

使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统在不同盐浓度流动相下 对羧甲基淀粉钠进行分析

应用报告

食品检测与农业，制药

作者

左夏龙
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文使用配备了示差折光、四毛细管桥粘度及双角度激光光散射三个检测器的 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统，配合 PL Aquagel-OH 系列色谱柱，分别以两种不同盐浓度的缓冲液作为流动相，对羧甲基淀粉钠的分子量、分子量分布和分子构造进行了表征，并研究了流动相盐浓度对分子构象的影响。通过与仅配单一示差检测器的 GPC/SEC 系统对比得到，1260 多检测器 GPC/SEC 系统，无需建立标准曲线，即可得到更加准确的样品分子量及分子量分布检测结果，同时还得到样品分子构造和分子构象信息。



Agilent Technologies

引言

羧甲基淀粉钠 (CMS-Na)，是一种水溶性阴离子型淀粉衍生物，具有增稠、粘结、保水等多种性能，广泛用于食品、医药及日用化工等领域。例如：在食品工业中，可用作稳定剂，保持乳制品产品均匀稳定，延长储存时间；在医药工业中，利用其很强的吸水性和快速吸水膨胀的性质，可用作辅料崩解剂^[1]。

羧甲基取代度和分子量是影响羧甲基淀粉钠溶液理化性质的重要参数，因此测试样品的分子量对于样品性能的判断有重要意义。体积排阻色谱 (GPC/SEC) 是测试聚合物分子量与分子量分布的主要手段。目前最常见的体积排阻色谱 (GPC/SEC) 体系是由泵、进样器、柱温箱及示差检测器四部分组成，通过窄分布标样或宽分布标样建立保留时间与分子量的校正曲线，来对样品进行分子量及其分布的计算。

来源不同的淀粉分子具有不同的支化程度，很难保证标准样品与样品的结构完全相同。所以如果使用常规的、只有示差检测器的 GPC/SEC 系统，很难给出准确的分子量结果。另外羧甲基淀粉钠为聚电解质类物质，即使相同分子量的样品在不同离子强度的流动相中，也会呈现不同的流体力学体积半径^[2]，即表现不同的保留时间，从而进一步加大了分子量准确测量的难度。而示差-激光光散射-粘度三检测器联用技术，无需建立标准曲线，通过不同角度的光散射强度和粘度信息即可得到分子量及结构信息，很好的解决以上困难。多检测器联用技术工作原理请参见 5990-7196CHCN。

在本实验中，采用配备了示差折光、四毛细管桥粘度及双角度激光光散射三个检测器的 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统，使用了两根色谱柱串联以获得更好的分离度及峰形，分别以两种不同盐浓度的缓冲液作为流动相，对羧甲基淀粉钠的分子量、分子量分布和分子构造进行了表征，并研究了流动相盐浓度对分子构造的影响。

实验部分

仪器

本实验所使用的 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统由以下几个模块组成

- Agilent 1260 Infinity 四元泵 (G1311B)
- Agilent 1260 Infinity 标准型自动进样器 (G1329B)
- Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)
- 示差折光检测器 (G7800A #031)
- 四毛细管桥粘度计 (G7800A #032)
- 双角度激光光散射仪 (G7800A #033)

试剂与化学品

所有试剂均为液相色谱级。新制超纯水产自 Millipore 纯水机。硝酸钠、磷酸氢二钠均购自 sigma 公司。磷酸购自迪马公司。

样品

市售羧甲基淀粉钠溶液购自药店，使用流动相稀释至约 1mg/mL。

实验条件

色谱柱： 色谱柱 1: PL aquagel-OH 60 (PL1149-6860),

300 × 7.5 mm, 8 μm

色谱柱 2: PL aquagel-OH Mixed-M (PL1149-6801),

300 × 7.5 mm, 8 μm

洗脱液： 条件 1: 含 0.1M NaNO₃ 和 0.01M Na₂HPO₄ 的水溶液, pH = 8

条件 2: 含 0.3M NaNO₃ 和 0.01M Na₂HPO₄ 的水溶液, pH = 8

流速： 1.0 mL/min

进样体积： 50 μL

检测器： 示差折光检测器 (RI)、四毛细管桥粘度计 (VS)、双角度激光光散射仪 (LS)

结果与讨论

如图 1 所示，为羧甲基淀粉钠样品在色谱条件 1 下使用三检测器获得的色谱图，其分别代表示差检测器、粘度检测器及激光光散射检测器（90 度及 15 度）的信号。通过本色谱图可以看出，三检测器各个信号的信噪比良好。

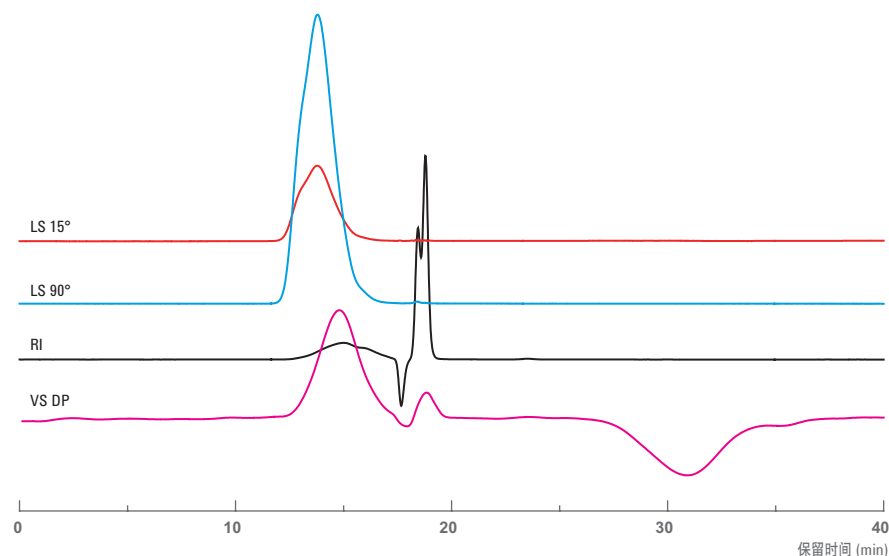


图 1. 羧甲基淀粉钠样品在色谱条件 1 下的色谱图

如表 1 所示，对示差-光散射-粘度三检测器联用数据进行计算，发现流动相中盐浓度的变化对重均分子量 (Mw) 没有影响，对分子量分布 (PD) 略有改变。在较高浓度的盐溶液流动相条件下，样品的特性粘度 (IV) 降低。

表 1. 羧甲基淀粉钠样品在两种色谱条件下使用三检测器联用技术所得的分子量结果

	Mw	Mn	PD	IVw	IVn
条件 1	250953	35715	7.027	0.449	0.226
条件 2	249742	33742	7.402	0.328	0.163

如图 2 所示，样品在两种色谱条件下的 Mark-Houwink 曲线斜率均为 0.3 左右，表明样品呈现支化结构；当盐浓度提高后，特性粘度值 (IV) 降低，表明分子结构更加紧凑，流体动力学体积半径缩小。从光散射计算所得均方回转半径 (Rg) 与分子量 (Mw) 的双对数拟合曲线上也可得到在色谱条件 2 下羧甲基淀粉钠样品的分子尺寸是更加紧缩的，如图 3 所示。

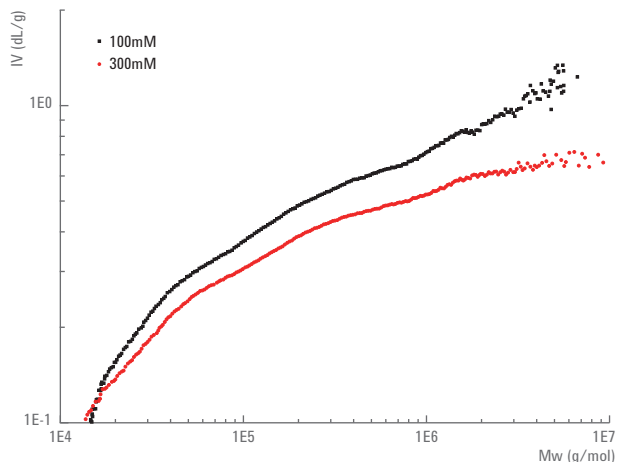


图 2. 羧甲基淀粉钠样品在两种色谱条件下的 Mark-Houwink 曲线叠图

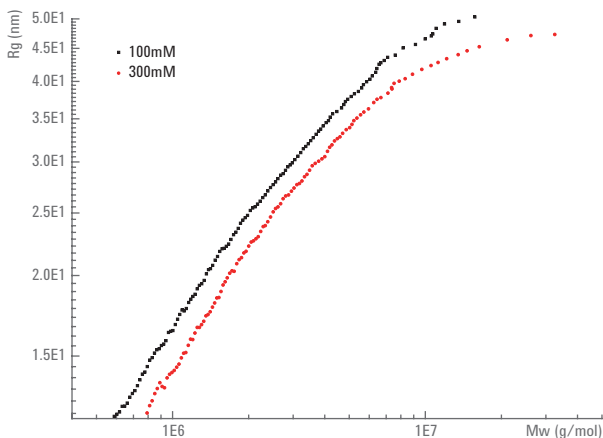


图 3. 羧甲基淀粉钠样品在两种色谱条件下的 logRg-logMw 拟合曲线图

流体动力学体积半径的缩小意味着同样分子量样品的保留时间会延长，这也意味着如果使用单一示差检测器的常规 GPC/SEC 系统测量分子量时，会出现使用不同盐浓度的流动相得到的分子量不一致的现象。

使用常规示差检测器的 GPC/SEC 时，通常用普鲁兰多糖标样做校正曲线（如图 4 所示），分子量的计算结果会随着流动相盐浓度的提高而减小（如表 2 所示）。

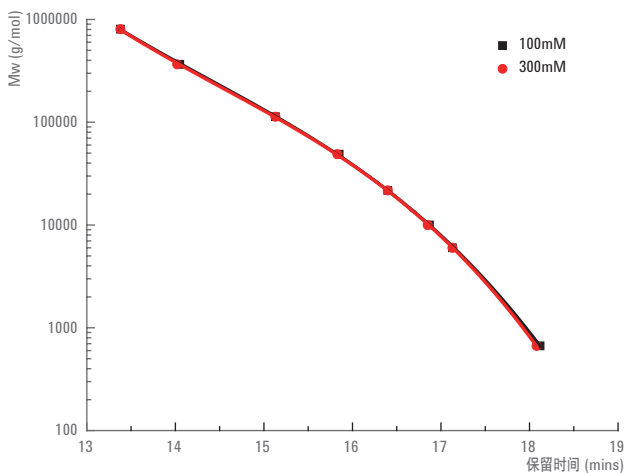


图 4. 普鲁兰糖窄分布标样（部件号 PL2090-0100）在两种色谱条件下的校正曲线

结论

示差、光散射、粘度三检测器联用的 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统，配合 PL Aquagel-OH 系列色谱柱可以准确、高效的对羧甲基淀粉钠样品的分子量及分子量分布进行检测，解决了常规仅配单一示差检测器的 GPC/SEC 系统得不到准确、可靠的分子量信息的问题，克服了流动相盐浓度对分子量检测的影响。三检测器系统在得到准确分子量信息的同时，还可得到样品的分子构造和分子构象的信息。高信噪比的检测器信号以及物化性质稳定的水溶性 GPC 色谱柱的配合能够提供可重现的数据结果。

表 2. 羧甲基淀粉钠样品在两种色谱条件下使用单示差常规 GPC 校正所得的相对分子量结果

	Mw	Mn	PD	Mz
条件 1	183643	52007	3.531	607618
条件 2	143241	36278	3.948	462380

参考文献

1. 李元丽, 刘亚伟, 刘洁, 胡秀娟, 羧甲基淀粉钠与凝胶性多糖的应用及发展, [J] 中国食品添加剂, 2011(5): 181-187
2. Zeljko P.Stojanovic, Katarina Jeremic, Slobodan Jovanovic, Wolfgang Nierling, M.Dieter Lechner, Light Scattering and Viscosity Investigation of Dilute Aqueous Solutions of Carboxymethyl Starch, [J] Starch - Starke, 2009; 61(3-4):199 – 205

www.agilent.com.cn

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015

2015 年 5 月 8 日出版

出版号：5991-5902CHCN



Agilent Technologies