

PEO/PEG的Arc HPLC水相SEC/GPC分离

Jennifer Gough

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报评估了Waters Arc HPLC系统执行聚环氧乙烷/聚乙二醇(PEO/PEG)凝胶渗透色谱 (GPC, 又称为体积排阻色谱(SEC)) 分析的性能。

优势

- Arc HPLC系统在Empower 3软件环境下运行，可提供精确的流速，从而在GPC分析中获得准确、可重现的峰
- Ultrahydrogel Linear色谱柱可对标称分子量为700 MDa的聚合物实现体积排阻分离



Ultrahydrogel Linear
(WAT011545)



聚乙二醇
(WAT035711)和
聚环氧乙烷
(WAT011572)标准品试剂盒



简介

凝胶渗透色谱分析需要采用高效液相色谱(HPLC)系统来提供精确的流速和可重现的结果。GPC技术将根据保留时间与分子量的对数作图，因此，泵必须产生稳定一致的等度液流才能提供可重现的色谱峰¹。测定未知样品分子量常用的方法是比较样品与窄分子量聚合物标准品的相对校准曲线²。

实验

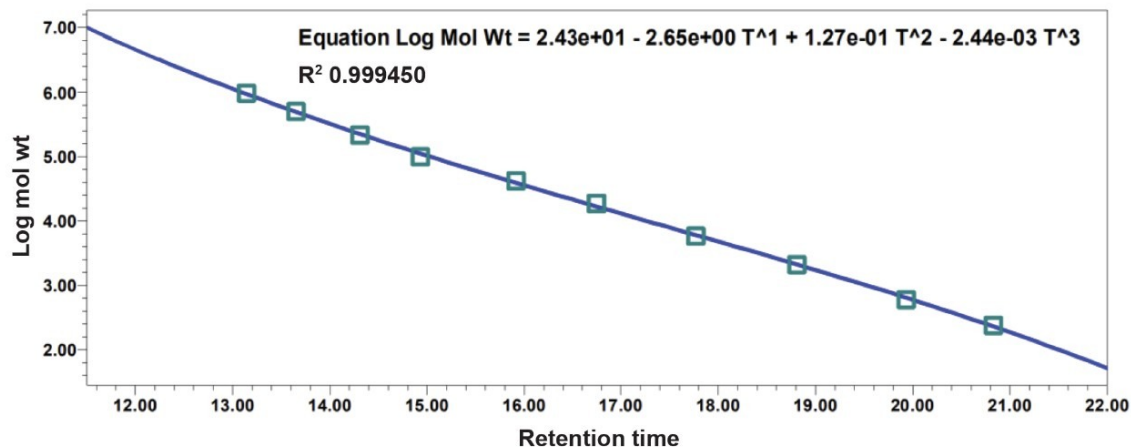
流速等众多Arc HPLC GPC方法参数见表1。本研究使用聚乙二醇和聚环氧乙烷标准品(PEG/PEO)绘制校准曲线(图1)。

方法参数	色谱柱1
系统:	Arc HPLC
流动相:	0.1 M硝酸钠的去离子水溶液 (等度液流)
密封件清洗液:	50/50水/甲醇
流速(mL/min):	1
运行时间(min)	30
SM清洗和灌注:	去离子水
样品浓度(mg/mL):	1.5
样品温度(°C):	25
进样体积(μL):	50
柱温(°C):	30
颗粒填料:	羟基化聚甲基丙烯酸酯凝胶
色谱柱内径(mm):	7.8
色谱柱长度(mm):	300
粒径(μm):	10 μm
孔径(Å):	孔径混合, 排阻限为7 MDa
检测器:	W2414 RI
检测器温度(°C):	30
样品信息	
	聚乙二醇/聚环氧乙烷(PEG/PEO)
分子量:	Mp = 238 - 969 kDa
软件	
Empower 3, FR5	配备GPC选项

表1.方法参数表

GPC calibration curve information

Sample Name:	****	A:	2.432678e+01	D:	-2.439494e-03
Processing Method:	ArcHPLC PEO PEG 1ml Lin 30min	B:	-2.648674e+00	E:	0.000000e+00
Fit Order:	3	C:	1.273373e-01	F:	0.000000e+00
Cal Curve ID:	1718	R:	0.999725	R ² :	0.999450
Date Calibrated:	7/15/2021 9:47:03 AM EDT	v0:	11.500000	vt:	22.000000



如图2所示，通过PEO/PEG混合分子量标准品6次进样的重叠图证明Arc HPLC泵具有优异的流速精密度。在Waters Arc HPLC系统上使用两根线性GPC色谱柱和30 min运行时间获得的峰保留时间和峰分子量(Mp)相对标准偏差小于0.3%（表3和表4）。

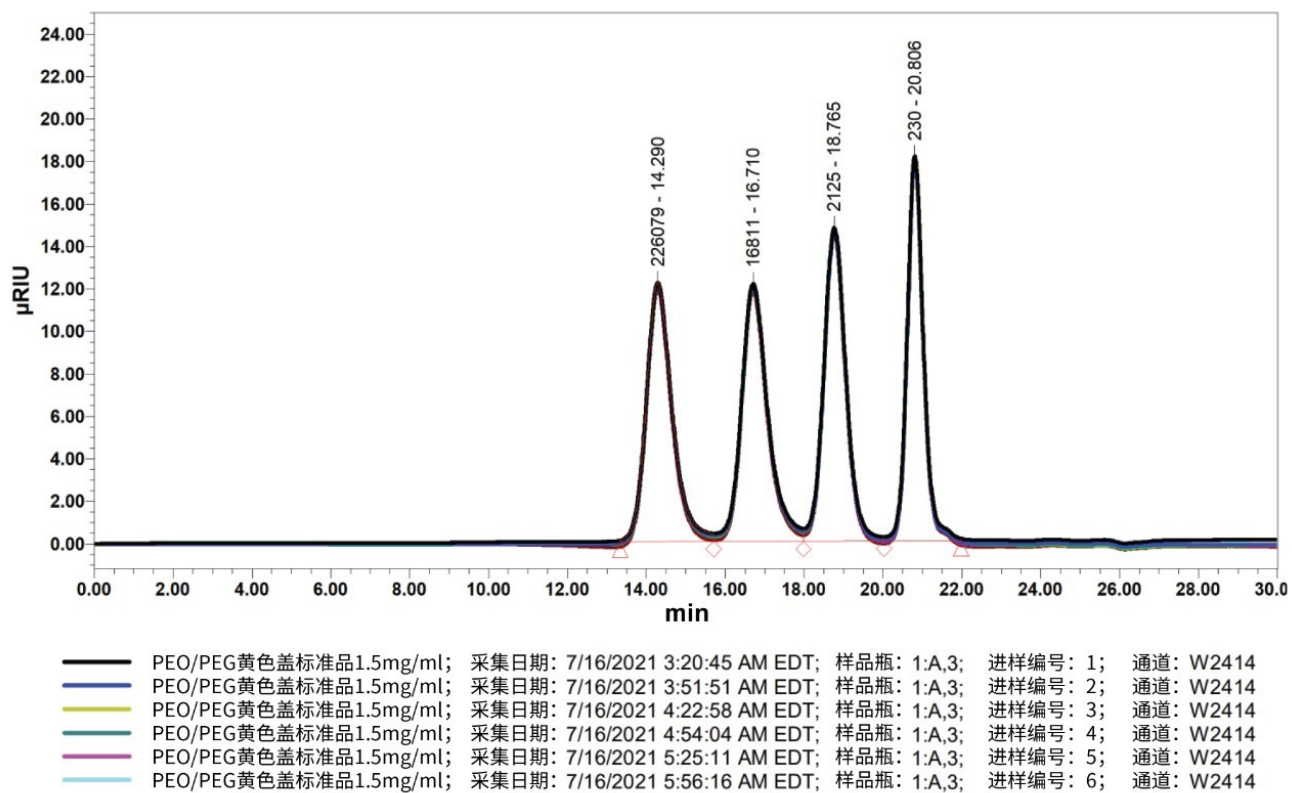


图2. PEO/PEG校准标准品六次进样的结果

峰结果
保留时间按名称汇总

	Y1 (min)	Y2 (min)	Y3 (min)	Y4 (min)
1	14.289	16.712	18.767	20.808
2	14.289	16.708	18.764	20.805
3	14.290	16.708	18.764	20.808
4	14.290	16.708	18.765	20.807
5	14.290	16.710	18.765	20.806
6	14.292	16.714	18.769	20.811
平均值	14.2902	16.7100	18.7655	20.8074
标准偏差	0.0012	0.0025	0.0019	0.0020
%RSD	0.0081	0.0151	0.0101	0.0096

峰结果 MP按名称汇总

	Y1 (Da)	Y2 (Da)	Y3 (Da)	Y4 (Da)
1	226523	16765	2121	229
2	226427	16843	2128	230
3	226130	16836	2126	229
4	226104	16837	2126	229
5	226079	16811	2125	230
6	225653	16742	2117	228
平均值	226153	16806	2124	229
标准偏差	307	43	4	1
%RSD	0.14	0.25	0.19	0.24

表3和表4.黄色盖PEO/PEG校准标准品六次进样所得峰保留时间和峰分子量(Mp)的Empower 3数据报告

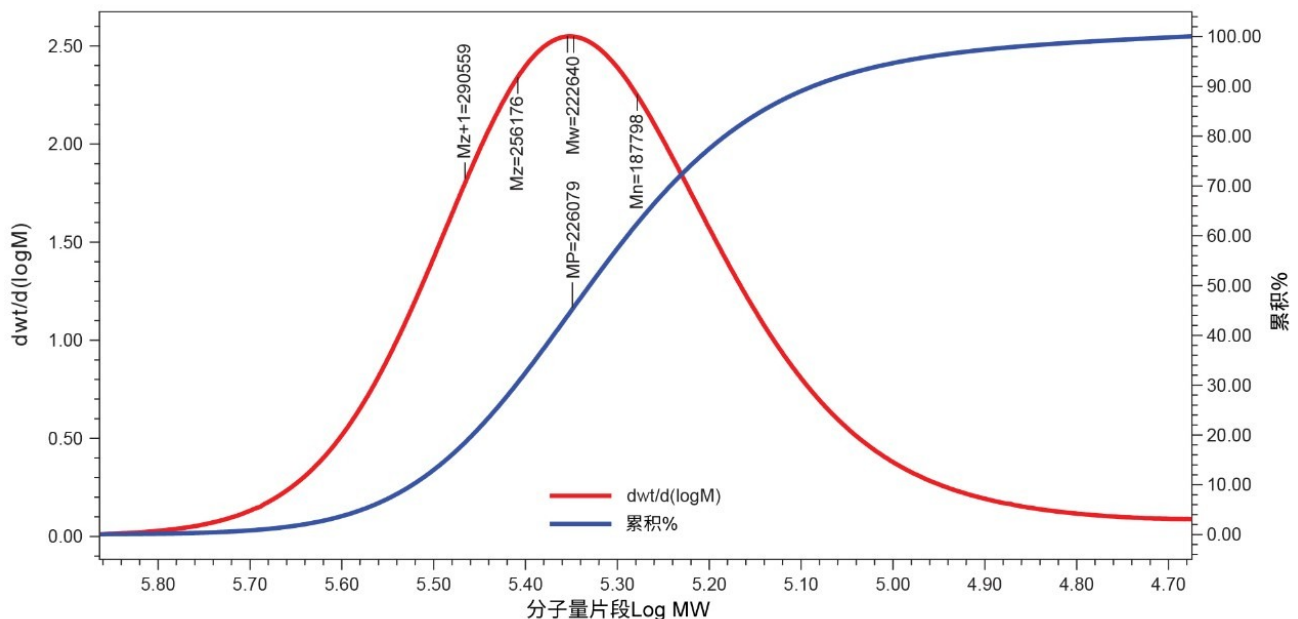


图3. Empower 3 GPC选项的一种自动计算功能示例，展示227 kDa PEO/PEG校准标准品的分子量分布和累积% Empower 3有很多内置功能，能够对通常在电子表格中完成的数据进行精确报告。常用的报告区域是色谱柱塔板

数，其包含于系统适应性功能中。通过报告色谱柱塔板数，可绘制柱效图表并观察任何性能变化（表5）。

	名称	Mn (Da)	Mw (Da)	MP (Da)	Mz (Da)	Mz+1 (Da)	多分散性	Mz/Mw	Mz+1/Mw	峰面积 ($\mu V \cdot s$)	峰面积 %	峰高 (μV)	USP 理论塔板数
1	Y1	187798	222640	226079	256176	290559	1.186	1.151	1.305	565016	24.99	12190	2328
2	Y2	14435	16580	16811	18766	21167	1.149	1.132	1.277	575722	25.47	12125	3174
3	Y3	1951	2139	2125	2321	2507	1.096	1.085	1.172	586796	25.96	14757	5396
4	Y4	209	227	230	244	260	1.087	1.071	1.143	532986	23.58	18102	12578

表5. Empower 3计算的峰字段

结果与讨论

搭载Empower 3软件的Arc HPLC是一款功能非常强大的GPC数据处理工具，适用于基础和复杂的色谱图绘制和计算。本实验展示了基础GPC计算。利用窄分布PEO/PEG标准品作为校准标准品，并作为本实验的宽分布未知样品。本研究所选方法和标准品对于碳水化合物等聚合物的水相GPC分析很常见³。选择Ultrahydrogel线性色谱柱分析标称分子量达700 MDa的宽分子量范围物质，并且利用两根相同的色谱柱提高聚合物峰的分度⁴。Empower 3软件可报告峰结果字段的列表包括Mn、Mw、Mp、Mz、Mz+1和多分散性（表5）。提供采用点到点以及一阶至五阶拟合的相对和修改后普适校正类型，相对校准示例见图1。

结论

等度模式下运行的Arc HPLC泵可提供高质量凝胶渗透色谱分析所需的优异流量精密密度。

所有基本GPC计算都可以使用配备GPC选项的Empower 3软件完成，并且提供许多复杂的GPC计算。

使用两根线性色谱柱证明了分析时间可缩短至30 min。

参考资料

1. Arc HPLC系统, https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?cid=135068659&locale=en_US <https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?cid=135068659&locale=en_US> US <https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?cid=135068659&locale=en_US> .

2. GPC/SEC常见问题与解答, https://www.waters.com/waters/en_US/Frequently-Asked-GPC-SEC-Questions/nav.htm?cid=10167847&locale=en_US <
https://www.waters.com/waters/en_US/Frequently-Asked-GPC-SEC-Questions/nav.htm?cid=10167847&locale=en_US>.
3. Yakindra Prasad Timilsena, Raju Adhikari, Stefan Kasapis, Benu Adhikari, Molecular and Functional Characteristics of Purified Gum From Australian Chia Seeds, *Carbohydrate Polymers*, Volume 136, 2016, Pages 128–136, ISSN 0144-8617, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035> <
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035> <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035>>.
4. Ultrahydrogel色谱柱.沃特世维护和使用手册, [WAT011556](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/wat011556.pdf) <
<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/wat011556.pdf>>, 修订版F, 2015年3月.
5. Empower GPC软件.沃特世入门指南, [71500031303ZH](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/71500031303ZH) <
<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/71500031303ra.pdf>>, 修订版A, 2004年5月.
6. 沃特世公司.Empower技巧.<https://blog.waters.com/category/> <
<https://blog.waters.com/category/empower-tips>> empower-tips <
<https://blog.waters.com/category/empower-tips>>.

特色产品

- [Arc HPLC系统](https://www.waters.com/135068659) <<https://www.waters.com/135068659>>

720007334ZH, 2021年8月



© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.