

高速、高性能半微量 GPC 色谱柱： TSK-GEL SuperH 系列

目录

1. 简介	1
2. 特点	1
3. 基本特性	3
3-1 分离性能	3
3-2 柱效与流速的关系	4
3-2-1 分析低分子量样品时，HETP 对流速的依赖性	4
3-2-2 分析聚合物样品时，HETP 对流速的依赖性	4
3-3 峰检测灵敏度	8
3-4 溶剂兼容性	9
3-5 样品负载	13
3-5-1 样品浓度	13
3-5-2 样品进样体积	14
3-6 剪切降解	17
3-7 柱温	19
3-8 系统硬件优化	20
3-8-1 检测器中的谱带展宽效应	20
3-8-2 色谱柱进出口管路中的 谱带展宽效应	22
3-8-3 色谱柱之间连接管路中的 谱带展宽效应	23
3-8-4 其他组件中的谱带展宽效应	23
3-9 混合床色谱柱（线性）	24
4. 应用	24
5. 结论	33

1. 简介

随着聚合物科学的发展，大量全新的聚合物被创造出来。如今，该类物质制成品的用途已经越来越广泛，因此，急需从使用、开发、质量控制等多个方面深入了解其性质。

毫无疑问，平均分子量（质量）和分子量分布是聚合物特性中最需要着重探讨的。多年来，人们已经使用了各种方法，包括沸点测定法、光散射技术、渗透压法、粘度、绝对法（如超速离心）等来确定平均分子量和分子量分布。目前，尺寸排阻色谱法（SEC）（液相色谱的一种模式）因其具有相对简单、快速、重复性好等特点而得到了最广泛的应用。

凝胶过滤色谱法（GFC）最早是在生物聚合物领域作为一种尺寸排阻法使用的，通过采用多糖凝胶，根据分子大小分离分子。关于液相色谱的另一方面是，1964年，J.C. Moore¹在有机溶剂系统中，使用交联的聚苯乙烯凝胶分析合成聚合物时，首次提出了凝胶渗透色谱法（GPC）的概念。自此，SEC得到了迅速普及。

如表1所示，东曹于1971年就将用于有机溶剂系统的TSK-GEL S型系列GPC色谱柱推向了市场。自此之后，TSK-GEL GPC色谱柱的性能和分析速度不断提高。

1992年，东曹开发了HR系列TSK-GEL H型色谱柱（以下简称TSK-GEL H_{HR}系列），该系列色谱柱不仅具有优异的物理稳定性，还能耐受溶剂转换，性能远超前期产品。如今，TSK-GEL H_{HR}系列色谱柱的粒径已降低至微粒级别，形成了一系列高度耐用、性能卓越的半微量GPC色谱柱：TSK-GEL SuperH系列GPC色谱柱（以下简称TSK-GEL SuperH系列）。此外，开发该系列色谱柱时，还考虑到了环境问题，使用该系列色谱柱不仅能够减少有机溶剂的消耗，还降低了溶剂处理的成本。

本报告将就TSK-GEL SuperH系列的特点、基本特性及其在聚合物分析中的应用进行介绍。

2. 特点

TSK-GEL H_{HR}系列的填料粒径已降至3 μm，并通过先进的装填技术装填至不锈钢色谱柱（6.0 mm ID x 15 cm）中。

因此，TSK-GEL SuperH系列具有与TSK-GEL H_{HR}系列相同的孔径特性，可以重复更换流动相溶剂，柱长相同时，其理论塔板数是TSK-GEL H_{HR}系列色谱柱的两倍。

TSK-GEL SuperH系列色谱柱具有以下特点：

- (1) 相比于常规TSK-GEL H_{HR}和H_{XL}系列色谱柱，其分离性能类似，分析时间减半。
- (2) 在样品限定的情况下，相对灵敏度比常规内径（7.8 mm ID）的色谱柱提高了3到4倍。
- (3) 溶剂消耗量减少到了常规色谱柱的三分之一。相应地，每次分析时溶剂成本及处理成本也随之降低。
- (4) 由于其填料粒径较小，因此与常规色谱柱相比，分离性能对流速的依赖性较小。在较高流速下，分离性能几乎未见降低。
- (5) 从一种有机溶剂更换为另一种有机溶剂时，TSK-GEL SuperH系列与TSK-GEL H_{HR}色谱柱一样，可保持柱效。
- (6) 混合床色谱柱具有出色的校正曲线线性度，共分为4个等级，可根据样品的分子量和分子量分布选择合适的色谱柱。

表2比较了TSK-GEL SuperH和H_{HR}系列色谱柱的性能特点。使用TSK-GEL SuperH系列色谱柱，以THF溶剂为流动相，分析聚苯乙烯标准品时，得到的校正曲线如图1、2所示。

表1 开发、商业化用于有机溶剂系统的GPC色谱柱的历史进程

年份	产品名称	色谱柱长度 (cm)	粒径 (μm)	理论塔板数 (30 cm 色谱柱)
1971	TSK-GEL S 型	120	40	1,500
1972	TSK-GEL H 型	60	10 13	8,000 6,000
1983	TSK-GEL H _{XL} 系列	30	5 13	16,000 8,000
1987	TSK-GEL H _{XL} 新系列	30	5 10	16,000 14,000
1992	TSK-GEL H _{HR} 系列	30	5 13	16,000 8,000
1993	TSK-GEL SuperH 系列	15	3	32,000

表 2 TSK-GEL SuperH 和 H_{HR} 系列色谱柱的性能比较

TSK-GEL SuperH 系列			TSK-GEL H _{HR} 系列		
等级	粒径 (μm)	保证理论塔板数 (15 cm 色谱柱)	等级	粒径 (μm)	保证理论塔板数 (30 cm 色谱柱)
SuperH1000	3	16,000	G1000H _{HR}	5	16,000
SuperH2000	3	16,000	G2000H _{HR}	5	16,000
SuperH2500	3	16,000	G2500H _{HR}	5	16,000
SuperH3000	3	16,000	G3000H _{HR}	5	16,000
SuperH4000	3	16,000	G4000H _{HR}	5	16,000
SuperH5000	3	16,000	G5000H _{HR}	5	16,000
SuperH6000	5	10,000	G6000H _{HR}	5	16,000
SuperH7000	5	10,000	G7000H _{HR}	5	16,000
SuperHM-L	3	16,000	GMH _{HR} -L	5	16,000
SuperHM-N	3	16,000	GMH _{HR} -N	5	16,000
SuperHM-M	3	16,000	GMH _{HR} -M	5	16,000
SuperHM-H	3	16,000	GMH _{HR} -H	5	16,000

测量理论塔板数的条件

色谱柱: TSK-GEL SuperH 系列, 6.0 mm ID x 15 cm
 TSK-GEL H_{HR} 系列, 7.8 mm ID x 30 cm
 流动相: 四氢呋喃 (THF)
 流速: TSK-GEL SuperH (0.6 mL/min)
 TSK-GEL H_{HR} (1.0 mL/min)
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: TSK-GEL SuperH1000 (对羟基苯甲醇)
 TSK-GEL SuperH2000-H7000 和 SuperHM
 (邻苯二甲酸二环己酯)
 TSK-GEL G1000H_{HR}-G2500H_{HR} (苯)
 TSK-GEL G3000H_{HR}-G4000H_{HR}、
 GMH_{HR}-L 和-N (正丁基苯)
 TSK-GEL G5000H_{HR}-G7000H_{HR}、
 GMH_{HR}-M 和-H (邻苯二甲酸二环己酯)

使用聚苯乙烯标准品校正 TSK-GEL SuperH 和 SuperHM 色谱柱。

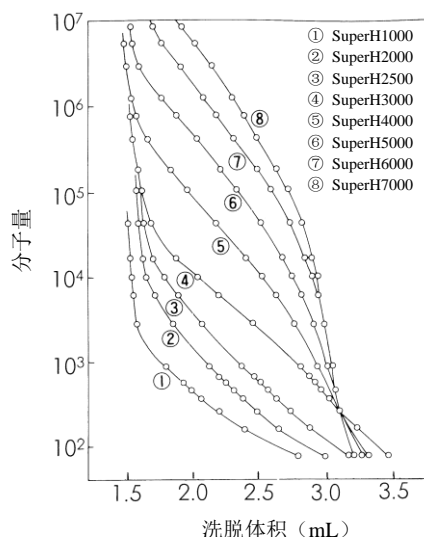


图 1 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的校正曲线

色谱柱尺寸: 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

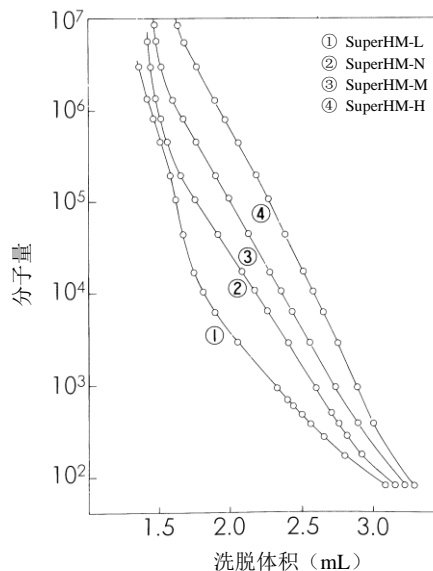


图 2 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱的校正曲线

色谱柱尺寸: 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

3. 基本特性

3-1 分离性能

如表 2 所示, TSK-GEL SuperH1000-SuperH5000、SuperHM-L、SuperHM-N、SuperHM-M、SuperHM-H 色谱柱中填料的粒径从 5 μm 降到了 3 μm 。相比于常规 TSK-GEL H_{HR} 系列色谱柱, 粒径减小会导致单位长度的理论塔板数翻倍。理论塔板数(柱效)与柱长成成正比。因此, 15 cm TSK-GEL SuperH 系列色谱柱仅需一半的分析时间即可实现 30 cm TSK-GEL H_{HR} 系列色谱柱相同的分离性能。

图 3 比较了使用 TSK-GEL SuperH3000 和 G3000H_{HR} 色谱柱分离环氧树脂时的色谱图。图 4 比较了使用 TSK-GEL SuperHM-H、GMH_{HR}-H 和 GMH_{XL} 色谱柱分离聚苯乙烯混合标准品时的色谱图。如图, 可以清楚地发现 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱仅需一半的分析时间即可实现常规 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 系列色谱柱的分离性能。

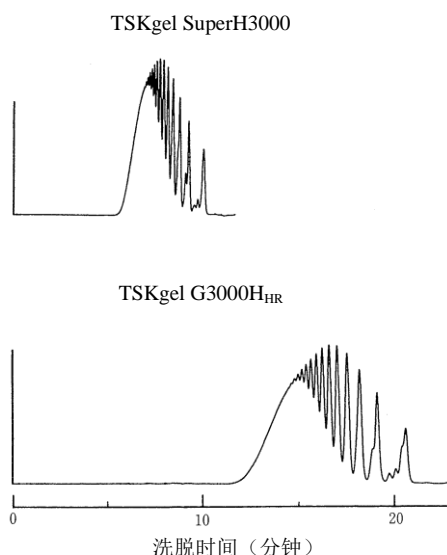


图 3 使用 TSKgel SuperH3000 和 TSK-GEL G3000H_{HR} 色谱柱分离环氧树脂

色谱柱: TSKgel SuperH3000, 6.0 mm ID x 15 cm x 2
TSKgel G3000H_{HR}, 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: THF

流速: TSKgel SuperH3000 (0.6 mL/min)
TSKgel G3000H_{HR} (1.0 mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 环氧树脂

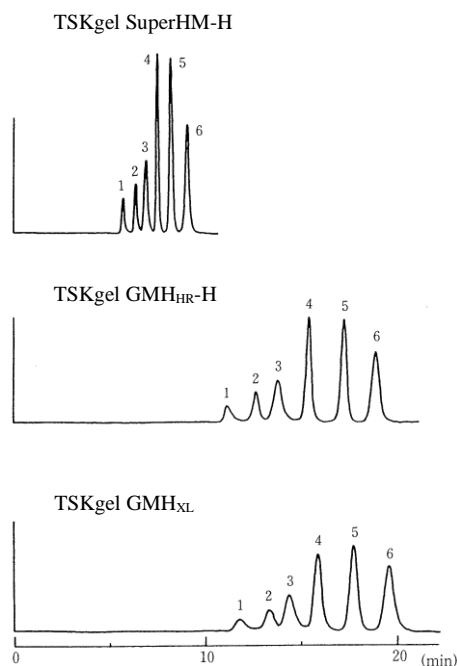


图 4 使用 TSK-GEL SuperHM-H 和常规色谱柱分离聚苯乙烯混合物

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6.0 mm ID x 15 cm x 2
TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: THF

流速: TSKgel SuperHM-H (0.6 mL/min)
TSKgel GMH_{HR}-H、GMH_{XL} (1.0 mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品

- | | |
|-----------------|-----------------|
| 1. MW 8,420,000 | 2. MW 1,260,000 |
| 3. MW 422,000 | 4. MW 107,000 |
| 5. MW 16,700 | 6. MW 2,800 |

3-2 柱效与流速的关系

3-2-1 分析低分子量样品时，HETP 对流速的依赖性

流速*对理论塔板的等效高度（HETP）的影响主要取决于填料粒径、样品类型、分子大小、溶剂类型、粘度和温度。

图 5 比较了使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱和使用常规色谱柱，分析邻苯二甲酸二环己酯（DCHP）样品时，HETP 对流速的依赖性，图 6 比较了使用 TSKgel SuperH2500（样品：DCHP）和使用 TSKgel G2500HXL 和 TSKgel G2500HHR（样品：苯）时，HETP 对流速的依赖性。

众所周知，随着填料粒径降低，HETP 对线速度的依赖性降低。在常规色谱柱中，HETP 在高流速区域（线速度 ≥ 0.045 cm/sec，流速 ≥ 1.2 mL/min 的区域）中对流速的依赖性非常高。但是，在 TSK-GEL SuperH 色谱柱中，由于填料粒径已经减小，HETP 对流速的依赖性很小。因此，在分析 DCHP 等低分子量样品时，可以通过增加流速（线速度：0.07 cm/sec，流速：1.2 mL/min）缩短分析时间，同时不会影响到峰的分度。

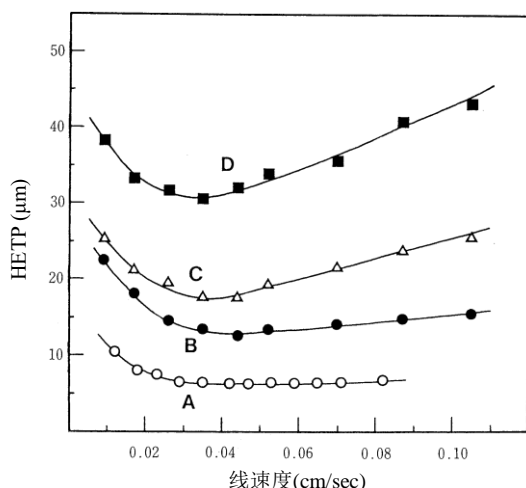


图 5 TSK-GEL SuperH 和常规色谱柱的 HETP 与流速之间的关系

色谱柱： A. TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
B. TSKgel GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm
C. TSKgel GMH_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm
D. TSKgel GMH_{HR}-H(S), 7.8 mm ID x 30 cm

流动相： THF
温度： 25 °C
检测器： UV@254 nm
样品： 邻苯二甲酸二环己酯(DCHP) (0.1%)
A: 3 μL; B、C、D: 20 μL

* 为了比较不同内径色谱柱的性能，可将流速转换为线速度。线速度等于小分子量化合物从色谱柱洗脱所需的时间 ($\langle v \rangle = L/t_R$ ，其中 L 是柱长 (cm)， t_R 是小分子量化合物的保留时间)。

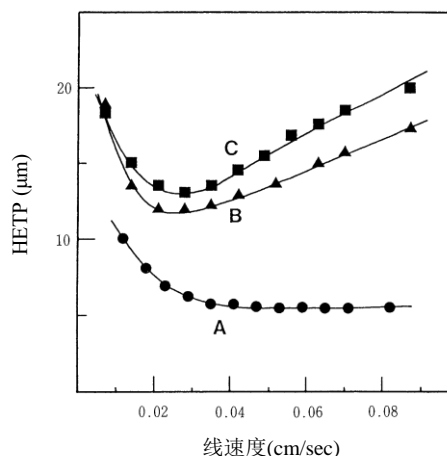


图 6 TSK-GEL SuperH 和常规色谱柱的 HETP 与流速之间的关系

色谱柱： A. TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm
B. TSKgel G2500H_{HR}, 7.8 mm ID x 30 cm
C. TSKgel G2500H_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相： THF
温度： 25 °C
检测器： UV@254 nm
样品： A: DCHP (0.1%), 3 μL
B、C: 苯(0.1%), 20 μL

图 7 所示为 TSKgel SuperH2500 和 G2500HXL 色谱柱的色谱图中，线速度与聚苯乙烯标准品 A-500 的分度度之间的关系。使用低分子量样品（如 A-500）时，TSKgel SuperH2500 色谱柱的分离性能基本上与流速无关，因为即使在高速区域它也能保持高分度度。另外，使用 TSKgel G2500HXL 色谱柱时，分离性能会随着流速的增加而降低。

3-2-2 分析聚合物样品时，HETP 对流速的依赖性

图 8 显示了使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱，分析聚苯乙烯标准品时的 HETP 对流速的依赖性。

使用低分子量样品时，在高速下未见 HETP 对流速具有依赖性。使用聚合物样品时，HETP 随流速增加而增加，证实 HETP 对流速具有依赖性。该影响随着分子量的增加而增大。

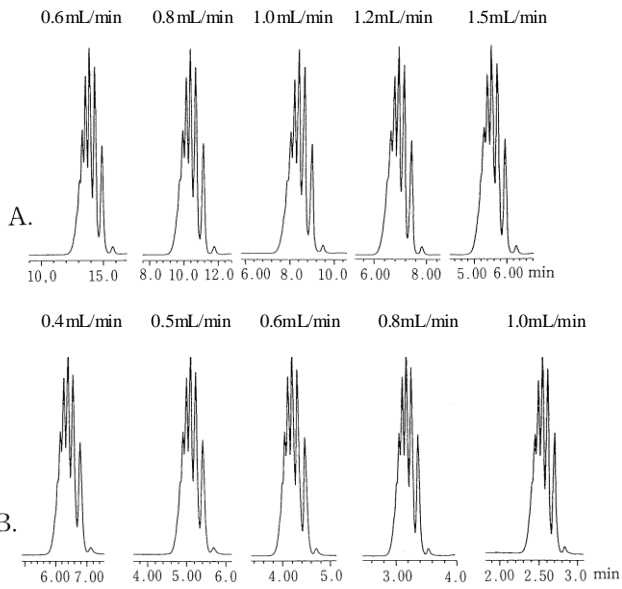


图 7 TSKgel SuperH2500 和 G2500HXL 色谱柱中聚苯乙烯标准品分离的流速依赖性

色谱柱: A. TSKgel G2500HXL, 7.8 mm ID x 30 cm
 B. TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品 A-500 (0.1%), 10 μ L

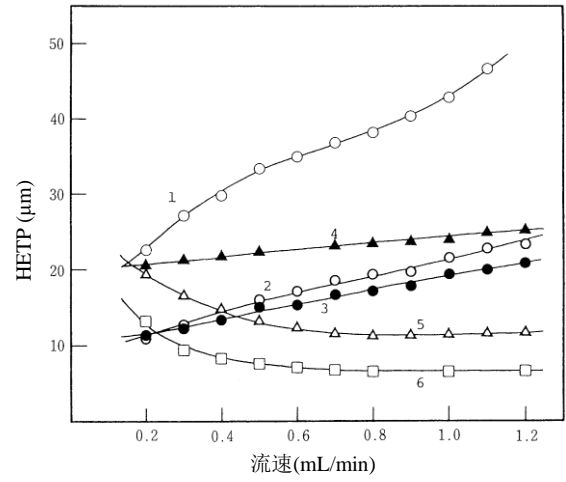


图 8 分析不同分子量样品时, TSKgel SuperHM-H 色谱柱的 HETP 与流速之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 温度: 25 °C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 1. MW 1,260,000 (○) 2. MW 107,000 (○)
 3. MW 16,700 (●) 4. MW 2,800 (▲)
 5. MW 500 (△) 6. DCHP (□)

图 9 所示为使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，流速和聚苯乙烯标准品的分离度之间的关系。分离度*显然依赖于流速，因为分离性能随流速的增加而降低。因此，当分析聚合物样品时，流速越低，分离性能越好。

图 10 所示为使用 TSK-GEL SuperH 色谱柱分析环氧树脂得到的色谱图中，分离度对流速的依赖性，而图 11 所示为使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分析聚苯乙烯标准品得到的色谱图中，分离度与流速的依赖关系。与常规 TSK-GEL HHR 和 HXL 系列色谱柱相比，TSK-GEL SuperH 色谱柱的分离性能对流速的依赖性很小，能够实现高流速分析。但是，使用该色谱柱分析聚合物样品时，如果流速较低，能够达到的分离性能更好。

因此，使用 TSK-GEL SuperH 系列分析聚合物样品时，流速应设置在 0.3 到 0.6 mL/min 之间（对于常规 TSK-GEL HHR 和 HXL 系列色谱柱应在 0.5 到 1.0 mL/min 之间），分析低聚物和低分子量样品时，最佳流速应设置在约 0.6 mL/min。

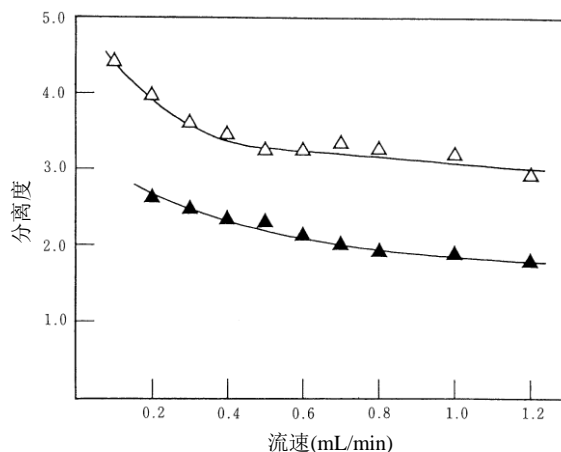


图 9 使用 TSK-GEL SuperHM-H 色谱柱分析聚苯乙烯标准品时，流速与分离度之间的关系

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相： THF

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： 聚苯乙烯标准品

分离性能： △: F-550 (0.02%)/F-80 (0.022%)

▲: F-40 (0.035%)/F-10 (0.05%)

F-550 (MW: 5,480,000)

F-80 (MW: 706,000)

F-40 (MW: 422,000)

F-10 (MW: 107,000)

* 提示，“分离度”等于两个相邻峰的保留时间之差与其标准偏差之和的比值。

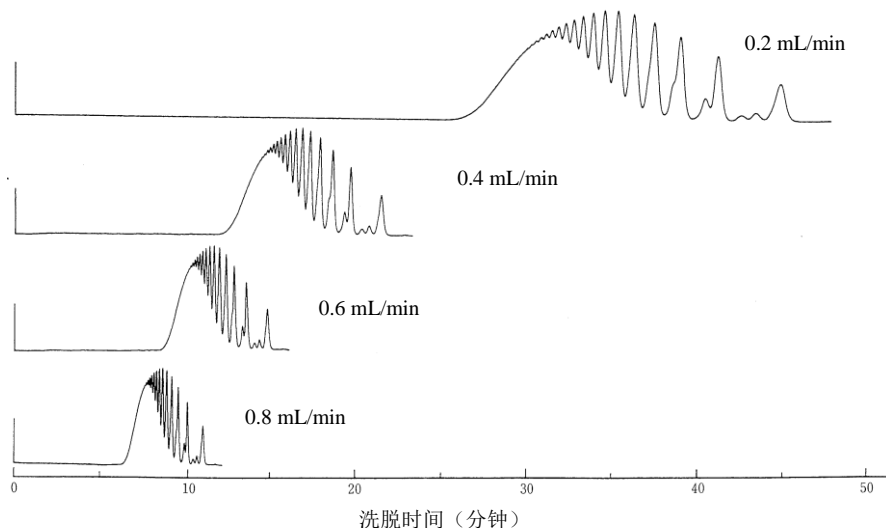


图 10 使用 TSK-GEL SuperH 色谱柱分析环氧树脂时，流速与分离度之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperH3000 x 2 + TSKgel SuperH2500,
6 mm ID x 15 cm x 3
流动相: THF
温度: 25°C
检测器: UV@254 nm
样品: Epikote 1004 (0.1%), 10 μ L

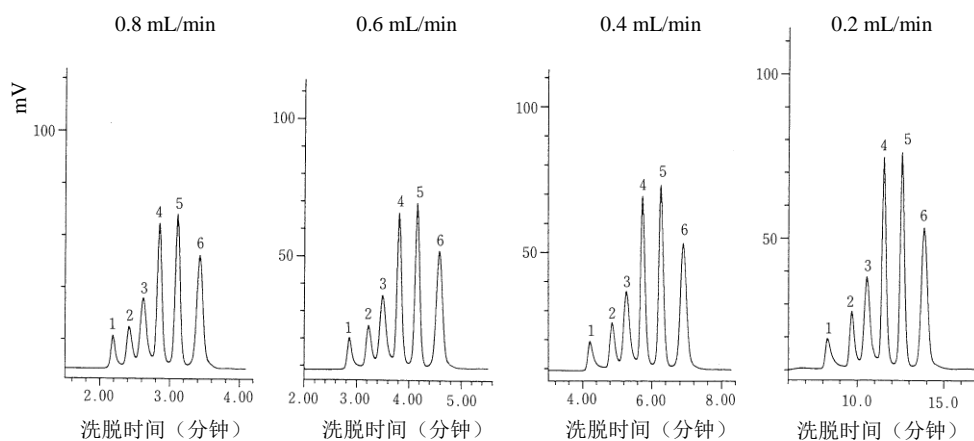


图 11 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分析聚苯乙烯标准品时，流速对分离度的影响

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
流动相: THF
温度: 25°C
检测器: UV@254 nm
样品: 聚苯乙烯标准品

- | | |
|-----------------|-----------------|
| 1. MW 8,420,000 | 2. MW 1,260,000 |
| 3. MW 422,000 | 4. MW 107,000 |
| 5. MW 16,700 | 6. MW 2,800 |

3-3 峰检测灵敏度

TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的尺寸从 7.8 mm ID x 30 cm 减小到 6.0 mm ID x 15 cm 后, 造就了具有超高性能的半微量色谱柱。因此, 相比于常规 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 系列色谱柱, 进样体积相同时, 从 TSK-GEL SuperH 色谱柱洗脱的峰的峰体积更小, 表明检测灵敏度更高。

图 12 所示为 TSK-GEL SuperH2500 和 G2500H_{XL} 色谱柱中, 聚苯乙烯标准品 A-500 的峰高与进样体积之间的关系。图 13 所示为使用 TSK-GEL SuperHM-H 和 GMH_{HR}-H 色谱柱时, 聚苯乙烯的峰高和进样体积之间的关系。

图 14 比较了使用 TSK-GEL SuperH2500 和 G2500H_{XL} 色谱柱得到的聚苯乙烯标准品 A-500 的分离色谱图。图 15 和图 16 比较了使用 TSK-GEL SuperHM-H、GMH_{HR}-H 和 GMH_{XL} 色谱柱时, 聚苯乙烯混合物标准品和市售聚苯乙烯的色谱图。

从这些图中可以清楚地发现, 其检测灵敏度相对于常规色谱柱提高了 3 到 4 倍。当然, 必须注意防止较细 (6 vs. 7.8 mm ID) 和较短的 (15 vs. 30 cm) TSK-GEL SuperH 色谱柱过载。质量或体积过载会导致峰变宽, 分离度降低。避免过载最简单的方法是, 相对于常规色谱柱使用的进样量, 将样品体积和质量降低 3~4 倍。

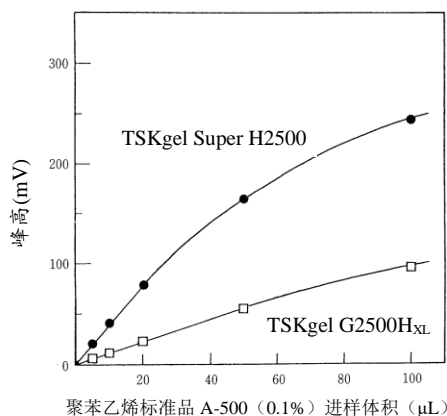


图 12 使用 TSKgel SuperH2500 和 G2500H_{XL} 色谱柱时, 聚苯乙烯的峰高与进样体积的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6.0 mm ID x 15 cm x 2

TSKgel G2500H_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: THF

流速: TSKgel SuperH2500 (0.6 mL/min)

TSKgel G2500H_{XL} (1.0 mL/min)

样品: 聚苯乙烯标准品 A-500

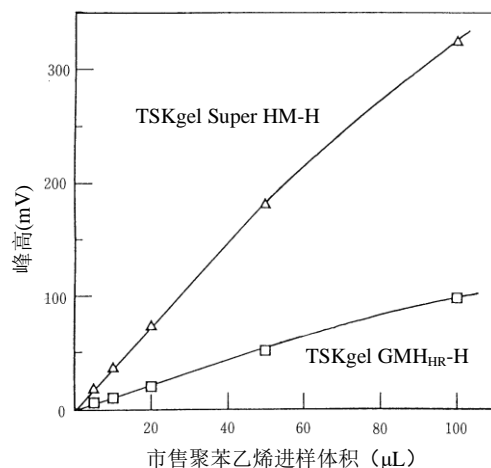


图 13 使用 TSKgel SuperHM-H 和 GMH_{HR} 色谱柱时, 聚苯乙烯的峰高与进样体积的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6.0 mm ID x 15 cm x 2

GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: THF

流速: TSKgel SuperHM-H (0.6 mL/min)

TSKgel GMH_{HR}-H (1.0 mL/min)

样品: 市售聚苯乙烯(0.5%)

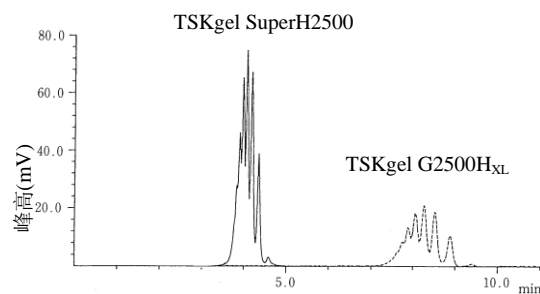


图 14 TSKgel SuperH2500 和 G2500H_{XL} 色谱柱中, 聚苯乙烯标准品 (A-500) 的峰高比较

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm

TSKgel G2500H_{XL}, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流速: TSKgel SuperH2500 (0.6 mL/min)

TSKgel G2500H_{XL} (1.0 mL/min)

温度: 25 °C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品(A-500), 0.1%, 10 μL

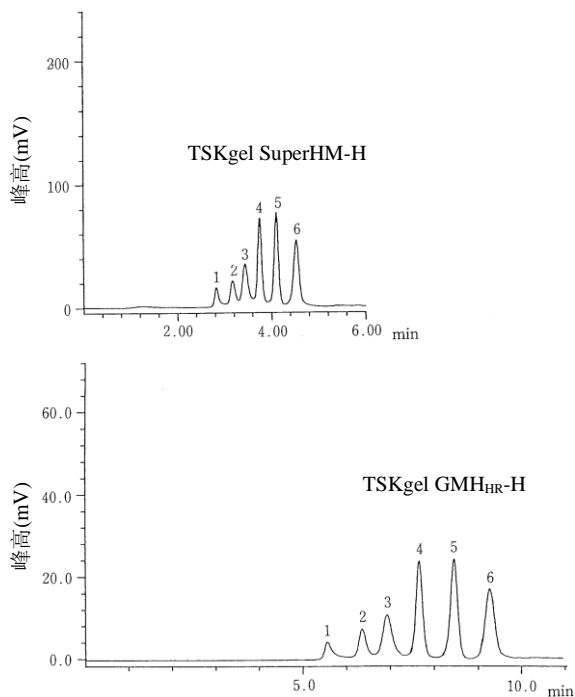


图 15 使用 TSKgel SuperHM-H 和 GMH_{HR}-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
TSKgel GMH_{HR}-H, 7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流速: TSKgel SuperHM-H (0.6 mL/min)
TSKgel GMH_{HR}-H (1.0 mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品, 10 μL
1. MW 8,420,000 (0.02%)
2. MW 1,260,000 (0.035%)
3. MW 422,000 (0.06%)
4. MW 107,000 (0.09%)
5. MW 16,700 (0.1%)
6. MW 2,800 (0.1%)

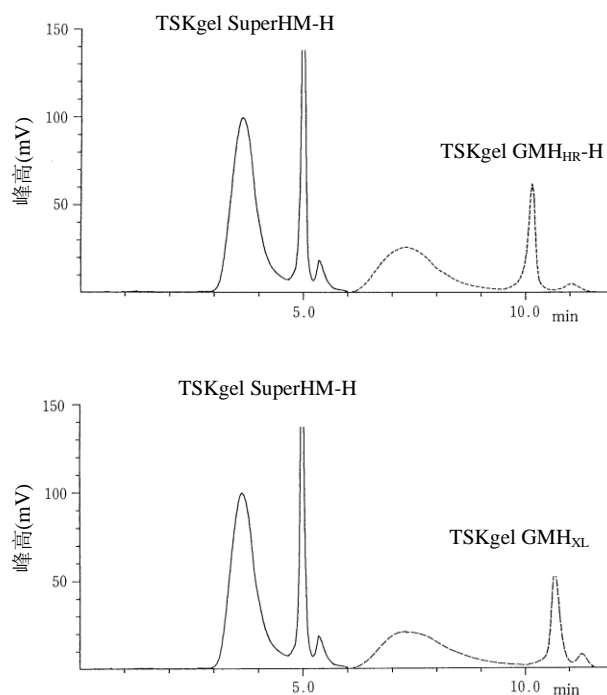


图 16 使用 TSKgel SuperHM-H 和常规色谱柱时, 市售聚苯乙烯的峰高比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
TSKgel GMH_{HR}-H, TSKgel GMH_{XL},
7.8 mm ID x 30 cm

流动相: THF

流速: TSKgel SuperHM-H (0.6 mL/min)

TSKgel GMH_{HR}-H, TSKgel GMH_{XL} (1.0 mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 市售聚苯乙烯 (0.25%), 20 μL

3-4 溶剂兼容性

由于 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱装填了化学成分相同的颗粒, 尽管粒径低于 TSK-GEL H_{HR} 系列所用的颗粒, 预计其填料在不同溶剂中的收缩和溶胀特性与 TSK-GEL H_{HR} 系列色谱柱等同。

表 3 比较了 TSK-GEL SuperH2000、G2000H_{HR} 和 G2000H_{XL} 色谱柱使用各种有机溶剂时, 收缩和溶胀的特性。根据此数据可以发现, 溶剂几乎可以从初始灌装溶剂 (THF) 转换为表 4 中的任何有机溶剂。

表 3 TSK-GEL SuperH2000、G2000H_{HR} 和 G2000H_{XL} 色谱柱的收缩和溶胀性能比较

溶剂	收缩/溶胀		
	SuperH2000	G2000H _{HR}	G2000H _{XL}
甲苯	1.00	1.01	1.06
苯	1.01	1.00	ND
THF	1.00	1.00	1.00
二甲基甲酰胺 (DMF)	1.00	0.99	0.86
丙酮	0.99	0.99	0.86
甲醇(MeOH)	0.98	0.98	0.67
THF/水 = 1/1	0.97	0.98	ND
甲醇/水 = 1/1	0.92	0.93	ND
水	0.85	0.86	0.52

* 转换为不同有机溶剂时，相对于 THF 中的体积 (1.00) 发生收缩/溶胀后的体积。

表 4 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱可替换的溶剂

甲苯、二甲苯、氯仿 (CHCl₃)、苯、二氯甲烷、二氯乙烷、二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲基亚砷 (DMSO)、二恶烷、N-甲基吡咯烷酮 (NMP)、间甲酚/CHCl₃、喹啉、甲乙酮 (MEK)、邻二氯苯 (ODCB)、三氯苯 (TCB)、六氟异丙醇 (HFIP)、HFIP/CHCl₃、邻氯苯酚 (OCP)、OCP/CHCl₃、吡啶、四氯化碳、乙酸乙酯、甲醇 (MeOH)、MeOH/CHCl₃、THF/MeOH、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 17 所示为当 TSK-GEL SuperH 色谱柱 (TSKgel SuperH2000、SuperH3000 和 SuperHM-H) 中的溶剂直接从 THF 转换为有机溶剂 (从甲苯到乙醇) 时, 所产生的变化, 具体表现为溶剂转换后与转换前, 在 THF 中测得的理论塔板数之比。在该测试中, 我们直接从 THF 向多种有机溶剂之一执行了转换。新溶剂在色谱柱中放置一周后, 重新转换回 THF, 然后再次转换为新的有机溶剂。使用该测试方法将溶剂连续转换为各种其他有机溶剂时, 我们记录了该过程中色谱柱填料特性 (柱效) 的变化情况。

结果显示, 转换为其他有机溶剂后, 各个 TSK-GEL SuperH 色谱柱的理论塔板数均无变化, 表明 TSK-GEL SuperH 的填料非常稳定、坚固, 具有与 TSK-GEL HHR 系列色谱柱填料相同的优异性能, 完全能够承受住溶剂之间的转换。

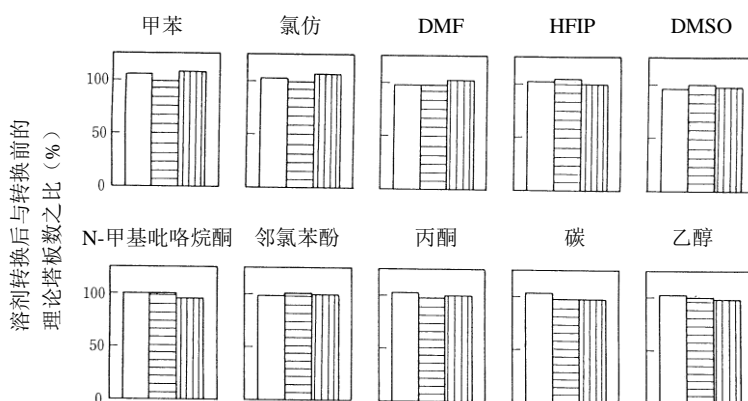


图 17 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的溶剂兼容性

<溶剂转换条件>

转换为测试溶剂时的流速: 0.2 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持续的时间: 16 小时

测试溶剂的保持时间: 1 周

从测试溶剂转换为 THF 时, 所用的流速、温度和时间: 0.2 mL/min、25°C 和 8 小时

<测量理论塔板数的条件>

流动相: THF 流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C 检测器: UV@254 nm

样品: DCHP (0.1%), 2 μ L

TSKgel SuperH2000: □

TSKgel SuperH3000: ▨

TSKgel SuperHM-H: ▩

图 18 比较了使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱与各种有机溶剂 (THF、CHCl₃、DMF 和 CCl₄) 分离聚苯乙烯混合物标准品时的色谱图, 图 19 比较了使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱与各种有机溶剂分离聚苯乙烯混合物标准品时的色谱图。

使用 DMF 作为流动相²时, 由于填料与聚苯乙烯标准品之间的相互作用, 导致聚苯乙烯标准品的洗脱体积高于使用“良性”溶剂 (如 THF 和 CHCl₃) 时的洗脱体积。使用 TSKgel SuperH2500 (一种用于分析低分子量样品的色谱柱) 时, 这种效果尤其明显。此时, 建议使用与填料作用极小的聚环氧乙烷 (PEO) 作为标准样品。

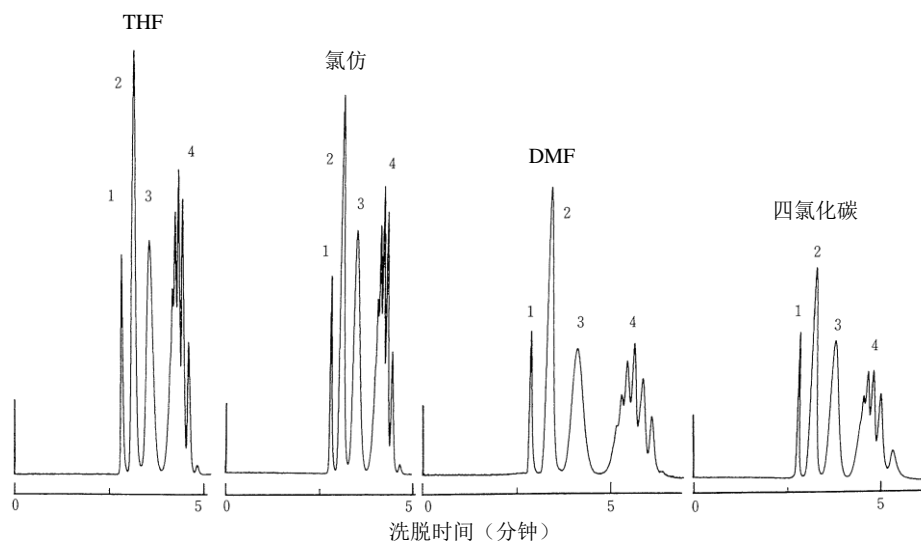


图 18 使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱和不同溶剂，对聚苯乙烯标准品分离的比较

色谱柱: 6.0 mm ID x 15 cm
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm 或 270 nm
 样品: 1. MW 190,000
 2. MW 9,100
 3. MW 2,800
 4. A-500

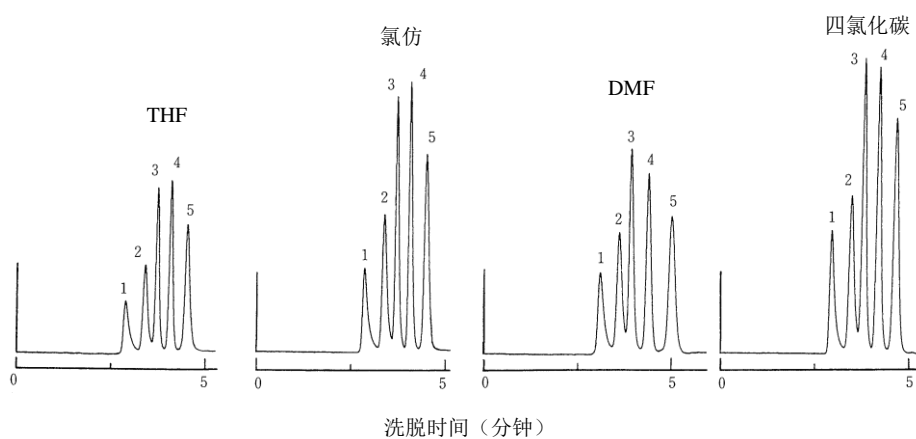


图 19 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱和不同溶剂，对聚苯乙烯标准品分离的比较

色谱柱: 6.0 mm ID x 15 cm
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm 或 270 nm
 样品: 1. MW 2,890,000 2. MW 422,000
 3. MW 107,000 4. MW 16,700
 5. MW 2,800

3-5 样品负载

分析条件包括某些能够发挥出半微量色谱柱（典型的半微量色谱柱如 TSK-GEL SuperH 系列）最大性能的因素，其中最重要的条件是样品负载（样品进样体积和样品浓度）。与在其他色谱模式中一样，分析员总会试图通过控制进样的体积或质量，在色谱柱的灵敏度需求与样品过载之间寻求平衡。

样品负载主要取决于样品的分子量和类型、流动相、流速、温度、色谱柱尺寸以及填料的粒径。特别是，样品的粘度和分子量增加时，样品负载随之降低，而在高性能色谱柱中，样品负载随着粒径的增加而降低。因此，分析分子量分布时，要想实现超高的分离度和良好的重复性，重要的是要充分了解所用色谱柱的样品负载。

3-5-1 样品浓度

图 20 所示为使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，各种聚苯乙烯标准品的样品浓度、样品负载与 HETP 之间的关系。图 21 所示为各种聚苯乙烯标准品的样品浓度、样品负载与洗脱体积之间的关系。使用的聚苯乙烯标准品不同，最大样品浓度和样品负载会有所不同。样品分子量增加时，HETP 和洗脱体积对样品浓度和样品负载的依赖性将随之增加。表 5 所示为基于图 20 和 21 中的结果，各种聚苯乙烯标准品的最大样品浓度和最大样品负载。

表 5 TSK-GEL SuperH 色谱柱的最大样品浓度和样品负载

分子量	最大样品浓度	最大样品负载
	(%)	(μg)
~10,000	2.0	200
10,000~50,000	1.0	100
50,000~200,000	0.2	20
200,000~500,000	0.1	10
500,000~1,000,000	0.05	5
1,000,000~5,000,000	0.02	2
>5,000,000	0.01	1

色谱柱： 6.0 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 0.6 mL/min

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： 聚苯乙烯标准品，10 μL

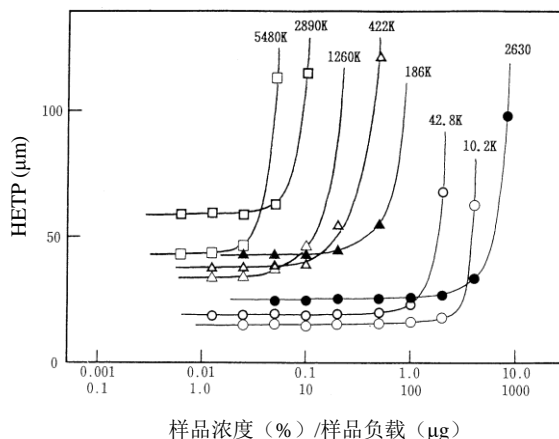


图 20 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品的样品浓度（样品负载）与 HETP 之间的关系

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 0.6 mL/min

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： 聚苯乙烯标准品，10 μL

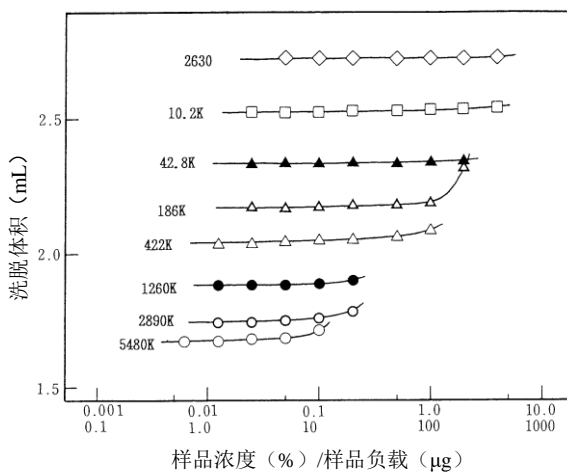


图 21 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品的样品浓度（样品负载）与洗脱体积之间的关系

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 0.6 mL/min

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： 聚苯乙烯标准品，10 μL

3-5-2 样品进样体积

图 22 所示为使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时, 各种聚苯乙烯标准品的样品进样体积、样品负载与 HETP 之间的关系, 图 23 所示为各种聚苯乙烯标准品的样品进样体积、样品负载与洗脱体积之间的关系。HETP 和洗脱体积对样品浓度和样品负载的依赖性随着进样体积的增加而增加。但是, 与样品浓度不同, 样品进样体积和分子量之间基本上没有相关性, 且最大进样体积为 20 μL (2 μg)。

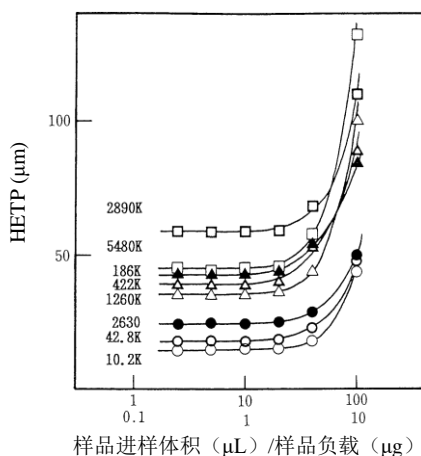


图 22 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品的进样体积 (样品负载) 与 HETP 之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 样品浓度: 0.01%

此外, 该色谱柱中的最大进样体积基本上与分子量无关, 因为进样体积达到 20 μL (2 μg) 后, HETP 将在很大程度上取决于进样体积。增加样品负载的一种常规方法是, 增加样品进样体积, 同时降低样品浓度^{3,4}。但是, 增加 TSK-GEL SuperH 色谱柱最大样品负载的最佳方法是, 降低样品进样体积 ($\leq 10 \mu\text{L}$), 同时提高样品浓度至最大浓度 (最大浓度值见表 5)。

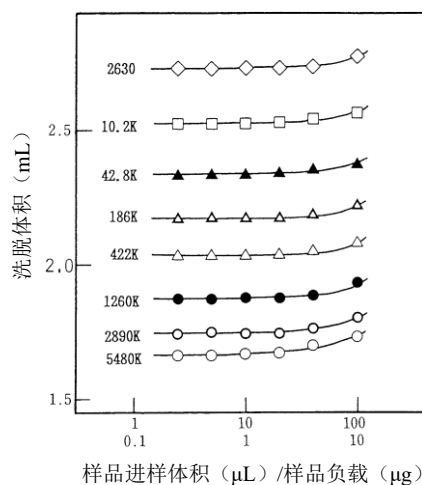


图 23 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品的进样体积 (样品负载) 与洗脱体积之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 样品浓度: 0.01%

图 24 所示为串联使用 1 到 4 根 TSK-GEL SuperHM-H 色谱柱时, 聚苯乙烯标准品 (分子量为 8,420,000 和 1,260,000) 的进样体积和分离性能之间的关系。显然, 色谱柱数量增加时, 进样体积对分离性能的影响随之降低。

图 25 至 27 所示为串联使用 1、2、4 根 TSK-GEL SuperHM-H 色谱柱得到的色谱图中, 聚苯乙烯混合物标准品的分离性能与进样体积之间的依赖关系。

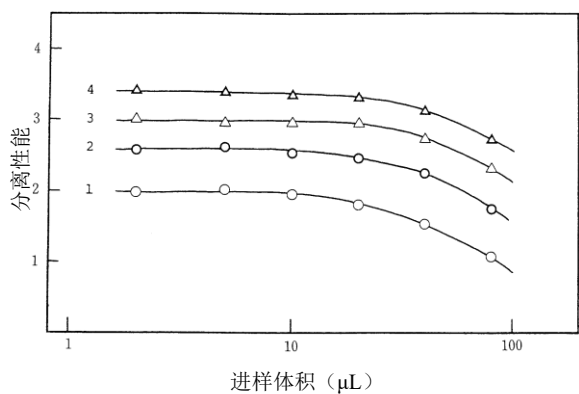


图 24 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品的分离性能与样品负载之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H
 6 mm ID x 15 cm (○)
 6 mm ID x 15 cm x 2 (○)
 6 mm ID x 15 cm x 3 (△)
 6 mm ID x 15 cm x 4 (△)

流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品
 MW 8,420,000 (0.02%)
 MW 1,260,000 (0.035%)

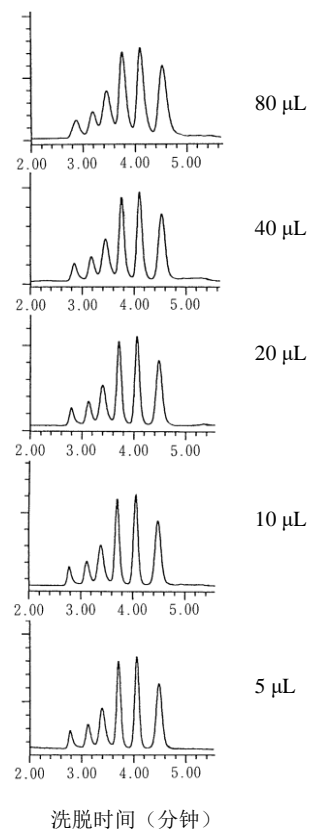


图 25 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时，样品负载的影响

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯混合物标准品

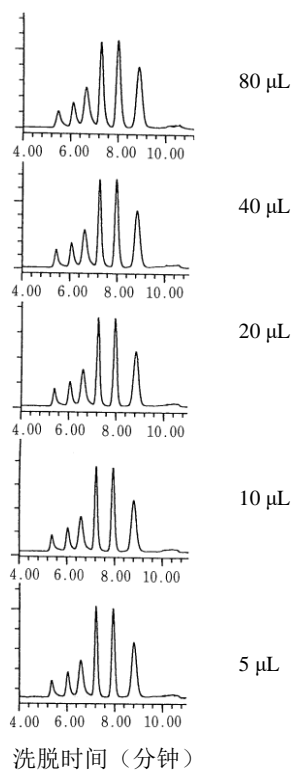


图 26 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时，样品负载的影响

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm x 2
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯混合物标准品

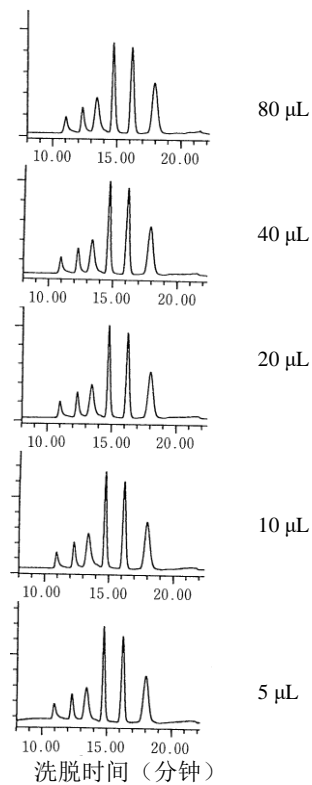


图 27 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时，样品负载的影响

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm x 4
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯混合物标准品

3-6 剪切降解

剪切降解比较常见，特别是在分析超高分子量的样品、使用超小颗粒组成的填料、以及在高流速下运行时比较容易见到。⁵

图 28 所示为 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中，聚苯乙烯标准品 F-2000 (MW: 20,600,000) 的剪切降解对流速的依赖性。使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，所有流速下均会观察到剪切降解，且无法正常进行洗脱。

因此，如需对超高分子量的样品（如 F-2000）执行常规 GPC 分析，建议使用 TSKgel GMH_{HR}-H (S) 色谱柱（粒径：13 μm），同时流速不可高于 0.8 mL/min。如图 29 所示。

图 30 所示为 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中聚苯乙烯标准品 F-850 (MW: 8,420,000) 的剪切降解对流速的依赖性，图 31 所示为 TSKgel SuperHM-H 色谱柱中不同聚苯乙烯标准品的洗脱体积对流速的依赖性。在 0.6 mL/min 或更低的流速下，可以正常分析聚苯乙烯标准品 F-850，但是，如果流速等于或高于 0.8 mL/min，则会发生剪切降解。

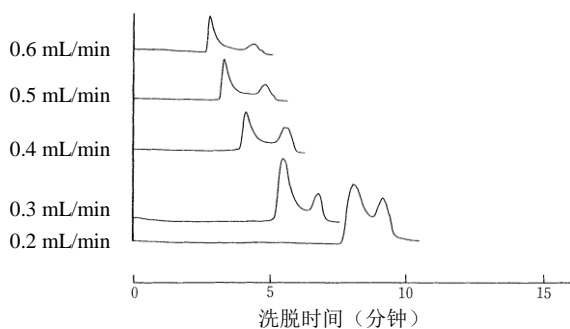


图 28 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，剪切降解对流速的依赖性

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
流动相： THF
温度： 25°C
检测器： UV@254 nm
样品： 聚苯乙烯标准品
F-2000 (MW 20,600,000, 0.015%)

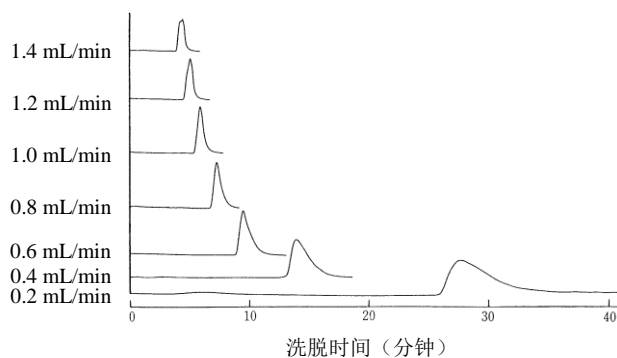


图 29 使用 TSKgel GMH_{HR}-H (S) 色谱柱时，剪切降解对流速的依赖性

色谱柱： TSKgel GMH_{HR}-H (S), 7.8 mm ID x 30 cm
流动相： THF
温度： 25°C
检测器： UV@254 nm
样品： 聚苯乙烯标准品
F-2000 (MW 20,600,000, 0.015%)

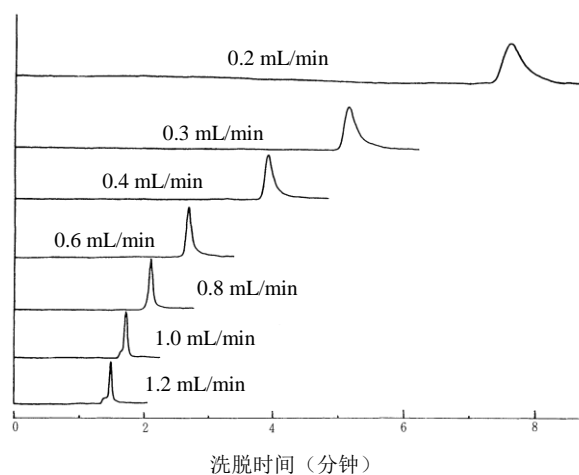


图 30 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，聚苯乙烯标准品 (F-850) 的剪切降解对流速的依赖性

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
流动相： THF
温度： 25°C
检测器： UV@254 nm
样品： 聚苯乙烯标准品 F-850 (0.01%), 10 μL

图 32 比较了使用 TSK-GEL SuperHM-H、SuperHM-M 和 SuperHM-N 色谱柱分离聚合物标准品 F-850 (分子量: 8,420,000) 时的剪切降解。显而易见, 剪切降解取决于孔径, 孔径越小影响越强。使用 TSKgel SuperHM-N 色谱柱时, 影响最强。因此, 使用 TSK-GEL SuperHM-M 和 SuperHM-N 等级的色谱柱时, 需慎重考虑潜在的剪切降解的影响 (请参见表 8)。

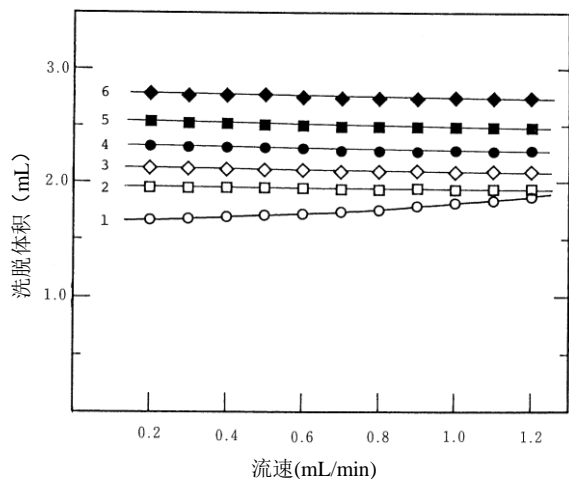


图 31 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时, 洗脱体积与流速之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品

1. MW 8,420,000 (F-850, ○)
2. MW 1,260,000 (F-128, □)
3. MW 422,000 (F-40, ◇)
4. MW 107,000 (F-10, ●)
5. MW 16,700 (F-2, ■)
6. MW 2,800 (A-2500, ◆)

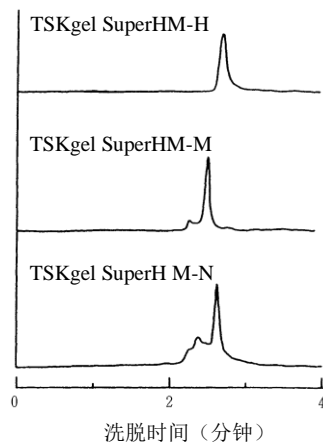


图 32 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱分离聚苯乙烯标准品 F-850 时, 剪切降解的比较

色谱柱尺寸: 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 聚苯乙烯标准品 F-850 (0.01%), 10 μL

3-7 柱温

高温条件下进行分析具有以下优点：

- (1) 峰变得尖锐，分离性能提高。较高流速条件下尤其明显。
- (2) 样品洗脱体积减少，分析时间缩短。
- (3) 流动相粘度降低，运行压力减少。使用高粘度溶剂（如 DMSO、DMF、HFIP 等）时，该方法特别有效。

图 33 和 34 展示了使用 TSK-GEL SuperH 色谱柱分离环氧树脂和聚苯乙烯混合物标准品时的温度依赖性。

图 35 所示为使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱，在不同流速下，分离聚苯乙烯标准品时的温度依赖性。此外，尽管样品在 0.8 mL/min 或更高的流速下会发生剪切降解（参见 3-6），但随着温度的升高，剪切降解发生的概率也变得更低了。

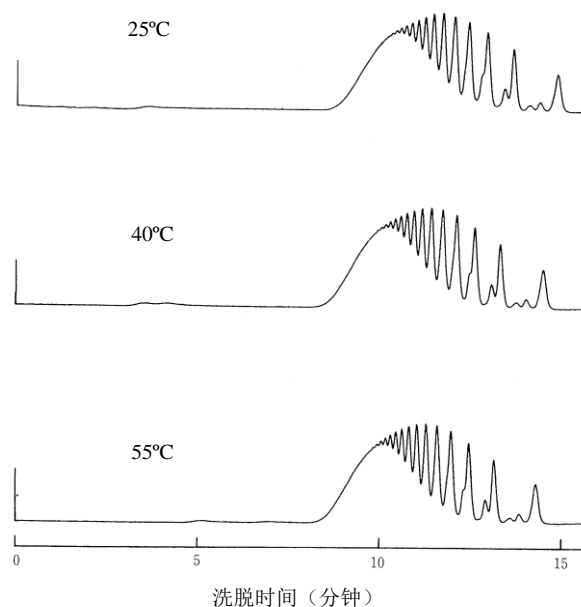


图 33 使用 TSK-GEL SuperH 色谱柱分离环氧树脂时的温度依赖性

色谱柱： TSKgel SuperH3000 x 2 + TSKgel SuperH2500
6 mm ID x 15 cm x 3
流动相： THF
流速： 0.6 mL/min
检测器： UV (254 nm)
样品： Epikote 1004 (0.01%), 10 μ L

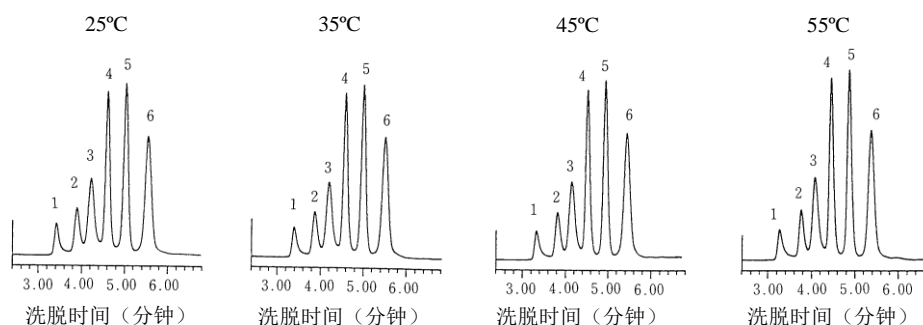


图 34 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时的温度依赖性

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
流动相： THF
流速： 0.5 mL/min
检测器： UV@254 nm
样品： 聚苯乙烯标准品
1. MW 8,420,000 2. MW 1,260,000
3. MW 422,000 4. MW 107,000
5. MW 16,700 6. MW 2,800

3-8 硬件（系统）的优化

如上所述，为了充分发挥色谱柱的最佳性能，优化分析条件（包括溶剂和软件）非常重要。使用 TSK-GEL SuperH 等高性能色谱柱时，除了优化这些条件外，重要的是将流出色谱柱的样品峰的展宽降至最低。特别是对于高效色谱柱，抑制检测器、进样器和管路中的谱带展宽效应极为重要。

MacDonald⁶ 使用以下等式表示在实际 GPC 分析中检测到的样品的谱带展宽效应：

$$\omega t^2 = \omega i^2 + \omega a^2 + \omega j^2 + \omega f^2 + \omega c^2$$

其中 ωt^2 = 总谱带展宽； ωi^2 = 进样器中的展宽； ωa^2 = 进样器和色谱柱入口之间以及色谱柱出口和检测器入口之间的展宽； ωj^2 = 色谱柱之间连接管路中的展宽； ωf^2 = 流通池（检测器）中的展宽； ωc^2 = 色谱柱内的展宽。

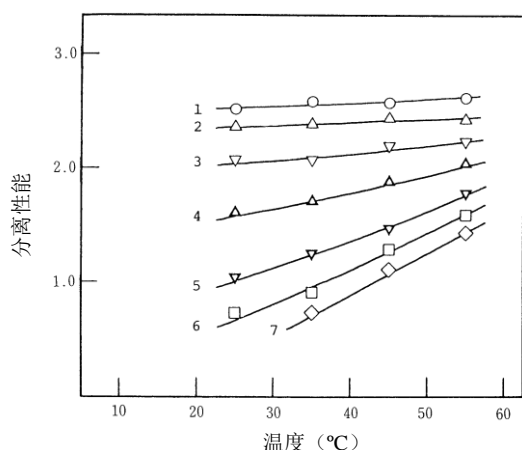


图 35 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，不同流速下，分离性能与温度之间的关系

色谱柱： TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 1. 0.2 mL/min 2. 0.4 mL/min
3. 0.6 mL/min 4. 0.8 mL/min
5. 1.0 mL/min 6. 1.1 mL/min
7. 1.2 mL/min

温度： 25°C-55°C

检测器： UV@254 nm

样品： 聚苯乙烯标准品 0.02%，10 μL
MW 8,420,000 和 MW 1,260,000

通过该方程式可以清晰地得出，尽管柱内发生了谱带展宽效应，但总的峰体积依然会受到柱外效应的显著影响。

3-8-1 检测器中的谱带展宽效应

表 6 比较了使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱和各类型 UV 检测器及不同流通池体积时，低分子量样品（DCHP）的理论塔板数。图 36 比较了使用聚苯乙烯标准品 A-500 和环氧树脂样品时，各色谱柱的分离性能。根据得到的结果，显而易见，TSKgel SuperH 色谱柱的理论塔板数和分离性能受到了检测器中的谱带展宽效应以及流通池大小的显著影响。使用 TSKgel SuperH 色谱柱进行分析时，必须使用死体积降低后的 UV-8020（微型流通池）或等效设备作为检测器。

表 6 使用不同检测器时的理论塔板数比较

理论塔板数 (TP/15 cm)		
UV-8020 ^{*1}	UV-8010 ^{*2}	UV-8010 ^{*3}
28,100	23,860	17,890

色谱柱： TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 0.6 mL/min

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： DCHP 0.1%，2 μL

^{*1} 流通池体积： 2 μL 微型流通池

^{*2} 流通池体积： 10 μL 低死体积型

^{*3} 流通池体积： 10 μL

表 7 比较了使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱时，UV 检测器（配备 UV-8020 微型流通池）在不同响应速度下的理论塔板数。响应时间较慢时，相比设置为“快”时，理论塔板数降至一半以下。因此，在使用 TSK-GEL SuperH 色谱柱进行分析时，可以通过将时间常数设置为“快”，充分发挥其最佳性能。

表 7 检测器时间常数对 TSKgel SuperH2500 理论塔板数的影响

理论塔板数 (N)		
时间常数 (响应)		
快	标准	慢
28,100	21,960	12,400

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV-8020(微型流通池), 254 nm
 样品: DCHP (0.1%), 2 μ L

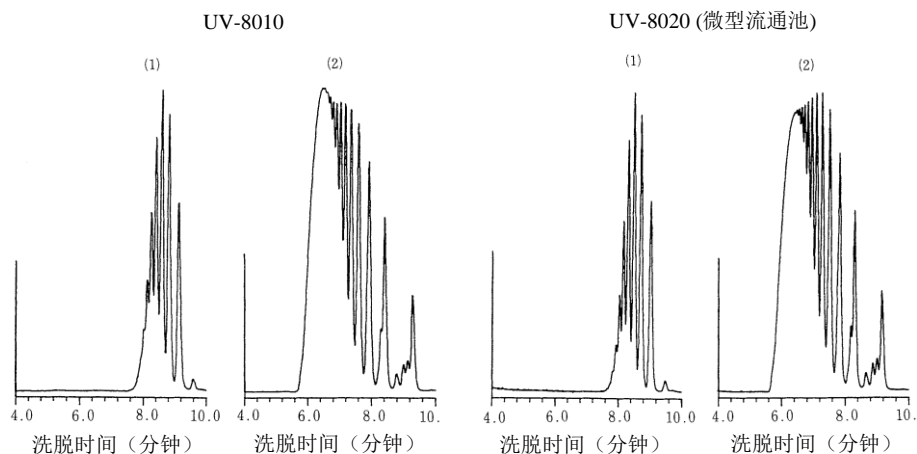


图 36 TSKgel SuperH2500 色谱柱中分离性能对检测器中谱带展宽效应的依赖性

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm x 2
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: (1) 聚苯乙烯标准品 A-500 (0.1%), 10 μ L
 (2) Epikote 1004 (0.1%), 10 μ L

3-8-2 色谱柱入口和出口管路中的谱带展宽效应

根据 Scott⁷ 的理论, 连接管路中发生的样品的谱带展宽作用 (σ_i^2) 可以用以下公式表示:

$$\sigma_i^2 = \frac{d^4 FL}{24Dm}$$

其中, d = 管路内径 (cm); F = 流速 (mL/s); L = 管路长度 (cm); Dm = 样品在流动相中的扩散系数 (cm^2/s)。

显而易见, 从该公式可以得出, 谱带展宽效应取决于连接管路的内径和长度。尤其是管路内径越大, 样品谱带展宽效应越明显。

使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱时, 图 37 所示为进样器和色谱柱入口之间连接管路 (内径 0.2 mm) 的长度对理论塔板数的影响。图 38 所示为色谱柱出口和检测器之间连接管路 (内径 0.2 mm) 的长度对理论塔板数的影响。

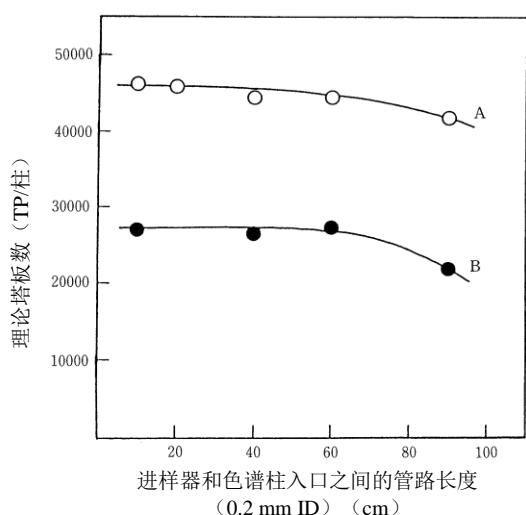


图 37 理论塔板数与色谱柱入口管路长度之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500

A. 6 mm ID x 15 cm x 2 B. 6 mm ID x 15 cm

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm, UV-8020 (微型流通池)

样品: DCHP (0.1%), 10 μL

此外, 图 39 所示为进样器和色谱柱入口之间, 使用不同内径的连接管路时, 其长度对理论塔板数的影响。

使用内径为 0.2 mm 的管路时, 只有当进样器与色谱柱入口之间或色谱柱出口与检测器之间的管路长度超过 60 cm 时, 理论塔板数才会受到影响。使用内径为 0.1 mm 的管路时, 长度在 80 cm 以下时, 不会导致理论塔板数降低。但是, 如果将管路内径增加到 0.3 mm, 则会显著影响色谱柱的性能, 不建议使用长度为 20 cm 及以上的管路。

因此, 尽管连接管路越窄、越短越好, 但考虑到实际应用, 推荐使用的管路规格为 0.2 mm ID x 40 到 50 cm。

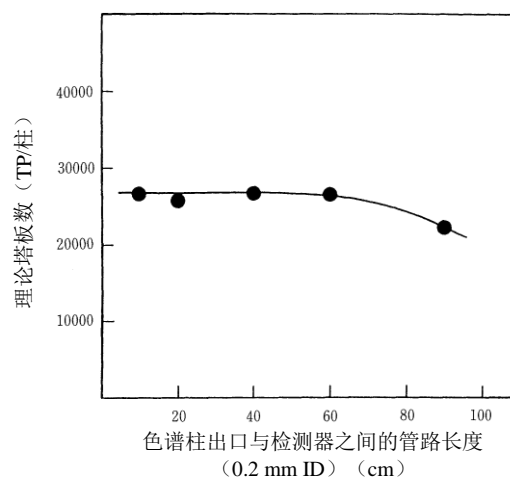


图 38 理论塔板数与色谱柱出口管路长度之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm, UV-8020 (微型流通池)

样品: DCHP (0.1%), 10 μL

3-8-3 色谱柱之间连接管路中的谱带展宽效应

图 40 所示为使用两根 TSKgel SuperH2500 色谱柱时，连接管路的尺寸对理论塔板数的影响。通常，色谱柱之间的连接管路的长度应当在 10 cm 左右，如果管路内径为 0.1 或 0.2 mm，则在此长度下色谱柱的性能不会受到影响。但是，如果内径为 0.3 mm，即使管路长度为 10 cm，色谱柱的性能也会下降。

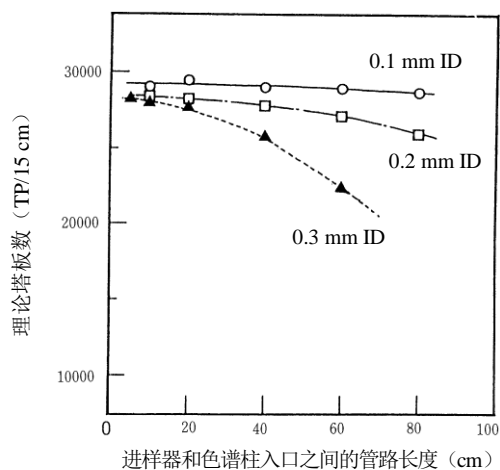


图 39 理论塔板数与色谱柱入口管路的内径和长度之间的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm
流动相: THF
流速: 0.6 mL/min
温度: 25°C
检测器: UV@254 nm, UV-8020 (微型流通池)
样品: DCHP (0.1%), 2 μ L

3-8-4 其他连接件中的谱带展宽效应

除了上文第 3-8-1 至 3-8-3 节中讨论的原因外，以下原因也会导致样品出现谱带展宽效应：

- (1) 管路接头（连接接头）处的谱带展宽效应。
- (2) 各连接件之间的间隙（死体积）导致的谱带展宽效应。
- (3) 管路末端的加工缺陷导致的谱带展宽效应。

因此，如上所述，必须最小化柱外的扩散效应，才能充分发挥高性能 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的作用。为了获得最佳使用效果，请查阅本分离报告和色谱柱的“用户指南”。

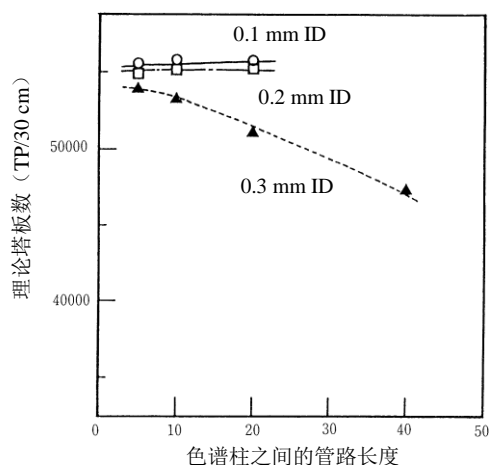


图 40 理论塔板数与管路内径以及色谱柱之间连接管路长度的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm x 2
流动相: THF
流速: 0.6 mL/min
温度: 25°C
检测器: UV@254 nm, UV-8020 (微型流通池)
样品: DCHP (0.1%), 2 μ L

3-9 混合床色谱柱（线性）

TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的产品线中还包括四种具有线性校正曲线的混合床色谱柱。TSKgel SuperHM-H 和 SuperHM-M 色谱柱主要用于分析聚合物的分子量分布，而 TSKgel SuperHM-N 色谱柱则适用于对分子量相对较低的样品进行 GPC 分析。TSKgel SuperHM-L 色谱柱主要设计用于分析低聚物和低分子量样品。同时，该色谱柱还针对包括从高分子量范围到低聚物范围内的各类样品的谱图分析进行了优化设计。

表 8 列出了不同等级色谱柱校正曲线的分子量范围和线性范围。图 2 所示为聚苯乙烯在 THF 中的校正曲线。

表 8 混合床色谱柱的分子量分级范围

TSK-GEL 等级	分子量分级范围	校正曲线的线性范围
SuperHM-L	100~3,000,000	200~10,000
SuperHM-N	100~1,000,000	300~200,000
SuperHM-M	300~3,000,000	300~1,000,000
SuperHM-H	500~10,000,000	1,000~8,000,000

图 41 至 44 比较了使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱时，各类聚苯乙烯标准品的洗脱曲线。

图 45 和 46 比较了使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱分离聚苯乙烯标准品时的色谱图。

图 47 和 48 比较了使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱时，环氧树脂样品的分离效果。

图 49 比较了使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱时，酚醛树脂的分离效果。

4. 应用

图 50 至 56 所示为针对各种聚合物样品进行分析的实例。

图 57 所示为使用高速 GPC 仪器（HLC-8120PC）分离 Epikote 1004 时的色谱图。

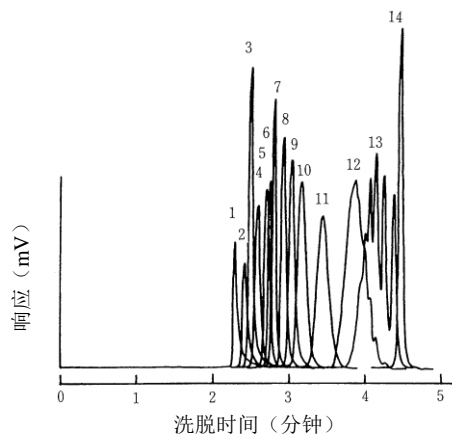


图 41 使用 TSKgel SuperHM-L 时，聚苯乙烯标准品的洗脱曲线

色谱柱： TSKgel SuperHM-L, 6.0 mm ID x 15 cm

流动相： THF

流速： 0.6 mL/min

温度： 25°C

检测器： UV@254 nm

样品： 1. MW 2,890,000 2. MW 1,260,000
 3. MW 775,000 4. MW 422,000
 5. MW 186,000 6. MW 107,000
 7. MW 42,800 8. MW 16,700
 9. MW 10,200 10. MW 6,200
 11. MW 2,800 12. A-1,000
 13. A-500 14. DCHP

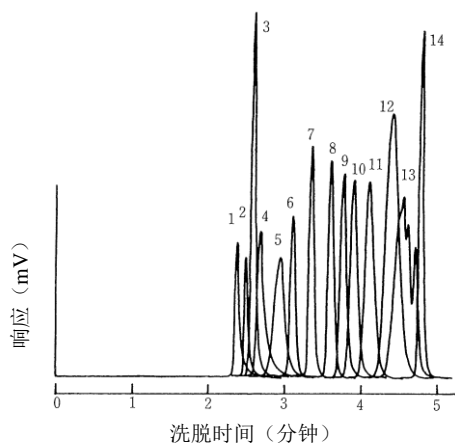


图 42 使用 TSKgel SuperHM-N 时，聚苯乙烯标准品的洗脱曲线

色谱柱: TSKgel SuperHM-N, 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 1. MW 2,890,000 2. MW 1,260,000
 3. MW 775,000 4. MW 422,000
 5. MW 186,000 6. MW 107,000
 7. MW 42,800 8. MW 16,700
 9. MW 10,200 10. MW 6,200
 11. MW 2,800 12. A-1,000
 13. A-500 14. DCHP

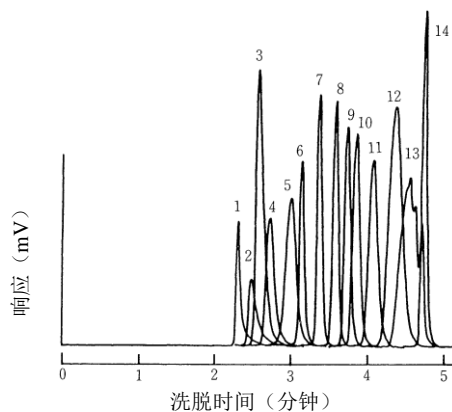


图 43 使用 TSKgel SuperHM-M 色谱柱时，聚苯乙烯标准品的洗脱曲线

色谱柱: TSKgel SuperHM-M, 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 1. MW 2,890,000 2. MW 1,260,000
 3. MW 775,000 4. MW 422,000
 5. MW 186,000 6. MW 107,000
 7. MW 42,800 8. MW 16,700
 9. MW 10,200 10. MW 6,200
 11. MW 2,800 12. A-1,000
 13. A-500 14. DCHP

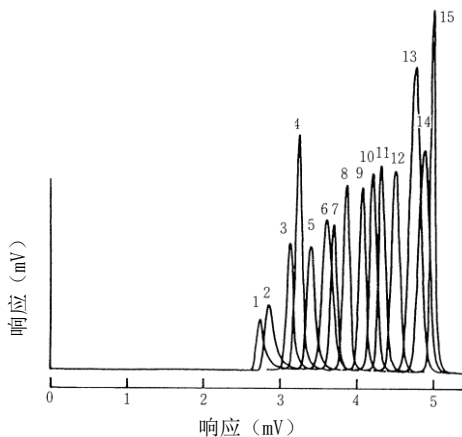


图 44 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱时，聚苯乙烯标准品的洗脱曲线

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6.0 mm ID x 15 cm
 流动相: THF
 流速: 0.6 mL/min
 温度: 25°C
 检测器: UV@254 nm
 样品: 1. MW 5,480,000 2. MW 2,890,000
 3. MW 1,260,000 4. MW 775,000
 5. MW 422,000 6. MW 186,000
 7. MW 107,800 8. MW 42,800
 9. MW 16,700 10. MW 10,200
 11. MW 6,200 12. MW 2,800
 13. A-1,000 14. A-500
 15. DCHP

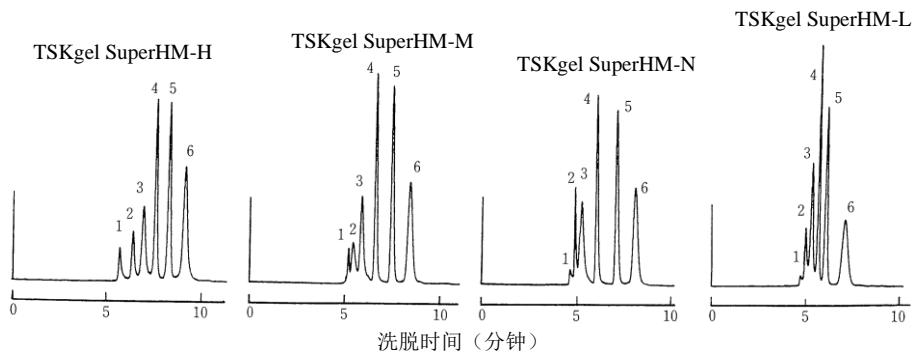


图 45 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-H、SuperHM-M、SuperHM-N、SuperHM-L

均为: 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品

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

3. MW 422,000 4. MW 107,000

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

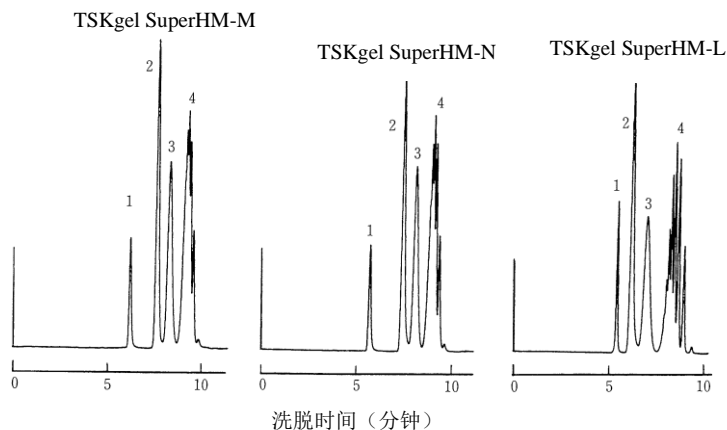


图 46 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱对聚苯乙烯标准品的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-M、SuperHM-N、SuperHM-L

均为: 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品

1. MW 190,000 2. MW 9,100

3. MW 2,800 4. A-500

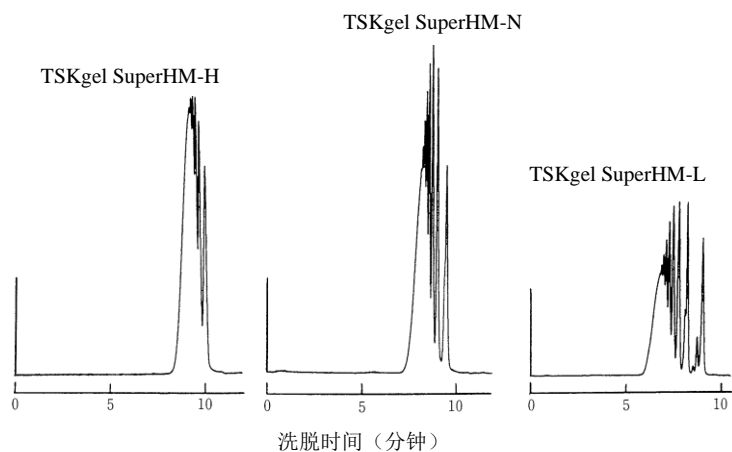


图 47 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱对环氧树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-H、SuperHM-N、SuperHM-L
均为: 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相: THF

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 环氧树脂 (Ep100)

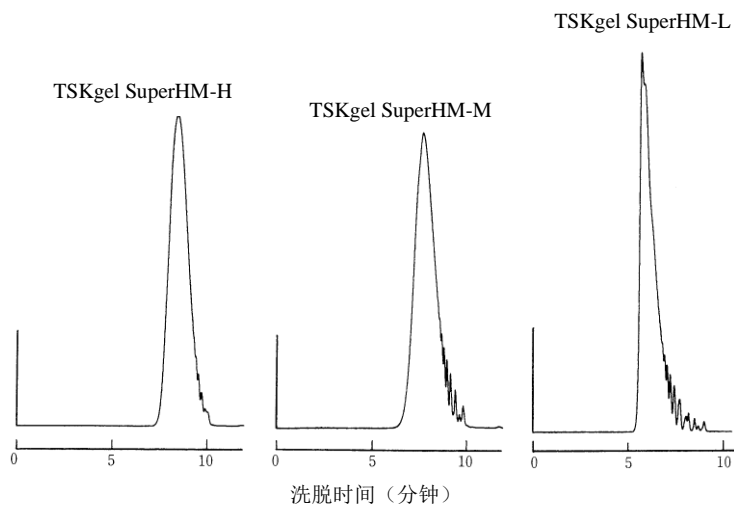


图 48 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱对环氧树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-H、SuperHM-M、SuperHM-L
均为 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相: THF

温度: 25 °C

检测器: UV@254 nm

样品: 环氧树脂 (Ep100)

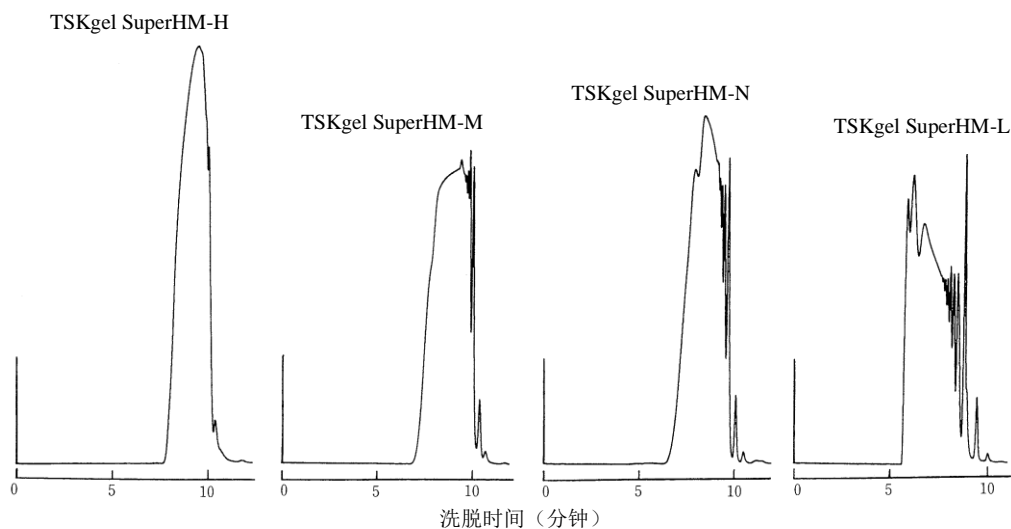


图 49 使用 TSK-GEL SuperHM 系列色谱柱对酚醛树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperHM-H、SuperHM-M、SuperHM-N、SuperHM-L

均为: 6 mm ID x 15 cm x 2

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 酚醛树脂

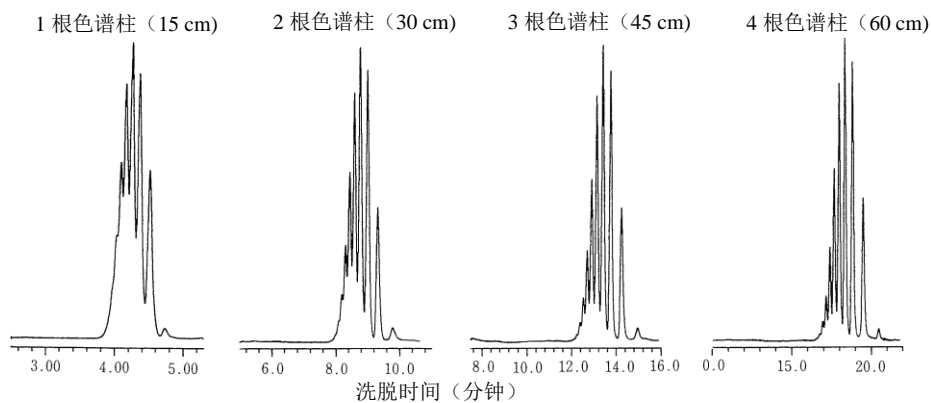


图 50 使用 TSKgel SuperH2500 色谱柱分离聚苯乙烯标准品 (A-500) 时, 分离与柱长的关系

色谱柱: TSKgel SuperH2500, 6 mm ID x 15 cm x 1-4

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品 A-500 (0.1%, 10 μ L)

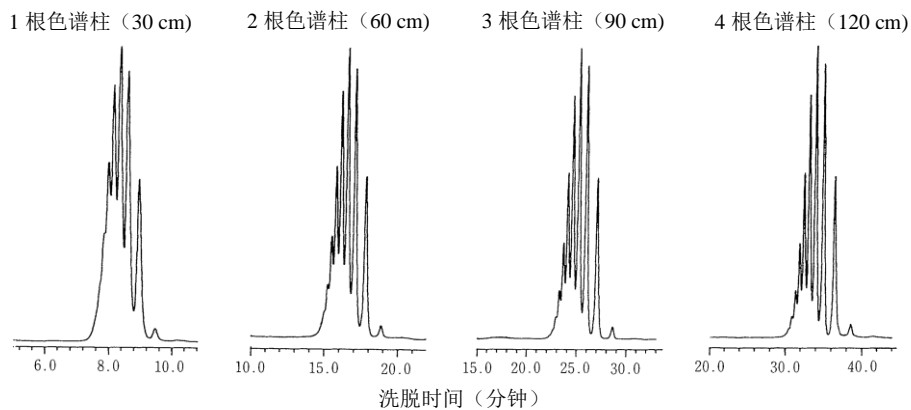


图 51 使用 TSKgel G2500HXL 色谱柱分离聚苯乙烯标准品 (A-500) 时, 分离与柱长的关系

色谱柱: TSKgel G2500HXL, 7.8 mm ID x 30 cm x 1-4

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 A-500 (0.1%), 20 μ L

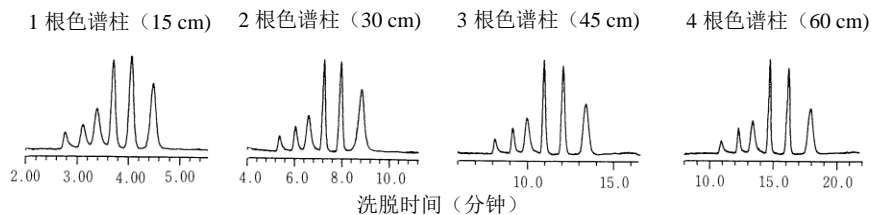


图 52 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时, 分离与柱长的关系

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm x 1-4

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: 聚苯乙烯标准品

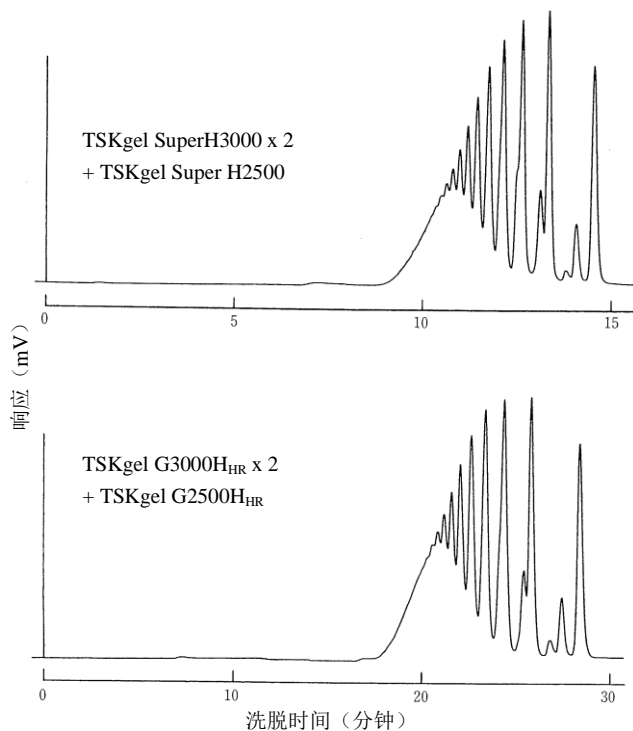


图 53 TSK-GEL SuperH 和 H_{HR} 色谱柱的分离性能比较

色谱柱: TSKgel SuperH3000 x 2 + TSKgel SuperH2500,
6 mm ID x 15 cm x 3

TSKgel G3000H_{HR} x 2 + TSKgel G2500H_{HR},
7.8 mm ID x 30 cm x 3

流动相: THF

流速: TSK-GEL SuperH (0.6 mL/min)

TSK-GEL H_{HR} (1.0 mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: Epikote 1001 (0.1%), 10 μL

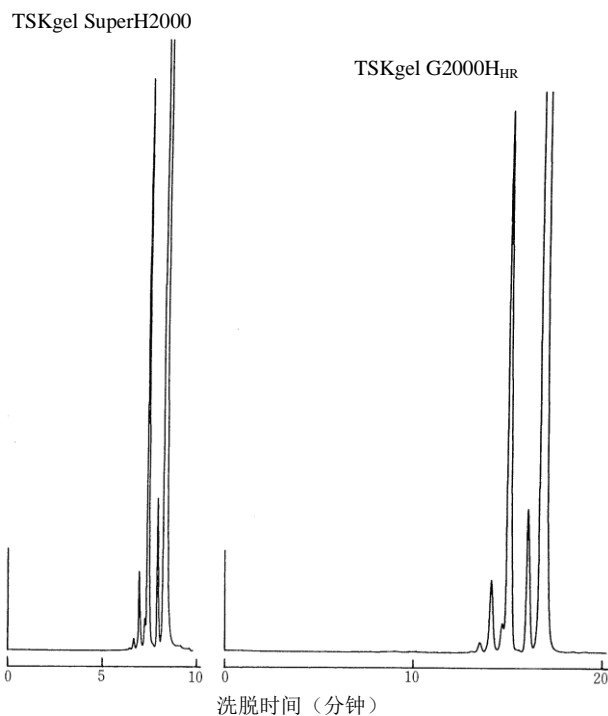


图 54 使用 TSKgel SuperH2000 和 TSKgel G2000 H_{HR} 色谱柱对环氧树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperH2000, 6 mm ID x 15 cm x 2
TSKgel G2000H_{HR}, 7.8 mm ID x 30 cm x 2

流动相: THF

流速: TSKgel SuperH2000 (0.6mL/min)

TSKgel G2000 H_{HR} (1.0mL/min)

温度: 25°C

检测器: UV@254 nm

样品: Epikote 828 (0.1%), 10 μL

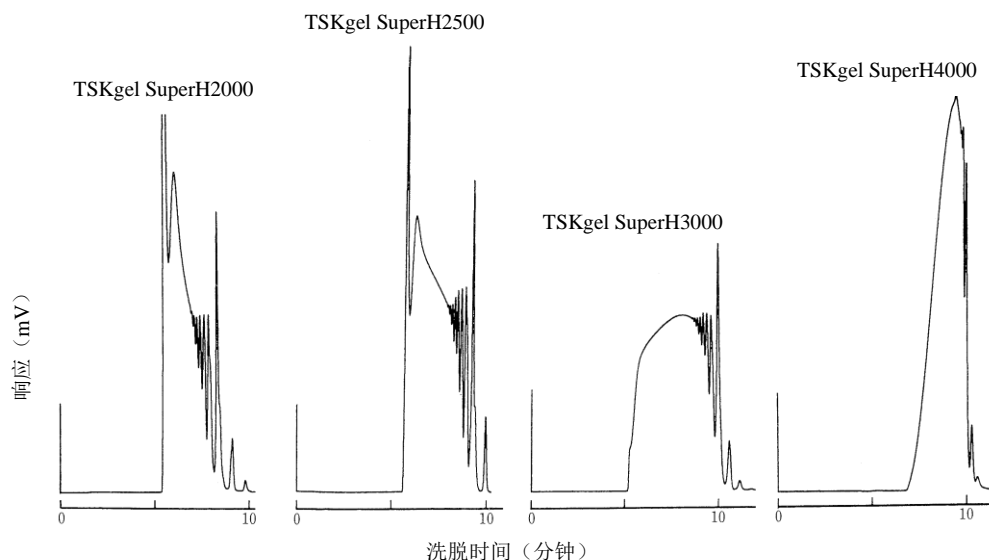


图 55 使用 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱对酚醛树脂的分离比较

色谱柱: TSKgel SuperH2000 - SuperH4000,
均为: 6 mm ID x 15 cm x 2
流动相: THF
流速: 0.6 mL/min
温度: 25°C
检测器: UV@254 nm
样品: 酚醛树脂(0.1%), 5 μ L

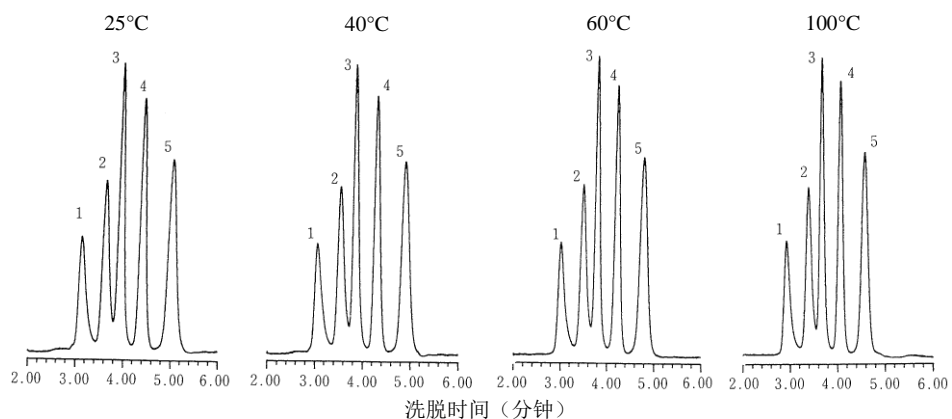


图 56 使用 TSKgel SuperHM-H 色谱柱分离聚苯乙烯标准品时的温度依赖性

色谱柱: TSKgel SuperHM-H, 6 mm ID x 15 cm
流动相: 含有 10 mmol LiBr 的 DMF
流速: 0.6 mL/min
检测器: UV@270 nm
样品: 聚苯乙烯标准品
1. MW 2,890,000 2. MW 422,000
3. MW 107,000 4. MW 16,700
5. MW 2,800

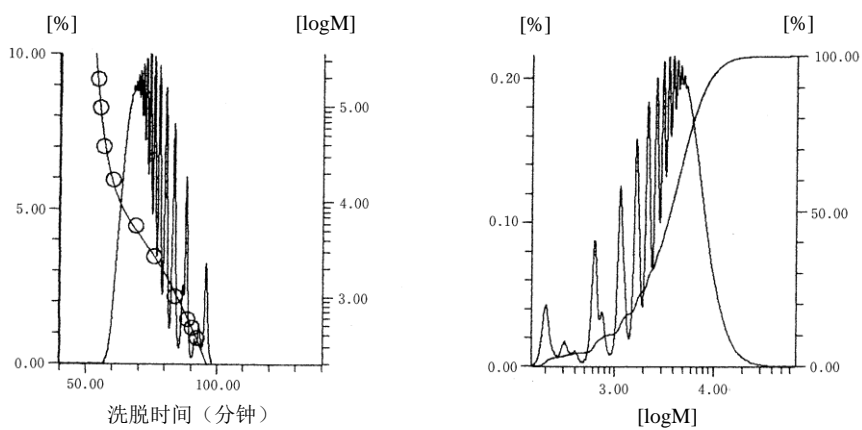
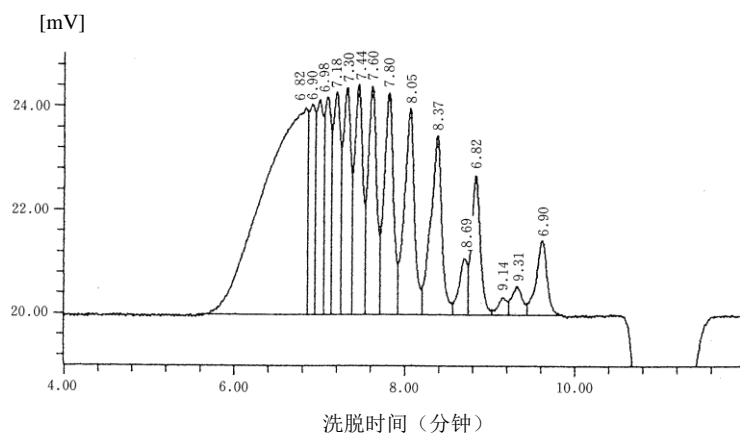


图 57 使用高速 GPC 仪器 (EcoSEC GPC 系统) 分离 Epikote 1004 (E1004)

色谱柱: TSKgel SuperH3000 + TSKgel SuperH2500,
6 mm ID x 15 cm x 2

温度: 25 °C

流动相: THF

流速: 0.6 mL/min

检测器: RI

样品: Epikote 1004 (EP1004) (0.1%), 10 μ L

5. 结论

使用半微量、高性能 TSK-GEL SuperH 系列 GPC 色谱柱，仅需一半的分析时间即可实现常规 TSK-GEL H_{HR} 和 H_{XL} 系列色谱柱的分离性能。

TSK-GEL SuperH 系列色谱柱主要设计用于最大程度地降低色谱柱中的样品谱带展宽效应。因此，如上所述（第 3-8 节），为了发挥出该系列色谱柱的最佳性能，优化分析条件，降低系统死体积非常重要。

针对 GPC 系统，务必要进行优化以减少柱外谱带展宽效应。配合使用东曹 EcoSEC GPC 系统或同等产品，可以充分便利地发挥出 TSK-GEL SuperH 系列色谱柱的高性能。

参考文献

- 1) J.C. Moore, J. Poly. Sci., A-2, 2, 835 (1964)
- 2) S. Mori, Anal. Chem., 55, 2414 (1983)
- 3) S. Mori, J. App. Poly. Sci., 20, 2157 (1976)
- 4) S. Mori, "Steric Exclusion Liquid Chromatography of Polymers", by J. Janca, Marcel Dekker, N.Y. (1984), Chapter 4.
- 5) H.G. Barth, F.J. Carlin, Jr, J. Liq. Chromatogr., 7 (9), 1717 (1976)
- 6) N. Hadden et al., ed. "Basic Liquid Chromatography", P.10-11, Varian Aerograph (1971)
- 7) R.P.W. Scott, J. Chromatogr. Sci., 9, 641 (1971)



TOSOH

TOSOH BIOSCIENCE

东曹（上海）生物科技有限公司

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：+86-21-3461 0856 传真：+86-21-3461 0858

电子邮箱：info.tbs@tosoh.com.cn

网址：www.separations.asia.tosohbioscience.com