

凝胶色谱的物料平衡方程

柴 志 宽

(中国科学院化学研究所)

凝胶色谱物料平衡方程的研究,把扩散平衡时由于体积排除效应引起的分离和扩散对峰加宽的影响联系起来,是凝胶色谱分离过程理论的重要方面。Kubin^[1]、Hermans^[2]的早期工作,把物料平衡方程应用于凝胶色谱,指出可以用 Hermite 多项式描写色谱峰,并讨论了流速小和大的极限情况。在流速大时,如以峰尖值 \hat{V}_c 为流出体积,则表现出对 K_c 和 D_c 的依赖。 K_c 为扩散平衡时分配系数, D_c 是试样在固定相中扩散系数。1973年 Ouano 等^[3]用电子计算机模拟线性凝胶色谱,并讨论了凝胶和实验条件对色谱过程的影响。1975年 Kubin^[4]再次讨论了这一问题,他认为凝胶颗粒内存在未透入的核,以此解释流速对流出体积(色谱峰的一次正规矩 \bar{V}_c)的影响,柱效率(理论塔板高度)和流出体积的关系。

我们认为, Ouano 的工作显示了用物料平衡方程定量地描述凝胶色谱过程的可能性,是物料平衡方程研究的一大进展。由于他考虑了试样在流动相中横向扩散,解扩散方程时用了 Laplace-Fourier 二重积分变换,没有得到解析解。假定试样在凝胶小孔中透入深度 $b = R(1 - \sqrt[3]{1 - K_c})$, R 为凝胶球半径,强调了孔的非均匀性,因此考虑 $D_c = K_D M^{-\gamma_c}$ 关系时,必须用 γ_c 不同的两组曲线去模拟色谱峰方差 $\overline{\Delta V^2}$ 对分子量的依赖性。且对 γ_c 的选择,也没有考虑不同凝胶孔性结构的特点。本工作的目的,在于用简化 Ouano 的扩散方程,提出一个新的非均匀圆柱形小孔模型,并假定 γ_c 依赖于凝胶的孔性结构,以进一步讨论定量描述凝胶色谱过程、凝胶和实验条件的影响以及峰加宽效应改正的可能性。

物料平衡方程

物料平衡方程的研究,主要归结为:(1)提出一组合适的扩散方程;(2)选择合适的起始条件和边界条件;(3)寻找合适的 $D_c(M)$ 和 $D_m(M)$ 关系。

假如半径为 R 的凝胶小球有平均长度为 a 的圆柱形小孔,当小孔贯穿时可看成是两个半长度的小孔。试样在小孔内扩散系数为 D_i ,在小孔外为 D_m ,并有涡流扩散系数 D_E 。选择坐标, x 轴在小孔(固定相)和流动相的界面处坐标为 0,向小孔内的方向为正, y 轴沿液流方向为正,色谱柱起端为 0。那么可以写出扩散方程

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} \quad (1)$$

$$\frac{\partial C_m}{\partial t} = \sigma_A D_s \left(\frac{\partial C_s}{\partial x} \right)_{x=0} + D_{my} \frac{\partial^2 C_m}{\partial y^2} - v_m \frac{\partial C_m}{\partial y} \quad (2)$$

式中

$$\sigma_A = \frac{1 - \Phi}{\Phi_a} \quad (3)$$

$$D_{my} = D_m + D_E \quad (4)$$

$$D_E = 2\lambda R v_m \quad (5)$$

σ_A 是单位流动相体积内两相界面的面积, v_m 是液流在流动相中流速, λ 为表征装柱效率的参数. 整个色谱柱总体积 V_T , 流动相体积 V_0 , 固定相体积 V_i , 凝胶骨架体积 V_g , 可以知道

$$V_T = V_0 + V_i + V_g \quad (6)$$

式(3)中的

$$\Phi = \frac{V_0}{V_0 + V_i} \quad (7)$$

起始条件是

$$t = 0, y = 0, C_m = C_s = 0 \quad (8)$$

边界条件是

$$t > 0, x = 0, C_s = K C_m \quad (9)$$

$$x = b, \frac{\partial C_s}{\partial x} = 0, b = \frac{R}{3} [\Phi + (1 - \Phi)K_s] \quad (10)$$

K 是两相界面处分配系数. b 为试样分子在小孔中扩散深度. 在本文所建议的非均匀圆柱形小孔模型中 b 值按(10)式计算. $0 \leq \Phi \leq 1$, 是表征小孔均匀性的参数. 考虑质量守恒, 所有 t 内

$$\int_0^\infty [\Phi C_m + (1 - \Phi)\bar{C}_s] dy = A \quad (11)$$

\bar{C}_s 为试样在固定相中平均浓度.

关于 $D_s(M)$ 和 $D_m(M)$ 关系, 若在一般溶液中存在关系式 $D = K_D M^{-\tau}$, 我们假定为

$$D_m = K_m M^{-\tau_m}, D_s = K_s M^{-\tau_s} \quad (12)$$

$$K_m = K_s = K_D \quad (13)$$

$$\tau_m = \tau, \tau_s > \tau \quad (14)$$

关于扩散方程, 目前文献中有两种类型, 一是如 Kubin、Hermans 所用球坐标体系, 把凝胶当作有 D_s 的均匀小球处理, 不考虑凝胶骨架体积的存在, 定义 $\Phi = \frac{V_0}{V_T}$. 一是如

Ouano 的单通道凝胶色谱模型, 他考虑了凝胶骨架体积的存在, Φ 的定义和我们相同. 这两种类型的扩散方程是差不多的. 如考虑圆柱形小孔, 应有后一种扩散方程, 且 D_s 的物理意义更为明确. 在 Ouano 的方程中, 还考虑了试样在流动相中横向扩散, 由于 D_m 一般比 D_s 要大很多, 流动相平均厚度和凝胶小孔长度相差无几, 故可认为流动相中横向浓度分布是均匀的. 这一近似将会给后面推导带来简化. 如考虑流动相中横向浓度分布是均匀的, 那么两相交换应有 Hermans 给出的 $\sigma_A D_s \left(\frac{\partial C_s}{\partial x} \right)_{x=0}$. 这就是扩散方程式(1)和

(2)的由来。

边界条件中试样分子在小孔中扩散深度 b 的选择是一种近似。Kubín 提出未透入的核, 意思是由于扩散的原因, 在凝胶内有一个来不及透入的核, 核半径和凝胶球半径之比为 ρ , ρ 依赖于流速, 则固定相应体积改正 $(1 - \rho^3)$, 因此他得到以 \bar{V}_e 计算的分配系数 $K_{GPC} = K_e(1 - \rho^3)$ 。Ouano 认为 $b = R(1 - \sqrt[3]{1 - K_e})$, 后一项是以球坐标描写扩散方程时, 由于体积排除效应引起的不可透入项。若考虑均匀的圆柱形小孔, 应没有这样的改正项, 体积排除效应不影响试样分子的透入深度, 只能使得分子的重心不能接近孔壁。但实际小孔是不均匀的, 存在很多狭缝, 因此可以假定即使在扩散平衡的条件下, 试样分子也只能透入小孔中 b 处, $b < a$ 。这样我们就假定了一种非均匀圆柱形孔模型, 见图 1。 a 的平均长度是 $a = \frac{\phi \frac{4}{3}\pi R^3}{\phi 4\pi R^2} = \frac{R}{3}$, ϕ 为溶剂

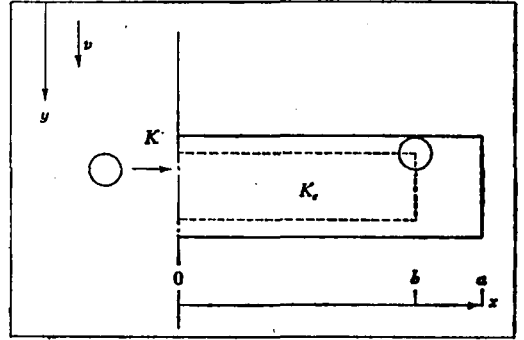


图1 非均匀圆柱形小孔模型

中凝胶的孔度, b 值用(10)式计算。 $\varphi = 1$, 小孔均匀狭缝少, 则 $a = b$, $K_e = K$ 。这是 Kubín 和 Hermans 早期工作所采用的一种孔模型, 其特点是强调了孔的均匀性, 大小试样分子在凝胶中都有相同的扩散深度, 即小孔的平均长度 a 。 $\varphi = 0$, 强调了孔的非均匀性, 试样分子透入小孔中距离等于 aK_e , 这是 Ouano 的孔模型。一般扩散深度 b 应在这两种极端情况之间, $aK_e \leq b \leq a$, $aK_e = bK$ 。

关于 $D_m(M)$ 和 $D_s(M)$ 。 $D_m(M) = D(M)$, 文献的意见是一致的。对于 $D_s(M)$ 有三种看法: 一是限制扩散理论^[5], 认为

$$\frac{D_s}{D_m} = \left(1 - \frac{a_H}{r}\right)^2 \left[1 - 2.104 \frac{a_H}{r} + 2.09 \left(\frac{a_H}{r}\right)^3 - 0.95 \left(\frac{a_H}{r}\right)^5\right] \quad (15)$$

r 为圆柱形毛细小孔的半径, a_H 为试样分子的流体力学半径。二是 Ouano 的看法, 假定 $D_s(M) = K_s M^{-\gamma_s}$, $K_s = K_D$, $\gamma_s = 1 > \gamma$ 。三是 Kubín 的看法, 假定上述式中 $K_s = \frac{1}{2} K_D$, $\gamma_s = \gamma$ 。我们认为限制扩散理论有较好的理论基础, 并在生化体系的分离方面表现出良好的实验验证, 下面的讨论中我们将要引用。但用来计算 D_s 还有困难, 因为首先要确定一个合适的 $a_H(M)$ 关系, 对于 γ 还要考虑孔径分布。Ouano 的看法反映了试样分子量很小时 D_s 接近于 D , 分子量越大在凝胶孔中受扩散阻碍越大, D_s 越小于 D , 也是比较合理的。但 γ_s 不必一定等于 1, 它受凝胶条件(由凝胶本身或柱子搭配引起的孔径大小和分布, 孔的形态包括缺陷等)的影响, 只能由实验去订定。

总结上面的叙述, 我们讨论了物料平衡方程研究的三个方面。目的是要说明, 这三个方面是一个统一的整体, 对于后两方面的研究应该加强。本文提出了一个用 φ 来表征的非均匀圆柱形孔模型, 提出 γ_s 对孔的结构依赖性, 其物理意义是明确的。但由于目前还不可能设计一个独立的实验去测定 φ 或 γ_s , 因此我们推导的公式如 $\sigma_2^2(K_e)$ 等, σ_2^2 是峰

加宽方差, 实际上是 φ 、 γ 的双参数函数。通过计算机模拟计算我们可以找出一组 φ 和 γ , 使得 $\sigma_b^2(K_c)$ 有最好的实验拟合。

为解扩散方程, 应用 Laplace 变换, 定义

$$L_s = \int_0^{\infty} C_s e^{-pt} dt \quad (16)$$

$$L_m = \int_0^{\infty} C_m e^{-pt} dt \quad (17)$$

考虑边界条件和起始条件, 得到

$$L_s = B(y \cdot p) [e^{-2qb} e^{qx} + e^{-qx}], \quad q = \sqrt{\frac{p}{D_s}} \quad (18)$$

$$pL_m = -\sigma_A D_s K q \tanh(qb) L_m + D_{my} \frac{\partial^2 L_m}{\partial y^2} - v_m \frac{\partial L_m}{\partial y} \quad (19)$$

$$\text{令} \quad \alpha = p + \sigma_A D_s K q \tanh(qb) \quad (20)$$

$$\beta = \frac{K}{bq} \tanh(qb) \quad (21)$$

$$\text{则} \quad L_m = P(p) \exp\{-Q_L y\} \quad (22)$$

$$Q_L = \frac{v_m}{2D_{my}} \left\{ -1 + \left[1 + \frac{4D_{my} \alpha}{v_m^2} \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \quad (23)$$

$$P(p) = \frac{A Q_L}{p[\Phi + (1 - \Phi)\beta]} \quad (24)$$

(24)式是由归一化条件得到的。

一般 D_{my} 是较小的, 因此 L_m 可以简化为

$$L_m = \frac{A}{u} \exp \left\{ -\frac{\alpha}{v_m} \left(1 - \frac{D_{my} \alpha}{v_m^2} \right) y \right\} \quad (25)$$

式中 $u = \Phi v_m$, 由求矩公式

$$\Lambda_n = \int_0^{\infty} dt t^n C_m(t) \quad (26)$$

$$\Lambda_n = (-1)^n [d^n L_m / dp^n]_{p=0} \quad (27)$$

可以得到

$$\bar{i} = \frac{y}{v_m} (1 + \sigma_A b K) \quad (28)$$

$$\text{即} \quad \bar{V}_c = V_0 + K_c V_i \quad (29)$$

$$\overline{\Delta t^2} = \overline{(t - \bar{i})^2} = \frac{y}{v_m} \left[\frac{2D_{my}}{v_m^2} (1 + \sigma_A b K)^2 + \frac{2}{3} \frac{\sigma_A b^3 K}{D_s} \right] \quad (30)$$

$$\overline{\Delta t^3} = \overline{(t - \bar{i})^3} = \frac{y}{v_m} \left[\frac{4D_{my}}{v_m^2} (1 + \sigma_A b K) \frac{\sigma_A b^3 K}{D_s} + \frac{4}{5} \frac{\sigma_A b^5 K}{D_s^2} \right] \quad (31)$$

$$\begin{aligned} \overline{\Delta t^4} = \overline{(t - \bar{i})^4} &= 3 \frac{y^2}{v_m^2} \left[\frac{2D_{my}}{v_m^2} (1 + \sigma_A b K)^2 + \frac{2}{3} \frac{\sigma_A b^3 K}{D_s} \right]^2 \\ &+ \frac{y}{v_m} \left[\frac{136}{105} \frac{\sigma_A b^7 K}{D_s^3} + \frac{32}{5} \frac{D_{my}}{v_m^2} (1 + \sigma_A b K) \frac{\sigma_A b^5 K}{D_s^2} + \frac{8}{3} \frac{D_{my}}{v_m^2} \frac{\sigma_A^2 b^6 K^2}{D_s^2} \right] \quad (32) \end{aligned}$$

可用 Hermite 多项式来描写色谱曲线。若取到四次矩项,是 Gram-Charlier 级数

$$C_m(t) = \frac{1}{\sigma} \left\{ g(\tau) - \frac{\alpha_3}{3!} g'''(\tau) + \frac{\alpha_4}{4!} g^{(4)}(\tau) \right\} \quad (33)$$

式中

$$g(\tau) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\frac{\tau^2}{2} \right\} \quad (34)$$

$$\tau = (t - \mu) / \sigma \quad (35)$$

$$\mu = \bar{t} \quad (36)$$

$$\sigma^2 / \mu^2 = \overline{\Delta t^2} / \bar{t} \quad (37)$$

$$\alpha_3 = \overline{\Delta t^3} / (\overline{\Delta t^2})^{3/2} \quad (38)$$

$$\alpha_4 = \overline{\Delta t^4} / (\overline{\Delta t^2})^2 - 3 \quad (39)$$

μ 表征了色谱峰的位置, σ^2 表征了色谱峰宽, $\alpha_3 > 0$ 表示色谱峰拖尾, $\alpha_4 < 0$ 表示色谱峰比高斯峰更平坦。

应用推导的公式, 计算了 Ouano (聚苯乙烯-氯仿)^[3]、Smit (聚苯乙烯-甲苯)^[6] 和 Tung (聚苯乙烯-四氢呋喃)^[7] 的数据。由文献查得了聚苯乙烯-甲苯体系的 $D = K_D M^{-\gamma}$ ^[8]。根据 Mandelkern-Flory 公式^[9]

$$(\rho^{-1} \phi^{1/2}) \left(\frac{kT}{\eta_0} \right) K_D^{-1} K_T^{-1/2} = 1 \quad (40)$$

$$1 + \alpha - 3\gamma = 0 \quad (41)$$

式中 ρ 、 ϕ 为普适常数, k 为 Boltzmann 常数, η_0 为溶剂的粘度。由聚苯乙烯在氯仿^[10]和四氢呋喃^[11]中 $[\eta] = K_\eta M^\alpha$ 公式的 K_η 、 α 和 η_0 估算出相应体系的 K_D 和 γ 。模拟计算所用数据见表 1, 其中 Q 为总流速, $v_m = Q\gamma/V_0$ 。表中一般数据均取自文献; 装柱效率 λ 主

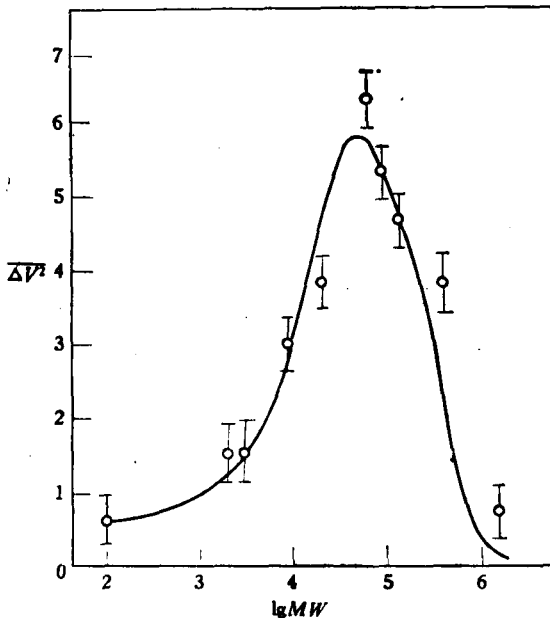


图 2 $\sigma_B^2(M)$ 关系, Ouano 数据

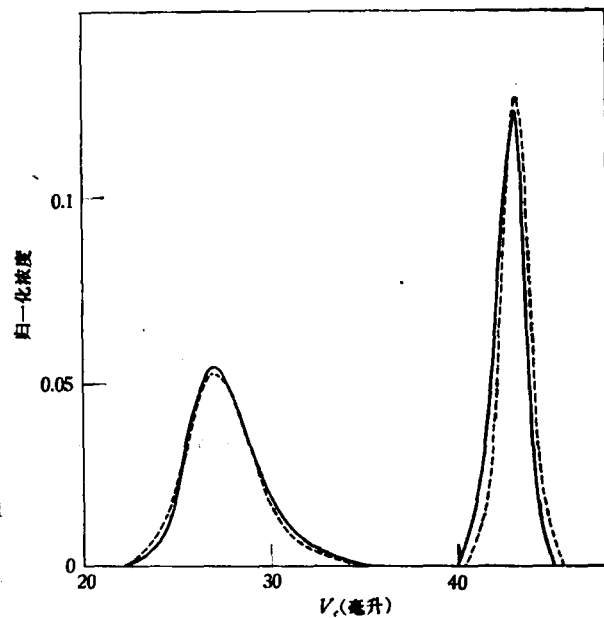


图 3 色谱曲线, Ouano 数据
——实验值 ——计算值

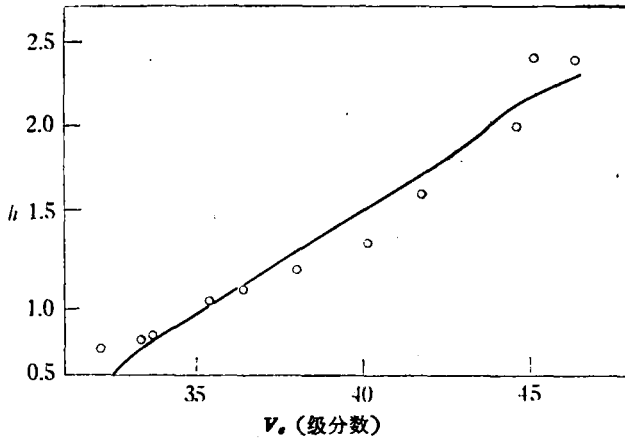
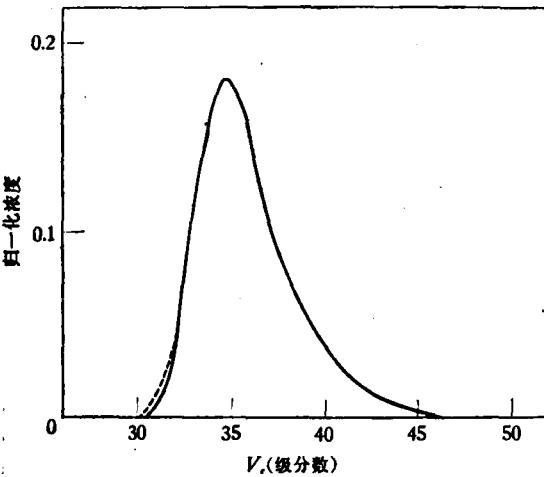
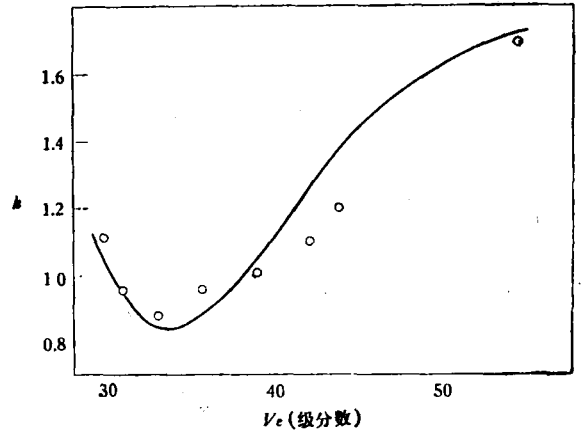
图 4 $h(V_e)$ 关系, Smit 数据图 5 色谱曲线, Smit 数据
——实验值 ——计算值图 6 $h(V_e)$ 关系, Tung 数据

表 1 模拟计算所用参数

作 者	V_0 ml	V_i ml	y cm	R μ	φ	Q ml/min	λ	K_D $\times 10^4$	γ_m	γ_s
Ouano	21.2	22.8	122	30	0.1	1	3	4.21	0.58	1.02
Smit	114.3	125.7	610	30	0.2	1	4.5	2.37	0.54	0.77
Tung	139.1	136.0	732	30	0.3	2	5.5	4.72	0.58	0.84

要根据 $K_e \approx 1$ 时小分子色谱峰方差估算;用试误法找出一组最好的 φ 和 γ_s 使得 $\sigma_B^2(K_e)$ 有最好的实验符合,由(30)式可以看出这样做实际上是在调节 h^2/D 项,该项反映了试样分子传质过程对峰加宽的贡献。试误计算时 φ 的变化间格为 0.1, γ_s 变化间格为 0.01。模拟计算结果见图 2—6。图中 $\Delta V^2 = Q^2 \Delta t^2$, $h = 12.5/\Delta V^2$, ΔV^2 、 Δt^2 和 h 的物理意义均同 σ_B^2 。计算 Ouano 的色谱峰时没有考虑试样的多分散性,而 Smit 的色谱峰是把 $C_m(t)$ 当作峰加宽函数按 Tung 积分公式(50)计算的。可以看出,我们的理论公式由于是一个双参数函

数,适应性比较大,首先能够较好地模拟 $\sigma_D^2(K_c)$ 关系. 并且由二、三、四次矩项组合起来的 Gram-Charlier 级数也能较好地描写色谱峰形.

物料平衡方程的应用

一、流出体积对流速的依赖性

关于流出体积对流速的依赖性,文献中 Hermans^[2]、Haller^[12]、Yau^[13] 和 Kubin^[4] 进行过研究. 除 Yau 给出了定量的结果外,其余皆为定性的讨论. 在我们的工作中,由(29)式可以知道 \bar{v}_c 是没有流速依赖性的. 若以色谱曲线的峰尖值 \hat{v}_c 记作流出体积,会明显地表现出对流速的依赖性. 在峰尖位置上,

$$\frac{dC_m(t)}{dt} = 0 \quad (42)$$

应用(33)式,并考虑 i_c 对 i 的偏离较小,得

$$i_c = \mu - \frac{\alpha_3 \sigma}{2 \left(1 + \frac{5}{8} \alpha_4\right)} \quad (43)$$

$$\hat{v}_c = \bar{v}_c - \frac{\alpha_3 \sigma Q}{2 \left(1 + \frac{5}{8} \alpha_4\right)} \quad (44)$$

(44)式告诉我们, \hat{v}_c 对流速的依赖性产生于 α_3 项,由于色谱峰拖尾, $\alpha_3 > 0$, 使得 $\hat{v}_c < \bar{v}_c$. 图 7 是用(44)式计算的 $\hat{v}_c(Q)$ 关系. $Q = 1\text{ml/min}$ 时,聚苯乙烯 1.6×10^5 和乙苯的 \hat{v}_c 理论值为 27.1 和 43.1ml,和实验值一致. 这张图说明了 Haller 的实验,他发现试样分子在完全排斥 (TMV) 或完全渗透 (BA) 时流出体积没有流速依赖性;而中间情况 (MS₂) 则表现出一定的依赖性:随流速增大流出体积略有减小, $\hat{v}_c(Q)$ 有线性关系. 图 8 是用(44)式计算的标定曲线对流速的依赖性,它解释了 Yau 的实验, Yau 发现流速增大时由于流出体积减小,标定曲线的形状改变,似乎渗透极限也会有所降低.

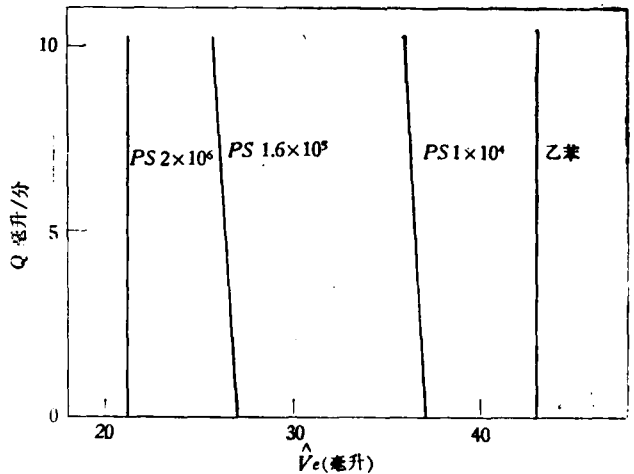


图 7 $\hat{v}_c(Q)$ 关系, Ouano 数据

由(18)、(22)和(9)式,我们还可写出

$$\bar{L}_s = L_m p K \frac{1 - e^{-qb}}{bqp} \quad (45)$$

\bar{L}_s 可返回到 t 空间

$$\bar{C}_s(y, t) = \int_0^t \frac{\partial C_m}{\partial \tau}(y, \tau) K'_{\text{GPC}}(t - \tau) d\tau = K'_{\text{GPC}}(t_\theta) C_m(y, t), \quad 0 < t_\theta < t \quad (46)$$

$$K'_{\text{GPC}}(t_\theta) = K \left[\frac{2}{b} \sqrt{\frac{D_s t_\theta}{\pi}} (1 - e^{-b^2/4D_s t_\theta}) + \operatorname{erfc} \frac{b}{2\sqrt{D_s t_\theta}} \right] \quad (47)$$

考虑到非均匀圆柱形小孔的模型, 整个小孔的平均浓度应为 $\frac{b}{a} \bar{C}_s$, 因此得到

$$K_{\text{GPC}}(t_\theta) = K_c \left[\frac{2}{b} \sqrt{\frac{D_s t_\theta}{\pi}} (1 - e^{-b^2/4D_s t_\theta}) + \operatorname{erfc} \frac{b}{2\sqrt{D_s t_\theta}} \right] = K_c K_{D1} \quad (48)$$

这就是 Yau 所定义的分配系数公式。这样的定义从理论上看不严格的, 因为只有在扩散平衡时才有 $K_c = \frac{b}{a} \frac{C_{s,e}}{C_{m,e}}$, $C_{s,e}$ 和 $C_{m,e}$ 是扩散平衡时浓度。应用

$$\hat{V}_e = V_0 + K_{\text{GPC}}(t_\theta) V_i \quad (49)$$

计算 \hat{V}_e , 关键在于 t_θ 的选择。图 9 反映了 $K_{D1} \left(\frac{b}{2\sqrt{D_s t_\theta}} \right)$ 关系。根据图 9, 以 Ouano 数

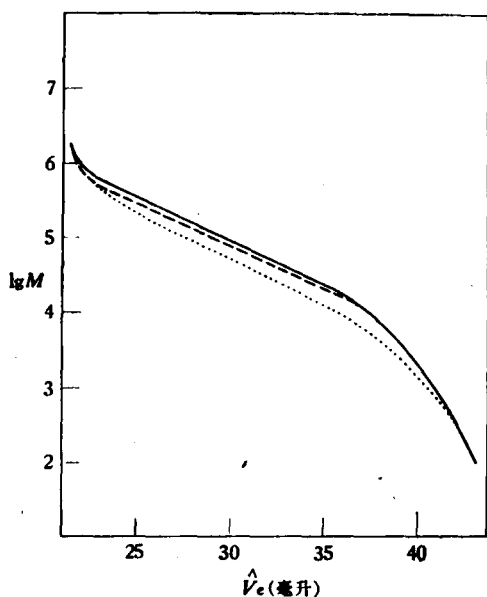


图 8 $\lg M(\hat{V}_e)$ 对流速的依赖性, Ouano 数据
— $\lg M(V_e)$ - - - - 1ml/min 10ml/min

据为例, 利用模拟计算得到的 b^2/D_s , 选择 $t_\theta = 100$ 秒, 相当于 $Q = 10$ ml/min 时淋出样品时间, 仍得 $K_{D1} = 1$, 显示不出流速依赖性。

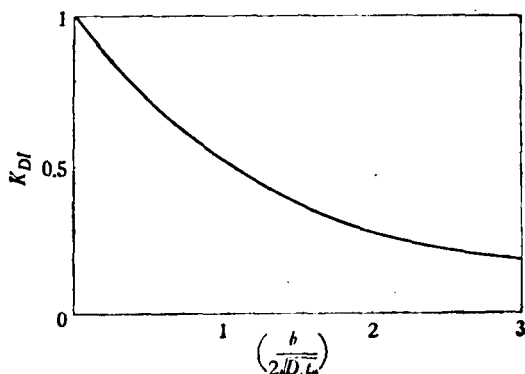


图 9 $K_{D1} \left(\frac{b}{2\sqrt{D_s t_\theta}} \right)$ 关系

二、峰加宽函数的普适标定性

由于存在峰加宽效应, 色谱图形 $F(v)$ 和试样真分布 $W(y)$ 之间有关系

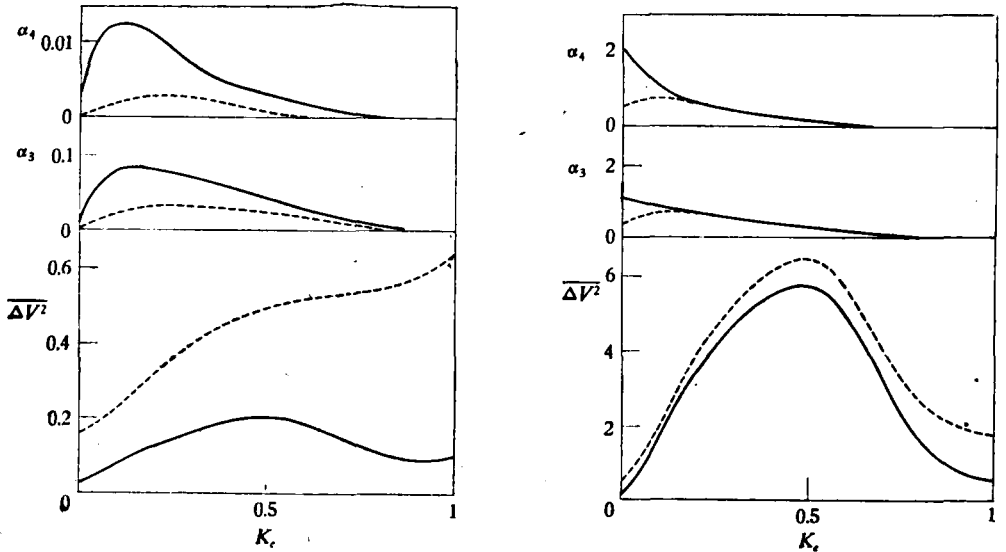
$$F(v) = \int_0^\infty W(y) G(v - y) dy \quad (50)$$

$G(v - y)$ 称之为峰加宽函数, 一般情况下主要归结为柱内色谱过程的贡献, 就是我们在前面所讨论的 $C_m(t)$ 。为着把 $C_m(t)$ 应用于 $G(v - y)$, 我们只要令 $t = v/Q$, $\mu = y/Q$; 理所当然地有 $\sigma^2 = \sigma_B^2$, $\alpha_3 = \alpha_{3B}$, $\alpha_4 = \alpha_{4B}$ 。Benoit^[14] 实验发现, 如用 $\lg[\eta]M(K_c)$ 关系去

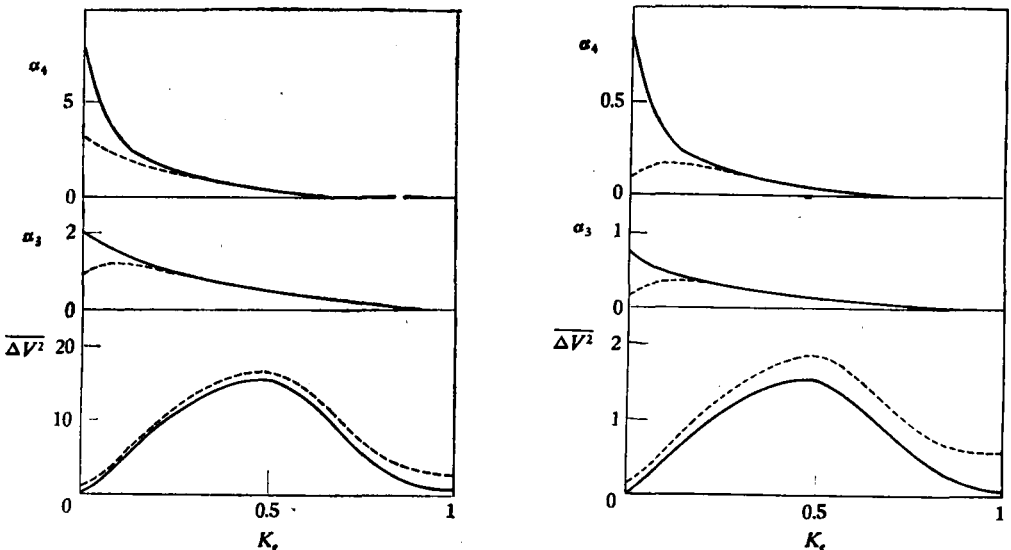
标定柱子，则对很大一部分高聚物来说是普适标定的。从这一点出发，利用(40)和(41)式可以证明

$$[\eta]M = (p^{-3}\phi) \left(\frac{kT}{\eta_0} \right)^3 / D \quad (51)$$

因此在同一 K_e 处不同试样分子不仅有同一 $[\eta]M$ ，还有同一 D_m 。根据限制扩散的工作 [5]，见(15)式，可以知道同一 K_e 处不同试样分子的 D_e 必然相等，因为 Benoit 普适标定



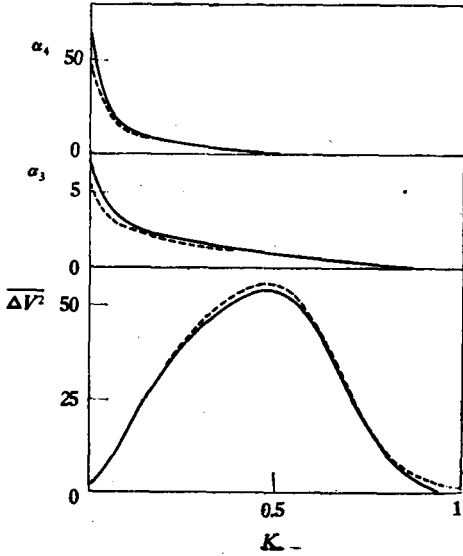
1. $Q = 1$ 毫升/分, $D_p = 10\mu$, Ouano 型孔分布
 ———— $\lambda = 3, N = 19000$ 塔板
 - - - - $\lambda = 20, N = 2900$ 塔板
2. $Q = 1$ 毫升/分, $D_p = 60\mu$, Ouano 型孔分布
 ———— $\lambda = 3, N = 3100$ 塔板
 - - - - $\lambda = 10, N = 980$ 塔板



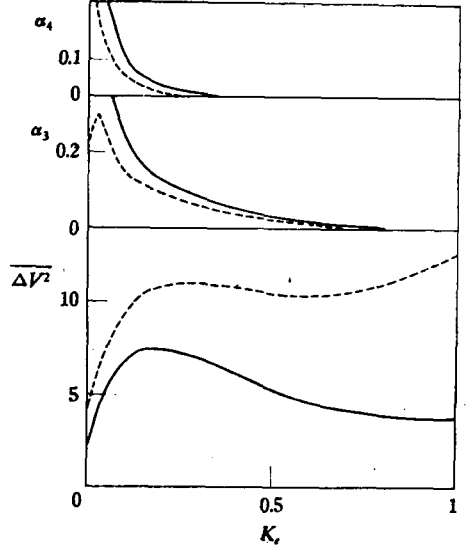
3. $Q = 1$ 毫升/分, $D_p = 100\mu$, Ouano 型孔分布
 ———— $\lambda = 3, N = 1900$ 塔板
 - - - - $\lambda = 10, N = 600$ 塔板
4. $Q = 10$ 毫升/分, $D_p = 10\mu$, Ouano 型孔分布
 ———— $\lambda = 3, N = 20000$ 塔板
 - - - - $\lambda = 20, N = 3000$ 塔板

图 10 $\Delta V^2, \alpha_3, \alpha_4(K_e)$ 关系对凝胶和实验条件的依赖性。

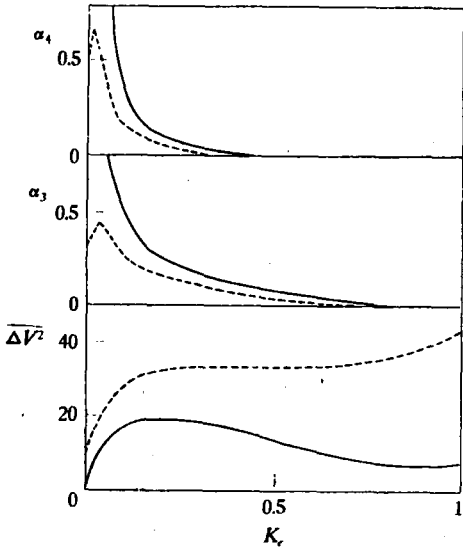
暗示了按某种和 a_H 成比例尺寸的分离。(10)式已说明 b 只受 K_r 影响。这样,应用(30—32)式我们就从理论上说明了 1969 年 Tung 的实验发现^[7],他用逆流法测定了峰加宽方差 σ_b^2 ,并指出 σ_b^2 只依赖于流出体积而不依赖于高聚物的化学结构。Tung 的发现,象 Benoit 普适标定一样,使得有可能在用如单分散聚苯乙烯标样标定了色谱柱的峰加宽特性后,用来去改正其他试样的峰加宽影响,近年来正引起人们兴趣,又有新的实验验证^[15,16]。我们还可把上面的讨论进一步推广,这就是:在凝胶色谱实验中如若单分散标样流出体积 \bar{V} ,



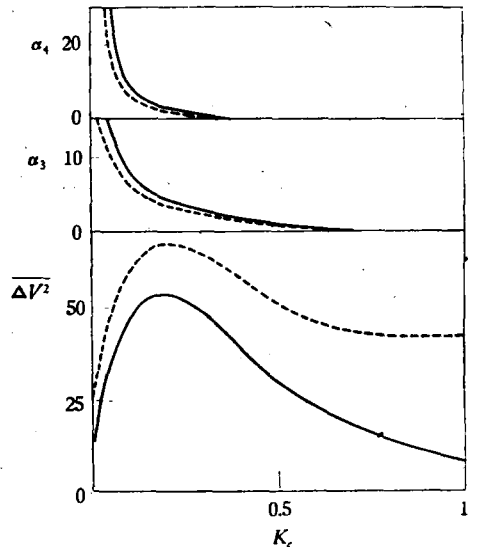
5. $Q = 100$ 毫升/分, $D_p = 60\mu$, Ouahio 型孔分布
 —— $\lambda = 3, N = 1800$ 塔板
 - - - $\lambda = 10, N = 800$ 塔板



6. $Q = 1$ 毫升/分, $D_p = 60\mu$, Tung 型孔分布
 —— $\lambda = 3, N = 19000$ 塔板
 - - - $\lambda = 10, N = 5800$ 塔板



7. $Q = 1$ 毫升/分, $D_p = 100\mu$, Tung 型孔分布
 —— $\lambda = 3, N = 12000$ 塔板
 - - - $\lambda = 20, N = 1800$ 塔板



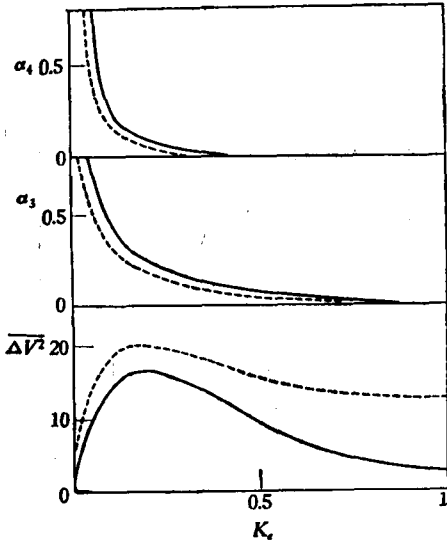
8. $Q = 5$ 毫升/分, $D_p = 100\mu$, Tung 型孔分布
 —— $\lambda = 3, N = 9500$ 塔板
 - - - $\lambda = 20, N = 1800$ 塔板

图 10 (续)

符合 Benoit 普适标定,那么由于峰加宽效应引起的 σ_B^2 、 α_{3B} 、 α_{4B} , 因而 $G(\nu - y)$ 也是可以普适标定的。

三、峰加宽函数对凝胶和实验条件的依赖性

图 10反映了峰加宽函数对凝胶和实验条件的依赖性。凝胶条件包括粒径 D_p 和孔径分布, 实验条件包括装柱效率 λ 和流速 Q 。我们一共计算了 4 个粒径、2 种孔径分布、5 个装柱条件、4 个流速共 160 种不同情况下的峰加宽函数, 这里选择了 18 种不同情况是其典型代表。



9. $Q = 10$ 毫升/分, $D_p = 30\mu$, Tung型孔分布
 —— $\lambda = 3, N = 30000$ 塔板
 - - - $\lambda = 20, N = 6100$ 塔板

图 10 (续)

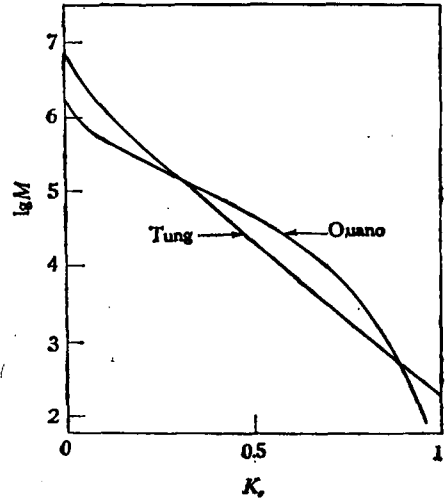


图 11 标定曲线

考虑到 Gram-Charlier 级数在 α_3 - α_4 平面上单峰、正定存在域问题^[17], 在 α_3 很大的情况下峰加宽函数有时可能用其他函数如 Poisson-Charlier 级数形式^[18]; 我们只考察矩的情况。在前面已经叙及 γ_s 是由孔的条件决定的, 因此在讨论孔径分布的影响时, 我们选择 Ouano 的柱子作为具有一般孔径分布的典型, 而 Tung 的柱子作为宽孔径分布的典型, 见图 11。所谓孔径分布宽, 是从标定曲线看, 它是不同孔径规格柱子串联的结果, 并未涉及到每一粒凝胶内在的孔径分布。按 Cooper^[19] 的看法, 这两种情况对色谱过程的影响是一致的。由图 10 可以看出, 粒子大小是决定分离效率的主要矛盾, 粒子小, $\overline{\Delta V^2}$ 、 α_3 和 α_4 均小, 表示容易达成流动相和固定相之间的扩散平衡, 提高分离效率。孔径分布主要决定了 $\overline{\Delta V^2}(K_r)$ 、 $\alpha_3(K_r)$ 和 $\alpha_4(K_r)$ 曲线的形状。从(30)式来看, 一般情况下对 $\overline{\Delta V^2}$ 贡献较大的一项是 $\frac{2}{3} \frac{(1-\Phi)}{\Phi} \frac{b^2}{D_p} K_r$, 如同 Hermans 讨论过的 K_r 由 0—1 变化时, $\frac{b^2 K_r}{D_p}$ 应有一个极值。因此 $\overline{\Delta V^2}(K_r)$ 曲线出现极大值是普遍规律。但是正如图 10 所见, 如果孔径分布变宽, 极值位置移向 K_r 较小的区域。这时如忽略掉 K_r 值较小的部分, 则 $\overline{\Delta V^2}(K_r)$ 接近单调变化的曲线。装柱效率强烈地影响对 K_r 值较大部分试样的分离效果, 柱子装得不好, λ 值大, 涡流扩散项贡献增大, $\overline{\Delta V^2}$ 增大很快, 从而降低了分离效率。流速的影响也是显著的流速增大, 不仅分离效率降低, 而且改变了 $\overline{\Delta V^2}(K_r)$ 等曲线的形状。

图 12 进一步反映了粒子大小和流速对 $\overline{\Delta V^2}$ 的影响。可以看出, 若用小分子来测量柱

效,随着流速的不同应有一个极大值($\overline{\Delta V^2}$ 出现极小值),且随着粒径变小,极值的位置向

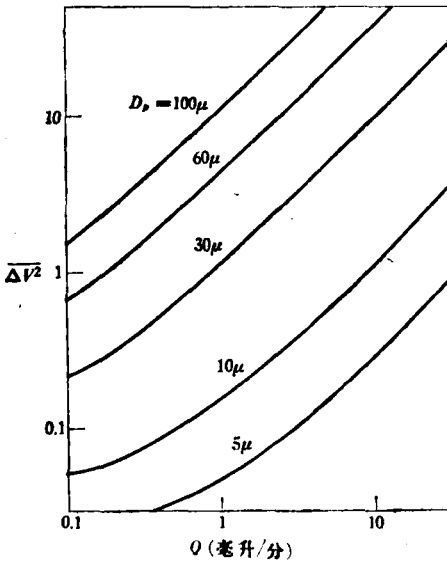


图12.1 乙苯的 $\overline{\Delta V^2}(Q)$ 关系

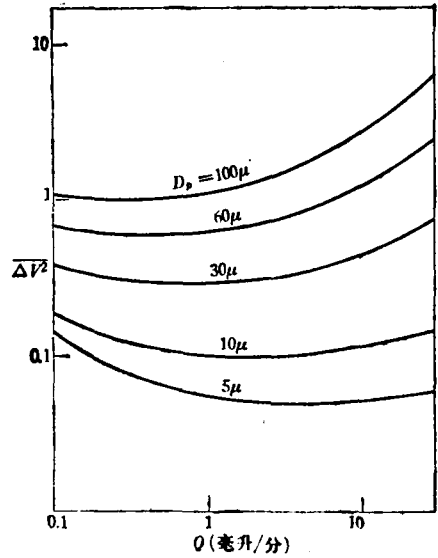


图12.2 聚苯乙烯 1.6×10^5 的 $\overline{\Delta V^2}(Q)$ 关系

着流速大的方向推移。这说明特别是用细粒子凝胶工作时,对小分子的分离可能存在一个最佳流速。但对高分子试样就不这样,还是流速小,峰加宽效应小,分离的要好一些。这样,我们就用物料平衡方程的理论解释了 Limpert 等^[20]关于细粒子凝胶柱效在某一流速下会出现极大值的实验,并指出不应理解为对于高分子试样在该流速下也会有最好的分离。

四、峰加宽效应的改正

已经指出物料平衡方程从理论上给出了用 Gram-Charlier 级数表示的峰加宽函数 $G(v-y)$ 。对 Ouano 和 Smit 色谱曲线模拟的成功说明了理论所给 $G(v-y)$ 函数的有效性。Provder 等^[17]、Hamielec 等^[21]利用这种一般化的峰加宽函数讨论了峰加宽效应的改正,他们指出应用改正平均分子量的方法可以得到 Tung 积分方程(50)式的解析解。

在实际工作中常提出这样的问题:已知色谱柱总柱效 N ,问 $\bar{M}_n(\infty)$ 、 $\bar{M}_w(\infty)$ 由于峰加宽效应的影响和真正值 $\bar{M}_n(t)$ 、 $\bar{M}_w(t)$ 的最大偏差多少?按 Hamielec 推导,

$$\bar{M}_n(t) = \bar{M}_n(\infty) \exp\left(\frac{D_2^2 \sigma_B^2}{2}\right) \left\{ 1 + \frac{\alpha_{3B} D_2^3 \sigma_B^3}{6} + \frac{\alpha_{4B} D_2^4 \sigma_B^4}{24} \right\} \quad (52)$$

$$\bar{M}_w(t) = \bar{M}_w(\infty) \exp\left(-\frac{D_2^2 \sigma_B^2}{2}\right) \left/ \left\{ 1 - \frac{\alpha_{3B} D_2^3 \sigma_B^3}{6} + \frac{\alpha_{4B} D_2^4 \sigma_B^4}{24} \right\} \right. \quad (53)$$

D_2 是标定曲线的斜率,

$$M = D_1 e^{-D_2 v} \quad (54)$$

利用(52)和(53)式来回答上述问题关键在于:(1)由总柱效,即 $K_c = 1$ 时 σ_B^2 如何估计 σ_B^2 (K_c) 曲线中 $\sigma_{B,max}^2$? (2)如何估计 α_{3B} 和 α_{4B} 的可能影响?这是一个很困难的问题,因为图 10 已告诉我们随着凝胶和实验条件的不同 σ_B^2 、 α_{3B} 、 $\alpha_{4B}(K_c)$ 函数形式变化很大,但是可以看出 $\sigma_{B,max}^2/\sigma_B^2(K_c = 1)$ 、 α_{3B} 和 α_{4B} 随着粒径增大、孔径分布变窄、流速增大、装柱效率提

高而加大. 我们把讨论局限于 $Q = 1\text{ml/min}$ 的情形. 根据文献统计分析, 当 $D_p = 60\mu$ 时, 对于孔径分布较窄的情形下 $\sigma_{B,\max}^2/\sigma_B^2(K_c = 1) \leq 10$, 如同 Ouano^[3] 和 Yau^[22] 的测定结果; 对于孔径分布较宽、利用几根不同规格柱子串联起来的情形下 $\sigma_{B,\max}^2/\sigma_B^2(K_c = 1) \leq 5$, 如同 Hamielec^[23-25]、Provdar^[17]、Tung^[7,26] 和加藤^[27] 的测定结果. 假如上述统计分析是可以接受的, 那么利用图10模拟计算的结果, 进行适当估计, 得到一组 C_1 和 C_2 数值, 使得可用公式(55)和(56)去计算不同总柱效 N 时分子量的最大偏差.

$$\frac{\bar{M}_n(t)}{\bar{M}_n(\infty)} = C_1 \exp\left(\frac{C_2 D_i^2}{N}\right) \quad (55)$$

$$\frac{\bar{M}_w(t)}{\bar{M}_w(\infty)} = C_1 \exp\left(-\frac{C_2 D_i^2}{N}\right) \quad (56)$$

$$D_i' = D_i(V_0 + V_i) \quad (57)$$

表2 不同条件下 C_1 和 C_2 值

孔径分布 \ 粒度 D_p	10 μ		60 μ		100 μ	
	C_1	C_2	C_1	C_2	C_1	C_2
宽	1.05	1.25	1.05	2.5	1.1	5
较窄	1.05	2.5	1.1	5	1.1	10

譬如有一根凝胶柱子 $D_p = 60\mu$, 是宽分布的如图 11Tung 的柱子, 分离范围达 4 个数量级, 那么 $D_i' \approx 4.606 \times 4 = 18.4$, 在不同总柱效 N 时 $\bar{M}_n(t)/\bar{M}_n(\infty)$ 或 $\bar{M}_w(t)/\bar{M}_w(\infty)$ 的最大偏差如下

	峰形对称,	考虑 α_{3B} 和 α_{4B}
$N = 2000$ 塔板, $\bar{M}_n(t)/\bar{M}_n(\infty) = 1.53$,		1.61
5000	1.18,	1.24
10000	1.09,	1.14
40000	1.02,	1.07

摘 要

本文从简化 Ouano 扩散方程出发, 选用非均匀圆柱形孔模型和合适的 $D_i(M)$ 、 $D_m(M)$ 关系, 模拟 Ouano、Smit 和 Tung 的数据, 得到较好的结果. 应用 Gram-Charlier 级数形式的解析解讨论了 $\hat{V}_e(Q)$ 关系, 解释了 Haller 和 Yau 的实验并评价了后者的 K_{GFC} 公式. 从理论上指出如若单分散标样的 \bar{V}_e 符合 Benoit 普适标定, 那么由于峰加宽效应引起的 σ_B^2 、 α_{3B} 、 α_{4B} 和 $G(\nu - \gamma)$ 也是可以普适标定的, 解释了 Tung 关于 σ_B^2 不依赖于试样化学组成的发现. 讨论了 σ_B^2 、 α_{3B} 、 $\alpha_{4B}(K_c)$ 对粒子大小、孔径分布、流速和装柱效率的依赖性. 应用物料平衡方程的理论解释了 Limpert 关于细粒子凝胶柱效在某一流速下出现极大值的实验, 并指出不应理解为对于高分子试样在该流速下也会有最好的分离. 提出了根据色谱柱总柱效估计 $\bar{M}_n(t)/\bar{M}_n(\infty)$ 或 $\bar{M}_w(t)/\bar{M}_w(\infty)$ 的近似公式.

致谢：作者感谢钱人元、施良和、高玉书等同志对于本工作的关心和他们提出的宝贵意见。

参 考 文 献

- [1] M. Kubin, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **30**, 1104 (1965).
- [2] J. J. Hermans, *J. Polymer Sci. A2*, **6**, 1217 (1968).
- [3] A. C. Onano & J. A. Barker, *Separation Sci.*, **8**, 673 (1973).
- [4] M. Kubin, *J. Chromatog.*, **108**, 1 (1975).
- [5] G. K. Ackers, *Biochem.*, **3**, 723 (1964).
- [6] J. A. M. Smit, C. J. P. Hoogervorst & A. J. Staverman, *J. Appl. Polym. Sci.*, **15**, 1479 (1971).
- [7] L. H. Tung & J. R. Runyon, *J. Appl. Polym. Sci.*, **13**, 2397 (1969).
- [8] R. N. Mukherjee & P. Rempp, *J. Chim. Phys.*, **56**, 94 (1959).
- [9] L. Mandelkern & P. J. Flory, *J. Chem. Phys.*, **20**, 212 (1952).
- [10] J. Brandrup & E. H. Immergut Ed., *Polymer Handbook*, Wiley, New York, 1966.
- [11] A. L. Spatorico & B. Coulter, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **11**, 1139 (1973).
- [12] W. Haller, *J. Chromatogr.*, **32**, 676 (1968).
- [13] W. W. Yau, *J. Polymer Sci., A2*, **7**, 483 (1969).
- [14] Z. Grubisic, P. Rempp & H. Benoit, *J. Polym. Sci. B*, **5**, 753 (1967).
- [15] B. S. Ehrlich & W. V. Smith, *Advances in Chemistry Series*, No. 125, 164 (1973).
- [16] J. Probst, K. Unger & H.-J. Cantow, *Angew. Makromol. Chem.*, **35**, 177 (1974).
- [17] T. Provder & E. M. Rosen, *Separation Sci.*, **5**, 437, 485 (1970).
- [18] O. Grubner, *Advances in Chromatography*, **6**, 173 (1968).
- [19] A. R. Cooper, J. H. Cain, E. M. Barrall II & J. F. Johnson, *Separation Sci.*, **5**, 787 (1970).
- [20] J. Limpert, R. L. Cotter & W. A. Dark, *Am. Lab.*, **6**, 63 (1974).
- [21] A. F. Hamielec, *J. Appl. Polym. Sci.*, **14**, 1519 (1970).
- [22] W. W. Yau, C. P. Malone & H. L. Suchan, *Separation Sci.*, **5**, 259 (1970).
- [23] J. H. Duerksen & A. E. Hamielec, *J. Polym. Sci.*, **C21**, 83 (1968).
- [24] J. H. Duerksen & A. E. Hamielec, *J. Appl. Polym. Sci.*, **12**, 2225 (1968).
- [25] S. T. Balke & A. E. Hamielec, *J. Appl. Polym. Sci.*, **13**, 1381 (1969).
- [26] L. H. Tung, J. C. Moore & G. W. Knight, *J. Appl. Polym. Sci.*, **10**, 1261 (1966).
- [27] 加藤芳男、桥本勉“高分子论文集” **31**, 224 (1974).

ON THE MATERIAL BALANCE EQUATION OF GPC

Chai Zhi-kwan

(*Institute of Chemistry, Academia Sinica*)

ABSTRACT

The simplified Ouano's diffusion equation has been solved with a nonuniform cylindrical pore model for the gel and an appropriate choice of $D_p(M) = K_p M^{-\gamma}$, in which γ , depends on the pore structure. Experimental GPC data in the literature have been successfully simulated on a computer with γ , and the pore uniformity parameter φ as two adjustable parameters. The experiments of Haller and of Yau on the flow rate dependence of the elution peak can be explained from our analytical solution of the diffusion equation in Gram-Charliers' series form. Yau's formula for K_{GPC} can be shown to be not a theoretically strict one. It is pointed out that if \bar{V}_n of monodisperse standard samples obey Benoit's universal calibration, σ_s^2 , a_{2s} , a_{4s} and peak spreading function $G(v-y)$ should also obey universal calibration. This explains Tung's experimental discovery that σ_s^2 is dependent on elution volumes only and independent on chemical constitution of the polymer. Computer simulation has been carried out for the variation of peak spreading function for 160 cases of gel and column operation conditions (4 bead sizes \times 2 types of pore distribution \times 4 flow rates \times 5 packing efficiencies). Limpert's experiment concerning the existence of a maximum column efficiency in fine beads of gel at certain flow rate can be explained by our material balance equation, and it is pointed out that the best resolution for polymer sample would not necessarily occur at this flow rate. Approximate relations for calculating $\bar{M}_n(t)/\bar{M}_n(\infty)$ and $\bar{M}_w(t)/\bar{M}_w(\infty)$ from the total column efficiency are also formulated.