

## 凝胶渗透色谱正确选择检测器的重要性

作者: **Stephen Ball**, 马尔文仪器纳米颗粒及分子表征产品市场经理

凝胶渗透色谱分析法或尺寸排除色谱法 (GPC/SEC) 是高分子、大分子和蛋白质常用的主要分析手段, 其中最主要的原因是它能对分子量和分子量分布数据进行定量表征。人们通常将上述分析方法分为两步。第一步: 利用含有适当特性微孔填充材料的色谱柱对溶解样品按照分子大小/体积进行分离; 第二步: 利用适当的检测仪器对被分离的样品进行分析。本文中, 来自马尔文仪器的产品市场经理 **Stephen Ball** 将向您阐述可以采用的检测器技术及其提高分析效率的潜在可能。

GPC/SEC 系统的传统配置为: 采用单个折光指数 (RI) 检测器对浓度进行测量, 在这种配置下, 利用参照校准数据可以得到 *相对* 分子量分布数据。这对某些常见的高分子材料和/或质量控制比较适合, 但分析者越来越多地倾向于采用具有如下特点的多检测仪组合 GPC/SEC 系统:

- 无需色谱柱校准即可取得所有材料的绝对数据,
- 极大提高数据处理效果

目前市面上有很多可用于 GPC/SEC 的检测仪。由于分析具有两阶段的特性, 因此在选择合适的系统时有很多问题需要考虑。完全一体化的单一检测器固然有优势, 但我认为它与选择最佳检测仪组合解决方案相比只能说是次优方案。对检测器的选择进行优化是一种既直接又高效的方法, 具有较多优势, 比如可以仅通过一次实验就获得能确定分子量、流体力学尺寸和分子结构的表征。

这就提出了一个问题: 如何才能为以应用为基础发掘最佳的检测器系统? 这个问题牵涉很广, 但却为我们初步了解不同检测器的优势提供了一个良好的契机。

首先从粘度计开始, 它可以测量各种粘度参数, 而对于聚合物溶液而言, 它可以建立起与样品分子量之间的关联。当与 RI 检测器一同使用时, 粘度计可以实现普氏校准, 系统无需再寻找与待测样品十分接近的标准样品, 同时也提高了分子量分布数据的完整性。粘度测量还可以确定结构方面的信息, 比如可以对聚合物分支进行定量分析。

接下来让我们来看看静态光散射检测器, 它们可以对绝对分子量进行直接测量。由于市场上存在着各种不同的检测仪, 如 LALS、RALS 和 MALS, 因此问题就开始变得复杂了。上述所有这些检测仪都通过测量散射光的能量来得到分子量, 但散射光能量随角度各不相同, 比如, 小角度光散射检测仪 (LALS) 以  $7^\circ$  的角度检测入射光线, 直角光散射 (RALS) 以  $90^\circ$  测量入射光线, 此外还有多角度测量光散射仪 (MALS)。

上述仪器各有优势，本文不一一展开论述，但我们需要了解的关键是它们各自的特点？对大分子而言 (>12nm)，其产生的散射光强度的变化与入射光线角度呈函数关系。得到分子量的数学方法是利用入射光线在  $0^\circ$  时的散射光强度通过锐利散射方程得到分子量，而  $0^\circ$  度角的散射光是无法直接测量的，因此人们开发了专门针对检测这些大分子的方法。

**LALS** 检测仪以非常接近入射光线的角度进行测量，从而无需另行外推计算。**MALS** 检测仪则进行多个角度的测量，并利用测量结果外推得到  $0^\circ$  时的散射光强度。将各种技术放在一起探讨已成为行业的一种趋势和偏好，例如，**SEC-MALS** 已成为蛋白质表征的标准方法，而 **RALS** 则被认为是基于分子大小的蛋白质表征的最佳选择。

动态光散射技术 (**DLS**) 进一步丰富了光散射检测仪的选择范围，它是一种广泛应用的测定纳米级粒径范围的粒度测量手段，对某些 **GPC/SEC** 用户非常有效。该技术的主要应用领域是蛋白质分析，它可以对流体力学分子半径进行精确测量。**DLS** 检测仪同时还能进行静态光散射测量，由此开启了进行分子量测量的可能。

最后还有一种同样重要的技术可供选择，就是基于紫外光技术的单波长或多波长检测仪。对于含有染色体的样品来说，单波长紫外光检测仪是更精确的测量方法，用以替代 **RI** (折射系数) 检测仪对浓度进行测量。不过它可与 **RI** 检测仪相结合来确定各流出组分中特定成分的比例，这对于评单体浓度具有极高的价值。**PDA** 检测器测量多波长的能力则进一步拓展了检测仪的灵活性和功能性。

本文是对当前 **GPC/SEC** 技术的简单总结，其中有两点笔者认为对于优化检测仪的应用非常重要。首先应当认识到，检测器技术的发展对 **GPC/SEC** 潜在价值所带来的影响至关重要；其次，要选择适合公司应用的检测仪组合，很重要的一点是要获得一些技术认知并采用符合逻辑的选择方法。在 **GPC/SEC** 的这一方面树立正确的观点，是对今后改善长期检测效率和以最经济的方式进行数据采集的关键。