	5	16,000	—	—
GMH-M	5	16,000	—	—
GMH-L	5	16,000	5	16,000
GMH	—	—	10	14,000
GMH-H (S)	13	8,000	—	—
GMH-M (S)	13	8,000	—	—

分析柱效的条件

色谱柱尺寸： 7.8 mm ID x 30 cm

流动相： 四氢呋喃（THF）

流 速： 1.0 mL/min

样 品： 苯： TSK-GEL G1000H – G2500H

正丁基苯： TSK-GEL G3000H、 G4000H 和 GMH-L

邻苯二甲酸二环己酯： TSK-GEL G5000H – G7000H、 GMH-M 和 GMH-H

表 2 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱适用的溶剂

兼容溶剂
甲苯、二甲苯、氯仿、苯、二氯甲烷、二氯乙烷、二甲基甲酰胺、二甲亚砜、二恶烷、N-甲基吡咯烷酮、间甲酚/氯仿、喹啉、甲乙酮（MEK）、邻二氯苯、三氯苯、六氟异丙醇（HFIP）、HFIP/氯仿、邻氯苯酚/氯仿、吡啶、四氯化碳、乙酸乙酯、甲醇/氯仿、THF/甲醇、丙酮、乙醇、二甲基乙酰胺、正己烷、十二烷、1-氯萘、FC-113、三氯乙烷

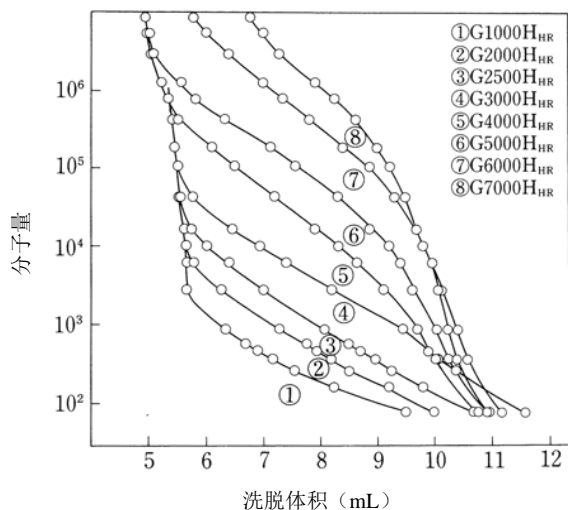


图1 聚苯乙烯在 THF 中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 四氢呋喃 (THF)
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

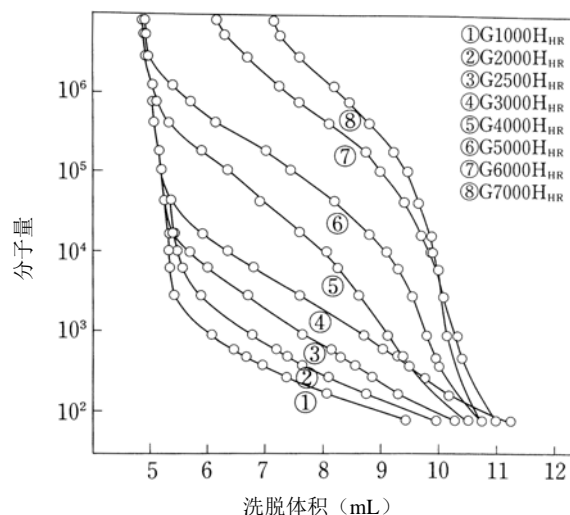


图3 聚苯乙烯在氯仿中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 氯仿
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

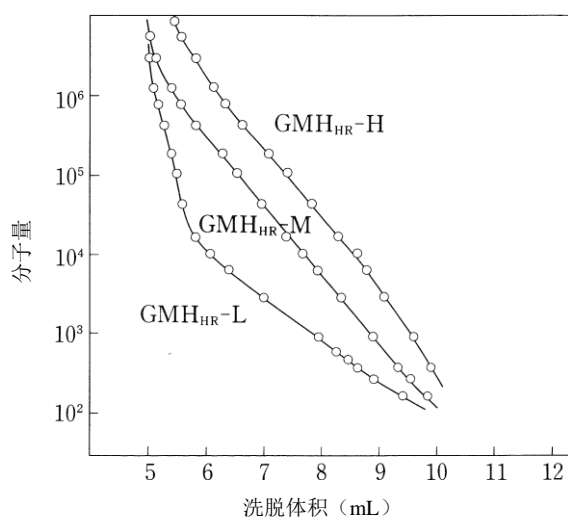


图2 聚苯乙烯在 THF 中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: THF
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

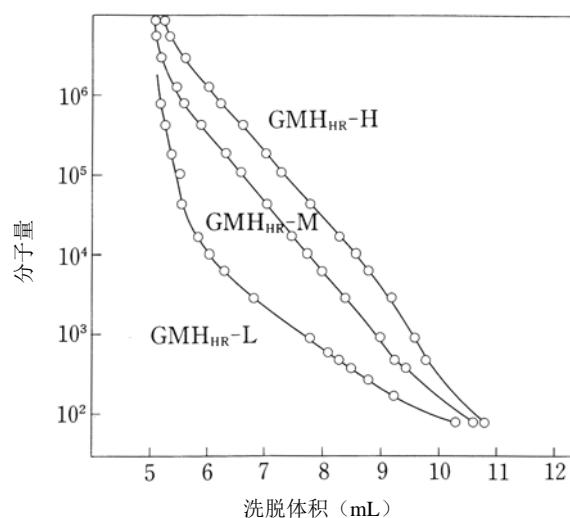


图4 聚苯乙烯在氯仿中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 氯仿
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

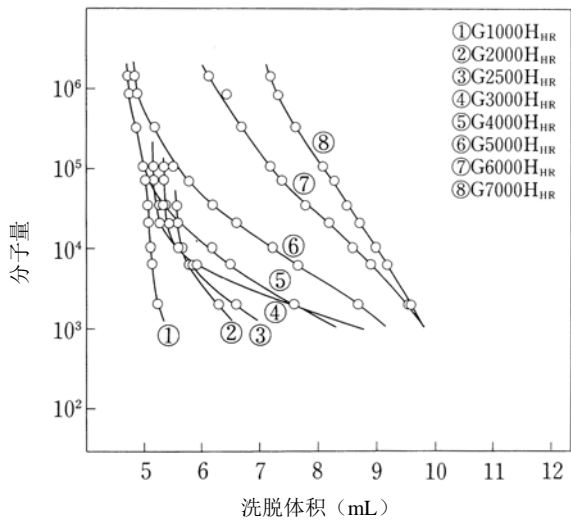


图5 聚甲基丙烯酸甲酯在 HFIP 中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 含有 5 mmol/L 三氟乙酸钠的 HFIP
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 40°C
 检测器: UV@220 nm
 样品: 聚甲基丙烯酸甲酯标准品

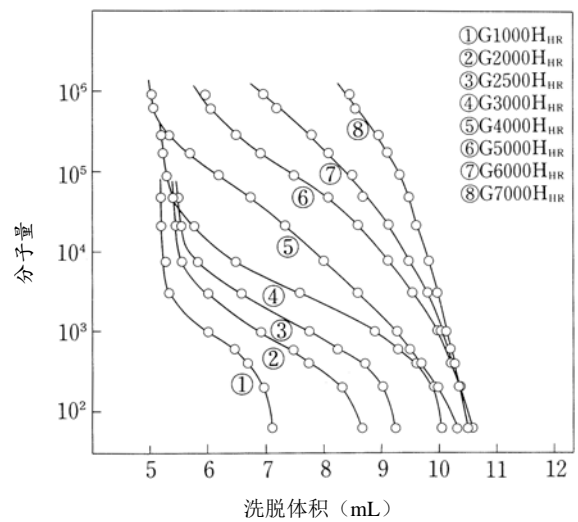


图7 PEO 和 PEG 在 DMF 中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 含有 10 mmol/L 溴化锂的 DMF
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: RI
 样品: 聚环氧乙烷和聚乙二醇标准品

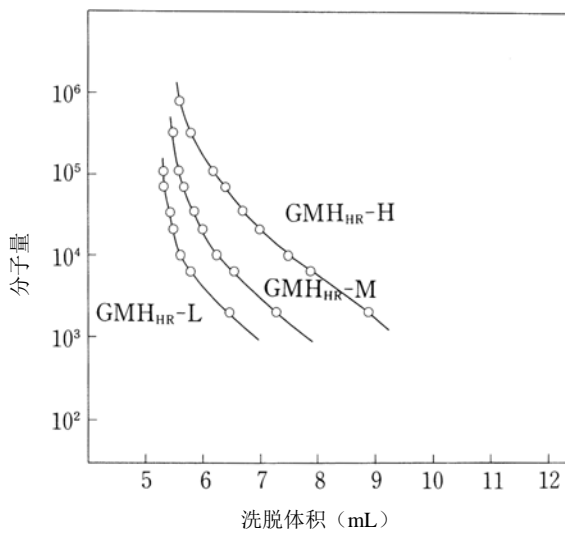


图6 聚甲基丙烯酸甲酯在 HFIP 中的校正曲线

色谱柱 TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 含有 5 mmol/L 三氟乙酸钠的 HFIP
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 40°C
 检测器: UV@220 nm
 样品: 聚甲基丙烯酸甲酯标准品

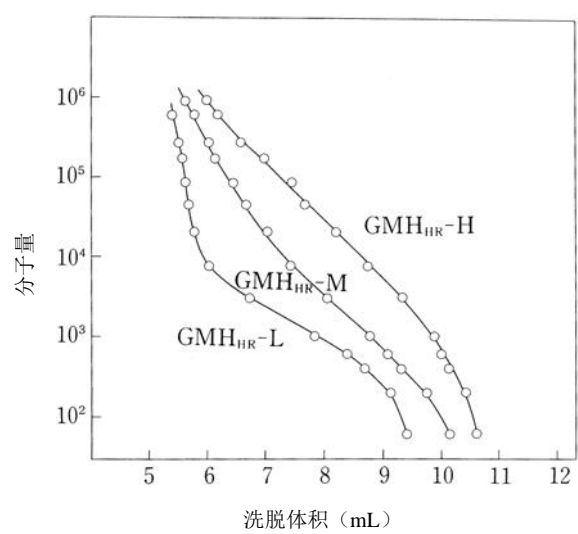


图8 PEO 和 PEG 在 DMF 中的校正曲线

色谱柱: TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 含有 10 mmol/L 溴化锂的 DMF
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: RI
 样品: 聚环氧乙烷和聚乙二醇标准品

3. 基本特性

3-1 聚合物分析时不同等级色谱柱的分离度

表 1 列出了聚合物分析时使用的各种等级：TSK-GEL G5000H_{HR}–G7000H_{HR}、GMH_{HR}-M 和 GMH_{HR}-H。填料的粒径降至 5 μm，与 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱相比，分离度更高。

图 9 所示为，使用 TSKgel G5000H_{HR} 和 G5000H_{XL} 色

谱柱分离聚苯乙烯混合样品的色谱图。图 10 比较了，使用 TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{XL} 和 GMH_{HR}-H(S) 色谱柱分离聚苯乙烯混合样品的色谱图。显然，在两个等级下，TSK-GEL H_{HR} 色谱柱均比常规 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱的分离效果更好。

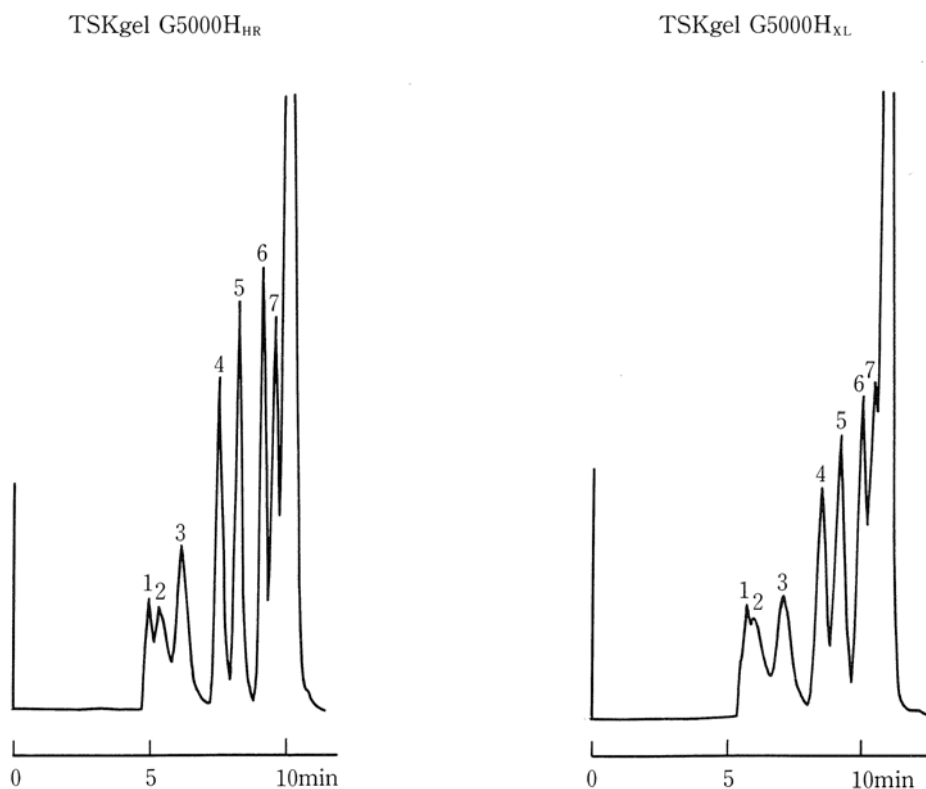


图 9 TSKgel G5000H_{HR} 和 TSKgel G5000H_{XL} 色谱柱的分离度比较

色谱柱：TSKgel G5000H_{HR} 和 TSKgel G5000H_{XL}，

均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相：THF

流速：1.0 mL/min

温度：25°C

检测器：UV@254 nm

样品：聚苯乙烯标准品

1. 2,890,000 Da 2. 1,260,000 Da

3. 422,000 Da 4. 107,000 Da

5. 42,800 Da 6. 10,200 Da

7. 2,800 Da

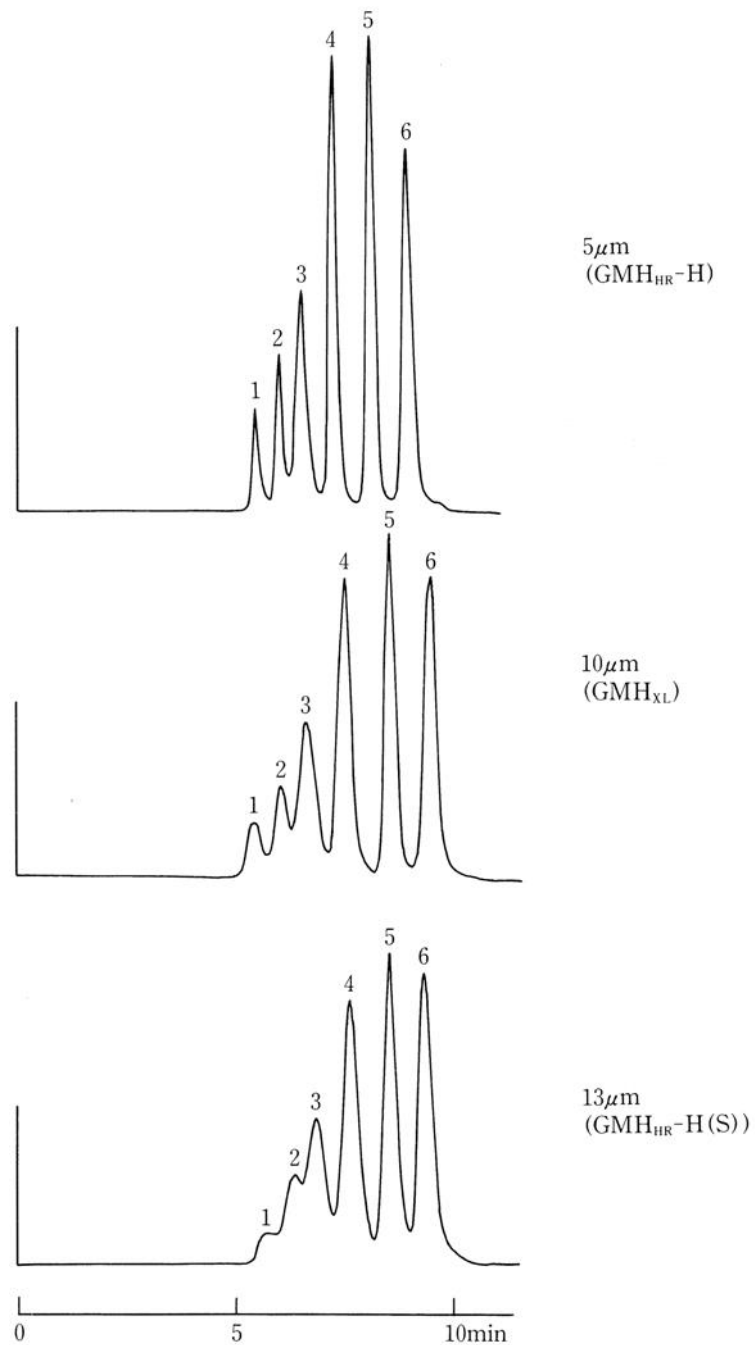


图 10 使用 TSK-GEL GMH 色谱柱分离聚苯乙烯混合物

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL} 和
TSKgel GMH_{HR}-H(S), 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品

1. 8,420,000 Da 2. 1,260,000 Da

3. 422,000 Da 4. 107,000 Da

5. 16,700 Da 6. 2,800 Da

3-2 理论塔板等效高度的流速依赖性

理论塔板等效高度 (HETP) 在很大程度上取决于填料的粒径、样品的分子大小、溶剂的流速和粘度等。图 11 所示为, 以邻苯二甲酸二环己酯 (DCHP) 为样品, TSKgel GMH_{HR}-H (5 μ m) 色谱柱与 TSKgel GMH_{XL} (10 μ m)、TSKgel GMH_{HR}-H(S) (13 μ m) 色谱柱的 HETP 对流速的依赖性的比较结果。

在 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱上分离低分子量样品 DCHP 时, 即使流速增加, HETP 的变化也很小。另一方面, TSKgel GMH_{XL} 和 GMH_{HR}-H(S) 色谱柱受流速影响明显, 流速较高时 (1.5 mL/min 及以上), HETP 增加。

因此, 对于 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱, 由于其填料的粒径很小, 分析低分子量样品 (DCHP) 时, HETP 受到流速的影响较小。因此, 提高流速 (1.5 至 2.0 mL/min) 可以缩短分析时间。

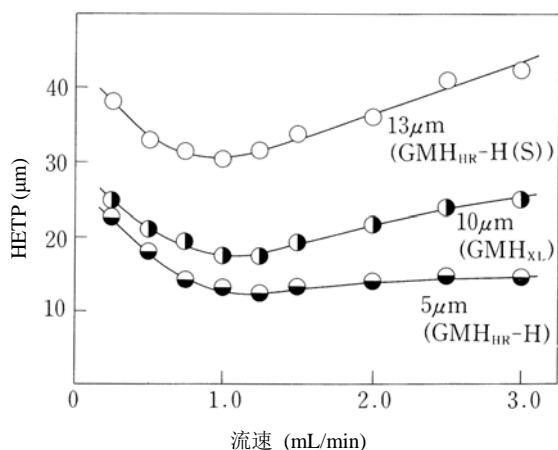


图 11 TSKgel GMH 色谱柱中流速与 HETP 的关系

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL} 和 TSKgel GMH_{HR}-H(S), 均为 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: THF
 流速: 0.25 mL/min – 3.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 邻苯二甲酸二环己酯 (DCHP)

图 12 所示为, 使用 TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{HR}-H(S) 和 GMH_{XL} 色谱柱时, 流速和聚合物样品的分离度之间的关系。对于 TSKgel GMH_{HR}-H (5 μ m) 色谱柱来说, 分离度受流速的影响最小, 但无论填料的粒径如何, 分离度均随流速的增加而降低。因此, 分析高分子量聚合物样品时, 建议流速应不高于 0.5 mL/min。

图 13 至 15 所示为, 使用 TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{XL}、GMH_{HR}-H(S) 色谱柱时, 聚乙烯标准品混合物的分离与流速的关系。TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱对流速的依赖性很小, 即使样品是分子量在 3,000,000 Da 左右的聚合物, 也适合进行高流速分析。但是, 一般而言, 考虑到单个峰的尖锐度问题, 流速最好应介于 0.5 和 1.0 mL/min 之间。

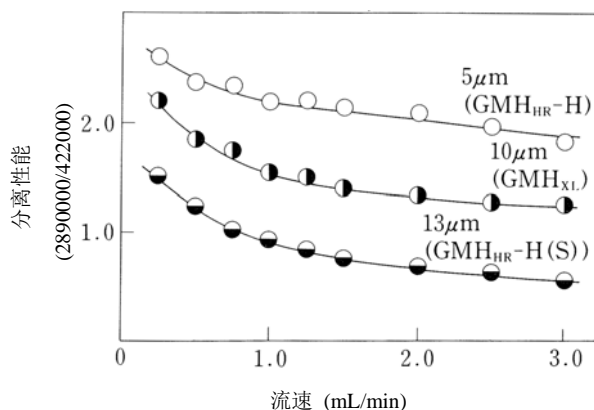


图 12 TSKgel GMH 色谱柱中流速与分离度的关系

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL} 和 TSKgel GMH_{HR}-H(S), 均为 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: THF
 流速: 0.25 mL/min – 3.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 2,890,000 Da 和 422,000 Da

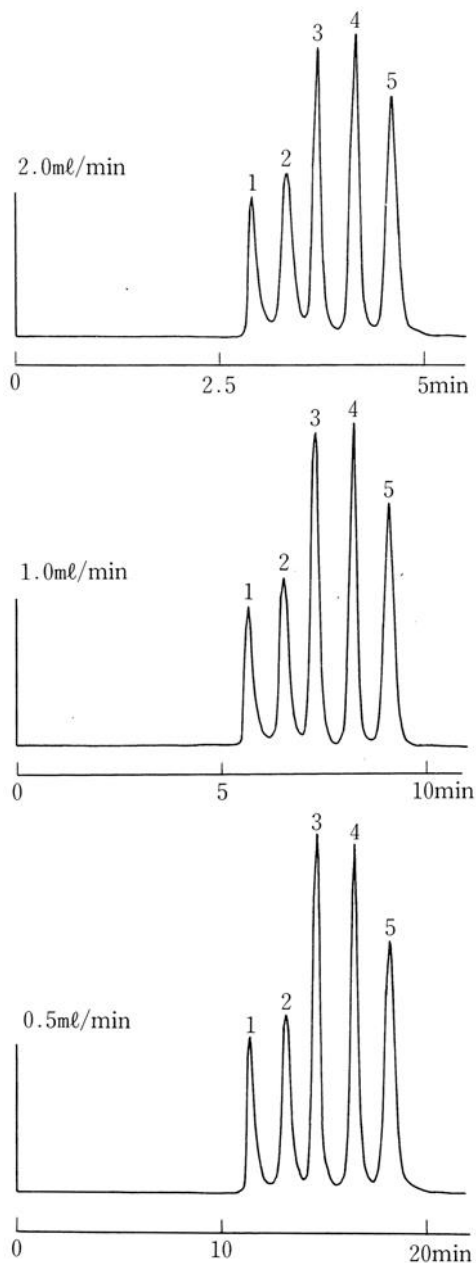


图 13 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱上聚苯乙烯标准品的流速依赖性

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: THF
 流速: 0.5、1.0 和 2.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 1. 2,890,000 Da 2. 422,000 Da
 3. 107,000 Da 4. 16,700 Da
 5. 2,800 Da

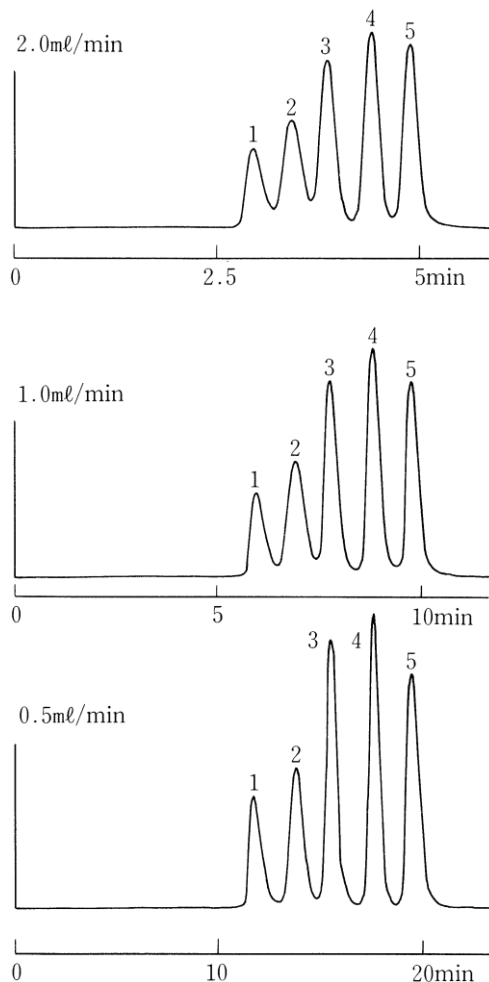


图 14 TSKgel GMH_{XL} 色谱柱上聚苯乙烯标准品的流速依赖性

色谱柱: TSKgel GMH_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: THF
 流速: 0.5、1.0 和 2.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

1. 2,890,000 Da 2. 422,000 Da
 3. 107,000 Da 4. 16,700 Da
 5. 2,800 Da

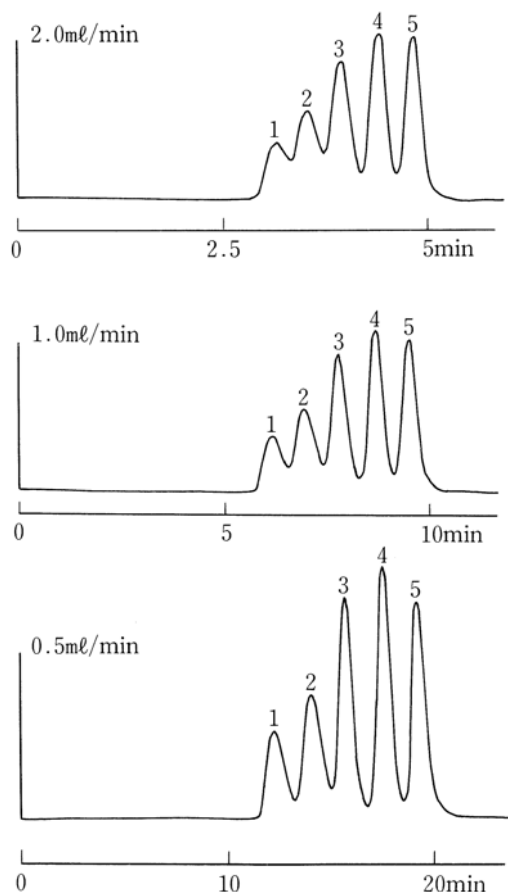


图 15 使用 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时的流速依赖性

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H(S), 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流速: 0.5、1.0 和 2.0 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品

- 1. 2,890,000 Da 2. 422,000 Da
- 3. 107,000 Da 4. 16,700 Da
- 5. 2,800 Da

3-3 溶剂兼容性

表 3 比较了, TSK-GEL G2000H_{HR} 和 G2000H_{XL} 色谱柱在使用各种有机溶剂时, 其填料的溶胀和收缩特性。与 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱相比, TSK-GEL H_{HR} 色谱柱的填料在不同溶剂中的溶胀和收缩率要低得多。这说明针对这些色谱柱, 使用其他溶剂替代其出厂溶剂 THF 在逻辑上是可行的。

表 3 TSKgel G2000H_{HR} 和 G2000H_{XL} 色谱柱的溶胀和收缩性能比较

溶剂	溶胀/收缩*	
	TSKgel G2000H _{HR}	TSKgel G2000H _{XL}
甲苯	1.01	1.06
苯	1.00	—
THF	1.00	1.00
DMF	0.99	0.86
丙酮	0.99	0.86
甲醇(MeOH)	0.98	0.67
THF/水 = 1/1	0.98	—
甲醇/水 = 1/1	0.93	—
水	0.86	0.52

* 将 THF 中的溶胀指数设为 1.00, 所有溶剂中的溶胀或收缩均基于该值进行计算。

表 4 和表 5 列出了当色谱柱中的溶剂直接从 THF 转换为其他有机溶剂时, 理论塔板数的变化。切换溶剂时的步骤如下: (1) 将溶剂直接从 THF 转换为其他有机溶剂; (2) 将该溶剂在色谱柱中保留 1 周后, 重新转换回 THF; (3) 再次转换为其他溶剂。换句话说, 溶剂转换是个连续的过程, 即从 THF 转换为其他有机溶剂后, 重新转换回 THF, 同时考察该过程中不同条件下填料的性质变化。

如表 4 所示, 对于 TSKgel G2000H_{HR} 色谱柱, 尽管转换了 8 种不同的有机溶剂, 使用苯测得的理论塔板数的变化依然很小。而且即使重复更换溶剂, 色谱柱的完整性也基本保持不变。

表 5 比较了 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 系列中 TSK-GEL G1000H 和 G2500H 色谱柱的溶剂兼容性。在 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱中, 溶剂可以转换为氯仿或 DMF, 但是当转换为 HFIP 时, 由于填料收缩, 在色谱柱入口侧会形成空隙。

另一方面, 在 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱中, 可以直接从 THF 转换为其他溶剂, 甚至可以直接转换为 HFIP, 而且还可以承受住溶剂的连续转换, 直至最后的乙醇。但是, 使用 TSKgel G2500H_{HR} 色谱柱时, 溶剂转换为乙醇后, 使用苯测得的理论塔板数明显下降, 低于保证理论塔板数 16,000。因此, TSK-GEL H_{HR} 色谱柱可以从良性溶剂

(THF、氯仿等)转换为不良溶剂(DMF、HFIP等),这对于常规 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱来说是无法实现的。此外,也可以在与分析时所用流速相同的流速(0.5至1.0 mL/min)下替换溶剂。而且,也可以从一种不良溶剂转换为另一种不良溶剂(例如,从 DMSO 转换为 DMF,或从

丙酮转换为甲醇等)。转换为高粘度溶剂时,建议将流速降低至 0.3 mL/min 或以下。

TSK-GEL H_{HR} 色谱柱可以切换并兼容多种有机溶剂,因此,非常适合分析未知样品,是 GPC 分析中首选的色谱柱之一。

表 4 TSKgel G2000H_{HR} 色谱柱的溶剂兼容性

溶剂	色谱柱 1	色谱柱 2
	理论塔板数(TP/30 cm)	
THF	22,200	20,900
氯仿		
THF	21,400	20,300
DMF		
THF	21,800	23,400
DMSO		
THF	24,100	21,200
二恶烷		
THF	22,300	20,700
ODCB		
THF	22,300	21,100
丙酮		
THF	22,400	19,800
HFIP		
THF	22,000	19,300
喹啉		
THF	21,700	19,900

表 5 TSKgel H_{HR} 和 H_{XL} 色谱柱的溶剂兼容性比较

溶剂	TSK-GEL H _{HR}		TSK-GEL H _{XL}	
	G1000	G2500	G1000	G2000
	理论塔板数(TP/30 cm)			
THF	18,700	20,700	20,300	20,550
氯仿				
THF	19,000	17,800	20,400	20,800
DMF				
THF	18,700	18,200	17,200	21,300
HFIP			空隙*	空隙*
THF	18,200	16,600		
甲基溶剂剂			空隙*	空隙*
THF	18,500	17,400		
DMSO				空隙*
THF	16,900	18,200		
四氯化碳				
THF	19,500	17,200		
甲醇				空隙*
THF	17,200	15,400		

*: 空隙现象发生在色谱柱入口侧。

溶剂转换条件:

转换为测试溶剂时的流速: 1.0 mL/min
 转换为测试溶剂时的温度: 25°C
 从 THF 转换为测试溶剂时所用的时间: 16 小时
 测试溶剂保留在色谱柱中的时间: 1 周
 从测试溶剂转换为 THF 时的流速: 1.0 mL/min
 从测试溶剂转换为 THF 时所用的时间: 1 小时

测量理论塔板数的条件:

流动相: THF
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 苯, 20 µL

溶剂转换条件:

转换为测试溶剂时的流速: 1.0 mL/min
 转换为测试溶剂时的温度: 25°C
 从 THF 转换为测试溶剂时所用的时间: 24 小时
 测试溶剂保留在色谱柱中的时间: 1 周
 从测试溶剂转换为 THF 时的流速: 1.0 mL/min
 从测试溶剂转换为 THF 时所用的时间: 1 小时

测量理论塔板数的条件:

流动相: THF
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 苯, 20 µL

3-4 机械强度

图 16 所示为，当样品以 2.5 mL/min 的流速流经 TSKgel G2000H_{HR}、G2500H_{HR}、G2000H_{XL} 和 G2500H_{XL} 色谱柱时，其柱效的变化情况。对于 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱，如果在其中使用高流速，理论塔板数在其生命周期内就会发生降低。而对于 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱，即使是使用 400 小时后，其理论塔板数也毫无变化。显然，TSK-GEL H_{HR} 色谱柱不仅能够耐受溶剂转换，还具有出色的机械强度。表 4 列出了测量理论塔板数的条件。

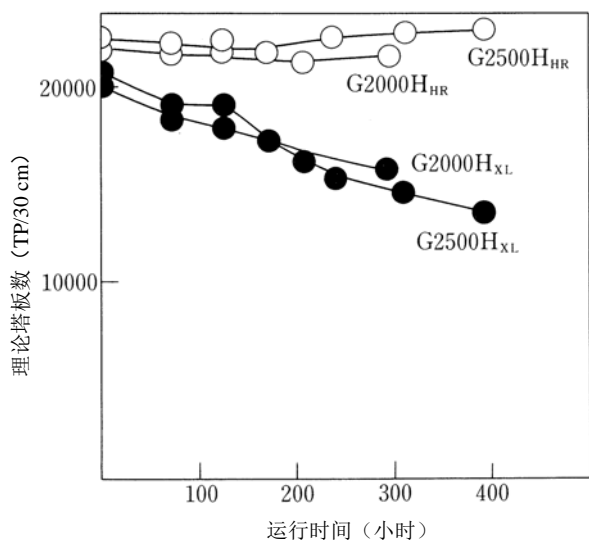


图 16 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 色谱柱的效能随运行时间的变化

色谱柱: TSKgel G2000H_{HR}、TSKgel G2500H_{HR}、
TSKgel G2000H_{XL} 和 TSKgel G2500H_{XL},
均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 苯

3-5 超高分子量聚合物的分离

要想实现更高效的分离和/或缩短分析时间，就必须降低填料的粒径。但是，要想准确测量出超高分子量聚合物的平均分子量和平均分子量分布，关键是要注意以下几个方面的问题：

- (1) 样品负载（浓度、进样体积）
- (2) 过载
- (3) 剪切降解
- (4) 柱温

3-5-1 样品负载

色谱柱进样时，重点是限制进样体积（和样品质量），防止峰变宽导致分离度降低。该方法适合所有色谱模式，但对于 GPC 来说尤为重要，因为峰体积的变化同时也会导致峰的最大值发生偏移，从而导致从校正曲线估算的 MW 发生变化。最大样品体积（在发生峰变形之前）主要取决于样品的类型和分子量、流动相、填料的粒径。最大样品体积随（1）聚合物分子量的增加和（2）填料粒径的减小而减小。此外，对于聚合物样品，可以通过尽可能降低样品浓度（0.02 % 或以下）来增加进样体积^{6,7}。

图 17 所示为使用 TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{XL} 和 GMH_{HR}-H(S) 色谱柱时，聚苯乙烯标准品（2,890,000 Da 和 422,000 Da）的进样体积与分离度（分离性能）之间的关系。填料粒径越小，发生体积过载时的进样体积就越小。使用 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱时，不会造成分离度降低的最大样品体积约为 10 μ L，使用 TSKgel GMH_{XL} 色谱柱时约为 20 μ L，使用 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱时约为 100 μ L。另外，使用 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱时，假设没有发生质量过载，即使进样体积达 50 μ L，分离度降低也最小。当然，如果进样体积需要超过 50 μ L，最好是选用大粒径填料的 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱。

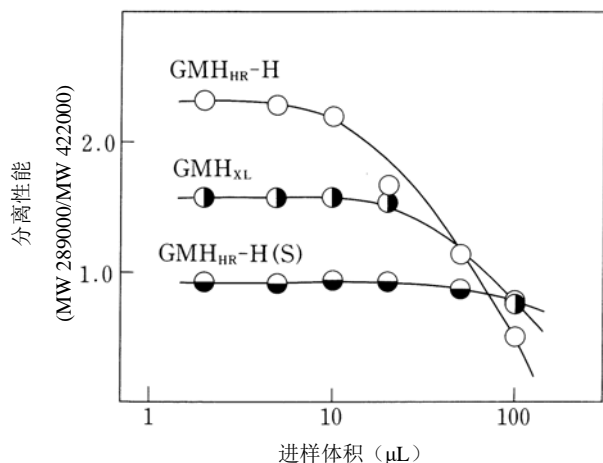


图 17 TSK-GEL GMH 色谱柱的分离度与进样体积之间的关系

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL} 和 TSKgel GMH_{HR}-H(S), 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品 (2,890,000 Da/422,000 Da)

如上所述, 分离聚合物样品时如果增加进样体积, 可能会发生体积过载。图 18 至 20 所示为, 进样体积对不同粒径填料的影响。如图 18 所示, 分析 2,890,000 Da 的化合物时, 如果进样体积高达 20 μL 及以上, TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱就会过载。使用同一色谱柱分析 422,000 Da 的样品, 当进样体积为 100 μL 时, 峰被严重拉宽, 化合物的洗脱时间也要晚于其正常位置。图 19 所示为, 使用 TSKgel GMH_{XL} 色谱柱, 当进样体积为 100 μL 时, 出现与上述现象类似的结果。

另一方面, 对于 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱来说, 由于其粒径较大 (13 μm), 未发生明显的过载现象。如上所述, 如果需要增加聚合物样品的进样体积, 请首选 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱。

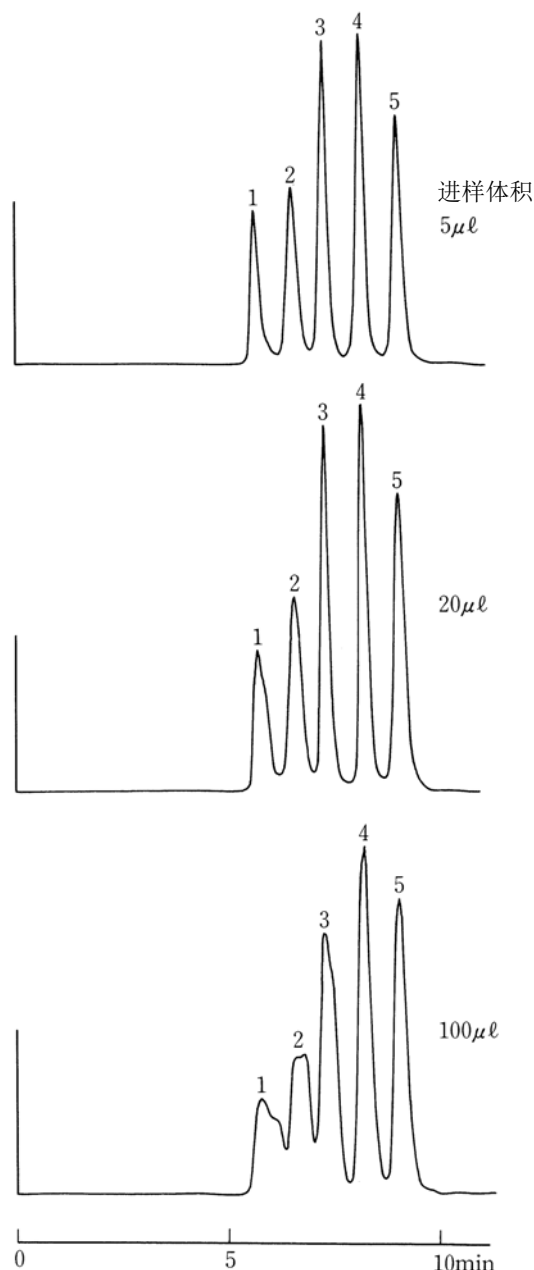


图 18 使用 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱分离聚苯乙烯时, 进样体积对分离的影响

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品 (5 μL、20 μL、100 μL)

1. 2,890,000 Da (0.5 mg/mL)

2. 422,000 Da (0.7 mg/mL)

3. 107,000 Da (1.0 mg/mL)

4. 16,700 Da (1.0 mg/mL)

5. 2,800 Da (1.0 mg/mL)

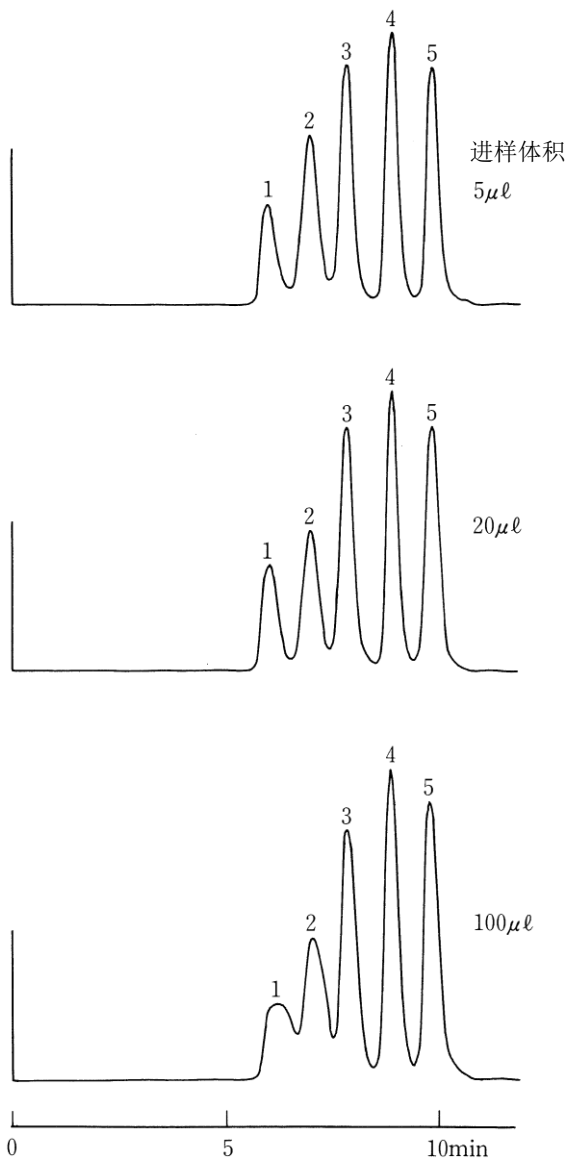


图 19 使用 TSKgel GMHXL 色谱柱分离聚苯乙烯时，进样体积对分离的影响

色谱柱：TSKgel GMHXL, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相：THF

流速：1.0 mL/min

温度：25°C

检测器：UV@254 nm

样品：聚苯乙烯标准品（5 μL、20 μL 和 100 μL）

1. 2,890,000 Da (0.5 mg/mL)

2. 422,000 Da (0.7 mg/mL)

3. 107,000 Da (1.0 mg/mL)

4. 16,700 Da (1.0 mg/mL)

5. 2,800 Da (1.0 mg/mL)

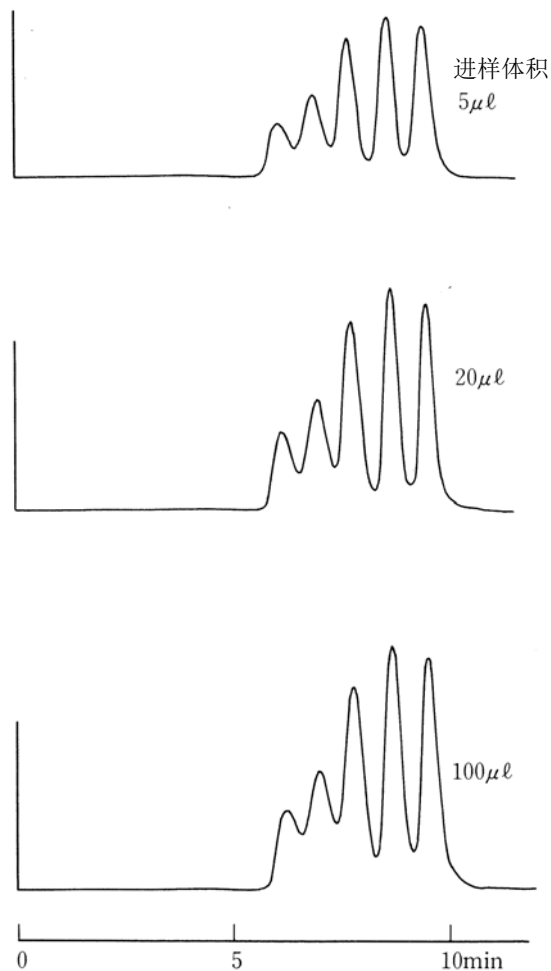


图 20 使用 TSKgel GMHHR-H(S) 色谱柱分离聚苯乙烯时，进样体积对分离的影响

色谱柱：TSKgel GMHHR-H(S), 7.8 mm ID x 30 cm

流动相：THF

流速：1.0 mL/min

温度：25°C

检测器：UV@254 nm

样品：聚苯乙烯标准品（5 μL、20 μL 和 100 μL）

1. 2,890,000 Da (0.5 mg/mL)

2. 422,000 Da (0.7 mg/mL)

3. 107,000 Da (1.0 mg/mL)

4. 16,700 Da (1.0 mg/mL)

5. 2,800 Da (1.0 mg/mL)

3-5-2 剪切降解

分析超高分子量化合物时，特别容易观察到该现象。使用微粒径填料以高流速进行分析时，往往会发生剪切降解。

图 21 所示为，使用 TSK-GEL GMH 色谱柱时，剪切降解与填料粒径之间的关系。当流速为 1.0 mL/min 时，只

有使用填料粒径较大的 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 色谱柱才能正常洗脱超高分子量样品 (20,600,000 Da)。使用 TSKgel GMH_{XL} 和 GMH_{HR}-H 色谱柱时，确实会发生剪切降解，色谱图中分子量较小的一侧会出现新的峰。

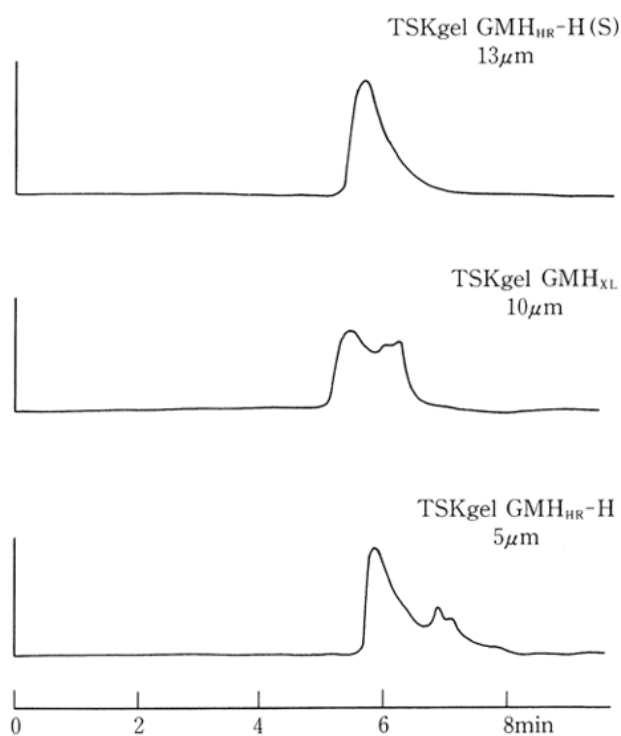


图 21 TSK-GEL GMH 色谱柱中聚合物样品剪切降解的填料粒径依赖性

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL} 和 TSKgel GMH_{HR}-H(S), 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流速: 1.0 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品 F-2000 (20,600,000 Da), 20 μL (0.025%)

图 22 所示为剪切降解对流速的影响。使用 TSK-GEL GMH_{XL} 色谱柱时，可将流速降低至 0.6 mL/min 或以下来抑制剪切降解。但是，使用 TSKgel GMH_{HR-H} 色谱柱时，即使流速已经低至 0.4 mL/min，也无法避免剪切降解。因此，使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱分析超高分子量样品时，最好使用 (S) 型色谱柱。

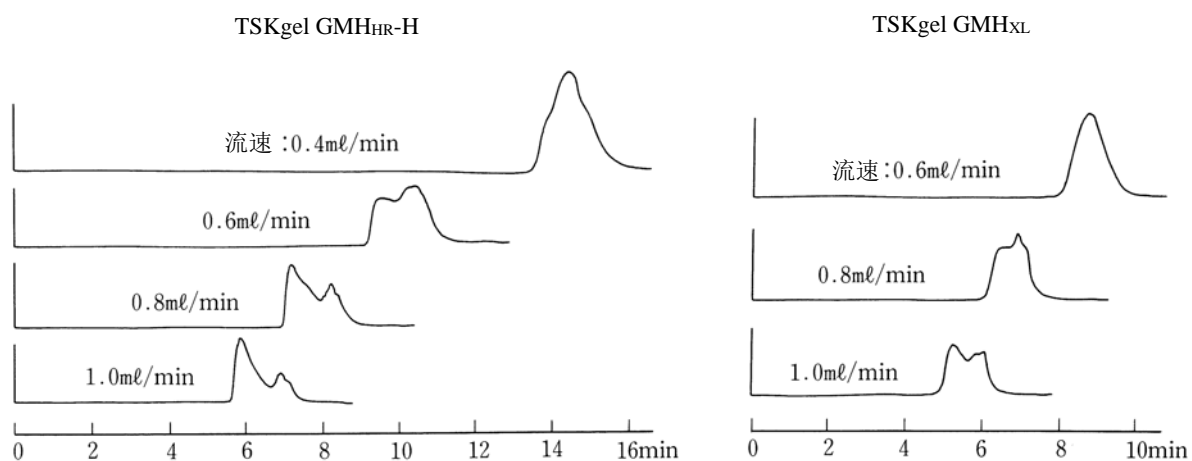


图 22 使用 TSKgel GMH_{HR-H} 和 TSKgel GMH_{XL} 色谱柱时，样品剪切降解的流速依赖性

色谱柱：TSKgel GMH_{HR-H} 和 TSKgel GMH_{XL}，
均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相：THF

流 速：0.4 – 1.0 mL/min

温 度：25°C

检测器：UV@254 nm

样 品：聚苯乙烯标准品 F-2000 (20,600,000 Da)，20 μL
(0.025%)

3-5-3 柱温

一般来说，随着柱温升高，由于分布系数（ K_d ）的变化，样品洗脱速度会更快⁸。图 23 所示为，使用 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱时，聚苯乙烯标准品的校正曲线对温度的依赖性。

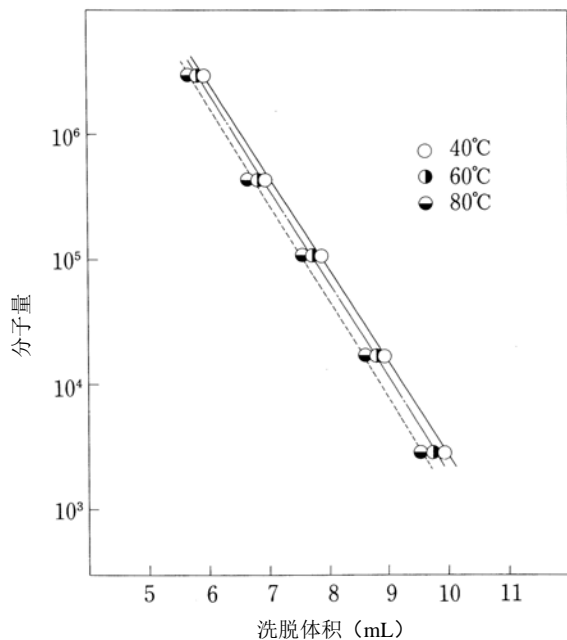


图 23 TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱校正曲线的温度依赖性

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: DMF

流速: 1.0 mL/min

温度: 40°C – 80°C

检测器: RI

样品: 聚苯乙烯标准品

3-6 混合柱（线性型）

TSK-GEL H_{HR} 系列色谱柱中包含了三种线性混合床色谱柱。TSKgel GMH_{HR}-H 色谱柱在 10³–10⁷ 道尔顿的分子量分离范围内的校正曲线呈线性，而 TSKgel GMH_{HR}-M 色谱柱在 500–10⁶ 道尔顿的分子量分离范围内具有线性校正曲线。TSKgel GMH_{HR}-L 色谱柱的设计适用于分析 10⁴ 道尔顿及以下的低聚物和低分子量样品。不仅能够实现良好分离，同时还能够保证聚合物区域的分离。而且，线性 TSKgel GMH_{HR}-H(S) 和 GMH_{HR}-M(S) 色谱柱也可用于分析超高分子量物质。

图 2 中所示校正曲线是以 THF 为流动相，聚苯乙烯标准品为样品得到的。图 4、6 和 8 所示为，使用氯仿、HFIP 和 DMF 作为流动相时的校正曲线。

图 24 至 27 比较了使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱时，聚苯乙烯混合标准品的分离色谱图。

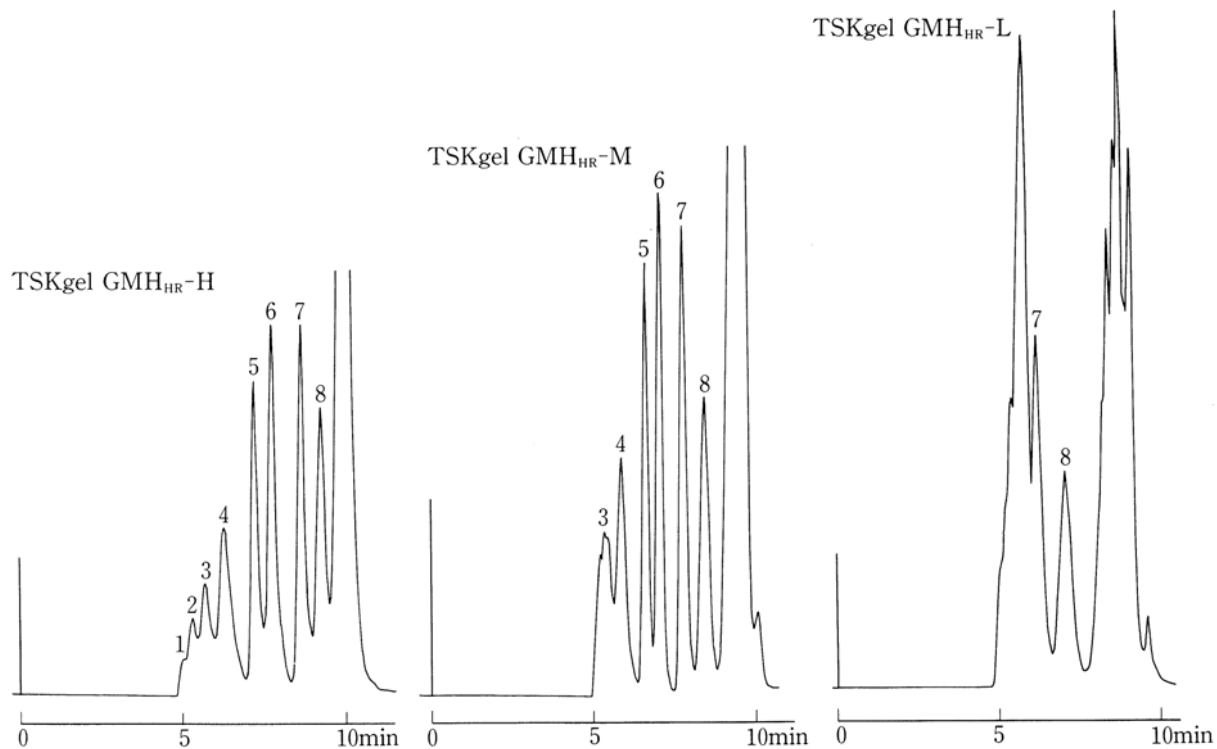


图 24 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和 TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品

1. 8,420,000 Da 2. 2,890,000 Da

3. 1,260,000 Da 4. 422,000 Da

5. 107,000 Da 6. 42,800 Da

7. 10,200 Da 8. 2,800 Da

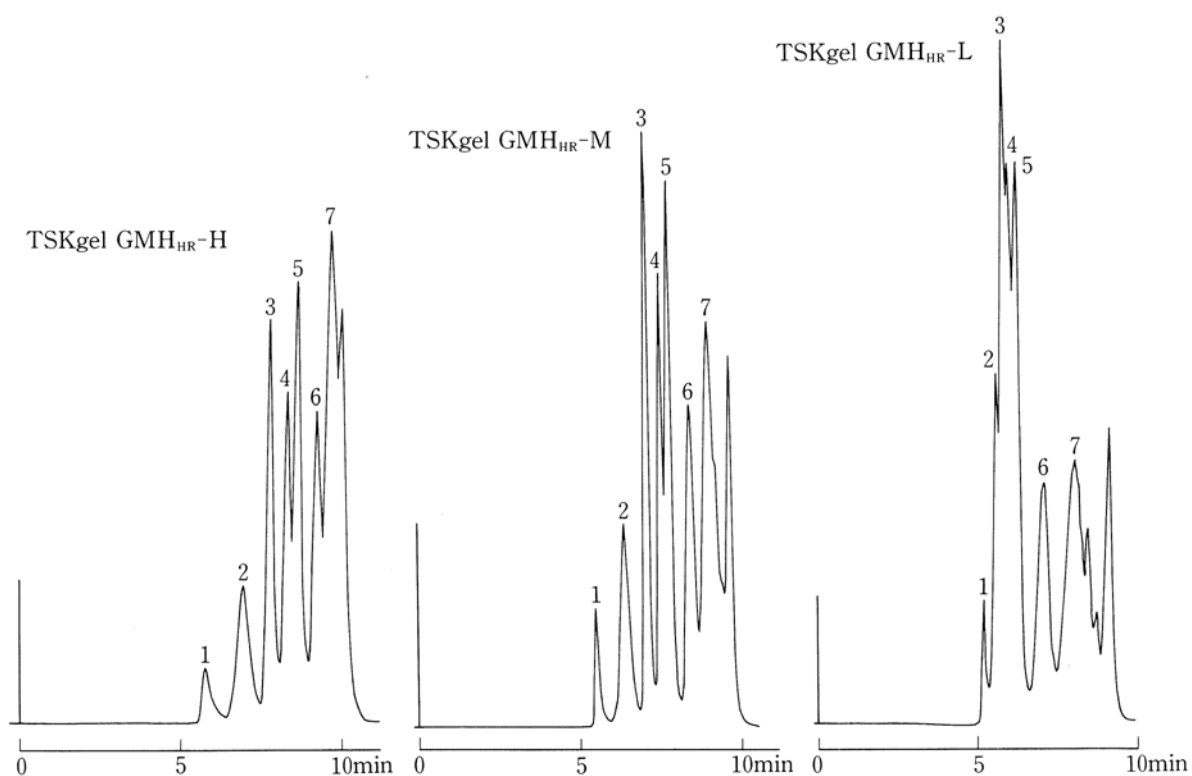


图 25 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和 TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品

- | | |
|-----------------|--------------|
| 1. 1,260,000 Da | 2. 186,000 |
| 3. 42,800 Da | 4. 16,700 Da |
| 5. 10,200 Da | 6. 2,800 Da |
| 7. A-1000 Da | |

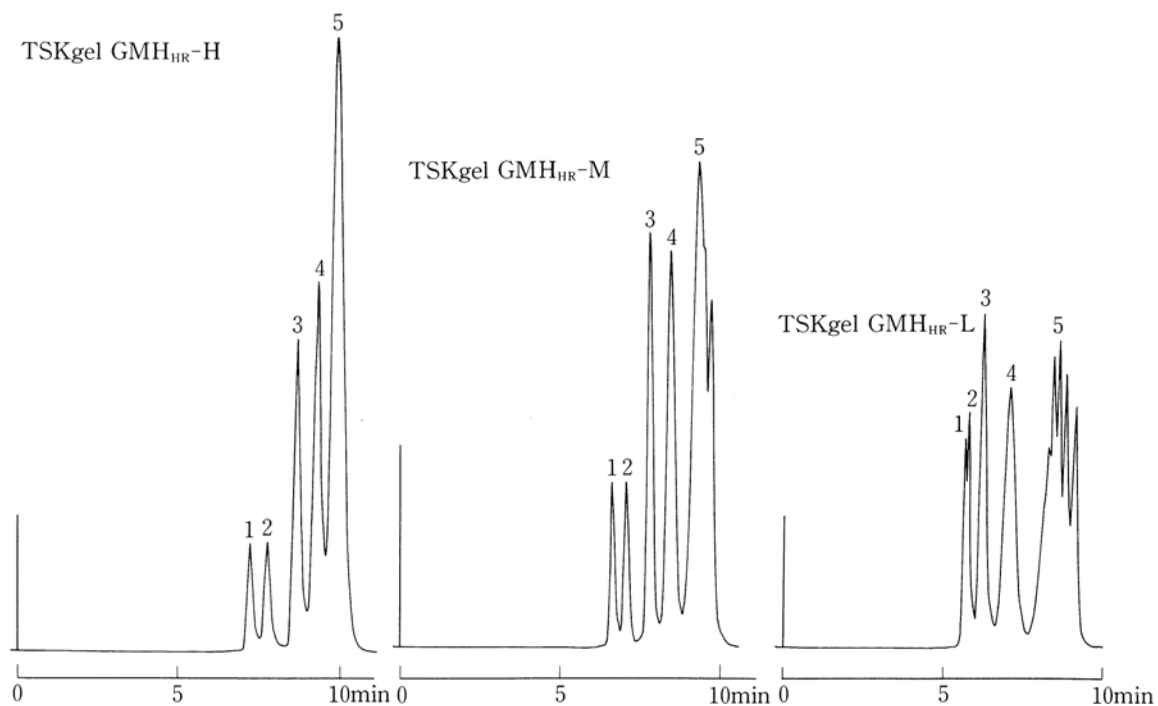


图 26 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和 TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品

1. 107,000 Da 2. 42,800 Da

3. 10,200 Da 4. 2,800 Da

5. A-500 Da

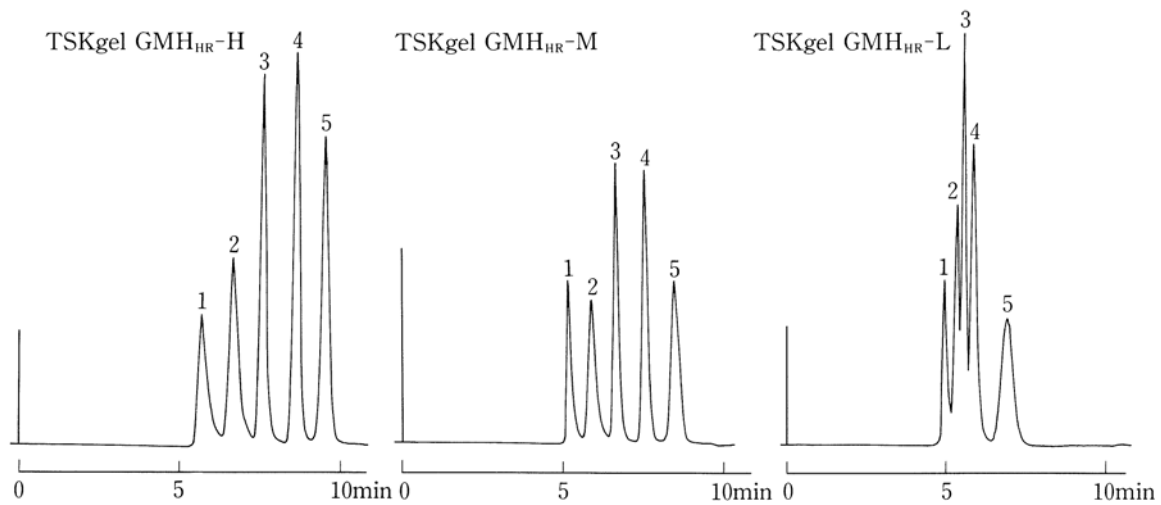


图 27 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和 TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 聚苯乙烯标准品

1. 2,890,000 Da 2. 422,000 Da

3. 107,000 Da 4. 16,700 Da

5. 2,800 Da

图 28 比较了环氧树脂 (Epikote 1001) 的分离色谱图。

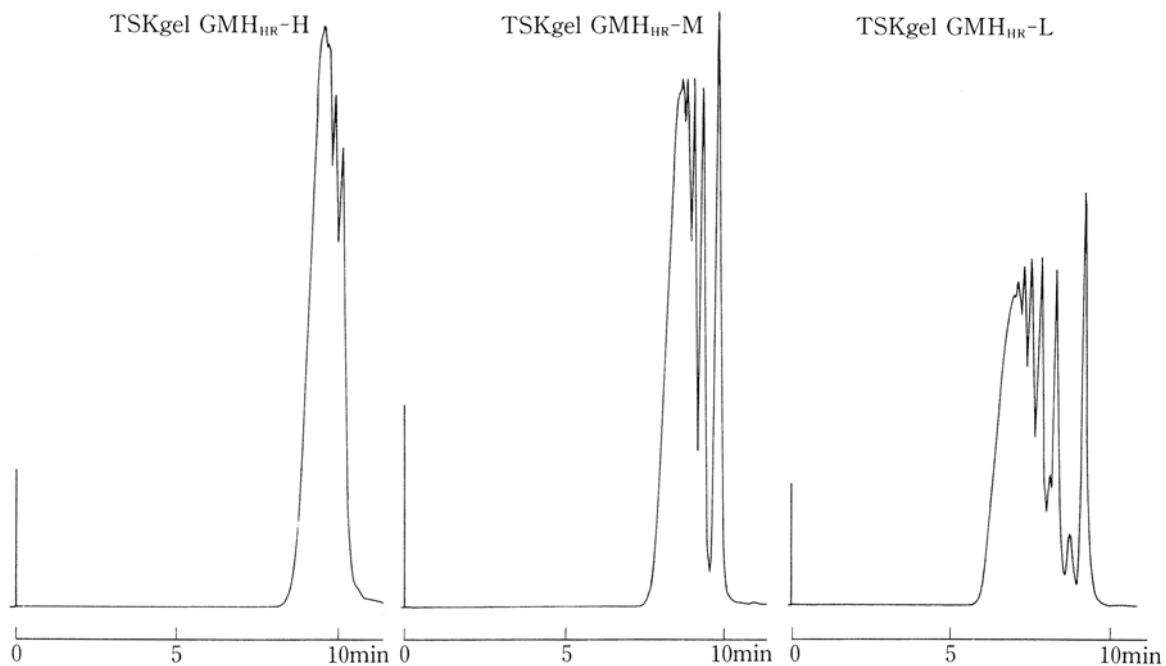


图 28 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对环氧树脂 (Epikote 1001) 的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 环氧树脂 (Epikote 1001)

图 29 比较了酚醛树脂的分离色谱图。

从这些图中可以看出，使用不同等级的色谱柱，最佳的分离范围也不同。

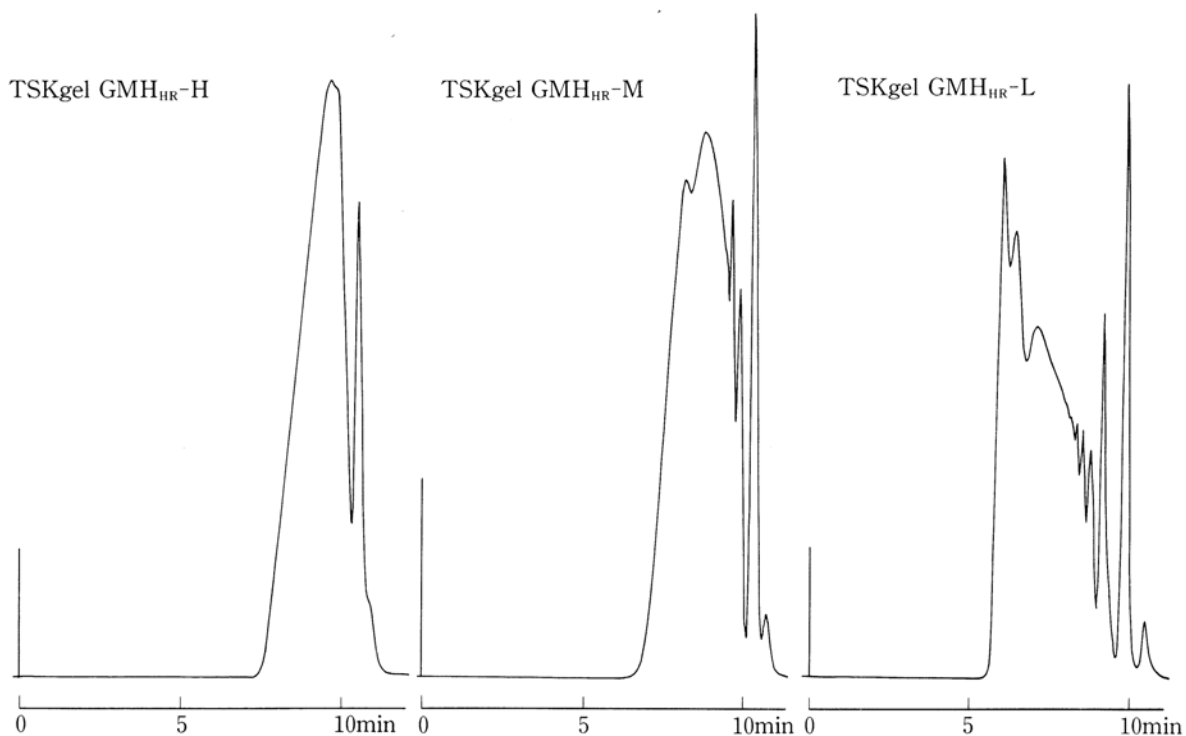


图 29 使用不同 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱对酚醛树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 酚醛树脂

3-7 特殊溶剂中加盐的影响

使用 DMF 流动相分析聚合物分子内或末端含有可解离离子基团（如磺酸根基或羧基）的样品时，样品的洗脱位置可能会大大提前。对此有各种解释：由于静电作用引起的聚合物线圈扩张，由于分子内组装引起的聚合物结构溶胀，极性基团与 DMF 之间的两性相互作用，填料与样品中的可解离基团之间的离子排斥等。有人提出了可向 DMF 溶剂中添加锂盐（LiBr 或 LiCl）以抑制该现象。⁹⁻¹¹

在酚醛树脂¹²、脲醛树脂¹³和具有羧基的聚合物¹⁴⁻¹⁷中也存在类似现象。此外，Hann 等人¹⁸指出，季铵化聚氨酯可能会发生吸附。

基于以上论点，我们向 DMF 溶剂、THF/甲醇混合溶剂及 HFIP 溶剂中加盐（LiBr、三氟乙酸钠），使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱研究了醇酸树脂、酚醛树脂和聚醚酰亚胺的洗脱行为。

图 30 所示为，使用 TSKgel G3000H_{HR} 色谱柱以 DMF 作为流动相进行分析时，醇酸树脂和酚醛树脂的洗脱行为，以及向 DMF 中添加 LiBr 的影响。

使用 DMF 溶剂时，由于静电相互作用，两种树脂均会从色谱柱中过早洗脱。但是，向 DMF 溶剂中添加 LiBr 后，即可获得正常的色谱图。当 LiBr 浓度约为 30 mmol/L 时，醇酸树脂会恢复正常洗脱；而当盐浓度约为 10 mmol/L 时，酚醛树脂可以正常洗脱。

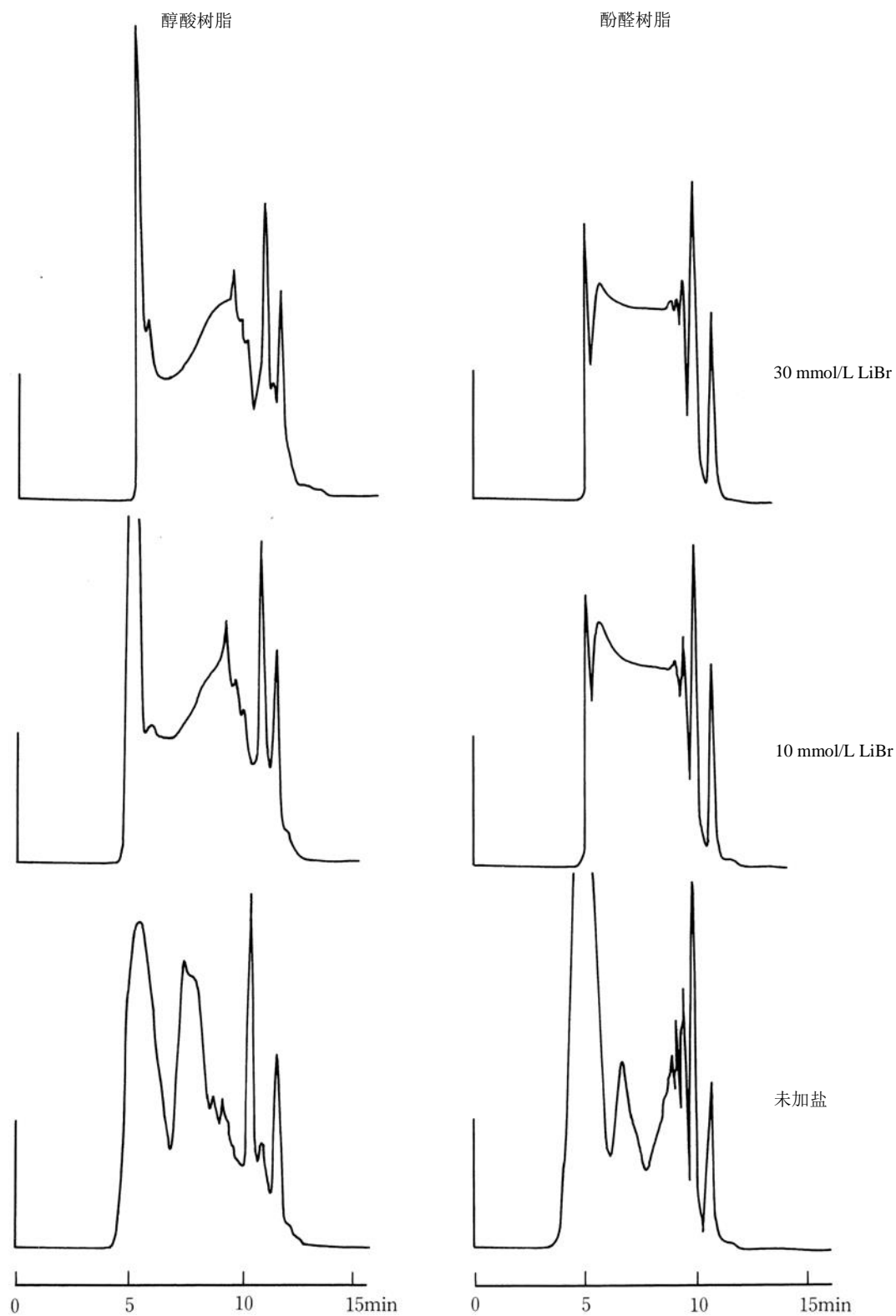


图 30 使用 TSKgel G3000H_{HR} 色谱柱分离醇酸树脂和酚醛树脂

色谱柱: TSKgel G3000H_{HR}, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: DMF (含 LiBr)

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样 品: 醇酸树脂、酚醛树脂

图 31 所示为，使用 TSKgel G3000H_{HR} 色谱柱时，醇酸树脂和酚醛树脂在 THF/甲醇（60/40）溶剂中的洗脱行为，及添加 20 mmol/L LiBr 后的洗脱结果。与在 DMF 溶剂中一样，使用 THF/甲醇= 6/4 混合溶剂时，由于静电相互作用，两种树脂均会过早洗脱，但是向 THF/甲醇= 6/4 混合溶剂中添加 20 mmol/L LiBr 后，色谱图恢复了正常。

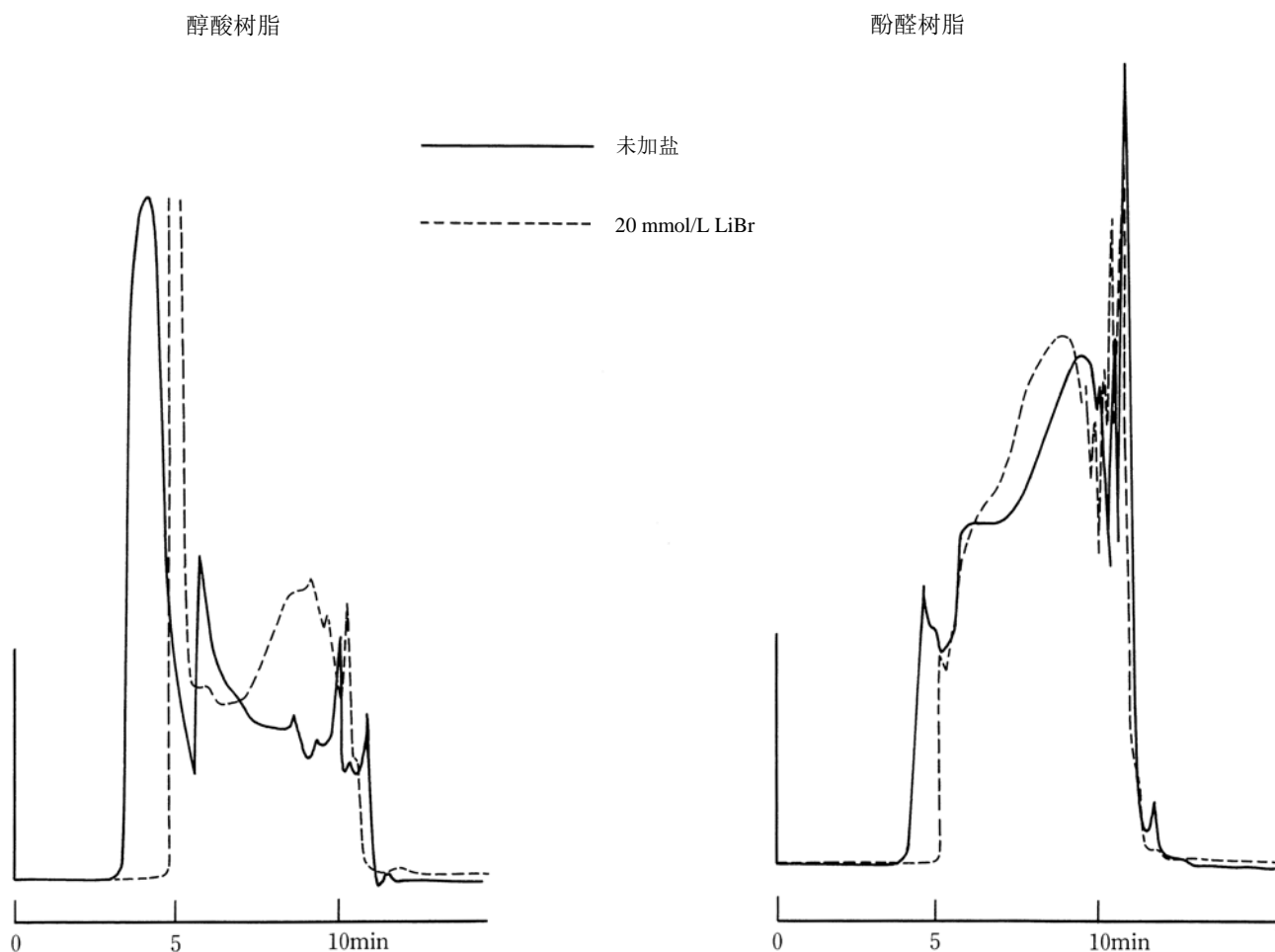


图 31 使用 TSKgel G3000H_{HR} 色谱柱分离醇酸树脂和酚醛树脂

色谱柱：TSKgel G3000H_{HR}, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相：THF/甲醇 = 6/4 (含 LiBr)

流速：1.0 mL/min

温度：25 °C

检测器：UV (254 nm)

样品 醇酸树脂和酚醛树脂

图 32 所示为，使用 TSKgel G4000H_{HR} 和 G5000H_{HR} 色谱柱时，聚醚酰亚胺在 HFIP 溶剂中的洗脱行为，及添加 10 mmol/L 三氟乙酸钠后的影响。得到的色谱图与使用 DMF 和 THF/甲醇流动相（详细内容请参考图 30 和 31）时不同。未加盐时可以观察到吸附，而向 HFIP 溶剂中添加 10 mmol/L 三氟乙酸钠后，GPC 测试结果恢复正常。

因此，如上所述，使用特殊溶剂体系进行分析时，样品的洗脱行为可能会变得异常，但是在某些情况下，可以通过在溶剂中加盐使色谱图恢复正常。

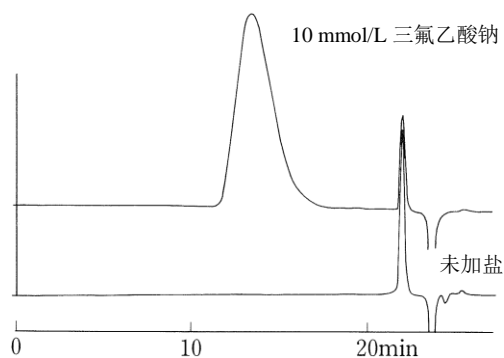


图 32 使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱分离聚醚酰亚胺

色谱柱：TSKgel G5000H_{HR} + TSKgel G4000H_{HR},

7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相：HFIP（含三氟乙酸钠）

流 速：1.0 mL/min

温 度：40°C

检测器：RI

样 品：聚醚酰亚胺

4. 应用

图 33 比较了使用串联的色谱柱时，得到的色谱图。

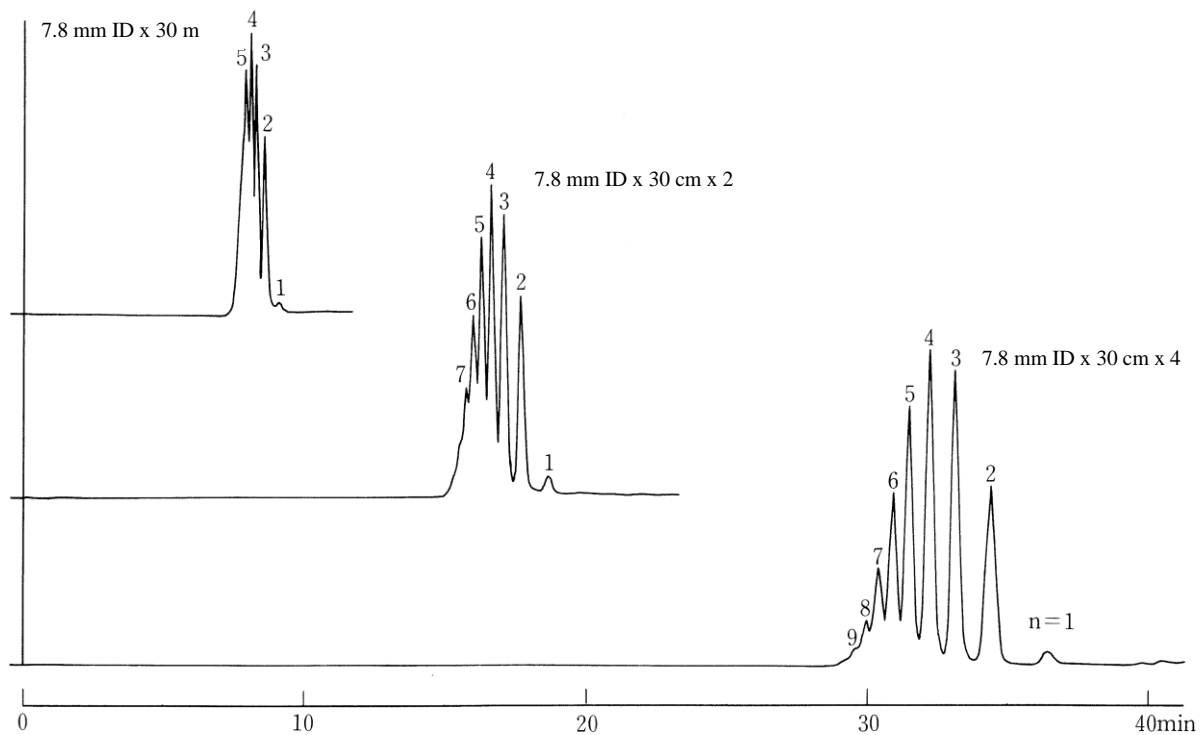


图 33 使用 TSKgel G2500HR 色谱柱分离聚乙烯标准品 A-500

色谱柱：TSKgel G2500HR, 7.8 mm ID x 30 cm (x 1、x 2、x 4)

流动相：THF

流 速：1.0 mL/min

温 度：25°C

检测器：UV@254 nm

样 品：聚乙烯标准品 A-500

图 34 至 43 所示为使用不同有机溶剂对各种树脂和聚合物进行的分析。

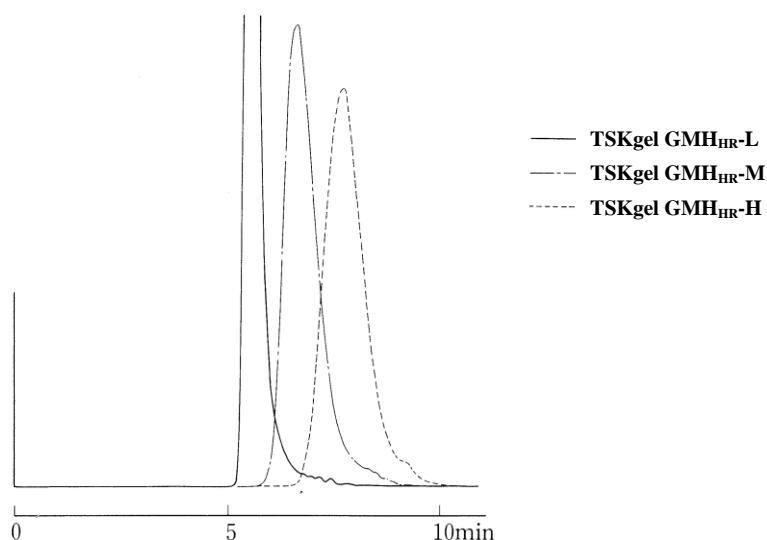


图 34 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离聚碳酸酯

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和 TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 氯仿
 流 速: 1.0 mL/min
 温 度: 25°C
 检测器: UV@254 nm

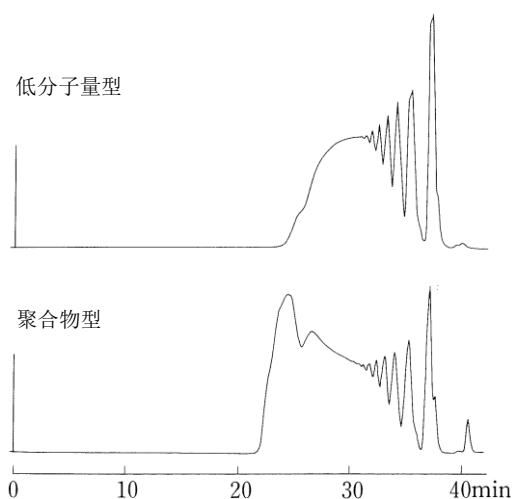


图 35 使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱分离酚醛树脂 (热塑性)

色谱柱: TSKgel G4000H_{HR} + TSKgel G3000H_{HR} + TSKgel G2000H_{HR} x 2, 7.8 mm ID x 30 cm x 4
 流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 DMF
 流 速: 1.0 mL/min
 温 度: 25°C
 检测器: UV@270nm
 样 品: 低分子量型和聚合物型酚醛树脂 (热塑性)

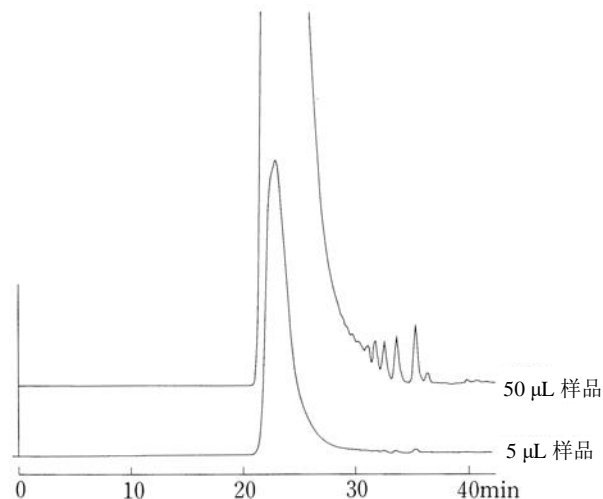


图 36 使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱分离聚醚砜

色谱柱: TSKgel G4000H_{HR} + TSKgel G3000H_{HR} + TSKgel G2000H_{HR} x 2, 7.8 mm ID x 30 cm x 4
 流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 DMF
 流 速: 1.0 mL/min
 温 度: 25°C
 检测器: UV@270nm
 样 品: 聚醚砜

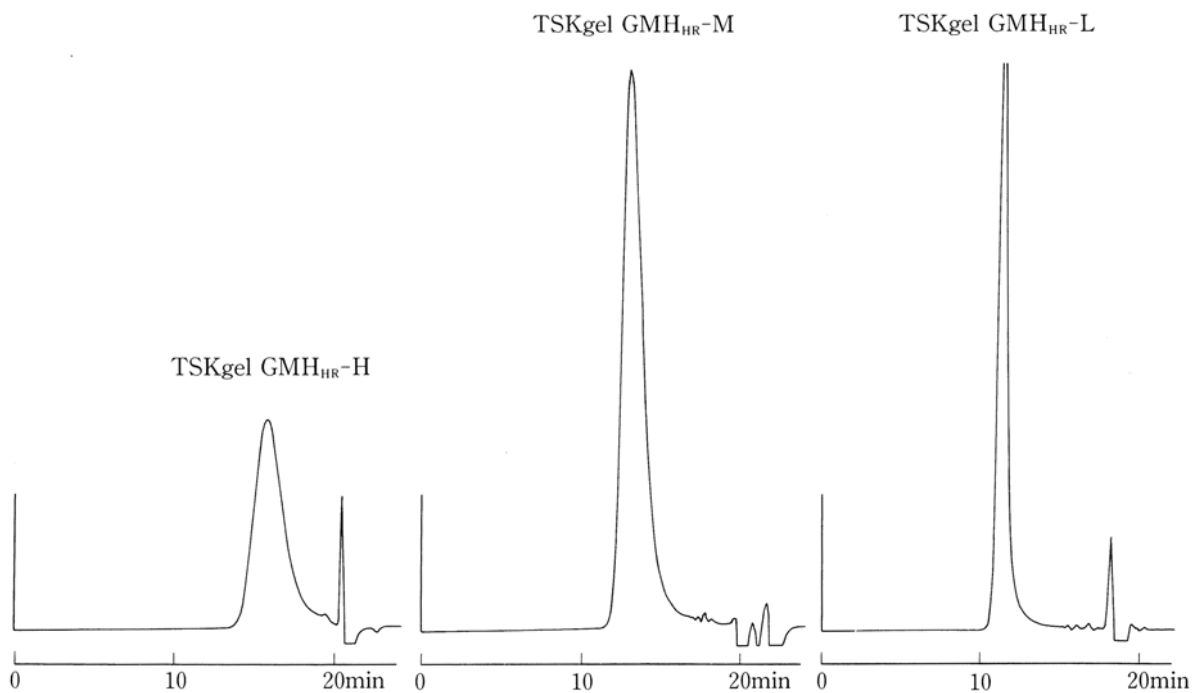


图 37 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离聚酰亚胺

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 DMF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 80°C

检测器: RI

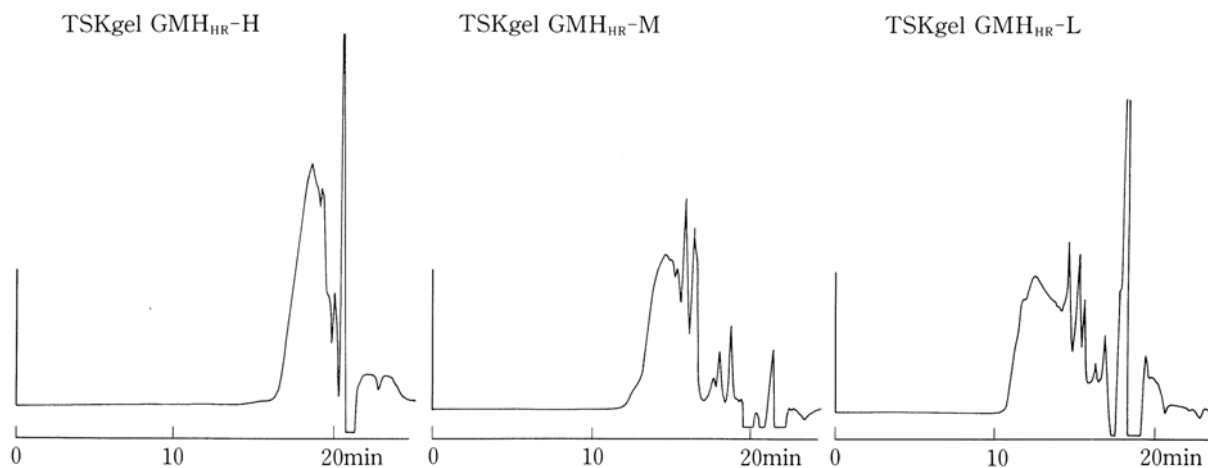


图 38 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离酚醛树脂 (甲阶型)

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 DMF

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 80°C

检测器: RI

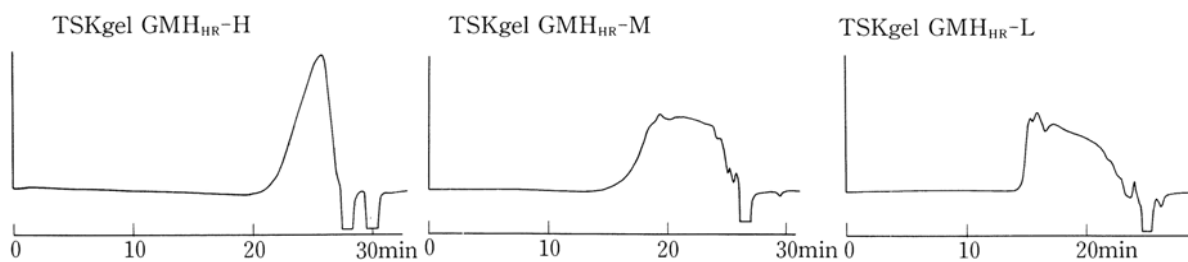


图 39 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离三聚氰胺树脂

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm x 2
流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 DMSO
流 速: 0.75 mL/min
温 度: 80 °C
检测器: RI

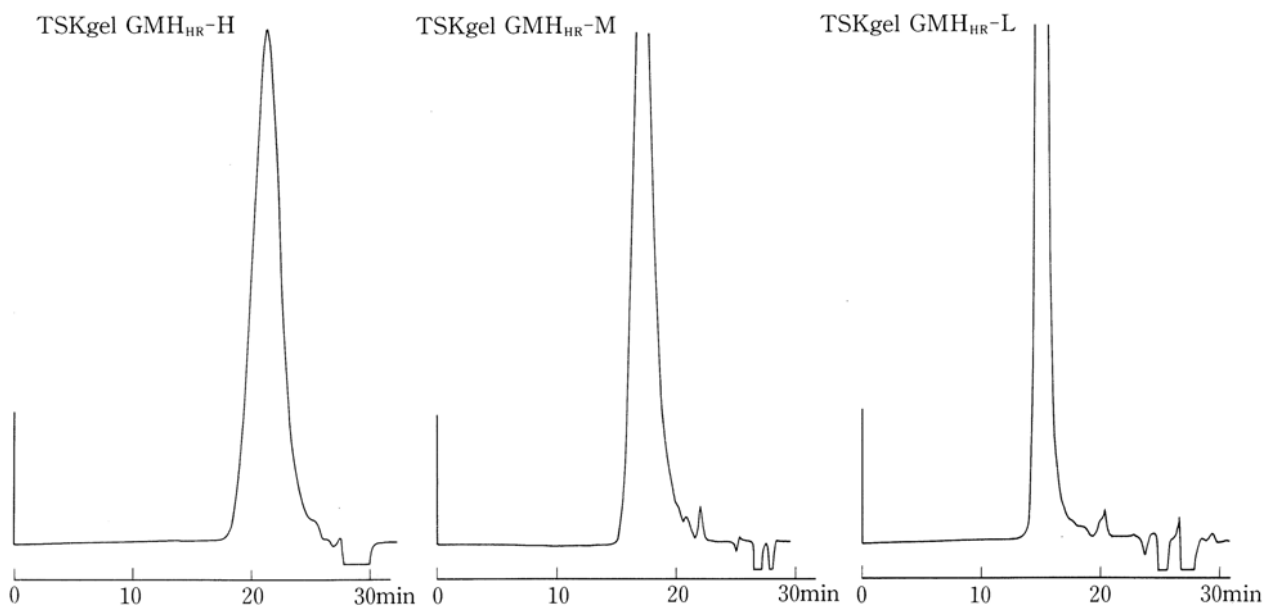


图 40 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离聚醚酰亚胺

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm
流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 N-甲基吡咯烷酮
流 速: 0.75 mL/min
温 度: 80°C
检测器: RI

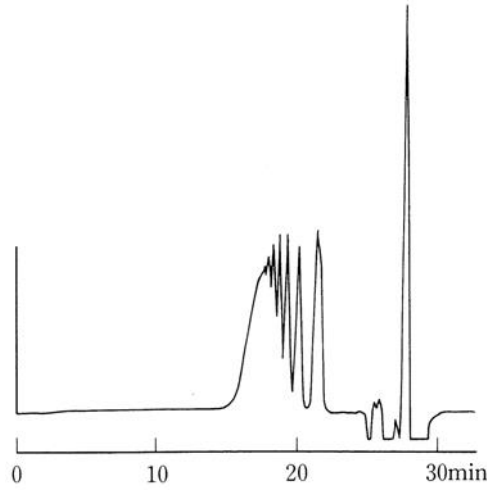


图 41 使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱分离葡聚糖 T-40 水解物

色谱柱: TSKgel G3000H_{HR} + TSKgel G2500H_{HR},

7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: 含有 10 mmol/L LiBr 的 N-甲基吡咯烷酮

流 速: 0.75 mL/min

温 度: 80°C

检测器: RI

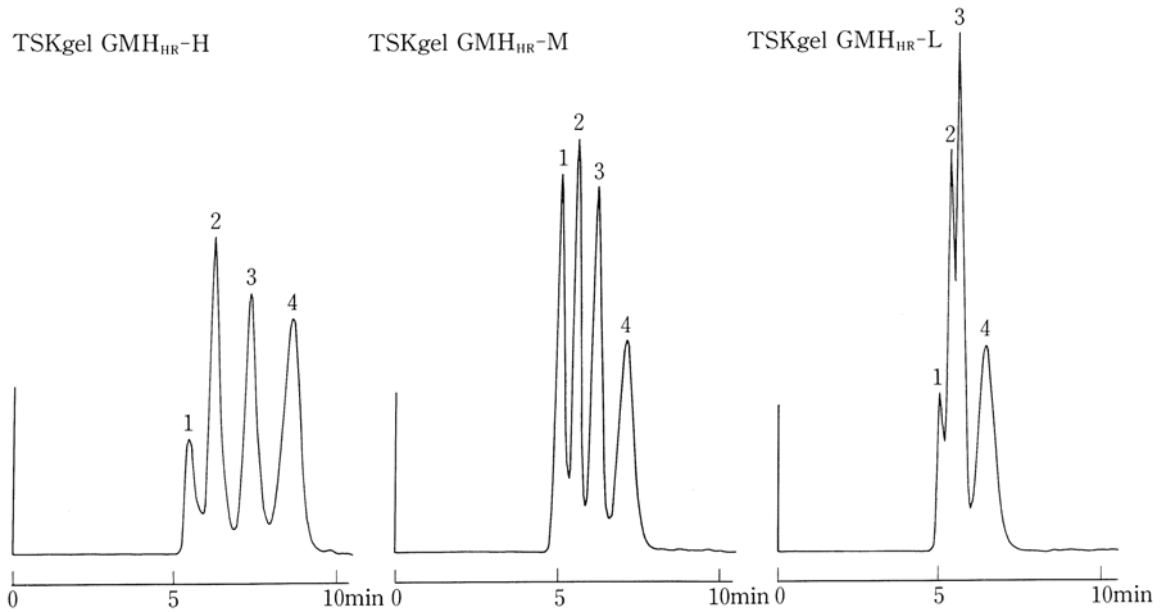


图 42 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离聚甲基丙烯酸甲酯混合物

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和

TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: 含有 5 mmol/L 三氟乙酸钠的 HFIP

流 速: 1.0 mL/min

温 度: 40°C

检测器: UV@220nm

样 品: 聚甲基丙烯酸甲酯

1. 820,000 Da 2. 67,000 Da

3. 10,200 Da 4. 1,950 Da

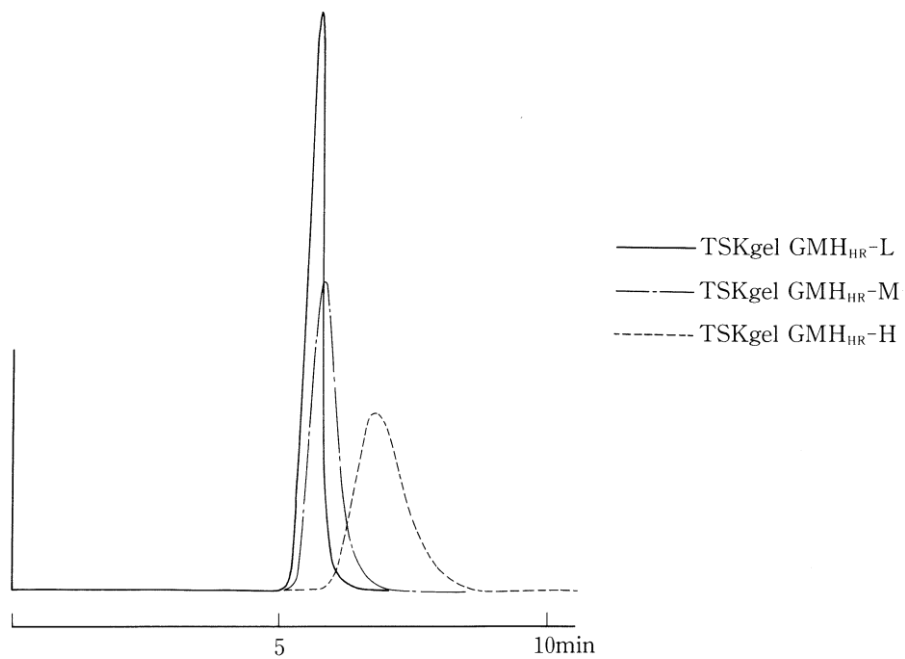


图 43 使用 TSK-GEL GMH_{HR} 色谱柱分离尼龙 66

色谱柱: TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M 和
TSKgel GMH_{HR}-L, 均为 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: 含有 5 mmol/L 三氟乙酸钠的 HFIP

流 速: 1.0 mL/min

温 度 40°C

检测器: RI

样 品: 尼龙 66

5. 结论

通过显著提高填料强度, TSK-GEL H_{HR} 色谱柱的性能远远超过了常规 TSK-GEL H_{XL} 色谱柱的性能。因此, 也达成了以下改进: (a) 增强了耐受溶剂转换的能力; (b) 提高了使用特殊溶剂时的耐久性; (c) 实现了在高流速下的稳定分析。

总之, 使用 TSK-GEL H_{HR} 色谱柱进行分析时, 可以使用的条件范围更广, 兼容的溶剂种类更多。因此, TSK-GEL H_{HR} 色谱柱是面向分析领域, 应对全新挑战和未知难题的最佳选择。

参考文献

- 1 P.J.Wang, R.J.Rivard, J. Liq.Chromatogr., 10, 3059 (1987)
- 2 C.A.Veith, R.E.Cohen, Polymer, 30, 942 (1989)
- 3 S. Mori, Anal.Chem., 61, 1321 (1989)
- 4 T. Ogawa, M. Sasaki, W. Ishitobi, J. Polym.Sci., Polym.Chem.Ed., 24, 109 (1985)
- 5 A. Kinugawa, IUPAC 32nd International Symposium on Macromolecules Preprints, 489 (1988)
- 6 S. Mori, J. Appl.Polym.Sci., 20, 2157 (1976)
- 7 S. Mori, "Steric Exclusion Liquid Chromatography of Polymers", by J. Janca, Marcel Dekker, N.Y.(1984), Chapter 4.
- 8 S. Mori, Anal.Chem., 52, 1625 (1980)
- 9 C.Y.Cha, J. Polym.Sci., B7, 343 (1969)
- 10 G. Coppola et al., Appl.Polym.Sci., 16, 2829 (1972)
- 11 A.S.Kenyon et al., Appl.Polym.Symp., 25, 57 (1974)
- 12 B. Riedl et al, Holzforshung, 42, 315 (1988)
- 13 P.R.Ludlam et al., J. Appl.Polym.Sci., 29, 3863 (1984)
- 14 D.R.Sheuing, J. Appl.Polym.Sci., 29, 2819 (1984)
- 15 P.P.Nefedr et al., J. Chromatogr., 170, 11 (1979)
- 16 L.Z.Vilenchik et al., Chromatographia, 24, 633 (1987)
- 17 C.C.Walker, J. Polym.Sci., Polym.Chem., 26, 1649 (1988)
- 18 N.D.Hann.J. Polym.Sci., Polym.Chem., 15, 1331 (1977)



TOSOH

TOSOH BIOSCIENCE

地址：上海市徐汇区虹梅路1801号A区凯科国际大厦1001室

电话：+86-21-34610856 传真：+86-21-34610858

邮箱：info.tbs@tosoh.com.cn

网址：www.separations.asia.tosohbioscience.com