

# 凝胶色谱法测定负载化硅胶的相对分子量

刘颖慧, 钮正睿, 曹进\*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 建立测定负载化硅胶的相对分子质量的凝胶色谱法。**方法** 使用凝胶色谱法测定负载化硅胶的相对分子量, 选取已知不同分子量的聚乙二醇高聚物作为标准品, 对检测结果进行标准曲线拟合, 得到最佳拟合标曲, 采用 Shodex SB-802 HQ 凝胶色谱柱分离, 示差折光检测器检测, 测得准确负载化硅胶的相对分子量。**结果** 使用本方法测得未知负载化硅胶样品相对分子量为  $6.326 \times 10^3$ , 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.45%。**结论** 该方法简单、可靠, 可用于测定负载化硅胶的相对分子量。

**关键词:** 负载化硅胶; 聚乙二醇; 示差折光检测器

## Determination of relative molecular weight of the loading silicone by gel permeation chromatography method

LIU Ying-Hui, NIU Zheng-Rui, CAO Jin\*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of relative molecular weight of the loading silicone by gel permeation chromatography (GPC) method. **Methods** The relative molecular weight of the loading silicone was determined by gel permeation chromatography. Polyethylene glycol (PEG) polymers with different molecular weights were selected as the standard material, and the test results were fitted with standard curve to obtain the optimal fitting standard curve. Shodex sb-802 HQ gel chromatographic column was used for separation and the molecular weight of the loading silicone accurately was determined by differential refraction detector. **Results** By using this method, the relative molecular weight of the unknown loading silicone samples were  $6.326 \times 10^3$ , and the relative standard deviation (RSD) was 1.45%. **Conclusion** This method is simple and reliable, which can be used to determine the molecular weight of loading silicone.

**KEY WORDS:** loading silicone; polyethylene glycol; differential refraction detector

## 1 引言

在食品工业生产中, 食品包装材料的品质对食品质量和安全影响作用不容忽视, 目前市面上所采用的材料多数为聚乙烯, 而高聚物的分子量及分子量分布, 是研究高分子材料性能的最基本数据之一。它涉及到高分子材料及其制品的力学性能、流变性质、加工性能和加工条件的选择。合成聚合物一般是由不同分子量的同系物组成的混合

物, 具有 2 个特点: 分子量大、多分散性<sup>[1,2]</sup>。负载化硅胶是一种在硅胶上将离子等小分子物质以各种方法添加上去的合成大分子聚合物, 可以用来选择性吸附各种物质。

有关凝胶色谱法(gel permeation chromatography, GPC)测定高分子量物质的研究出现已久, 目前, 测定聚合物的分子量的方法主要有粘度法<sup>[3]</sup>、气相渗透法(vapour pressure osmometry, VPO)<sup>[4]</sup>、凝胶色谱法(gel chromatography, GPC)<sup>[5]</sup>、光散射法(light scattering, LS)、动

\*通讯作者: 曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向食品分析。E-mail: caojin@tsinghua.org.cn

\*Corresponding author: CAO Jin, Ph.D, Professor, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@tsinghua.org.cn

态流变法<sup>[5,6]</sup>、质谱法<sup>[7]</sup>等, 还有建立多角度激光光散射检测器和示差折光检测器联用测定壳聚糖分子量及分子量分布的方法, 获得了各样品的分子量和分子量分布以及样品的聚集态信息<sup>[8-10]</sup>, 对于负载化硅胶分子量的确定, 未见相关资料。

示差折光检测器的精密度和准确度均很高, 区别于多角度激光光散射检测器, 其成本低、效率高, 测量数据在真值附近较集中, 测量精确度高<sup>[11-13]</sup>, 故本文仅选择示差折光检测器对样品进行了测定, 通过曲线拟合得到更合适的标曲, 测得相对准确的相对分子量, 这对采用多角度激光光散射检测器的检测方法提供了一种互补, 同时对今后仅用示差来做样并建立标准曲线对负载化硅胶分子量的测定提供了很好的参照。

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器与试剂

Optilab rex 示差折光检测器(美国 Wyatt 公司); Rheodyne 7725i 进样器(美国安捷伦公司); P230 高压恒流泵(中国依利特公司); SB-802HQ 色谱柱(中国 Shodex OHpak 公司); MICRO PES 水相滤膜(孔径 0.22  $\mu\text{m}$ , 天津市津腾实验设备有限公司); 0.6\*25TW LB 无菌注射器(1 mL, 河南曙光健士医疗器械集团股份有限公司)。

聚乙二醇分子量分别为 200、600、1000、4000、6000、10000、20000(化学纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硝酸钠(分析纯 AR, 上海沪试实验室器材股份有限公司); 18 M $\Omega$  超纯水(法国 Millipore 公司)。

### 2.2 色谱条件

流动相: 0.1 mol/L NaNO<sub>3</sub> 溶液; 流速: 0.5 mL/min; 进样量: 50  $\mu\text{L}$ ; 0.2%NaN<sub>3</sub> 溶液。

### 2.3 样品及前处理

负载化硅胶, 分子量约几千至一万, 无色, 固体。  
称取 0.05 g 待测样品溶于 10 mL PE 管中, 待样品充

分溶解放置一夜, 过滤膜后待测。

## 2.4 标准曲线的制作

采用 Astra 软件, 在同一实验条件下对不同分子量的聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)及样品进行色谱峰采集, 每个样品重复 3 次。对每个 PEG 峰进行定基线, 定峰, 对不同分子量 PEG 组合进行标准曲线拟和。

## 3 结果与分析

### 3.1 标准曲线的拟和优化

选取聚乙二醇(PEG)作为水相标准品测定 Astra 软件标准曲线的制作, 通过不同分子量 PEG 标准品的单标曲线来制定拟合标准曲线, 带入样品, 得出样品的分子量。PEG 的选取范围从 200 至 20000, 涵盖了凝胶色谱所能检测的最小范围及不更换色谱柱的情况下所能测量的最大测量限, 保证了实验条件的一致, 提高了样品测定结果的可信度。拟合度为 3, 拟合度较高<sup>[2]</sup>, 所需单标数量为 4 个, 形成一个完整的曲线(拟合度越高, 线性相关性越好, 结果也更接近样品真实值)<sup>[14,15]</sup>。

### 3.2 不同分子量 PEG 标准品的标准曲线分析

将 6 个等级分子量 PEG 标准品全部配成等浓度体积 (10 mg/L) 溶液, 得到标准品谱图如图 1。

分子量为 200 的点与曲线偏离太远, 舍去。将样品带入该标准曲线, 得到的 peak1 的分子量为  $8.314 \times 10^2$ , 误差为 49%, peak2 的分子量为  $4.087 \times 10^1$ , 误差同为 49%。

将 8 组分子量平分为大分子量组 B 和小分子量组 A, 选取较大的 4 个标准品及较小的 4 个标准品分别建立标曲。具体分组情况如表 1 所示。得到的曲线如图 2~3 所示。

表 1 不同分组分子量  
Table 1 Different groups of molecular weights

分组	分子量			
A	200	600	1000	4000
B	4000	6000	10000	20000

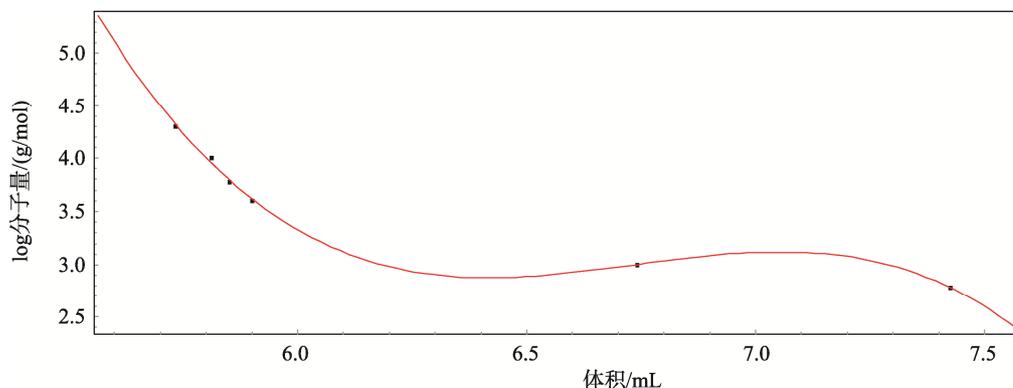


图 1 标准曲线

Fig. 1 The standard curve

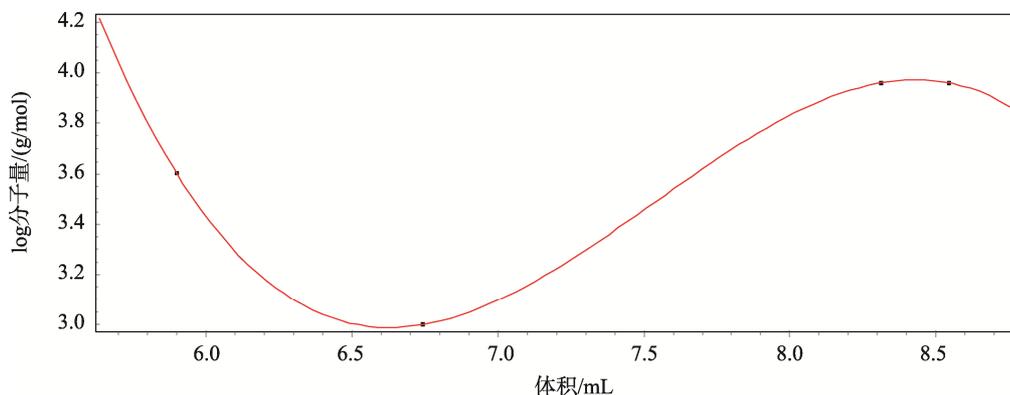


图 2 A 组标准曲线  
Fig. 2 The standard curve of group A

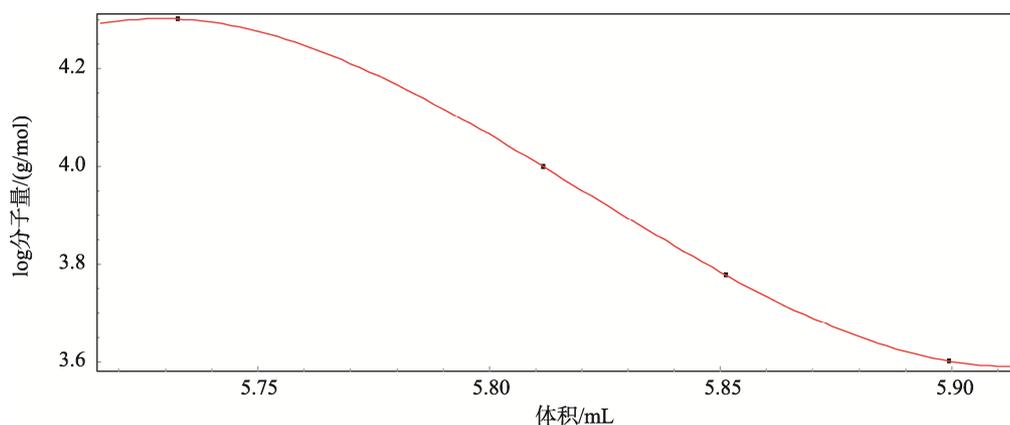


图 3 B 组标准曲线  
Fig. 3 The standard curve of group B

将样品分别带入 A 和 B 组, 得到的峰值分子量如表 2 所示。

表 2 峰值分子量结果  
Table 2 The results of peak molecular

分组	Peak1	Peak1 误差	Peak2	Peak2 误差
A	6379	0.2%	76.78	0.2%
B	n.a	n.a	n.a	n.a

根据以上 3 组标准曲线的对比, 尝试将标准品按分子量由小及大分为 4 组, 见表 3。

表 3 不同分组对应的分子量  
Table 3 The molecular of different groups

分组	分子量
C	200 600
D	1000
E	4000 6000
F	10000 20000

由于 F 组的分子量结果不理想, 推测可能由于分子量过大, 超出色谱柱分离范围导致, 故将 F 的 2 个分子量做变量作图, 其具体数值如表 4 所示。这 2 组的实验结果如图 4~5 所示。

表 4 将 F 作为变量时不同分组对应的分子量  
Table 4 The molecular weights corresponding to different groups when F is used as a variable

分组	分子量				
G	200	600	1000	6000	10000
H	200	600	1000	6000	20000

这 2 组的峰值分子量结果如表 5 所示。该 2 组组变量的误差都较大, 且分子量距离样品分子量较远, 不适宜做标曲, 应舍去。剩余 5 个分子量等级, 分别为: 200、600、1000、4000、6000, 将这 5 个数据做曲线如图 6。

带入样品得到如下结果, 见表 6。误差出现明显降低, 但仍超出仪器规定的范围(5%), 故在此基础上再次舍去一个点, 见表 7。

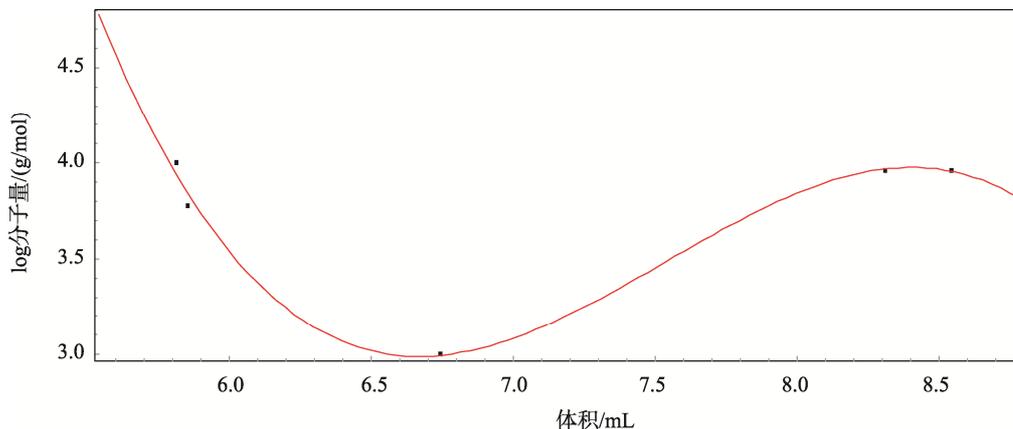


图 4 G 组曲线图

Fig. 4 The standard curve of group G

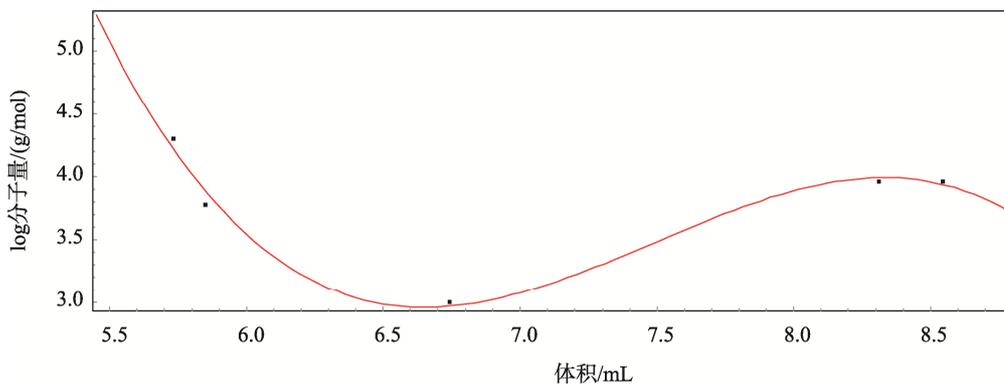


图 5 H 组曲线图

Fig. 5 The standard curve of group H

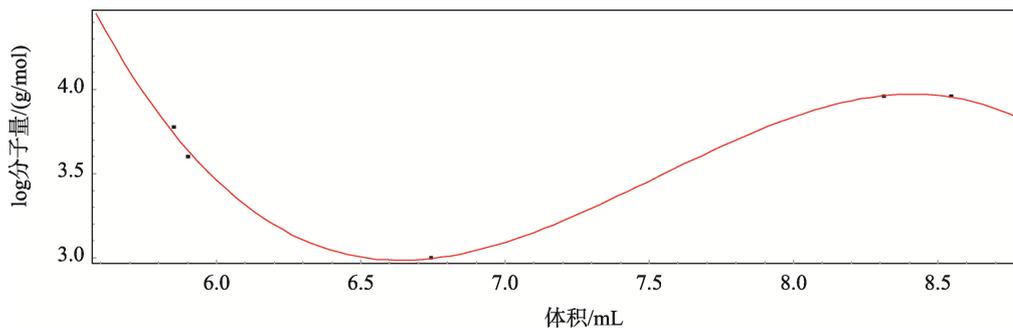


图 6 5 个数据的曲线图

Fig. 6 The standard curve of 5 points

表 5 峰值分子量结果

Table 5 The results of peak molecular

分组	Peak1	Peak1 误差	Peak2	Peak2 误差
I	6489	23%	38.18	23%
J	7258	38%	76.88	38%

表 6 样品的峰值分子量结果

Table 6 The results of peak molecular of sample

类型	Peak1	Peak1 误差	Peak2	Peak2 误差
实际样品	6494	14%	52.13	14%

表 7 样品出峰时间和标准品出峰时间对比

Table 7 Comparison of sample peak time and standard peak time

名称	峰一	峰二	200	600	1000	4000	6000	10000	20000
时间	8.0175	9.6041	8.544	8.312	6.741	5.899	5.851	5.812	5.733

由于 200 和 600 的分子量在样品峰附近, 保留, 而 4000 和 6000 2 个分子量距离样品峰较远, 应从 4000 和 6000 这 2 个分子量之间进行对比, 设置 2 组数据, 取其作为变量如表 8。A 的图谱如图 2 所示, L 的图谱如下图 7 所示。

表 8 不同分组对应的分子量大小

Table 8 The molecular weight corresponding to different group

分组	分子量			
A	200	600	1000	4000
L	200	600	1000	6000

将样品带入 L 组曲线得到结果如表 9 所示。对比表 2 和表 9, 2 组数据相差均在允许范围之内, 故 A 组和 L 组均

可作为最佳标准曲线拟和的分子量组合。

表 9 样品的峰值分子量结果

Table 9 The results of peak molecular of sample

类型	Peak1	Peak1 误差	Peak2	Peak2 误差
实际样品	6326	0.2%	65.90	0.2%

### 3.3 实验结果

任选一组, 将样品结果应用在 L 组最佳拟合曲线内, 得出结果, 如图 8 所示, 由于 peak1 的值在样品分子量范围内, 判定 peak1 为所测样品, 测得未知负载化硅胶样品重均分子量为  $6.326 \times 10^3$ 。相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.45% ( $n=6$ )。

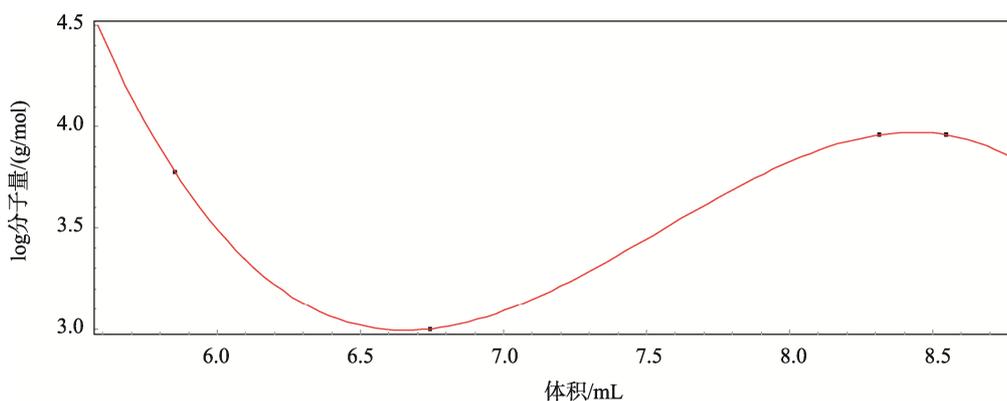


图 7 L 组曲线图

Fig. 7 The standard curve of group L

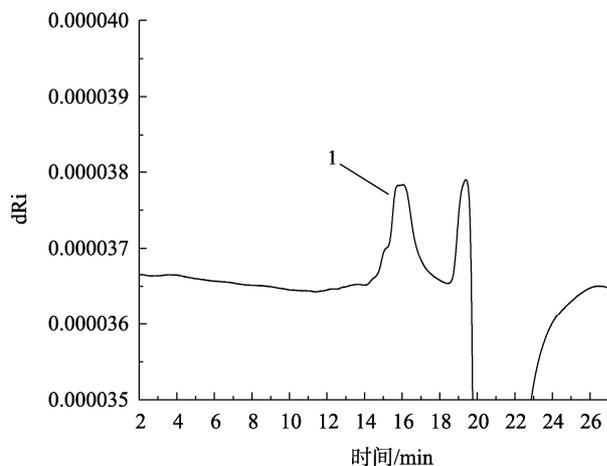


图 8 样品色谱图

Fig. 8 The chromatogram of sample

## 4 结论

本研究建立了一种简单、快速、准确的分析负载化硅

胶相对分子量的方法, GPC 技术将大分子聚合物的聚集状态以谱图的形式表现出来, 使人们更加直观的了解负载化硅胶聚合物的特点, 所测结果准确度高, 标准偏差小, 可以用于负载化硅胶的检测, 同时随着 GPC 相关技术应用的不断发展, 将提供人们更丰富的关于聚合物结构和分子状态的信息。

### 参考文献

- [1] 杨迪. 凝胶色谱测定聚合物相对分子量及其分布[J]. 现代塑料加工应用, 2006, 17(6): 36-39.  
Yang D. Measure of the molecular weight and distribution of polymer by gel chromatography [J]. Mod Plast Process Appl, 2006, 17(6): 36-39.
- [2] 吴汪友, 孙秋高. 曲线拟合度分析法在公路货运回归预测中的应用[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2011, 29(1): 49-52.  
Wu WY, Sun QG. The application of curve fitting degree analysis in highway freight regression prediction [J]. J Hainan Univ (Nat Sci Ed), 2011, 29(1): 49-52.
- [3] 刘立新, 赵晓非, 甄活良, 等. 超高分子量聚丙烯酰胺分子量测定方法研究[J]. 高分子材料科学与工程, 2002, (3): 199-201.  
Liu LX, Zhao XF, Zhen HL, et al. Study on determination method of

- ultra-high molecular weight polyacrylamide [J]. *Polym Eng Sci*, 2002, (3): 199–201.
- [4] 马新刚. 现代仪器分析在聚氨酯中的应用-气相渗透法测定聚氨酯原料的分子量[J]. *聚氨酯工业*, 1999, (1): 47–51.  
Ma XG. Application of modern instrumental analysis in polyurethane-The determination of molecular weight of polyurethane raw materials by gas phase permeability method [J]. *Polyurethane Ind*, 1999, (1): 47–51.
- [5] Boborodea A, Brookes A. Characterization of polyphenylene sulfide using gel permeation chromatography with triple detection [J]. *Int J Polym Anal Chin*, 2015, 20(2): 172–179.
- [6] 孔毅, 吴梧桐, 吴如金. 蛋白质分子量测定方法比较研究[J]. *分析仪器*, 2003, (2): 44–47.  
Kong Y, Wu WT, Wu RJ. Comparison of determination methods of molecular weight of protein [J]. *Anal Instrum*, 2003, (2): 44–47.
- [7] 李新军. 动态流变法测四氟乙烯—六氟丙烯共聚物分子量及分子量分布[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.  
Li XJ. The determination of molecular weight and molecular weight distribution of tetrafluoroethylene-hexafluoropropylene copolymer by dynamic flow change [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [8] Shen L, Li XJ, Li JC, *et al*. Determination of molecular weight and distribution of tetrafluoroethylene-hexafluoropropylene copolymers by a dynamic rheology method [J]. *J Macromol Sci A*, 2012, 51(1–3): 383–392.
- [9] 仲宣惟, 黄清泉, 奚廷斐. 多角度激光散射检测器和示差折光检测器联用测定壳聚糖分子量及分子量分布[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(9): 1258–1260.  
Zhong XW, Huang QQ, Xi TF. The measure of the molecular weight and molecular weight distribution of chitosan by multiangle laser light scattering detector and differential refractive detector [J]. *J Pharm Biomed*, 2006, 26(9): 1258–1260.
- [10] 戴传波, 李建桥, 胡清. 采用带示差折光检测器的高效液相色谱法检测肌醇[J]. *化学工业与工程技术*, 2007, 27(4): 57–58.  
Dai CB, Li JQ, Hu Q. Detecting the inositol content by high performance liquid chromatography (HPLC) with refractive index detector [J]. *Chem Ind Eng Technol*, 2007, 27(4): 57–58.
- [11] 佟爱东. 氯化钠注射液中羟乙基淀粉分子量的测定[C]. 2006 第六届中国药学会学术年会论文集, 2006.  
Tong AD. Determination of molecular weight of hydroxyethyl starch in sodium chloride injection [C]. *Proceedings of the 6th Annual Academic Conference of Chinese pharmaceutical association* 2006, 2006.
- [12] 湛凡更, 李静. 凝胶色谱法测定木素分子量及其分布[J]. *纤维素科学与技术*, 1999, 7(3): 47–53.  
Zhan FG, Li J. The determination of molecular weight and distribution of lignin by gel chromatography [J]. *Cellul Sci Technol*, 1999, 7(3): 47–53.
- [13] 耿安静, 陈健, 徐晓飞. GPC 法测定香菇多糖的含量及相对分子量[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(4): 458–460.  
Geng AJ, Chen J, Xu XF. The content and molecular weight of lentinus edodes polysaccharides were determined by GPC [J]. *Mod Food Technol*, 2009, 25(4): 458–460.
- [14] 王振华, 李锦山, 丛瑜滋, 等. 从 GPC 图谱探讨兰州石化丁腈橡胶的质量[J]. *世界橡胶工业*, 2008, 35(11): 37–40.  
Wang ZH, Li JS, Cong YZ, *et al*. The quality of Lanzhou petrochemical nitrile - butadiene rubber was studied by GPC map [J]. *World Rubb Ind*, 2008, 35(11): 37–40.
- [15] 赵峡, 苗辉, 范慧红, 等. 用 GPC 法测定硫酸多糖 911 的分子量和分子量分布[J]. *青岛海洋大学学报(自然科学版)*, 2000, 30(4): 623–626.  
Zhao X, Miao H, Fan HH, *et al*. Determination of molecular weight and molecular weight distribution of sulfated polysaccharide 911 by GPC [J]. *J Qingdao Ocean Univ(Nat Sci Ed)*, 2000, 30(4): 623–626.

(责任编辑: 武英华)

## 作者简介

刘颖慧, 硕士, 主要研究方向食品分析检测技术。

E-mail: lyhkathy@sina.cn

曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向食品分析。

E-mail: caojin@tsinghua.org.cn