



凝胶渗透色谱 和体积排阻色谱 技术介绍

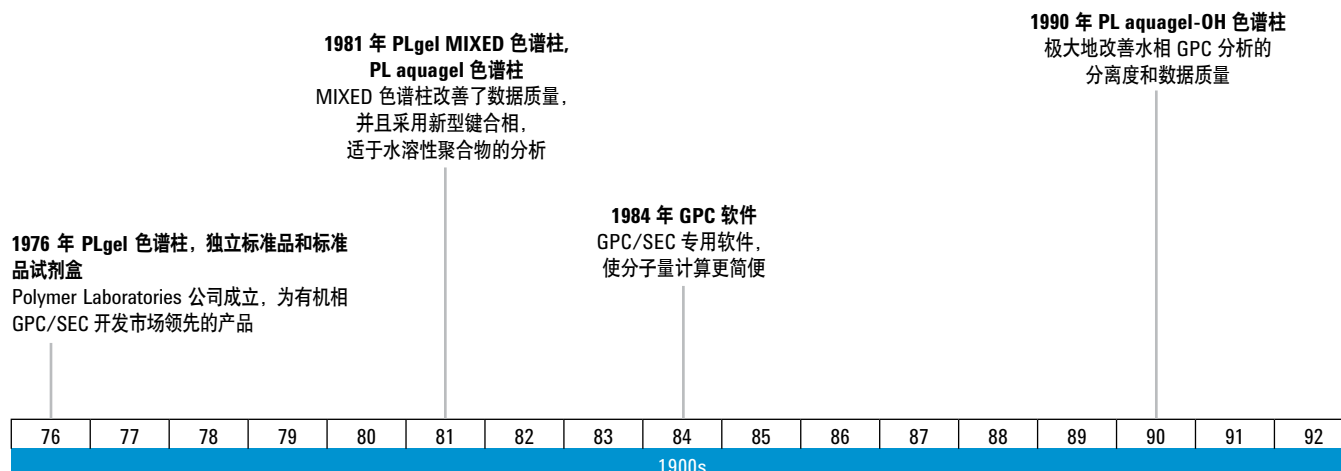
入门读本



目录

前言	3	第四章 - GPC/SEC 实例；实际样品的分析	18
关于名称	3	阿拉伯树胶，好的和差的	18
有关 GPC/SEC，您应该知道的七件事	3	指甲油分析	18
第一章 - 什么是色谱？	4	改性 PVC	19
色谱的类型	4	第五章 - 常见问题 (FAQ)	20
气相色谱法	4	附录	21
高效液相色谱法	5	配置 GPC/SEC 系统的建议	21
凝胶渗透色谱 / 体积排阻色谱	5	选择 GPC/SEC 的洗脱液	21
第二章 - GPC/SEC 概述	6	选择 GPC/SEC 的色谱柱	21
聚合物	6	配置 GPC/SEC 系统	22
分子大小问题	6	我应该用什么样的标准品？	22
GPC/SEC 是怎么运行的	7	典型的聚合物分子量	23
GPC/SEC 的用途及优势	8	订购信息	24
校准曲线	8	安捷伦 GPC/SEC 解决方案	27
GPC/SEC 的校准	9	词汇表和缩略语	28
聚合物分布的类型	11	进一步阅读的建议	30
第三章 - GPC/SEC 的实施	13		
溶剂和溶剂容器	13		
柱温箱	13		
样品	14		
进样和进样器	14		
色谱柱和色谱柱组件	14		
泵	15		
检测器	16		
常规 GPC/SEC 系统	17		
多检测器 GPC/SEC 系统	17		
自动化数据处理	17		

在 GPC/SEC 领域拥有超过三十五年的丰富经验



前言

本指南介绍了凝胶渗透色谱（也叫体积排阻色谱，GPC/SEC）的最常用技术和应用的一些背景知识，适合对此项重要技术相关的设备和方法不熟悉的人使用。因为本书介绍的是基础知识，因此您并不需要有化学基础，尽管了解一点化学更好。如果您想了解更多有关 GPC 的知识，请参考附录中的阅读书目，以及后面的术语表，给出了一些常用术语的解释。

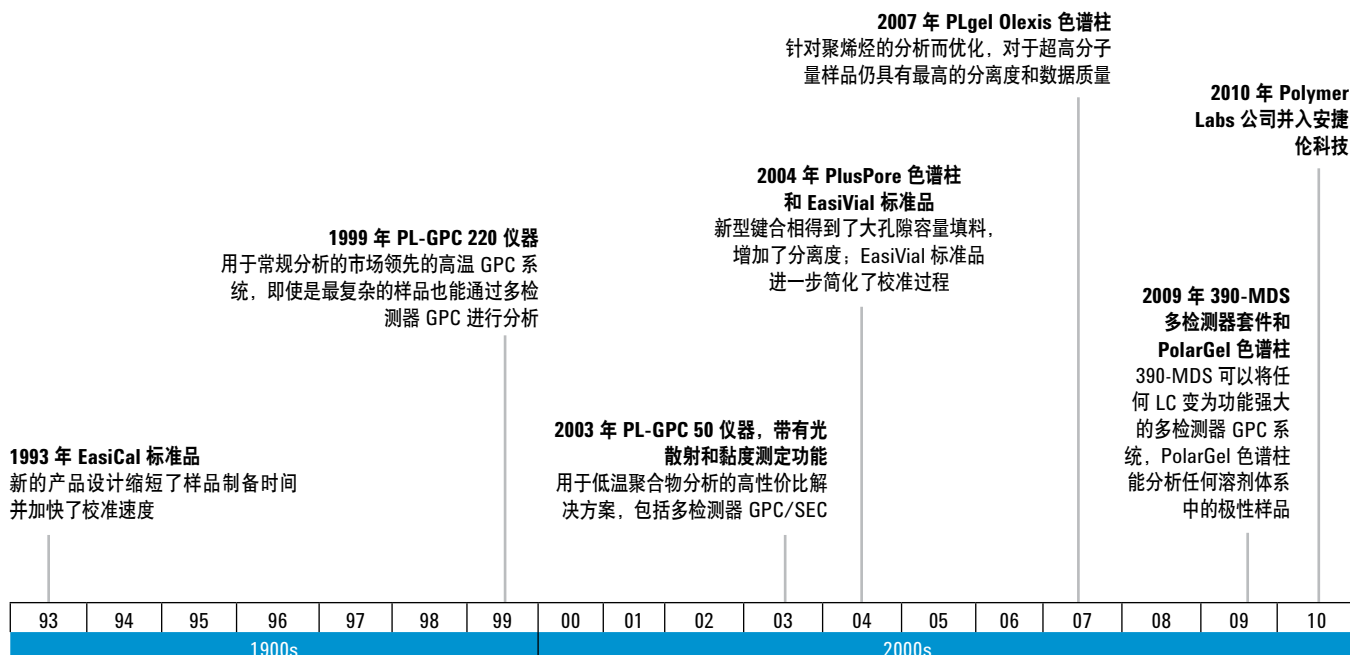
本指南在第一章里介绍了有关色谱历史及技术的基本知识，如果着急您可以跳过此章节，直接阅读 GPC/SEC 的章节。

关于名称

在这本小册子中，GPC 和 SEC 这两个术语描述的是同一个色谱过程，只不过是不同行业使用的首字母缩写不同而已。一般而言，分析人员讨论 GPC 和 SEC 时，他们指的是相同类型的色谱分析。国际理论与应用化学联合会 (IUPAC) 倾向于使用 SEC 这一术语来代表此类实验，不过 GPC 也经常使用。

有关 GPC/SEC，您应该知道的七件事

1. 凝胶渗透色谱 / 体积排阻色谱是高效液相色谱法 (LC) 的一种类型。
2. GPC/SEC 可以采用多种不同极性的溶剂。从非极性的有机溶剂到水溶液应用。
3. GPC/SEC 使用填充了非常小的圆形多孔颗粒的色谱柱，对通过色谱柱的溶剂中的分子进行分离。
4. GPC/SEC 根据分子的大小进行分离，因此称为“体积排阻”。
5. 最初的 GPC/SEC 色谱柱填充的材料是凝胶，因此称为“凝胶渗透”。
6. GPC/SEC 用于确定聚合物的分子量分布。
7. 色谱柱中的填料由聚合物（经过交联以使得它们不可溶解）或无机材料（例如球形硅胶）制成。



第一章 - 什么是色谱?

色谱法的发明、色谱技术，以及 GPC/SEC 在色谱家族中的位置

色谱法是一种用于化学品分析的分离方法，由俄国人 Mikhail Tsvet 于 1901 年发明。Tsvet 将植物叶子碾碎并放入溶剂中，例如乙醚和乙醇，这些溶剂将叶子中的叶绿素 II 和类胡萝卜素溶解。他将溶解后的溶液倒入装有固体碳酸钙的玻璃柱中，利用重力作用使溶液向下流过色谱柱。由于色素与碳酸钙的作用程度有大有小，溶液中的色素流过色谱柱时的速度不一样，因而形成了有色的谱带，从而揭示了叶子提取物是由不同组分构成的。随着这些不同的有色谱带从色谱柱底部滴下，或者说“被洗脱”下来的时候，Tsvet 将它们逐个收集到独立的容器中。

这个简单的实验展示了色谱法在分离分子混合物方面的巨大潜力。今天，样品可以是气体、液体或固体，简单混合物或者各种不同化学品的复杂混合物。溶剂也可以是气体或者液体，取决于色谱法的类型。

色谱系统使用一支色谱柱，即填充了流动相和固定相的毛细管或其他容器。流动相和固定相可以为固体、液体或气体。在分析过程中，固定相保持不动，而流动相则通过容器（色谱柱）。在 Tsvet 的实验中，固定相是碳酸钙，流动相是有机溶剂。

由于分子在两相间的分配不同而出现了分离，并且，分子与固定相作用越大，则离开容器所花费的时间越长。科学家现在使用的所有不同的色谱类型均是指所使用的流动相和固定相不同。在后面，您会见到一些实例。

从色谱学发展的初期开始，人们就为寻找检测流出组分的最佳方法投入了大量精力。检测一般是基于流出组分的化学或物理性质。这些性质包括颜色、黏度、光透过时分子的行为，或者它们是否

带有电荷。毫无疑问，色谱设备和技术也在这一过程中获得了飞速发展。例如，Tsvet 依靠重力作用使他的提取液通过色谱柱，而现在，多使用高压泵或压缩气体。

现在，色谱被认为可能是现有的最强大和通用的分析技术，因为它只需一步即可分离混合物，并测定每个组分的含量及其相对比例。

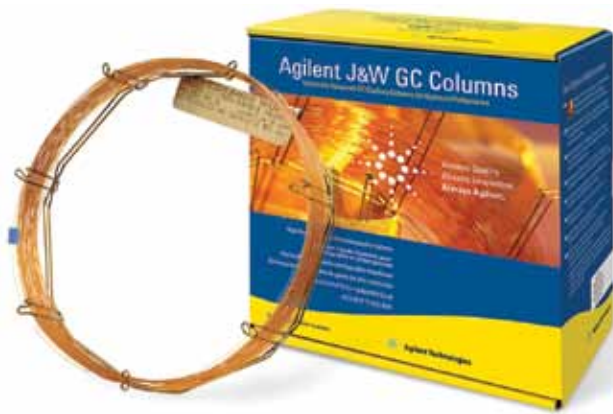
色谱被广泛地应用于学术和工业领域新化合物的研发。仪器可以复杂而昂贵，也可以简单而廉价，以至于学校里也可进行实用的色谱分离。学校里一个最常见的色谱演示实验是分离植物色素——Mikhail Tsvet 一定会为此高兴的。

色谱的类型

色谱有许多种类，但其中两种非常常见并且所有分析科学家都耳熟能详，常常被用来阐释分析技术的差异。它们是气相色谱 (GC) 和液相色谱 (LC)。GPC/SEC 是液相色谱的一种类型。下面就这些技术作一简要介绍。

气相色谱法

气相色谱法中，固定相（一般）是固定在非常细的毛细管的内表面 / 内壁上的聚二甲基硅氧烷 (PDMS)。气体（如氦气）用作流动相。挥发性样品、或加热后挥发的样品被导入到气相中并流过色谱柱，在这一过程中，样品中的组分有时间与固定相作用（主要是物理作用和吸附）。其结果是样品中的分子组分基于它们与固定相的亲合程度不同而获得分离。固定相种类非常多，选择什么固定相取决于具体应用。流出色谱柱的组分随后被“检测”。一般使用火焰离子化检测器或质谱检测器。GC 是分离含有不同化学性质分子的挥发性样品的首选技术。



安捷伦 J&W 系列提供了现今市场上种类最多、性能最高的 GC 色谱柱

的固定相。例如，在一种最常见的 HPLC 类型中，样品组分与固定相填料之间基于组分的疏水性（或者说“油性”）发生相互作用。然后，用可以溶解这些疏水性组分的流动相通过色谱柱（洗脱）。那些只有一点点油性的组分会很容易地洗脱下来，而那些油性较大的组分将从色谱柱上下来的较晚。



安捷伦 HPLC 色谱柱包括 Poroshell、ZORBAX、Polaris、PLRP-S 等类型



安捷伦 7890A GC 带有 7693A 系列自动液体进样器

硅胶是正相、吸附 HPLC 中最常用的固定相。正相 HPLC 非常适合不溶于水的化合物的分离，同时，正相有机溶剂比反相 HPLC 中使用的缓冲液具有更好的 MS 兼容性。然而，这项技术却有保留时间重现性差的不足，因为水或质子性有机溶剂（带有氢原子与氧和氮原子相连的基团）改变了硅胶表面的水合作用。反相 HPLC 则没有这种问题，它已经成为世界范围内主要的 HPLC 技术。反相系统中，硅胶颗粒是非极性或疏水性的，而流动相是一种极性液体。如果您需要一支灵敏度高、耐用的色谱柱，聚合物填料是除硅胶基质填料之外的又一选择。

高效液相色谱法

HPLC 是一种使用液体流动相的技术。固定相一般是化学改性的无机硅胶或聚合物微球，填充于色谱柱中。在 HPLC 中，两相间分配样品组分的分离机理可以有多种类型，取决于样品的性质和所使用

凝胶渗透色谱/体积排阻色谱

正如我们前面所了解的，GPC/SEC 是 LC 的一种类型，因此，也使用固体固定相和液体流动相。然而，此处的分离机理完全依靠溶液中聚合物分子的大小，而非分析物和固定相间的任何化学作用。

第二章 - GPC/SEC 概述

GPC/SEC 仪器能够提供聚合物分子量分布的信息

GPC/SEC 利用微球孔内滞留的液体为固定相，以流动的液体为流动相。因此，流动相可以在微球间流过，也可以流入流出微球上的孔。分离机理是基于溶液中聚合物分子的大小。不同的 SEC 类型有多个不同的名称，但所有的类型原理相同，即体积排阻，因此叫体积排阻色谱法。历史上，SEC 柱的多孔介质由凝胶制成，因此创造了凝胶渗透色谱这个词。这个词至今在工业中仍然普遍使用。生物化合物的低压分析一般称为凝胶过滤色谱 (GFC)。对于我们来说，SEC 和 GPC 指的是相同的仪器和色谱柱技术。

聚合物

聚合物具有许多对工业以及我们这样的消费者具有吸引力的优异的物理特性。这些优异的物理特性包括硬度、隔热性、电绝缘性、光学性能，以及耐化学腐蚀性。这些参数受聚合物属性的影响，例如化学组成、分子结构和形状、分子量和支化。进一步来说，这些参数可以通过测量某些基本属性进行表征。聚合物的物理属性既可以通过直接检测最终产品而进行评估，也可以通过对聚合物分子的认识而进行预测。

那么，究竟什么才是聚合物？聚合物是由许多重复单体连接在一起而构成的分子。这个术语衍生自希腊词汇 *polloi* (多) 和 *meros* (部分)。植物和动物中存在大量的天然聚合物，例如橡胶、多糖、淀粉、纤维素和糖原。蛋白质、核酸，以及一些无机大分子也可被看作是聚合物。聚合物形成的化学基础是单个，或“单体”单位形成长链的能力。许多分子具有这种能力，从而开发出来许多类型的人造聚合物。聚合物结合在一起的化学反应叫做聚合。以聚乙烯为例，它由重复的乙烯单体构成 $(C_2H_4)_n$ ，此处的 n 可以为非常大的数字。有趣的是聚合物分子链的长度可以很短也可以很长，而这些长度不同的化合物仍然被识别为相同的聚合物。实际上，聚合物样品往往含有一定分子量范围内各种不同链长的分子。这重要么？是的，这很重要！

分子大小问题

塑料（例如那些用来制造聚乙烯袋子、泡沫聚苯乙烯杯子、以及聚丙烯排水管的塑料）是通过将单体连接在一起形成分子链而制成的。塑料的许多性质（例如机械强度和弹性）取决于这些长分子链之间的缠绕程度。一般而言，分子链越长则缠绕程度越高，而材料则越硬和越坚韧。因此，根据聚乙烯样品的分子链长度不同，材料可能是液体、蜡状或坚硬的固体。材料的物理状态不同，显然会对其用途有重大影响。在这种情况下，这些材料的化学性质是相同的，它们都是聚乙烯，仅仅是材料的物理状态不同。进一步而言，所有合成聚合物均含有一定范围的不同链长的分子；实际上，制造出所有分子链长度均一的聚合物是不可能的。GPC/SEC 是一种能使您分离样品中不同链长的聚合物并测定它们相对丰度的技术。显然，我们前面提到的“液体 - 蜡状 - 固体”的例子是一种极端情况。不过，您不需要将聚合物分子链长改变太多，就能显著地改变其物理性质。



GPC/SEC 是一种依据聚合物分子大小将其分离从而测量分子链长度和其他性质的技术。就是这么简单！

GPC/SEC 是怎么运行的

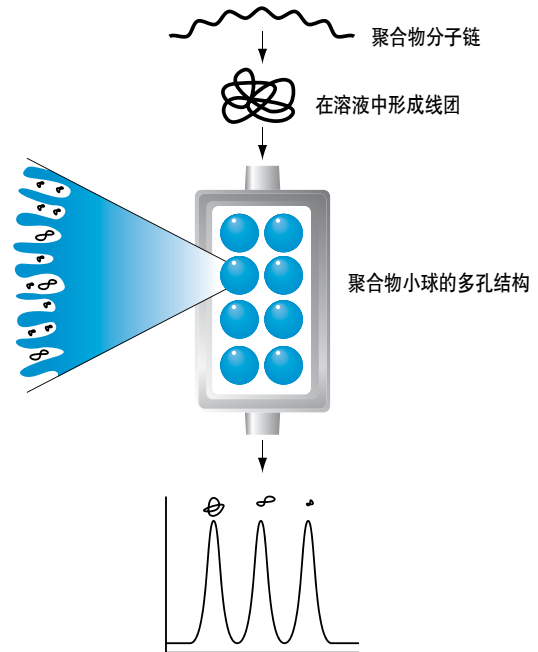
GPC/SEC 仪器由推动溶剂通过仪器的泵、将待测样品导入色谱柱的进样口、一支盛装固定相的色谱柱、一个或多个检测流出色谱柱组分的检测器，以及控制仪器各部件并计算和显示结果的软件组成。

先将聚合物样品溶解在溶剂中。这一步非常重要，因为尽管聚合物是由单体链接成的长链分子，但在溶液中却不是这样。一旦溶解在溶液中，聚合物分子链便缠绕起来呈线圈形态，进而组成一个线球。因此，尽管聚合物是链式分子，当我们使用 GPC/SEC 分析时，却可看作微型小球。微型小球的大小取决于分子量，分子量越高缠绕成的聚合物球越大。

这些缠绕起来的聚合物分子随后被导入到流动相中并随着流动相流入 GPC/SEC 色谱柱。随着流动相流过色谱柱，溶解在流动相中的聚合物分子也被携带着流过固定相颗粒。聚合物线团经过固定相微球颗粒时，有几种情况可能发生。如果聚合物线团比固定相微球上最大的孔还要大，它们将不能进入孔内，而随着流动相直接流过固定相微球。如果聚合物线团比最大的孔略微小些，它们可以进入较大的孔内，但不能进入较小的孔内。随着流动相的流动，聚合物线团占据了部分孔隙，但不是所有孔隙都被占据。如果聚合物线团比固定相微球上最小的孔还要小些，那么它们能进入任何一个孔内，因此可能占据了固定相上所有的孔隙。随着聚合物分子进入色谱柱，这种分配不断重复进行，以扩散的形式在它们通过色谱柱时所经过的每一个孔内进去再出来。结果是，小聚合物线团由于能进入固定相微球上的多数孔而需要较长时间才能通过色谱柱，相应地流出色谱柱较慢。相反地，大聚合物线团由于不能进入孔内而只需较短时间就能通过色谱柱，而中等大小的聚合物线团通过色谱柱的时间介于这两者之间。如此一来，样品从色谱柱中洗脱出来的方式较大程度地取决于微球中孔的大小。设想您正带着一个孩子路过一个百货商店的玩具区域。您想直接走到停车场，但您的小家伙却走开去尝试那里所有有趣的东

西。因此，您将直接到达出口，而小家伙则不断停下来去触摸所有展示出来的玩具，需要花一定时间才能到达那儿。这跟 GPC/SEC 的情形是一样的，大块头先到达出口。

分离机理如图 1 所示。这个图表显示了样品中不同大小的分子是如何被填料上的孔完全、部分或一点也不排阻的，排阻的程度取决于孔径大小和样品分子大小。



要点：

- 较小线团能通过许多孔
- 较大线团能通过较少的孔
- 非常大的线团几乎不能通过任何孔

图 1. GPC/SEC 如何分离大小不同的分子

随着各组分流出色谱柱并被多种检测方式检测到，样品的洗脱行为能以图表或色谱图形式展示出来。色谱图上显示了任一时间点上有多少物质流出色谱柱，在色谱图上，较高分子量、较大的聚合物线团先洗脱下来，较低分子量（较小的线团）随后相继流出。不同分离产物对应不同的洗脱体积。为了便于测量，将洗脱体积转换成时间（前提是您的流速是恒定的）。将相同大小的一组分子（一个流分）从色谱柱上洗脱下来的时间称为保留时间，因为该时间内这些分子保留在色谱柱上。

然后，将生成色谱图的数据与校准曲线对比。校准曲线显示了一系列已知分子量的聚合物的洗脱行为。通过与校准曲线对比可以计算样品的分子量分布。样品的分子量分布为聚合物化学家提供了重要的信息，因为他们可以使用分子量分布预测聚合物的性能。

对于 GPC/SEC，您需要记住的很重要一点是——分离基于分子大小而非化学性质。这些技术给出的有关溶液中聚合物分子大小的信息是通过使用校准曲线而转换成分子量的。它们并不能告诉我们有关样品化学性质的任何信息，甚至是样品中是否含有化学性质不同的组分。GPC/SEC 仅仅是根据样品大小进行的物理分级。

GPC/SEC 的用途及优势

GPC/SEC 有两个主要用途——表征聚合物和将混合物分离成独立的组分，例如聚合物、低聚物、单体以及任何非聚合体的添加剂。GPC/SEC 是现有的唯一能表征聚合物分子量分布（所有合成聚合物都具有的性质）的技术。此外，聚合物混合物也可以被分离成独立的组分，例如聚合物和塑化剂。天然存在的聚合物（例如木质素、蛋白质和多糖）也常用极性有机相或水相 GPC/SEC 进行研究。GPC/SEC 对低聚物和小分子的分离也非常出色。

为了避免在色谱分离过程中损坏脆弱的生物化合物，生物学家和生物化学家一般使用低泵压和填充了凝胶（例如聚丙烯酰胺、葡

聚糖或琼脂糖）的色谱柱。尽管此技术不是十分高效，其优势是化合物的生物活性没有破坏，因此，从色谱柱上流出的组分可以用于其他实验。另一方面，工业中的聚合物化学家和工程师更喜欢使用高泵压和填充了交联聚苯乙烯或硅胶的色谱柱，因为这样的分离度更高，结果更好。

GPC/SEC 经常与其他方法联用，以根据其他性质如酸性、碱性、电荷或亲和性进一步分离。

既然我们知道了 GPC/SEC 是这样工作的，下面介绍如何计算分子量的一些细节。

校准曲线

正如我们所看到的，如果要确定聚合物样品中各组分的分子量，必须使用已知分子量的聚合物标准品绘制标准曲线。然后，将未知样品的实验数值与校准曲线对照，从而计算出分子量和平均分子量。我们提供各种分子量系列的标准品试剂盒，以及独立的分子量标准品，使您拥有更多选择。显然，标准品需要有非常高的质量和极窄的分子量分布，这样才能准确确定峰顶的位置、峰位分子量（ M_p ，见图 3）。这里，我们使用 M_p 值绘制标准曲线。例如，MW 1000000 g/mol 的安捷伦最新的聚苯乙烯标准品具有非常窄的分布，多分散性指数仅为 1.05（我们将很快讲到多分散性）。

图 2 显示了利用安捷伦 EasiVial 预称量聚合物标准品绘制的校准曲线。

从图上可以看出来，通过简单的记录样品的保留时间（RT），并在纵轴上读取对应此时间的分子量信息，即可通过校准曲线确定聚合物的分子量。为了生成分子量分布，我们将峰切成数个等距的“切片”。我们通过测量那一点的峰高或峰面积计算每个切片的丰度，利用校准曲线计算对应的分子量。然后，我们进行一定的求和以计算其平均值。详见下文。

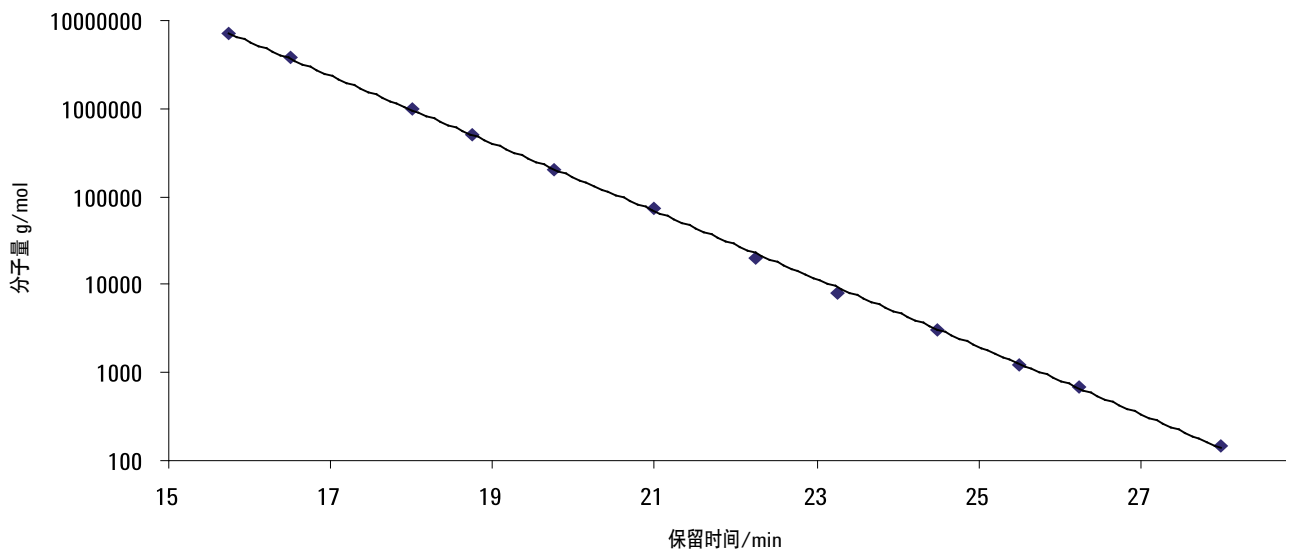


图 2. 用于根据保留时间确定分子量的校准曲线

也可以通过某些响应值与分子量相关的检测器直接测量流出色谱柱的组分的大小。这些检测器依靠聚合物的物理性质进行检测，例如光散射能力，或者黏度。

GPC/SEC 的校准

我们已经知道，聚合物的分子量并不是一个具体数值，而是一个分布范围。这意味着如果要准确测定一个聚合物的分子量分布，我们必须检测分布范围内每一个分子量水平有多少分子，从而计算整个样品的平均值。图 3 显示了常用平均分子量的位置。

通常计算的平均值实际上叫做数均分子量，缩写为 M_n 。从图 3 中的分子量分布，我们可以看出来 M_n 值标出的是左右两边高分子量和低分子量分子数量相等时的数值。数均分子量 (M_n) 影响的是分子的热力学性质。平均分子量还有其它几种表述方式，包括重均分子量 (M_w)。重均分子量 (M_w) 定义为左右两边高分子量和低分子量分子的质量相等时的数值。 M_w 对大分子组分敏感，影响聚合物的整体性质和韧性。显然， M_w 总是大于 M_n ，除非聚合物是完全单分散的。 M_w 影响了聚合物的许多物理性质，是最常用的平均分子量。除 M_n 和 M_w 外，其他平均分子量更多考

虑样品中较高分子量的组分，例如 Z 均分子量 (M_z) 和 M_{z+1} 。 M_z 对更大的分子组分敏感，影响粘弹性和熔体流动性能。 M_w 与 M_n 的比率用于计算聚合物的多分散性指数 (PDI)。PDI 指示了材料的分子质量范围。分子量分布越宽，PDI 越大。

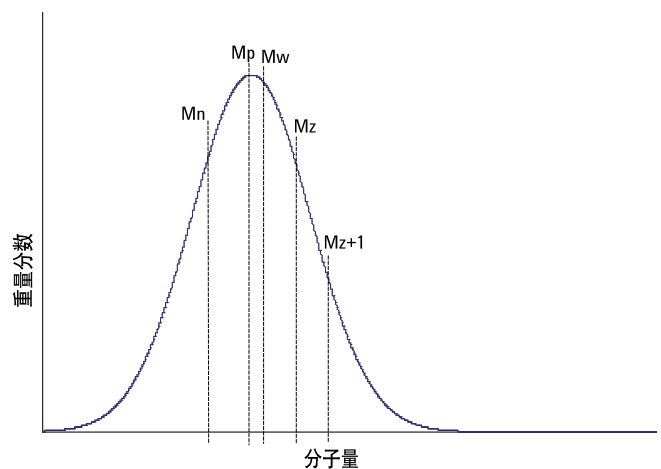


图 3. 单模式聚合物的平均分子量 —— 此处的分子量分布几乎是对称的

然而，获得这些数值并不像看起来那样容易。就检测器自身而言，标准的 GPC/SEC 检测器并不能检测色谱柱上洗脱下来的分子的数量，因此，这些平均分子量并不能被直接测量出来。尽管如此，我们可以根据重量 / 体积测量分子的浓度，使用浓度检测器（例如测量示差折光率的检测器）检测浓度并据此计算平均分子量。用浓度单位取代公式中的数值，则我们可以根据代入的浓度单位再计算 M_n 、 M_w 和 M_z 。所有这些平均值帮助我们了解聚合物的性质和提供聚合物可能的性能信息，如图 4 所示。横轴上的分子量一般表示为 \log 值。这是一种涉及到非常大数值时处理图表坐标轴的常用数学方法。聚合物的分子量可能超过 10000000 g/mol。

聚合物的分子量值十分重要，因为这影响到它的性能，例如脆度、韧度，以及弹性。这些数值上的微小差异可能造成聚合物性能的巨大差异，并决定了其是否适合于某一行业应用。图 4 揭示了分子量如何影响聚合物的性能。

您可以从这个例子中了解到，化学家通过对聚合物分子量分布的认识即可预测其性能如何。显然，在从实验室 R&D 级转移到全商业化生产之前，这一数值十分重要，因为它显示了一条产品线的终端产品是否能够满足工业规格的需要。这样就避免了代价昂贵的错误。

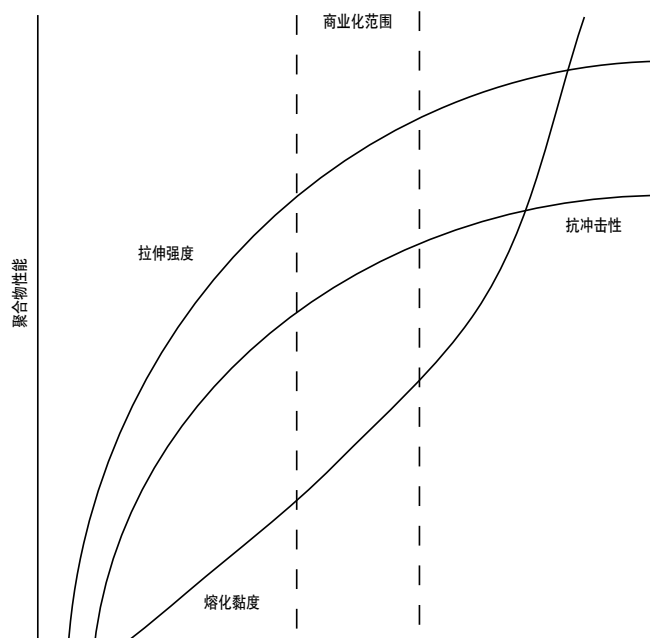


图 4 分子量对聚合物性能的影响

聚合物分布的类型

聚合物的分布可能较宽，既有大量高分子量分子也有大量低分子量分子；或者可能较窄，多数组分聚集在相同分子量周围。在色谱学术语中，这通过聚合物的分散度来衡量。分散度是聚合物性能的重要指标。

- 单分散聚合物中的所有分子其分子量都相同，也就是 M_n 、 M_w 和 M_z 都相同。在实践中，我们遇到的单分散聚合物仅存在于自然界中，例如蛋白质和核酸。
- 窄分布聚合物是合成的化合物，我们努力使合成的所有链的分子量尽可能地接近。 M_w/M_n 多分散比率小于 1.2，这是人们对窄分布聚合物下的一个定义，这一定义虽然主观但是方便。实例包括用于校准的聚合物标准品。校准时，我们希望尽可能准确地确定峰顶的位置，因此，非常窄的分子量分布十分必要。在这种情况下，各种平均分子量值非常接近。分布图形接近于正态分布，也就是说，中间线两侧曲线下的面积是相等的。

- 最常见的合成聚合物具有中等宽度的分布，其 M_w/M_n 比例介于 1.2 到 3，因为采用了许多合成步骤，因此统计学上易于获得这样的分布。
- 宽分布聚合物可能也是合成的，或者像多糖和淀粉糖这样的天然聚合物。这些分布几乎没有是正态分布的；例如，它们可能带有一个指向低分子量端的长尾巴。低分子量化合物的存在使得 M_n 比 M_w 和 M_z 偏移得更多。
- 有时合成聚合物呈现多模式分布，而这正是其有意思的地方。图 5 给出了一个实例。很重要的一点是，平均分子量本身不能显示出样品是多模式的，您需要查看分子量分布图才能看出来。

平均分子量和 M_w 与 M_n 的比率对于揭示聚合物分布的宽度十分有用，但是，您还是需要查看分子量分布图以评估分布的形状。然而，和 M_w 一样，多分散性数据提供了关于聚合物特征的十分有用的信息，但是，它们都不能替代一次仔细的检查分子量分布图形（以获得所有信息）。



安捷伦提供了一系列的 GPC/SEC 标准品

图 5 显示了不同多分散性聚合物的代表性分子量分布。窄分布图形为单个、尖锐的峰，其 $M_w/M_n < 1.2$ 。中等分布的聚合物分子量范围较宽，其 $M_w/M_n < 2.0$ 。超过 2 则归类为宽分布。峰形可以

是高斯分布的，即最高点两侧曲线对称。但多数时候或者偏向高分子量一侧，或者偏向低分子量一侧。如果出现两个或多个不同分子量的聚合物，那么这两个峰可能重叠，形成双模式分布。

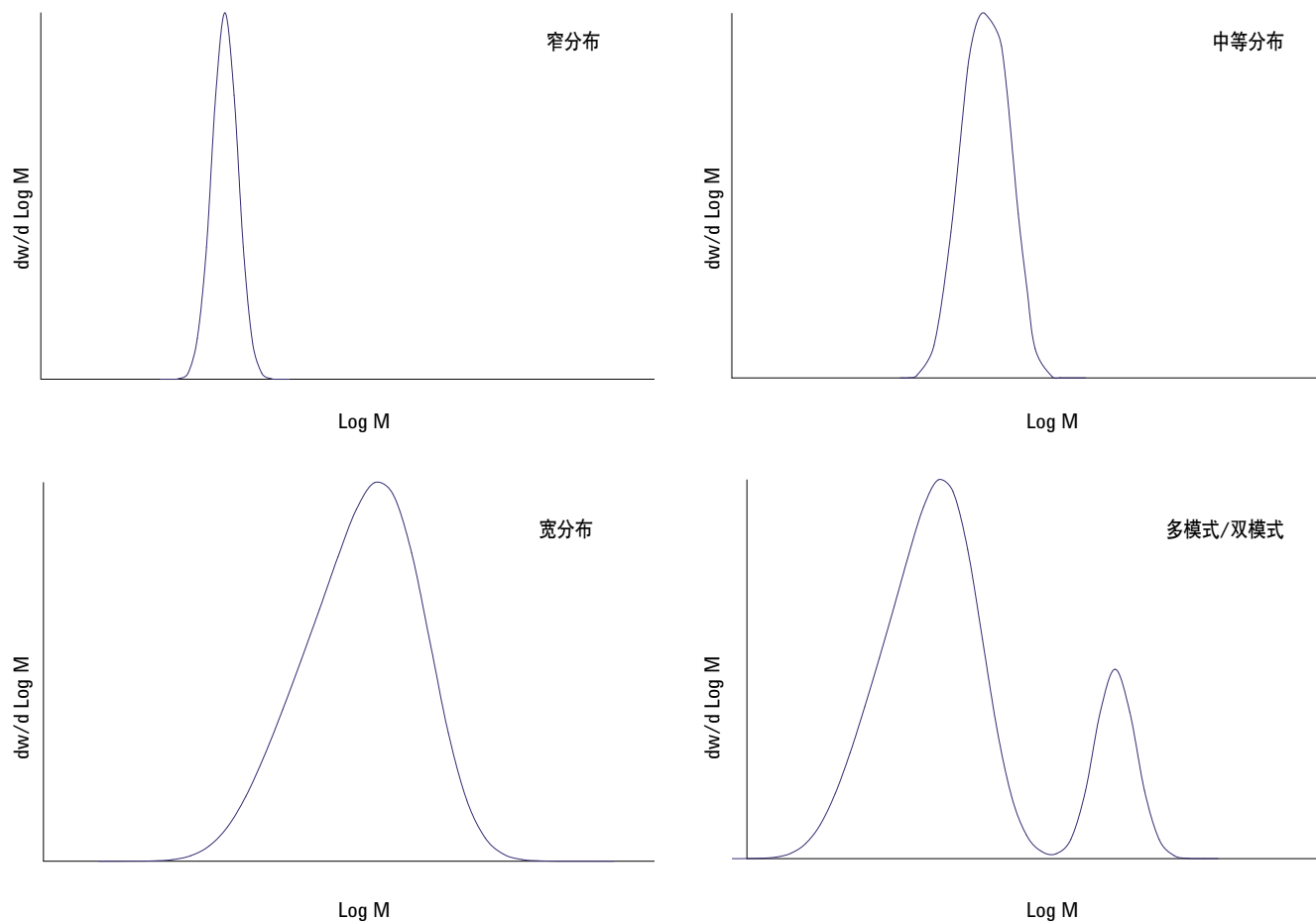


图 5. 不同的聚合物分子量分布

第三章 - GPC/SEC 的实施

GPC/SEC 系统的组成部件以及它们是如何一起工作的

一次色谱运行必须完成几项任务，包括将样品与溶剂混合，用泵输送到色谱柱上、检测样品组分以及捕获并显示结果（图 6）。我们将会依次介绍这些功能，尽量使您了解 GPC/SEC 系统，以及怎样配置一套性能卓越的系统。

溶剂和溶剂容器

在 GPC/SEC 中，溶剂的选择取决于几个因素。溶剂必须能够溶解样品——这可能一开始并不明显。有时，聚合物在室温下不能溶解，而升温后能溶解。溶剂必须不会引起样品和固定相间的其他任何作用，确保分离完全根据样品分子大小。

溶剂容器应该由透明玻璃制成（或者由棕色玻璃制成以避免溶剂受光照影响），并带有塞子以隔绝灰尘和限制溶剂挥发。在使用

之前用氦气或者超声净化溶剂非常有用，或者使用在线脱气机，因为溶剂中溶解的空气容易在使用时“逸出”，形成气泡，妨碍泵以设定流速运行。溶剂管路中一般装有一个过滤器，以阻止颗粒物进入泵。

柱温箱

GPC/SEC 一般在室温下运行，不过有些仪器在色谱柱和检测器安装的位置带有加热和恒温控制的柱温箱。对于某些黏度较大的溶剂来说，必须使用较高的温度（最大可达 220 °C）。例如三氯代苯或氯代萘，比常用的有机溶剂如四氢呋喃、氯仿或甲苯的黏度大。仪器在高温下运行时降低了黏度，从而降低了色谱柱背压，相应地提高了效率。也有些样品在低温下不溶解，在这种情况下，需要使用高温以在整个分析过程中维持样品的溶解。

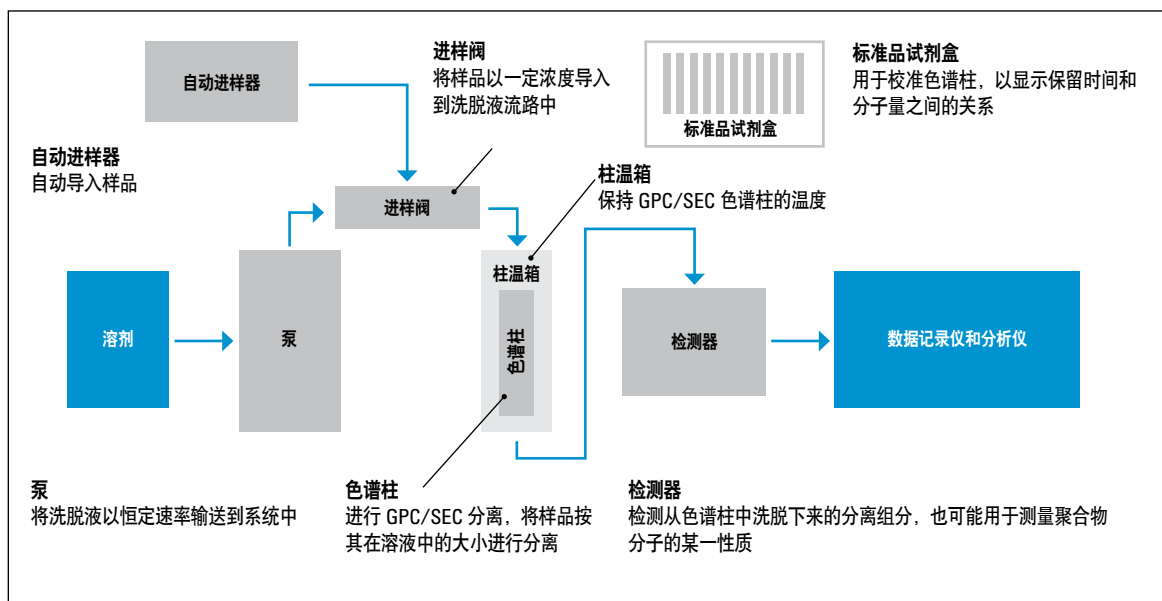


图 6. GPC/SEC 系统的主要部件

样品

对 GPC/SEC 来说，样品的制备非常重要，特别是大分子样品。制备分析所用的样品时，首先将样品溶解于合适的溶剂中。例如，有机相 GPC 中的四氢呋喃 (THF)，或水相 SEC 中的水性缓冲液。因为分离取决于样品分子的大小，所以，在进行色谱分析之前需要使样品充分膨胀并且完全溶于溶剂，这一过程可能长达 12-24 小时。

如果可能，应使制备样品的溶剂与系统中运行的洗脱液一致。分析所需的样品浓度取决于样品分子量和黏度。表 1 列出了分析型 GPC/SEC 常用的样品浓度及相应的进样体积。

表 1. 不同聚合物分子量适合的不同样品浓度

样品分子量 (g/mol)	样品浓度 % (重量/体积)
< 5000	< 1.0
5000 到 25000	< 0.5
200 到 400000	< 0.25
200 到 2000000	< 0.20
10000000	< 0.05

当样品数量多或体积大时，自动进样器（有时带有加热器和过滤器，以溶解和净化样品）减少了工作量。

进样和进样器

进样器在不中断流路的情况下将聚合物样品导入到溶剂流路中。进样体积一般为 20-200 μL ，见表 2。进样器不能干扰流动相的流动，这一点非常重要。

色谱柱和色谱柱组件

样品的分离在色谱柱内进行。色谱柱在中空的管子内紧密填充了非常小的多孔微球。多孔微球一般是聚合物或者硅胶，并具有明确的孔径。根据用途不同，色谱柱长度从 50 mm 到 600 mm，内径从 4.6 到 25 mm 不等。例如，小色谱柱 (50 x 7.5 mm 内径) 一般用作保护柱，中等大小色谱柱 (300 x 4.6 或 7.5 mm) 用于分析，而最大的色谱柱 (600 x 25 mm) 用于制备。色谱柱内微球的类型必须与不同应用相匹配。例如，安捷伦的有机相 GPC 色谱柱填充了交联的聚苯乙烯 / 二乙烯基苯微球，其粒径窄，大小在 3 到 20 μm 之间。孔径范围从 50 到 1000000 \AA 。早期 GPC/SEC 技术定义的孔径是当溶解于四氢呋喃并缠绕成的球形分子刚好进入时，聚苯乙烯分子的原始长度（未溶解时的状态），而不是孔的真实直径。而在 HPLC 中，孔径是指真实的孔的直径！

色谱柱可以填充带有不同孔径的不同大小的颗粒，以适应不同分子量范围的应用。这种特异性的原因是样品和溶剂的性质决定了哪种色谱柱配置能够提供最好的分析结果，这就是为什么现在有这么多种不同的粒径和孔径组合的原因——一种大小不能满足所有应用（更详细的解释请见常见问题章节）。尽管填料种类繁多，色谱柱规格却较少，仅仅有分析、制备和保护柱几种（见表 2）。一般将两支或三支色谱柱联用以改善系统的分离度。保护柱一般用在主色谱柱之前。顾名思义，保护柱通过阻止不溶解的颗粒或污染物（可能阻塞主色谱柱组件）而保护主色谱柱。



表 2. GPC/SEC 色谱柱的应用、优点和规格

应用要求	推荐的安捷伦色谱柱	优点	色谱柱规格	有机相或水相 (O 或 A)
合成聚合物的常规分析	PlusPore, PLgel	宽孔径分布涵盖了更大的分子量范围	分析型 高分离柱	O
使用光散射检测器时去除背景“噪音”	PLgel LS	没有微小颗粒物, 光散射数据更清晰	分析型 光散射柱	O
节省溶剂成本	PLgel MiniMIX	窄内径减少溶剂消耗	分析型窄径柱	O
聚合物分级	PLgel	大内径色谱柱允许较大上样体积	制备型	O
针对具体应用, 例如, 六氟异丙醇中的 聚酯/聚酰胺 聚烯烃 农药样品的净化	PL HFIPgel PLgel Olexis EnviroPrep	严格控制的填料化学结构	分析型专用柱	O O O
天然聚合物的常规分析	PL aquagel-OH	填料外表面亲水性强	分析型和 制备型	A
筛选分子量分布用于趋势分析	PL Rapide	缩短色谱柱长度和降低分离能力, 以适应高流速	分析型高速柱	O & A
极性, 非水溶性聚合物	PolarGel	填料表面极性中等	分析型	O & A
生物分子	Bio SEC	硅胶填料, 具有高分离度	分析型	A
防止被非挥发性残留物污染	适用于所有分析型色 谱柱	一致的填料化学结构和粒径	保护柱	O & A

更详细的色谱柱选择指南参见附录

泵

泵抽取溶剂并以恒定、准确和可重现的流速将溶剂输送到系统的其他部分。泵必须能够对无论何种黏度的溶剂均以相同的流速输送, 从而能够将某一次分析结果与其他分析结果比较。泵输送的压力必须平稳, 避免管路中出现脉动。使用不同溶剂时必须冲洗系统, 因此泵的内部体积必须很小才不会浪费溶剂。泵是系统设备中比较昂贵的部件, 因为必须使用惰性材料 (例如不锈钢、钛和陶瓷等, 避免与 GPC/SEC 使用的溶剂发生反应) 制造, 而且必须能承受住比较高的压力。



安捷伦 PL-GPC 50 一体式 GPC/SEC 系统。左侧为自动进样器, 右侧为显示器, 中间主机内安装了溶剂泵、柱温箱和检测器

检测器

色谱法利用从色谱柱上洗脱下来的样品分子和流动相的化学和物理性质对其进行检测，因此，利用化合物的不同性质开发了不同的检测器。如果有必要，仪器应具有较宽的灵敏度范围，才能同时对痕量组分和大量组分做出准确响应。检测器可以对流动相中因出现样品而产生的改变产生响应，也能仅对样品性质改变产生响应。前者响应必须非常灵敏，因为所测量的流动相的改变非常小。后者响应灵敏度要更高，不过常常只对特定样品产生响应。散射光的能力、分子黏度和紫外 (UV) 或红外 (IR) 的吸收强度都被用作测量参数。检测器可以分为仅测量浓度的检测器，例如示差折光 (DRI)、紫外和蒸发光散射 (ELS) 检测器；以及响应值与浓度和聚合物分子的其他性质成比例的检测器，例如静态光散射检测器或黏度计。

最常用的 GPC 检测器是基于折光率原理。这种检测器通过评价流动相和纯溶剂之间折光系数的差异进行检测，因此，被称为示差折光检测器 (DRI)。DRI 有时被称为“通用型”检测器，因为它可以对所有类型的聚合物产生响应。由于分子量大于约 1000 g/mol 以上的聚合物的折光系数为常数，检测器的响应值与样品的浓度直接成比例。

黏度计也比较流动相和纯溶剂，只是这里是以黏度，或者流动阻力为测量参数。这些检测器提供了其他常规浓度型检测器所不能提供的准确分子量测定以及聚合物分子密度的信息。

静态光散射检测器利用光到达聚合物分子时被散射这一现象进行检测。静态光散射检测器有多种类型，包括小角激光散射 (LALLS)、多角激光散射 (MALLS) 和直角激光散射 (RALLS)。这种类型检测器的优点是它们的响应信号与聚合物分子的分子量直接成比例，也能提供分子大小的信息。



安捷伦 PL-GPC 220 一体式 GPC/SEC 系统是一套极为强大的系统，能运行几乎所有聚合物、溶剂和温度的组合

常规 GPC/SEC 系统

一套常规 GPC/SEC 仪器由精确的溶剂输送系统、自动进样阀、色谱柱、浓度型检测器（例如高性能的 DRI），以及控制所有硬件、获取数据、执行数据分析和显示结果的软件组成。安捷伦 PL-GPC 50 一体式 GPC/SEC 系统（见 15 页）就是这样的仪器。

多检测器 GPC/SEC 系统

为了从 GPC/SEC 分析中获得最大效益，最好是使用不同的检测器以从样品中获得所有潜在的信息。这可以通过在同一 GPC/SEC 系统上使用包含浓度、黏度和静态光散射检测器的多检测器方式实现。如果所有的检测器都使用到了，则这项技术被称作三重检测。多检测器选件可以通过无需色谱柱校准的分析容易地确定准确分子量，并可以通过测量分子大小分析结构性质（例如聚合物骨架上的支链数目）。

自动化数据处理

数据管理软件（例如安捷伦 Cirrus）自动化地计算和存储 M_n 、 M_w 、 M_z 和多分散性 (M_w/M_n) 数据。PL-GPC 控制软件也提供了对 GPC/SEC 系统和多检测器的完全控制，因此可以无人值守地处理大量样品。GPC 分析软件也能用于安捷伦 OpenLAB CDS 化学工作站和 EZChrom 色谱数据系统。

第四章 - GPC/SEC 实例； 实际样品的分析

展示凝胶渗透色谱和体积排阻色谱价值的实例

阿拉伯树胶，好的和差的

阿拉伯树胶是一种多糖，作为粘度改进剂和胶凝剂广泛地应用于食品工业。这些水溶性聚合物的物理性能和可加工性与它们的分子量分布有关，而分子量分布可以使用两支安捷伦 PL aquagel-OH 色谱柱，通过 SEC 进行测定。“好”的和“差”的样品的分子量分布对比（图 7）显示出两批阿拉伯树胶之间存在一定的差异，“差”的样品明显含有更多的高分子量组分，而这可能使得它不适合工业加工。

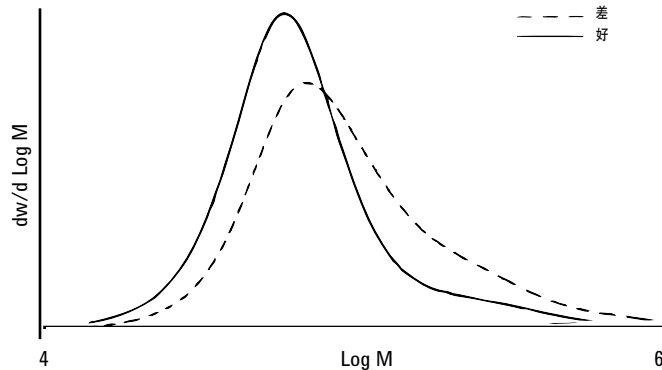


图 7. 通过分子量分布叠加曲线可以明显地看出两批标有“好”的和“差”的阿拉伯树胶之间的差异

指甲油分析

商品指甲油的配方复杂，一般包含六种组分：

- 纤维素成膜剂使指甲有色泽
- 树脂提高光泽度和确保粘附
- 塑化剂使得纤维素组分更柔韧
- 染料提供颜色
- 触变剂使染料保持悬浮状态
- 几种溶剂的混合液作为载体将各组分带到涂敷点

纤维素和树脂的性能决定了配方的硬度和持久性，极大地影响到最终涂层的质量。指甲油中最常用的两种物质是甲苯磺酰胺甲醛树脂 (TSF) 和硝化纤维。

这两种组分协同作用，产生了指甲油所需的性能：柔软的、暗淡的 TSF 树脂对指甲盖粘附较好，而硝化纤维强化了 TSF，使得涂层坚硬有光泽。对于这两种材料来说，分子量是影响最终应用效果的关键参数（图 8a 和图 8b）。

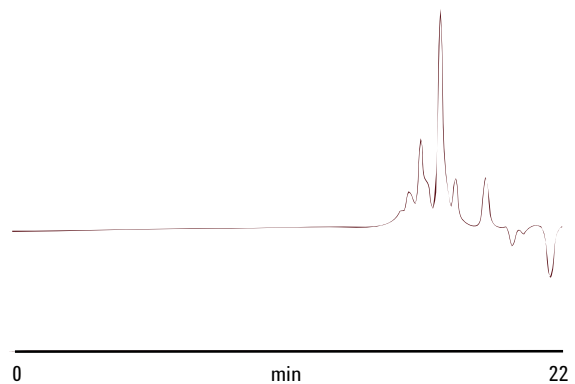


图 8a. 安捷伦 OligoPore 色谱柱分离指甲油的组分，揭示了各种低聚物成分以及各自的相对含量

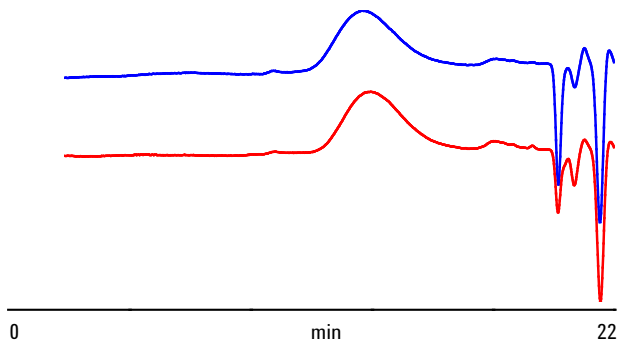


图 8b. 两批硝化纤维使用安捷伦 MesoPore 色谱柱分离，色谱图叠加结果显示它们非常相似，表明如果将它们用作指甲油的成分其作用是一样的。这就帮助生产商确保了不同批次的指甲油性能一致

改性 PVC

聚氯乙烯是一种热塑性塑料，广泛地应用于许多产品和行业中。它的物理和机械特征使得它非常适合多种不同用途，例如化妆品、食品、水、汽车和建筑行业。

未增塑 PVC 的熔体黏度较高，导致了一定的加工困难。对许多应用来说，最终产品也太脆了。为了克服这些问题，常使用添加剂作为抗冲击改性剂或加工助剂，以确保更一致的流动性从而提高表面光泽。最终材料的性能取决于 PVC 的分子量分布和所添加的增塑剂的类型和浓度。

因此，复合材料的分析十分重要。而 GPC/SEC 是对其进行表征的绝佳分析工具。

这里分析了含有不同增塑剂的三种不同级别的 PVC 管，分离色谱柱为 3 支安捷伦 PLgel 5 μm MIXED-C 色谱柱 (300 x 7.5 mm)。所有的三种样品都在同一保留时间得到了一个较宽的峰，这是 PVC 的峰 (约 17 分钟)，同时，在不同的保留时间得到了其他的色谱峰，这是不同增塑剂的峰。样品 1 含有脂肪族的增塑剂，而样品 2 为芳香族的。样品 3 两种都含有。在 29 分钟流出的共有峰是甲苯。甲苯添加在样品中用于流速校正。

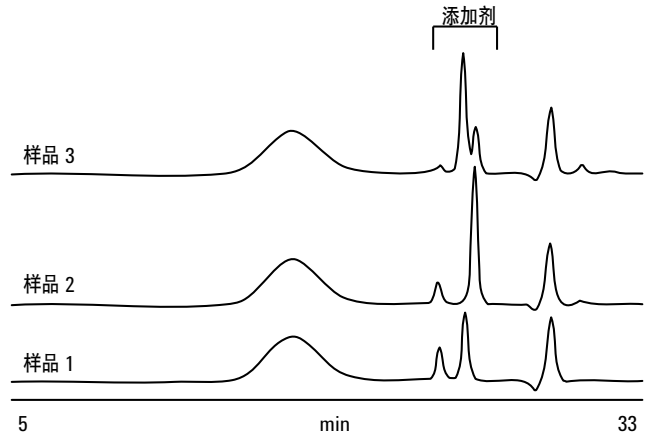


图 9. PVC 样品的色谱图显示了低分子量区域存在不同的添加剂

第五章 - 常见问题 (FAQ)

GPC/SEC 用户的一些常见问题

问：为什么我不能买一款色谱柱就能完成所有实验？

答：用于 GPC/SEC 的色谱柱有很多，有几个关键的不同点——填料的化学特征、色谱柱的分离范围和填料的粒径。那么，为什么会有如此多不同类型的色谱柱？

- 填料的化学特征——填料的化学特征是首先要考虑的要素。因此，安捷伦 PLgel 和 PlusPore 色谱柱填充了聚苯乙烯/二乙烯基苯共聚物微球，PL aquagel-OH 填充了特有的多羟基表面的亲水材料，而 PolarGel 填充了表面极性平衡的大孔共聚物材料。色谱柱填料的化学特征决定了它的溶剂兼容性。PLgel 设计用于有机溶剂，例如 THF；PL aquagel-OH 用于含水溶剂，而安捷伦 PolarGel 用于极性有机溶剂和溶剂混合物。由于溶剂种类繁多，没有哪支色谱柱能在每一种溶剂中都获得最好的分离效果；色谱柱的选择必须适合特定的应用。
- 分离范围——GPC/SEC 色谱柱涵盖了较广的分离范围，从几千 g/mol (PLgel 3 μm 100Å) 到 100000000 g/mol (Agilent PLgel Olexis)。色谱柱的孔径和分离范围与应用匹配是获得高质量结果的关键所在。例如，选择分离范围太大的色谱柱将导致分离度太低。因为色谱柱上存在的所有孔中仅有一小部分是适合分离聚合物分子的。相反地，选择样品中的分子有一部分不在分离范围之内的色谱柱将导致有的组分不能分离。选择分离范围与样品分子量范围相近的色谱柱，确保了色谱柱上的绝大多数孔都参与分离，因而分离度最大。
- 粒径——GPC/SEC 色谱柱的粒径范围在 3 μm 到 20 μm 。一般来说，填料颗粒越小，同样色谱柱长度条件下的分离度越高；同样分离度情况下的分离速度越快。举例来说，这也是为什么我们推荐 PLgel 3 μm 100Å 色谱柱用于 GPC/SEC 分离低分子量化合物，例如单、双和三酸甘油酯，以及链状烃类的原因。然而，当分离较大的弥散分子时，例如聚烯烃类，应选择较大粒径的填料以避免剪切降解，这一点十分重要。PLgel Olexis 色谱柱是这类应用的不二之选。

问：我将我的色谱柱走干了或者使用了不恰当的溶剂，它还有救么？

答：有时可以，取决于凝胶柱床是否还稳定。取下色谱柱，将新鲜溶剂冲入到 GPC/SEC 系统中，流速为 0.2 mL/min。所用溶剂应该与正常运行溶剂一致，并且不含任何盐或添加剂。一旦系统充满正常溶剂，将色谱柱接入到流路中，使用新溶剂以低流速冲洗，一般为正常运行流速的五分之一（0.2 mL/min 是相对于色谱柱运行流速为 1.0 mL/min）。冲洗至少三倍柱体积，然后将流速升高至正常运行流速，再冲洗三倍柱体积。

色谱柱中冲入了不恰当溶剂——按照走干的操作步骤，使用与色谱柱填料兼容的溶剂。无论如何，所用溶剂与色谱柱中的溶剂完全互溶是非常重要的。如果不确定兼容性，丙酮是有机相色谱柱的良好中间溶剂，而水相色谱柱必须用水进行置换。

测试——一旦完成以上步骤，重复运行已知的分离是测试色谱柱的重要方法。

附录

配置 GPC/SEC 系统的建议

以下问题将帮助您找到适合任何给定应用的推荐色谱柱和标准品，以及系统参数（如进样体积）。

选择 GPC/SEC 的洗脱液

问题	答案	建议	备注
1. 样品溶于什么溶剂?	含甲醇最多 50% 的水或水相缓冲液	安捷伦 PL aquagel-OH	水相应用的最佳选择，但不兼容有机溶剂（除了最高 50% 的甲醇）
许多聚合物只溶于很少的几种溶剂。这是开发聚合物分析方法的关键问题。这里涉及的溶剂都是 GPC/SEC 的常用溶剂。	一般有机溶剂，如 THF、氯仿、甲苯	安捷伦 PLgel 或安捷伦 PlusPore	PLgel 是主力色谱柱，PlusPore 色谱柱是备选
	有机/水混合溶剂，或极性有机溶剂，如 DMF、NMP	安捷伦 PolarGel	PolarGel 色谱柱范围比 PLgel 或 PL aquagel-OH 色谱柱小，但适用于有机和水混合溶剂

选择 GPC/SEC 的色谱柱

黑体字显示的规格为首选

问题	答案	建议	备注
2. 预计分子量是多少? 这个问题看起来似乎很奇怪，但是在 GPC/SEC 中，色谱柱的分离度与它的分离范围有关。了解样品的预计分子量有助于选择给出最优结果的最佳色谱柱。	高（最高达几百万）	水相溶剂 PL aquagel-OH MIXED-H 8 μm 或联用 PL aquagel-OH 40 和 60 15 μm	只有当样品黏度非常高时 15 μm 的色谱柱组合才最好，否则，8 μm 色谱柱的分离度更高
		有机溶剂 PLgel 10 μm MIXED-B 或 PLgel 20 μm MIXED-A	PLgel MIXED-A 分离的分子量比 PLgel MIXED-B 高，但由于填料粒径较大，因而柱效较低
		混合溶剂 PolarGel	没有合适的 PolarGel 色谱柱适合此分子量范围。请咨询您当地的 GPC/SEC 专家
	中等（最高达几十万）	水相溶剂 PL aquagel-OH MIXED-M 8 μm	宽范围色谱柱，涵盖了大多数的水溶聚合物
		有机溶剂 PLgel 5 μm MIXED-C 或 PLgel 5 μm MIXED-D, PolyPore 或 ResiPore	PLgel 色谱柱是应用范围最广的色谱柱，适用于绝大多数应用；PolyPore 和 ResiPore 色谱柱为备选
		混合溶剂 PolarGel-M	涵盖大多数应用
	低（最高几万）	水相溶剂 PL aquagel-OH 40 和 PL aquagel-OH 30 8 μm 联用	这两种色谱柱联用涵盖了低端的分子量范围
		有机溶剂 PLgel 3 μm MIXED-E 或 MesoPore	PLgel 色谱柱具有较高分离度，专为低分子量应用而设计；MesoPore 色谱柱是备选
		混合溶剂 PolarGel-L	适于低分子量应用
	极低（几千）	水相溶剂 PL aquagel-OH 20 5 μm	此高性能色谱柱对低分子量范围具有较高的分离度
		有机溶剂 OligoPore 或 PLgel 3 μm 100Å	OligoPore 色谱柱比 PLgel 色谱柱更不容易分散，不过两个都效果很好
		混合溶剂 PLgel	此范围内没有合适的 PolarGel 色谱柱，因此 PLgel 色谱柱为备选
未知	水相溶剂 PL aquagel-OH MIXED-M 8 μm	涵盖大多数聚合物样品的分子量范围	
	有机溶剂 PLgel 5 μm MIXED-C 或 PolyPore	PLgel 色谱柱是应用范围最广的色谱柱，适用于绝大多数应用	
	混合溶剂 PolarGel-M	涵盖大多数应用	

选择 GPC/SEC 的色谱柱

问题	答案	建议	备注
3. 样品是生物分子么?	抗体	Bio SEC-3	填料粒径更小, 具有高分离度
	蛋白质	Bio SEC-3 或 Bio SEC-5	降解/聚集研究
	RNA	Bio SEC-3	单链/双链
	生物大分子	Bio SEC-5	分子种类的大小分离

配置 GPC/SEC 系统

问题	答案	建议	备注
4. 应该使用多少支色谱柱? <i>色谱柱内填料的粒径 (取决于目标样品的分子量) 越大, 分离度越低, 因而需要多支色谱柱联用才能维持数据的质量。对于较高分子量的样品, 为了避免分析过程中样品出现剪切降解的风险, 必须使用较大颗粒的填料。</i>	取决于色谱柱内填料的粒径	粒径 20 μm 时使用 4 支色谱柱 粒径 13 μm 时使用 3 支色谱柱 粒径 10 μm 时使用 3 支色谱柱 粒径 8 μm 时使用 2 支色谱柱 粒径 5 μm 时使用 2 支色谱柱 粒径 3 μm 时使用 2 支色谱柱	对于大粒径填料色谱柱, 需要增加色谱柱数目, 以弥补柱效低的不足
5. 进样体积是多少? <i>进样体积取决于色谱柱内填料的粒径 —— 填料越小则进样体积越小, 以使死体积最小。采用较大进样体积时, 高分子量样品的进样浓度可以更低, 以降低黏度和确保获得高质量色谱图。</i>	取决于色谱柱内填料的粒径	粒径 20 μm 时, 进样量 200 μL 粒径 13 μm 时, 进样量 200 μL 粒径 10 μm 时, 进样量 200 μL 粒径 5 μm 时, 进样量 100 到 200 μL 粒径 3 μm 时, 进样量 20 μL	填料粒径越小时, 所需要的定量环越小, 从而峰展宽越小

我应该用什么样的标准品?

黑体字显示的标准品为首选

问题	答案	建议	备注
6. 选择哪种洗脱液? <i>标准品为聚合物, 所以标准品的选择主要考虑其在所选洗脱液中的溶解度。</i>	含甲醇最多 50% 的水或水相缓冲液	聚乙二醇 (PEG)/氧化乙烯 (PEO) 或多糖 (SAC)	这些标准品用于所有水相系统, 采用易用的安捷伦 EasiVial 形式
	一般有机溶剂, 如 THF、氯仿、甲苯	聚苯乙烯 (PS) 或聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)	聚苯乙烯是最常用的标准品, 采用易用的 EasiVial 形式
	有机溶剂/水混合溶剂, 或极性有机溶剂, 如 DMF、NMP	聚乙二醇/环氧乙烷 或聚甲基丙烯酸甲酯	极性标准品较为适合
7. 推荐使用何种形式的标准品? <i>可根据用户要求提供不同形式的标准品。</i>	适用于不要求准确浓度的最快速、最简单的方法	最方便的选择 —— EasiVial 或安捷伦 EasiCal	使用简便, 相比 EasiCal, 优先选择 EasiVial, 因为适用的聚合物类型更广泛
	如果需要准确浓度	需要准确的浓度 —— EasiVial 或独立标准品	两种形式都可用于需要准确样品浓度的情况, EasiVials 使用更简便
8. 是否为蛋白质?	是	蛋白质标准品	用于水相缓冲液中校准

典型的聚合物分子量

如果您不能确定您样品的分子量，下表列出了一些常见聚合物样品的大致分子量范围，帮助您选择正确的色谱柱。

聚合物类型	聚合物的典型分子量	聚合物的典型多分散度 ¹
自由基合成的聚合物	高（最高达几百万）	~ 2
	中等（最高达几十万）	
离子合成的聚合物	中等（最高达几十万）	~ 1.01
	低（最高几万）	
加聚合成的聚合物	中等（最高达几十万）	~ 2
	低（最高几万）	
受控自由基聚合的合成聚合物	低（最高几万）	~ 1.1 至 1.5
	极低（几千）	
聚烯烃	中等（最高达几十万）	~ 2 至 200
	高（最高达几百万）	
丙烯酸酯	中等（最高达几十万）	~ 2
	高（最高达几百万）	
小分子添加剂	极低（几千）	1
预聚物	低（最高几万）	~ 2 至 10
	极低（几千）	
树脂	低（最高几万）	~ 2 至 10
	极低（几千）	
天然生物聚合物，例如多糖	中等（最高达几十万）	~ 2 至 10
	高（最高达几百万）	
橡胶	中等（最高达几十万）	~ 2 至 10
	高（最高达几百万）	
可生物降解的聚合物	中等（最高达几十万）	~ 1.1 至 2
	低（最高几万）	

¹ 多分散度是衡量聚合物分子量分布的指标（多分散度 = M_w/M_n ）

订购信息

表 3. 使用有机溶剂的色谱柱订购信息

有机相 GPC 色谱柱		
说明	分子量范围 (g/mol)	部件号
PLgel 20 µm MIXED-A, 300 x 7.5 mm	2000 到 40000000	PL1110-6200
PLgel 20 µm MIXED-A LS, 300 x 7.5 mm	2000 到 40000000	PL1110-6200LS*
PLgel 10 µm MIXED-B, 300 x 7.5 mm	500 到 10000000	PL1110-6100
PLgel 10 µm MIXED-B LS, 300 x 7.5 mm	500 到 10000000	PL1110-6100LS*
PLgel 5 µm MIXED-C, 300 x 7.5 mm	200 到 2000000	PL1110-6500
PLgel 5 µm MIXED-D, 300 x 7.5 mm	200 到 400000	PL1110-6504
PLgel 3 µm MIXED-E, 300 x 7.5 mm	最高达 30000	PL1110-6300
PLgel 3 µm 100Å, 300 x 7.5 mm	最高达 4000	PL1110-6320
PolyPore, 300 x 7.5 mm	200 到 2000000	PL1113-6500
ResiPore, 300 x 7.5 mm	200 到 400000	PL1113-6300
MesoPore, 300 x 7.5 mm	最高达 25000	PL1113-6325
OligoPore, 300 x 7.5 mm	最高达 4500	PL1113-6520

* 低流失, 适合光散射应用

表 4. 使用混合溶剂的色谱柱订购信息

混合溶剂 GPC 色谱柱		
说明	分子量范围 (g/mol)	部件号
PolarGel-M, 300 x 7.5 mm	最高达 700000	PL1117-6800
PolarGel-L, 300 x 7.5 mm	最高达 30000	PL1117-6830
PLgel - 见表 3		



表 5. 使用水相溶剂的色谱柱订购信息

水相 GPC/SEC 色谱柱		
说明	分子量范围 (g/mol)	部件号
PL aquagel-OH 15 µm 60, 300 x 7.5 mm	200000 到 10000000	PL1149-6260
PL aquagel-OH 15 µm 40, 300 x 7.5 mm	10000 到 200000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-H, 300 x 7.5 mm	100 到 10000000	PL1149-6800
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-M, 300 x 7.5 mm	100 到 400000	PL1149-6801
PL aquagel-OH 8 µm 60, 300 x 7.5 mm	200000 到 10000000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 8 µm 50, 300 x 7.5 mm	50000 到 1000000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 8 µm 40, 300 x 7.5 mm	10000 到 200000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 8 µm 30, 300 x 7.5 mm	100 到 30000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 5 µm 20, 300 x 7.5 mm	100 到 10000	PL1120-6520
Bio SEC 色谱柱用于分离生物分子, 包括蛋白质、寡核苷酸、和大分子复合物		
Bio SEC-3, 100Å, 7.8 x 300 mm	100 到 100000	5190-2501
Bio SEC-3, 100Å, 4.6 x 300 mm	100 到 100000	5190-2503
Bio SEC-3, 150Å, 7.8 x 300 mm	500 到 150000	5190-2506
Bio SEC-3, 150Å, 4.6 x 300 mm	500 到 150000	5190-2508
Bio SEC-3, 300Å, 7.8 x 300 mm	5000 到 1250000	5190-2511
Bio SEC-3, 300Å, 4.6 x 300 mm	5000 到 1250000	5190-2513
Bio SEC-5, 100Å, 7.8 x 300 mm	100 到 100000	5190-2516
Bio SEC-5, 150Å, 7.8 x 300 mm	500 到 150000	5190-2521
Bio SEC-5, 300Å, 7.8 x 300 mm	5000 到 1250000	5190-2526
Bio SEC-5, 500Å, 7.8 x 300 mm	15000 到 5000000	5190-2531
Bio SEC-5, 1000Å, 7.8 x 300 mm	50000 到 7500000	5190-2536
Bio SEC-5, 2000Å, 7.8 x 300 mm	>10000000	5190-2541

如需 GPC/SEC 色谱柱的完整列表, 请访问 www.agilent.com/chem/gpcsec:cn

如需 Bio SEC 色谱柱的完整列表, 请访问 www.agilent.com/chem/bioHPLC:cn

表 6. 校准标准品的订购信息

校准标准品		
说明	分子量范围 (g/mol)	部件号
安捷伦 EasiVial PEG/PEO 2 mL 预称量校准试剂盒	106 到 1200000	PL2080-0201
安捷伦 EasiVial PEG 2 mL 预称量校准试剂盒	106 到 35000	PL2070-0201
安捷伦 PEG-10 聚乙二醇校准试剂盒	106 到 22000	PL2070-0100
安捷伦 PEO-10 聚氧化乙烯校准试剂盒	20000 到 1000000	PL2080-0101
安捷伦 SAC-10 直链淀粉多糖校准试剂盒	180 到 850000	PL2090-0100
安捷伦 PAA-10 聚丙烯酸钠盐校准试剂盒	1000 到 1000000	PL2140-0100
安捷伦 PS-H EasiVial 2 mL 预称量聚苯乙烯校准试剂盒	162 到 6000000	PL2010-0201
安捷伦 PS-M EasiVial 2 mL 预称量聚苯乙烯校准试剂盒	162 到 400000	PL2010-0301
安捷伦 PS-L EasiVial 2 mL 预称量聚苯乙烯校准试剂盒	162 到 40000	PL2010-0401
安捷伦 EasiCal PS-1 预称量的聚苯乙烯试剂盒	580 到 7500000	PL2010-0501
安捷伦 EasiCal PS-2 预称量的聚苯乙烯试剂盒	580 到 400000	PL2010-0601
安捷伦 S-H-10 聚苯乙烯校准试剂盒	300000 到 15000000	PL2010-0103
安捷伦 S-H2-10 聚苯乙烯校准试剂盒	1000 到 15000000	PL2010-0104
安捷伦 S-M-10 聚苯乙烯校准试剂盒	580 到 3000000	PL2010-0100
安捷伦 S-M2-10 聚苯乙烯校准试剂盒	580 到 300000	PL2010-0102
安捷伦 S-L-10 聚苯乙烯校准试剂盒	162 到 20000	PL2010-0101
安捷伦 S-L2-10 聚苯乙烯校准试剂盒	162 到 4500	PL2010-0105
安捷伦 M-M-10 聚甲基丙烯酸甲酯校准试剂盒	1000 到 1500000	PL2020-0101
安捷伦 M-L-10 聚甲基丙烯酸甲酯校准试剂盒	600 到 50000	PL2020-0100
安捷伦 PR-10 蛋白质校准试剂盒	75 到 2000000	PL2150-0100

所有以上聚合物类型也提供标称分子量标准品

如需校准标准品的完整列表, 请访问 www.agilent.com/chem/gpcsec:cn



安捷伦 GPC/SEC 解决方案

安捷伦制造了全系列的 GPC/SEC 仪器和消耗品，致力于为实际应用提供优质的解决方案

多检测器 GPC 系统

多功能的安捷伦 390-MDS 多检测器套装包含示差折光、光散射和黏度检测器的各种组合，所有检测器均单独加热到 60 °C，提高了基线稳定性和数据质量。只需将 390-MDS 连接到能够等度洗脱的 LC 系统上，就得到了强大的、多功能的 GPC 系统。数据采集由专属的集中控制模块实现。控制模块带有模拟输入功能，可以将外部检测器和 390-MDS 数据收集到同一数据文件，便于经济地使用现有检测器。根据您的喜好，您可以选择手动控制或软件控制，也可以同时选择二者。

室温条件下的 GPC

安捷伦 PL-GPC 50 一体式 GPC/SEC 系统是一个独立的系统，包括了分析各种聚合物必须的所有组件。PL-GPC 50 带有泵、进样阀、柱温箱以及脱气机选件，并包含示差折光、光散射和黏度检测器的各种组合，是开始进行 GPC 分析或想要简便的单一解决方案时的理想选择。

色谱柱柱温箱运行温度高达 50 °C，减少了使用粘性溶剂时的色谱柱背压，提高了色谱柱寿命和色谱数据质量。软件控制采用直观的界面，易于使用，并且适合对色谱了解极少的用户使用。

简单可靠的聚合物表征，运行温度高达 100 °C

安捷伦 1260 Infinity GPC/SEC 分析系统采用了精确的等度溶剂输送系统，提供了恒定、稳定的流速——这对维持 GPC/SEC 色谱柱的高分离度是十分重要的。精确的流量控制和出色的柱温箱温度稳定性，确保分子量测定具有最高的准确性和精确性。确保色谱柱温度稳定，温度范围从低于室温 10 °C 到 80 °C，或者可选 100 °C。

高温 GPC

安捷伦 PL-GPC 220 一体式 GPC/SEC 系统完全适合要求最高的 GPC 实验。PL-GPC 220 是最高级的 GPC 系统，能够将色谱柱、进样阀和检测器加热到最高达 220 °C，几乎可以分析任何溶剂中的任何聚合物。

灵活的检测器选项，包括了示差折光、光散射和黏度检测器的各种组合。通过添加额外检测器，您可以随时轻松升级。对于需要全流程加热以维持样品溶解度等需要升温的困难应用，PL-GPC 220 是最佳和最稳定的选择。

自动化 GPC/SEC 系统

安捷伦 PL-AS RT 和 PL-AS MT 是专为 GPC 和 SEC 设计的小巧的自动进样器。PL-AS RT 在室温下运行，而 PL-AS MT 最高运行温度达 120 °C。这些自动进样器是简单而强大的 GPC 系统（包括 PL-GPC 50 和 390-MDS）自动化工具。

双规格的自动进样器样品盘使您可以灵活地选择样品瓶规格，并且通过标准的仪器控制软件，可以实现完全整合和自动化。



安捷伦 1260 Infinity GPC/SEC 分析系统

词汇表和缩略语

Å – 埃，长度单位，为 10^{-10} 米（也就是 0.000000001 米），以 Anders Ångstrom 命名（瑞典天文学家和物理学家）。 $1\text{Å} = 0.1$ 纳米。

保留时间 – 分析物通过色谱系统（从进样阀到检测器）所花费的时间。

背压 – 当泵输送液体通过色谱柱时填料产生的阻力（压力）。小颗粒填料填充更紧密，产生比大颗粒填料更高的背压。

不动相 – 同固定相。

超流体 – 维持在临界温度和临界压力以上时的物质，临界状态下具有气体和液体的双重性质。超流体能像气体一样通过固体，也能像液体一样溶解物质。色谱中最常用的超流体是二氧化碳。

超声发生器（超声仪） – 产生非常高频率声音的仪器；用于溶解、混合、细胞破碎、乳化和液体除气。

低聚物 – 由少量重复单元形成的聚合物。

多分散、多分散性 – 当聚合物由各种大小的分子组成时称为多分散聚合物。多分散性用来衡量分子量范围的宽度。合成聚合物是多分散的。

多羟基化合物 – 带有多个羟基 (-OH) 基团的化合物。

二乙烯基苯 (DVB) – 苯环连接了两个乙烯基团的化合物。DVB 与聚苯乙烯 (PS) 反应，形成交联的共聚物。PS/DVB 是制造 GPC/SEC 色谱柱填料的常用材料。

分析物 – 需要被色谱分离的物质。

GPC – 凝胶渗透色谱。

共聚物 – 由两种不同重复单元构成的聚合物。

固定相 – 填充在色谱柱中固定不动的填料。

HPLC – 高效液相色谱，其流动相使用泵输送到色谱柱。

基团 – 分子中的特征结构。

检测器 – 对被分析物有响应的仪器。检测器可以内置于色谱仪中，也可以作为独立的模块。

键合相 – 键合到填料颗粒或色谱柱内壁上的固定相。

剪切降解 – 由于泵压力、样品大小、填料大小和流动相等不匹配导致色谱柱内样品分子碎裂成较小片段的现象。

交联 – 将两条聚合物链连接在一起的短侧链。

聚苯乙烯 – 由苯乙烯分子重复连接而成的聚合物。

聚合物 – 由重复单元构成的大分子。

孔 – 填料颗粒上的空洞。

LC – 液相色谱，其流动相为液体、水、有机溶剂或超流体。

流动相 – 流过色谱柱的液体、气体或超流体。流动相由被分析的化合物及携带这些化合物通过色谱柱的溶剂组成。

Mn – 数均分子量。

Mp – 峰值分子量，色谱峰的最高点。

Mw – 重均分子量。

Mz – z 均分子量。

nm – 纳米，是 10^{-9} 米，也就是 0.000000001 米。

黏度 – 流体抵抗剪切应力和拉伸应力所致形变的量度。

亲水性 – 化合物对水分子的吸引能力。

溶质 – 溶解在洗脱液中的样品。

SEC – 体积排阻色谱。

色谱图 – 色谱实验结果的图形显示。

色谱柱 – 流动相流过的装填了固定相的中空不锈钢或玻璃管。

(色谱柱的) 排阻限 – 大于排阻限的分子不能进入孔内，将无障碍地通过色谱柱。

μm – 微米 (micron) 是一米的百万分之一， 10^{-6} 米，也就是 0.000001 米。

洗脱液 – 流入流出色谱柱的流动相。

折光率 – 光通过真空和通过化合物时的速度比率。真空 RI 为 1，空气里约 1.0003，水中约 1.33，玻璃中约 1.5。

进一步阅读的建议

Dong, M (2006) *Modern HPLC for Practicing Scientists (从业科学家的现代高效液相色谱法)*。John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, U.S.A.

Houlgate, P & Lee, E (1999) *Guide to Improving Analytical Quality in Chemistry (提高化学分析质量指南)*。LGC, Teddington, UK.

Lewis, GF (1985) *Analytical Chemistry, An Introduction – 2nd Ed (分析化学入门——第二版)*。Macmillan, London, UK.

Mori, S & Barth, H (1999) *Size Exclusion Chromatography (体积排阻色谱)*。Springer Verlag, Berlin, Germany.

Striegel, A (2004) *Multiple Detection in Size-Exclusion Chromatography (体积排阻色谱法的多重检测)*。American Chemical Society, Washington, DC, U.S.A.

Wu, C-S (2003) *Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques (体积排阻色谱及相关技术手册)*。Marcel Dekker, New York, NY, U.S.A.

Striegel, AM, Yau, WW, Kirkland, JJ & Bly, DD (2009) *Modern Size-Exclusion Chromatography (现代体积排阻色谱法)*。John Wiley & Sons, Chichester, UK.

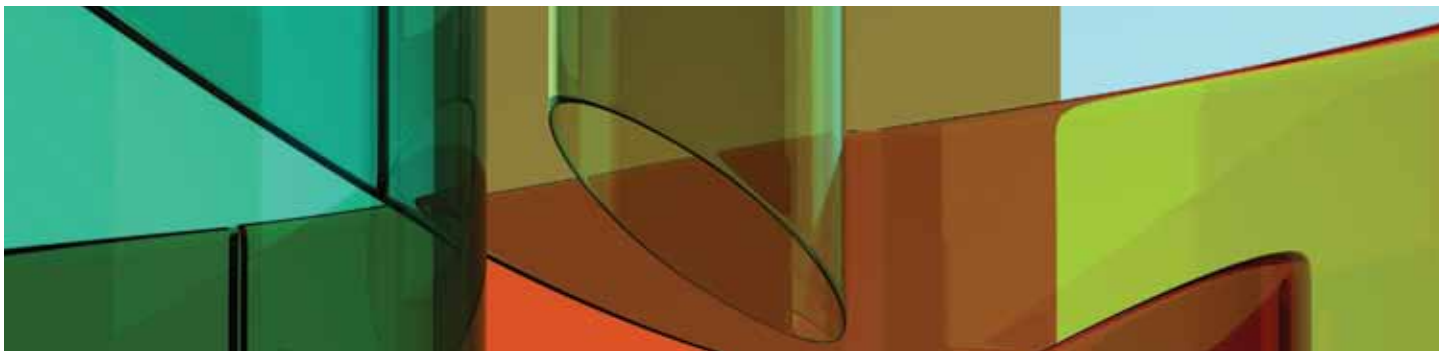
安捷伦已经出版了有关可生物降解聚合物、工程聚合物、聚烯烃分析、弹性材料和低分子量树脂的应用文集。此外，我们也提供一系列有关 GPC/SEC 各个方面的全面和详实的文献，包括应用简报、产品说明和技术概述。

出版物	出版号
可生物降解的聚合物	5990-6920CHCN
工程聚合物	5990-6970CHCN
聚烯烃分析	5990-6971CHCN
弹性材料	5990-6866CHCN
低分子量树脂	5990-6845CHCN

在资料库中查找我们所有的出版物，请访问 www.agilent.com/chem/library:cn

如需订购信息，请访问 www.agilent.com/chem/store:cn

备注



安捷伦和 Polymer Laboratories 公司

位于英国什罗浦郡的安捷伦科技公司（即以前的 Polymer Laboratories 公司）由拉夫堡大学的聚合物研究小组于 1976 年建立。我们的目标是“开发用于色谱领域的技术和仪器；开发应用于色谱、诊断和制药领域的高科技聚合物产品”。

分离科学小组为采用体积排阻色谱法（GPC/SEC）进行聚合物的水相和有机相表征提供全面的解决方案。我们开发和生产完全集成的 GPC 系统，还有数据处理软件、色谱柱和聚合物标准品。我们也生产一系列配体交换色谱柱，用于 HPLC 法分析糖类、有机酸和醇类。十多年前，分离科学小组将业务扩展到生命科学领域，提供用于分析和纯化生物分子的色谱产品。此外，我们生产用于药物发现中快速纯化的一系列仪器和消耗品。

生命科学小组的 Microparticles 部门开发和制造用于临床检测和测试的微粒，应用范围从个人妊娠测试到 HIC 检测，与全球范围的主要临床公司保持密切伙伴关系。这些广泛的应用技术涵盖了乳、磁、高度色彩化和功能化的离子。

我们针对治疗性多肽和寡核苷酸分析的树脂产品已经使我们的药物发现业务超出了色谱领域，专注于利用医学和组合化学（当今发展最快的科学领域）进行药物开发的树脂研发。

www.agilent.com/chem/gpcsec:cn

本文中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011 版权所有
2011 年 2 月 4 日，中国印刷
5890-6969CHCN