

## 多检测器凝胶渗透色谱指南



# 目录

前言 .....	3	Agilent 1260 Infinity 多检测器套件 (MDS) 的实际应用 .....	16
为什么要进行多检测器 GPC/SEC 分析? .....	4	用粘度测定法分析星形聚苯乙烯 .....	17
配置单一浓度型检测器的常规 GPC .....	4	用粘度测定法分析环氧树脂 .....	20
基于对比的技术 .....	5	使用三检测器检测分析聚乙烯醇缩丁醛 .....	21
信息贫乏 .....	5	使用三检测器检测分析聚丁二烯 .....	22
多检测器 GPC/SEC 能提供什么? .....	5	使用三检测器检测分析溴化苯乙烯 .....	23
带粘度测定的 GPC 和 SEC .....	6	结论 .....	24
什么是粘度计? .....	6	进一步阅读建议 .....	24
四毛细管桥接粘度计 .....	6		
仪器校准 .....	7		
GPC 和 SEC 中的特性粘度 .....	7		
马克-霍温克曲线 .....	8		
粘度测定的实际操作 .....	8		
粘度测定小结 .....	8		
带光散射和三检测器检测的 GPC 和 SEC .....	9		
令人困惑的光散射 .....	9		
什么是静态光散射检测器? .....	9		
折射率增量 — $dn/dc$ .....	10		
光散射的角度依赖性 .....	11		
不对称测量和回转半径 .....	11		
分析光散射数据 .....	12		
构象图 (The conformation plot) .....	14		
三检测器检测 .....	15		
光散射检测的实际操作 .....	15		
光散射检测小结 .....	15		
聚合物支化 .....	15		

## 前言

本指南是同样由安捷伦科技公司出版的《凝胶渗透色谱和体积排阻色谱技术介绍》的后续。

上一本手册针对使用单一检测器（通常为示差折光检测器）的凝胶渗透色谱 (GPC) 和体积排阻色谱 (SEC)，对其发展、理论和实际操作进行了讨论。我们通常将其称为常规 GPC/SEC。在这本指南中，我们通过使用附加检测器将 GPC/SEC 实验扩展到了多检测器或三检测器 GPC/SEC。

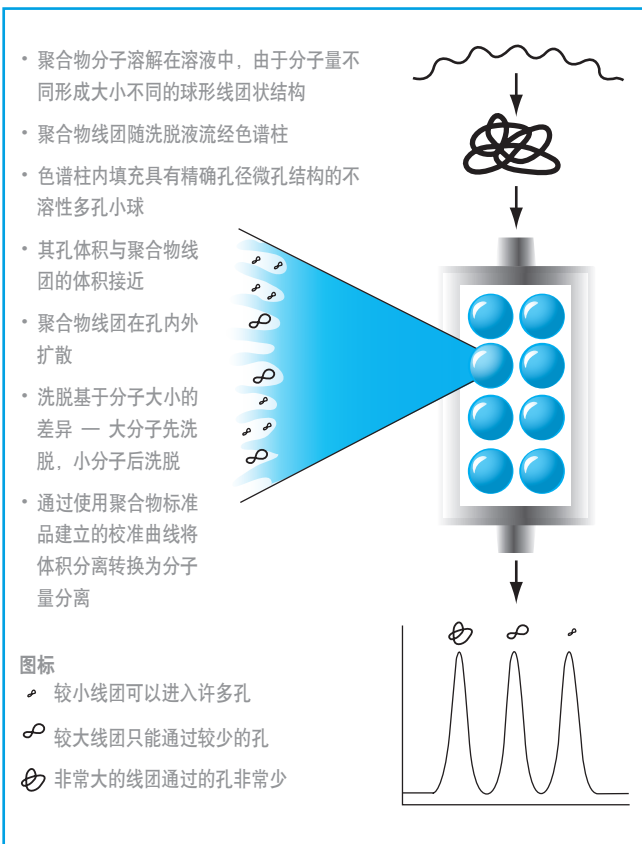
在本指南中，GPC 和 SEC 这两个术语描述的是同一个色谱过程，只不过是不同行业使用的首字母缩写不同而已。一般而言，分析人员讨论 GPC 和 SEC 时，他们指的是相同类型的色谱分析。国际理论与应用化学联合会 (IUPAC) 倾向于使用 SEC 这一术语来描述此类实验，不过 GPC 也经常使用。

带单一浓度型检测器（如示差折光检测器）的常规 GPC，使用的是窄分子量分布聚合物标准品产生的校准曲线，是一种相对简单的技术。而多检测器 GPC 则复杂得多，最基本的就是其涉及了大量的数学运算。本指南中，我们将对多检测器 GPC 技术进行概要介绍。在本指南最后还为想要对这些技术进行更深入了解的读者列出了进一步阅读的参考资料。

### 关于名称

在本指南中，我们使用的术语 GPC，涵盖了 GPC 和 SEC。常规的“GPC”指仅使用单一浓度型检测器的 GPC 实验，通过参考以 log 分子量对保留时间作图的校准曲线，进行分子量计算。本指南中的“多检测器 GPC”是指浓度型检测器与粘度计、光散射检测器的其中一种联合使用，或采用三检测器进行检测的 GPC 实验。我们未使用这个术语描述采用一种以上浓度型检测器的 GPC 实验。

为方便起见，我们将 GPC/SEC 的机理总结如下。



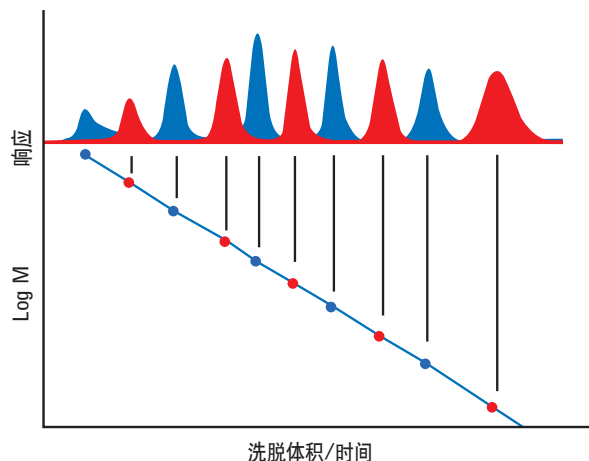
## 为什么要进行多检测器 GPC/SEC 分析?

为了解答这一问题，我们需要先了解采用常规 GPC/SEC 分析聚合物分子量时的局限。

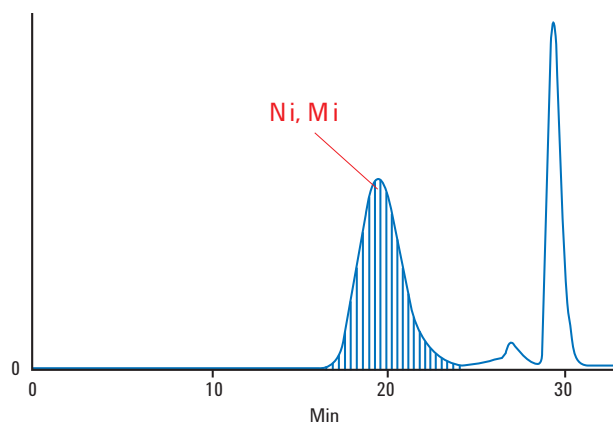
### 配置单一浓度型检测器的常规 GPC

常规 GPC 的检测器通常为示差折光检测器，但也有紫外或蒸发光散射检测器。在分析过程中，GPC 柱按照聚合物分子在溶液中的大小对其进行分离，检测器测定从色谱柱中洗脱的物质质量，将其作为保留时间的函数。通过使用校准曲线将其转换为分子量，校准曲线是以聚合物分子量对保留时间（从色谱柱中洗脱的时间）作图的曲线。校准曲线本身是由一系列已知分子量的聚合物标准品的洗脱行为产生。在计算过程中，从色谱柱中洗脱的样品峰被分为若干片段，然后利用每个片段的保留时间参考校准曲线测定其分子量。从该片段的面积或高度可测得片段在整个样品中的百分比，然后根据百分比和分子量数据可计算分子量分布。

虽然常规 GPC 是测定聚合物分子量和分子量分布非常通用的分析工具，但是它也拥有下页所讨论的一些局限。



两组混合标样的典型色谱图和得到的校准曲线



在 GPC 计算中被切割成片段的峰

## 基于对比的技术

使用单一浓度型检测器的常规 GPC，实际上是一种基于对比的技术。在分析过程中，检测器告诉你任意时间从色谱柱中洗脱出了多少物质。然后再参考作为保留时间函数的分子量的校准曲线，将其转换为分子量，随后可转换为分子量分布。如果校准使用的标准品和样品具有相同的化学性质，得到的就是准确分子量。但如果标准品和样品的化学性质不同，则结果只能是相对值。

为什么会这样呢？请记住，由于依据的是近球状的聚合物线团在色谱柱中运动，所以 GPC 色谱柱的分离是基于聚合物分子在溶液中的大小，而不是分子量。在进行常规 GPC 的计算时，会假设溶液中某一尺寸的分子对应一定的分子量，正如校准曲线所示的那样，同时保留时间取决于分子大小。然而，具有不同化学性质的不同类型聚合物在溶液中会缠绕成不同尺寸的球。其结果是，如果建立校准曲线所用的标准品与待测样品具有明显不同的化学性质，则该标准品和样品尺寸与分子量的关系将会不同，因此计算的样品分子量值并非样品的真实值。

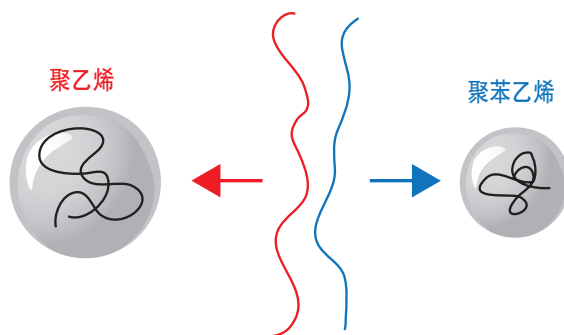
例如，任何特定分子量的聚乙烯在三氯苯溶液中缠绕形成的球，都会比同样分子量的聚苯乙烯分子大得多。

因此，如果用聚苯乙烯标准品校准常规 GPC 系统来分析聚乙烯，所有聚乙烯样品的计算结果都将过高，因为柱上洗脱的分子被当成了更大分子量的聚苯乙烯分子。

只有当标准品与样品的化学性质相同时，才能用常规 GPC 得到正确的分子量。这就是拥有各种窄分布标准品可供选择的原因。不幸的是，对大多数 GPC 用户来说，不可能（或者不经济）得到与其样品化学性质相符的标准品。

于某些分析人员，仅得到相对分子量分布就够了，因为仍然可以看出不同批次产品之间的区别。但对其他人来说，得不到准确分子量却是常规 GPC 的严重局限。

溶解于 TCB 中的相同分子量



两种聚合物在常见溶剂中的大小比较

## 信息贫乏

常规 GPC 提供的信息相对有限。色谱柱基于溶液中聚合物分子的体积大小对其进行分离，而检测器测定柱上洗脱分子的浓度。因此得不到关于溶液中聚合物行为的其他信息，而且虽然聚合物尺寸在分离机制中至关重要，分析中也不能测量聚合物的尺寸。相对来说，常规 GPC 不是一项信息丰富的技术。

## 多检测器 GPC/SEC 能提供什么？

多检测器 GPC 采用浓度型检测器，并配有粘度计、光散射检测器中的一种，或两者都有，弥补了常规 GPC 的缺陷。多检测器 GPC 具有以下功能：

- 分子量计算不依赖于任何校准所用标准品的化学性质
- 测定常规 GPC/SEC 无法测量的其他聚合物性质

## 带粘度测定的 GPC 和 SEC

多检测器 GPC 最常见的形式是浓度型检测器配上粘度计。粘度计测量从色谱柱中洗脱出的物质溶液的粘度。将粘度同其他检测器给出的浓度信息结合，能深入了解溶液中聚合物分子的行为。

### 什么是粘度计？

GPC 中所用的粘度计是一款能测量含有聚合物的样品溶液相对于单独溶剂粘度的设备。在最标准的设计中，这是通过让溶液和参比溶剂经过窄毛细管，并测量压降来实现的。再利用泊肃叶定律将其转化为粘度，该定律将毛细管上的压降与毛细管中流体的粘度联系起来。

用标准流体动力学符号可表示为：

$$\Delta P = \frac{128\mu L Q}{\pi d^4}$$

或

$$\Delta P = \frac{8\mu L Q}{\pi r^4}$$

这里的

$\Delta P$  为压降

$L$  是毛细管长度

$\mu$  是动态粘度

$Q$  是体积流速

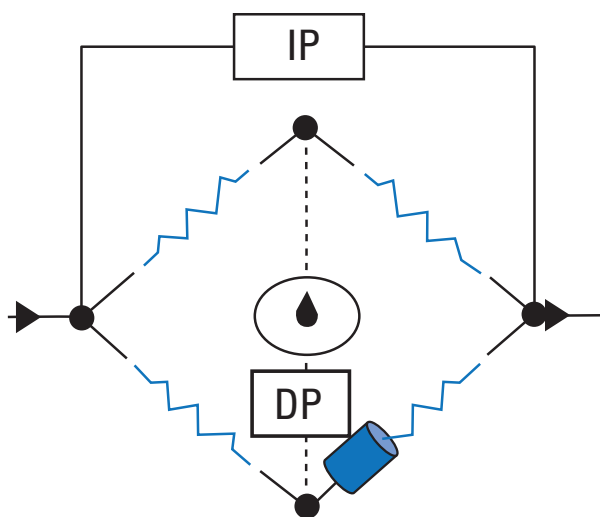
$r$  是半径

$d$  是直径

$\pi$  为数学常数。

### 四毛细管桥接粘度计

GPC 粘度计的行业标准设计称为四毛细管桥接设计。该四毛细管桥接设计为惠斯通电桥的等效流路。



粘度计由两条流路中的四根交联毛细管组成，这两条流路均是由 GPC 色谱柱流路分流出来的。两条流路彼此独立，但在通过两根毛细管后会进行交汇，然后流入废液。除一侧流路在第一根毛细管后放置延迟柱以外，两条流路完全相同。延迟柱是一根填充了玻璃珠的大内体积柱。在整个桥两侧测得的压力称为入口压力 (IP)。在两个流路之间测量的第二个压力，称为压差 (DP)。

在操作过程中，来自色谱柱或其他检测器的液流抵达分流点，分别流入两条流路，以相同流速流经两条流路的第一根毛细管。然后，样品继续流向第二组毛细管。不过，桥的不对称性会在这里发挥作用。在其中一条流路中，样品会流向下一根毛细管，而在另一条流路中，样品则进入延迟柱，在毛细管前被阻滞。这样，桥就失去了平衡，一侧的样品流经毛细管，而另一侧的毛细管因样品被保留在延迟柱中，就只有溶剂。这样就产生了压力差，能测量出压差 (DP) 值。而压差值与样品的粘度相关。然后，通过一个简单的关系式，就能用入口压力 (IP) 值和压差值测量出样品的增比粘度。

$$\eta_{sp} = 4DP / (IP - 2DP)$$

粘度计测得的值是样品的增比粘度。然而 GPC 中，柱上样品的浓度非常低，因此可以将其转换为特性粘度。

$$[\eta] = \eta_{sp} / \text{浓度}$$

因为浓度趋近于零。

### 仪器校准

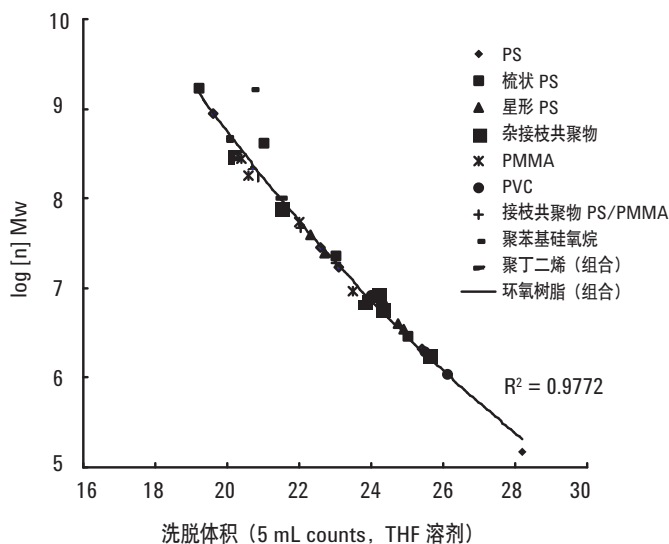
样品分析前的第一个步骤是仪器或检测器校准。在这一步中，检测器的响应采用已知性质的窄分布标准品进行校准。在带粘度测量的 GPC 中，我们采用已知的浓度来校准浓度型检测器的响应，并用已知的特性粘度来校准粘度计。检测器之间的任何时间延迟，称为检测器间延迟 (IDD)，也是在这一步进行测量。

### GPC 和 SEC 中的特性粘度

在 GPC 中测量特性粘度的好处是可以利用普适校正方法来测定分子量。这是一种能实现分子量准确计算的方法，与校准所用标准品的化学性质无关。

普适校正利用了特性粘度和分子量都与溶液中分子大小相关的现象：

$$\text{流体动力学体积} = k \times \text{分子量} \times \text{特性粘度}$$



A Universal Calibration for Gel Permeation Chromatography. Polymer Letters, Vol.5. Z. Grubisic, P. Rempp, and H. Benoit. © 1967. 获 John Wiley & Sons, Inc. 授权复制

### 普适校正实例

流体动力学体积是测量分子大小的指标，k 为常数。因此，如果用一套标准品以  $\log (\text{特性粘度} \times \text{分子量})$  对保留时间作图绘制校准曲线，就相当于以  $\log$  分子尺寸对保留时间作图。由于色谱柱是基于溶液中尺寸进行分离，所以不管何种标准品，都将产生同样的校准曲线，也就是如上文所述的普适校正。

因此，只要标准品能够在色谱柱中进行单纯的 SEC 分离，而不会由于相互作用得到保留，就能用来校准。

对样品进行分析时，根据浓度型检测器和粘度计的响应，即可分别测定色谱峰每个片段的浓度和增比粘度。把增比粘度转换成特性粘度后，再将这个数值与保留时间一起与校准曲线进行对比，即可得到该样品的真实分子量。

## 马克-霍温克曲线

用粘度计也可以绘制 Kuhn-Mark-Houwink-Sakurada 曲线（通常简称为马克-霍温克曲线）。该曲线反映了分子量与特性粘度的关系，其通常的表达公式为：

$$[\eta] = K M^{\alpha}$$

这里的  $[\eta]$  是特性粘度， $M$  为分子量， $\alpha$  和  $K$  是马克-霍温克常数。

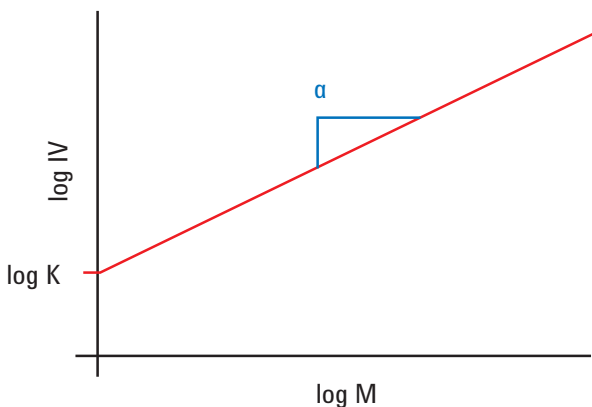
重新整理成对数形式为：

$$\log [\eta] = \log K + \alpha \log M$$

绘制该关系曲线得到一条直线，截距为  $\log K$ ，斜率为  $\alpha$ 。

这一关系式非常有用，因为对于给定的溶剂和聚合物组合， $K$  和  $\alpha$  均为常数，而  $\alpha$  值提供了溶液中聚合物分子动力学的信息。大多数聚合物的  $\alpha$  值在 0.5 到 0.8 之间，数值越低表明结构越紧密（符合“硬球”模型），而 0.7 - 0.8 表明聚合物在良溶剂中呈现无规则线团构象，该值的增大代表了更大、更溶剂化的结构（极限值 2.0 则代表“刚性棒”模型，分子中的大部分成分远远偏离重心）。

因此，马克-霍温克关系式是了解聚合物分子溶液行为的良好途径。



- $\alpha = <0.5$  表示“硬球”
- $\alpha = 0.7$  表示在适宜溶剂中呈无规则线团
- $\alpha = \text{大约 } 2.0$  表示“刚性棒”

马克-霍温克曲线实例

## 粘度测定的实际操作

粘度测定是一项操作比较简单的技术。溶剂和样品都无需特别配制，只要把仪器正确冲洗干净即可。粘度计在大多数条件下都可以操作，没有特别要求。但是，转换粘度计中的不同溶剂时应注意，尤其是粘稠的溶剂，需要以超低流速进行冲洗。

带粘度测定的 GPC 可用于得到大多数样品的分子量，还可以用于分析共聚物，只要已知其准确浓度。

## 粘度测定小结

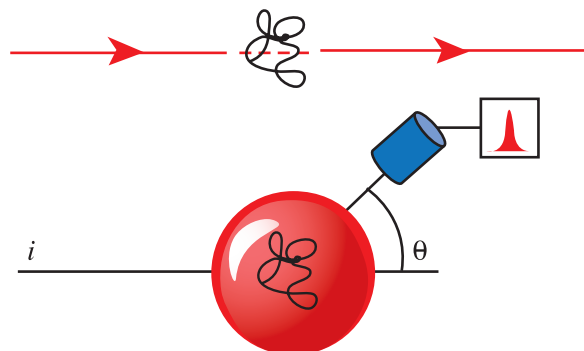
带粘度测定的 GPC 能测定化学性质与标准品不同的样品的分子量，是一项优秀的技术。其还可以用于共聚物分析，也可通过马克-霍温克曲线了解溶液中聚合物分子的行为。

## 带光散射和三检测器检测的 GPC 和 SEC

GPC 中的静态光散射是指用一束激光照射从柱上洗脱的物质，并对产生的散射光强度进行测量。静态光散射是一项比粘度测量复杂得多的技术，同时它还有一些应用局限。然而，将 GPC 分离与浓度型检测器和光散射检测器结合在一起，则可以提供大量溶液中聚合物的信息。

### 令人困惑的光散射

光散射可用来描述所有通过光散射来进行测量的检测器。但对于不熟悉这一领域的分析人员，他们能想到许多类型迥异，但本质上都是进行光散射测量的检测器，包括静态光散射检测器、动态光散射检测器和蒸发光散射检测器等。虽然名字相似，但这些仪器实际上进行的是非常不同的测量，用于不同类型的分析。所以，我们这里使用的“光散射”，指的是静态或经典光散射，也称为瑞利 (Rayleigh) 光散射。



光散射实验

### 什么是静态光散射检测器?

静态光散射检测器由样品池、激光束，以及采集散射激光的一个或多个检测器组成。根据设计不同，检测器会与入射光保持一定角度。

在操作过程中，激光照射样品，检测器采集分子弛豫产生的散射光。散射光强度测量的是瑞利比  $R_{\theta}$ ，即样品和溶剂组合产生的散射与溶剂单独散射之比。瑞利比与参与光散射的溶质分子的分子量成正比。

关于  $R_{\theta}$  的公式很复杂，见下式。

$$\frac{K^*c}{R_{\theta}} = \underbrace{\left(\frac{1}{Mw}\right)}_{P_0, \text{ 散射因子}} P_0 + \underbrace{+2A_2c + 3A_3c^2 + \dots}_{\text{维里展开}}$$

$$\text{这里的 } K^* = 4\pi^2 n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 \lambda_0^{-4} N^{-1} = K \left(\frac{dn}{dc}\right)^2$$

$$P_0 = 1 - \left(\frac{16\pi^2}{3\lambda^2}\right) \langle s^2 \rangle_z \sin^2 \left(\frac{\theta}{2}\right)$$

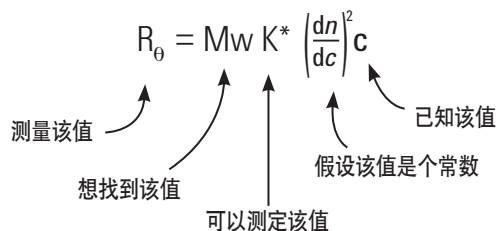
Mw 为重均分子量，λ 为光的波长，θ 为采集角度，⟨S<sup>2</sup>⟩ 为聚合物均方旋转半径，n<sub>0</sub> 为溶剂的折射率，N 为阿伏伽德罗常数，(dn/dc) 是折射率增量。A<sub>2</sub> 和 A<sub>3</sub> 为第二和第三维里系数。

该方程的形式可以大大简化。对于任何聚合物和溶剂组合，折射率增量 (dn/dc) 可以作为常数。维里展开式与分子间相互作用有关，在 GPC 的稀溶液条件下可认为其为零。如果分子的基本尺寸低于 10 nm 左右，则散射因子 P<sub>θ</sub> 等于 1。在上述条件下，该方程可简化为：

$$R_{\theta} = Mw K^* c$$

这里的 K\* = (dn/dc)<sup>2</sup>K

因此，检测器响应正比于分子量、常数 K 和浓度。



从公式中可以清楚地看出，dn/dc 值在光散射计算中至关重要。此外，很显然响应值与分子量成正比，所以低分子量样品或低 dn/dc 样品与溶剂组合，将得到较差的光散射数据。

## 折射率增量 — dn/dc

折射率增量 dn/dc 是溶液折射率随溶质浓度变化的程度。折射率增量在光散射计算中是个非常重要的数据，因为散射光强度与 dn/dc 的平方成正比。通常认为一种聚合物与溶剂组合的 dn/dc 是一个常数（虽然在低分子量时可能发生变化）。一般只有在 dn/dc 足够大的溶剂中，才能得到高质量的光散射数据。dn/dc 也可能为零（在没有光散射响应的情况下）或负值。

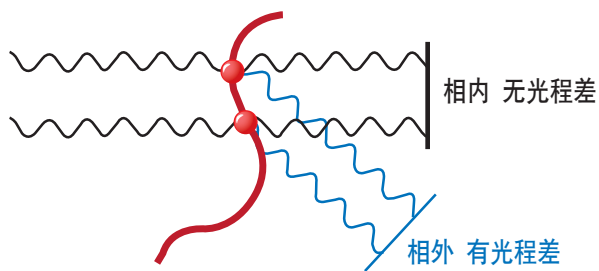
聚合物	溶剂	折射率增量 dn/dc (g/mL)
环氧树脂	四氢呋喃	0.1869
聚丁二烯	四氢呋喃	0.1295
聚碳酸酯	四氢呋喃	0.1855
聚甲基丙烯酸甲酯	四氢呋喃	0.0830
聚苯乙烯	四氢呋喃	0.1845
聚氯乙烯	四氢呋喃	0.1010
聚氨酯	四氢呋喃	0.1469
葡聚糖	水缓冲液	0.1470
羟乙基淀粉	水缓冲液	0.1354
聚丙烯酰胺	水缓冲液	0.1420
聚环氧乙烷	水缓冲液	0.1350

来源: American Polymer Standards Corporation (APS)

在光散射计算中，需要假设样品的  $dn/dc$  值保持常数。所以，光散射不适宜分析共聚物或共混聚合物，因为在其分子量分布范围内样品组分的  $dn/dc$  值可能发生变化。

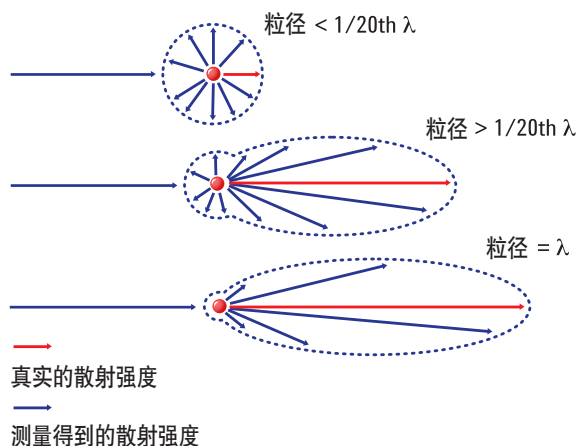
### 光散射的角度依赖性

散射光的强度不一定在所有方向上都相等。当待测分子较小（小于入射激光波长的  $1/20$ ）时，分子将作为一个点，所有方向上的散射光都相等。但是，随着分子相对入射激光而言的体积逐渐增大，分子将逐渐变为一组点，每个点都有其各自的散射光。因此，相消干涉降低了较高角度散射光的量，造成  $P\theta$ （散射因子）降到 1 以下。



大分子散射光

散射强度的降低导致了随着待测分子尺寸的增大，分子量会在高角度处被低估。



不同尺寸分子的散射

这种现象被称为不对称测量。无论分子大小，真实的强度只能在零角度（入射角度）得到，但由于入射光的存在，不可能测量到，入射光的大部分都不会被分子散射。如下文所述，有各种方法进行不对称测量，来获得准确分子量。

### 不对称测量和回转半径

不对称现象的好处就是，如果同时记录多个角度的散射光，然后再将高角度减弱的散射光与低角度进行比较，可以估算出分子的大小。测量值为回转半径  $R_g$ ，从重心到分子组分平均距离的均方根。 $R_g$  值通常与流体动力学半径为同一数量级。要通过光散射得到  $R_g$  值，需要从多于 1 个的角度进行测量，而且待测分子必须足够大，才能够产生角度不对称性，这意味着  $R_g$  通常应大于 10 nm。相当于良溶剂中  $M_w$  为 200000 g/mol 左右的聚苯乙烯分子。

## 分析光散射数据

存在许多分析光散射数据的方法，取决于仪器设计和分析的角度数。所有分析方法都试图解决：测量角度越接近于 0，散射光的强度越准确，从而得到的分子量越准确，但数据中的噪音就越大的问题。较高角度的数据比较干净，因而也更精确，但由于不对称性，其结果的准确度可能较低。

下列方法是试图解决这一问题时的常见方法。

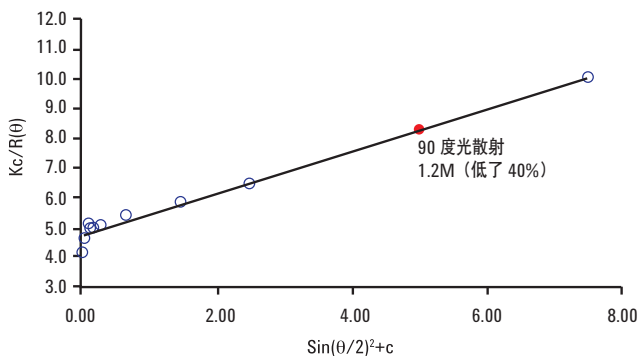
### 仪器校准

样品分析的第一个步骤是仪器或检测器校准。检测器的响应采用已知性质的窄分布标准品进行校准。在带光散射测量的 GPC 中，我们采用已知的浓度来校准浓度型检测器的响应，并用已知的分子量来校准光散射检测器。检测器之间的任何时间延迟，称为检测器间延迟 (IDD)，也是在这一步进行测量。

### 直角光散射 — RALS

该方法只采用与入射光成 90° 角的单一探测器，有效地忽略掉了不对称问题。如果分子没有不对称性问题，则可以得到准确的分子量，但对于大分子，仍然存在分子量被低估的问题。例如，下面是四氢呋喃 (THF) 中 2000000 g/mol 聚苯乙烯标准品的数据。

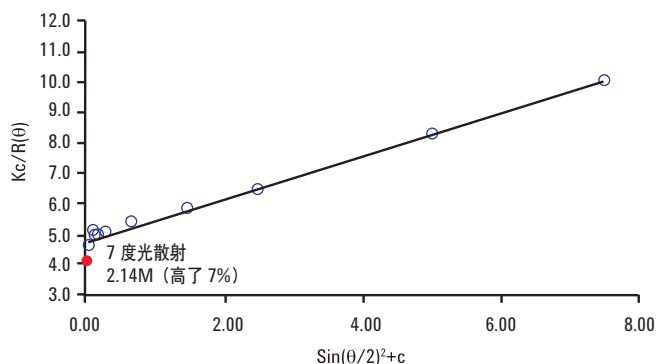
只在 90° 进行测量 (红色点) 强度，由于不对称性，分子量被显著低估了。



2000000 g/mol 标准品单角度分析的光散射数据

### 低角度光散射 — LALS

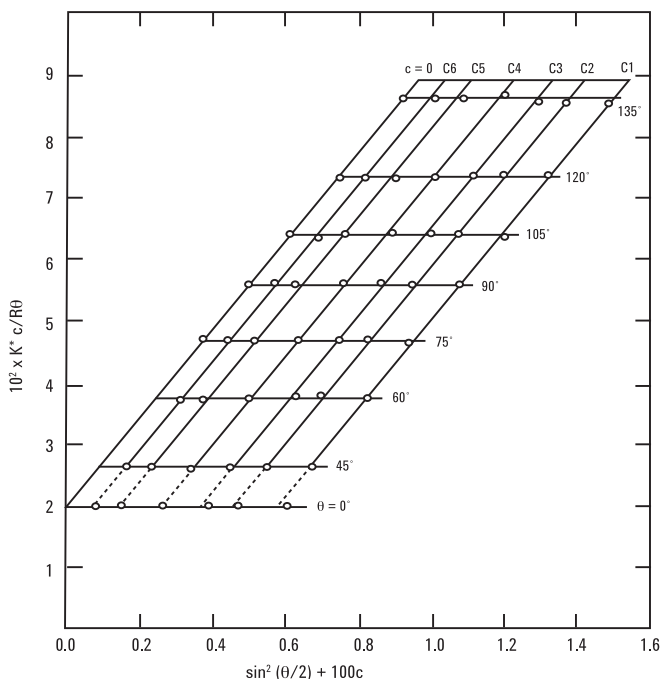
该方法是采集尽可能接近零角度的光散射数据。从理论上说，这样能够得到最准确的结果，但因为存在入射光，而且灰尘和其它污染物也影响低角度测量的灵敏度，所以这一方法受到了低角度测量精度差的影响。例如，下面是 THF 中 2000000 g/mol 聚苯乙烯标准品的数据。只在 7° 进行测量 (红色点)，由于测量精度问题，分子量的误差相当大。



2000000 g/mol 标准品低角度分析的光散射数据

### 多角度光散射 — Zimm 和半 Zimm 法

分析光散射数据的经典方法是称为 Zimm 法的“批量”分析法。包括以  $K^*c/R\theta$  对  $\sin^2(\theta/2) + c$  制图，然后双外推至零角度和零浓度。该图的截距可得分子量，斜率可得回转半径。

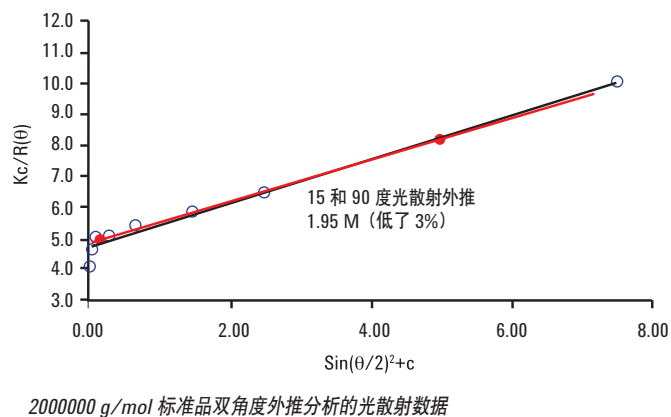


典型的 Zimm 图

该方法需要以许多不同角度和浓度进行测量，因而，是一种离线批量计算的方法。但在在线方法中，不可能测量许多浓度下的散射，因此，必须改为半 Zimm 分析法。半 Zimm 法采用多个角度但只用一个浓度进行分析。多角度测量的缺陷可能在于系统的流通池，由于要求流通池必须很大，因此柱外扩散导致色谱峰扩宽。

可以使用不同的角度数进行半 Zimm 法分析，使用 2 个角度数据进行半 Zimm 法分析，在许多实例中都得到了样品的准确分子量。例如，下面是 THF 中 2000000 g/mol 聚苯乙烯标准品的数据。

通过测量许多角度的强度（黑线）可得到 2000000 g/mol 的分子量。只测量两个角度，15° 和 90°（红线），得到的分子量为 1950000 g/mol，在 GPC 分离的色谱误差范围内（Mw 测量约为 3%）。

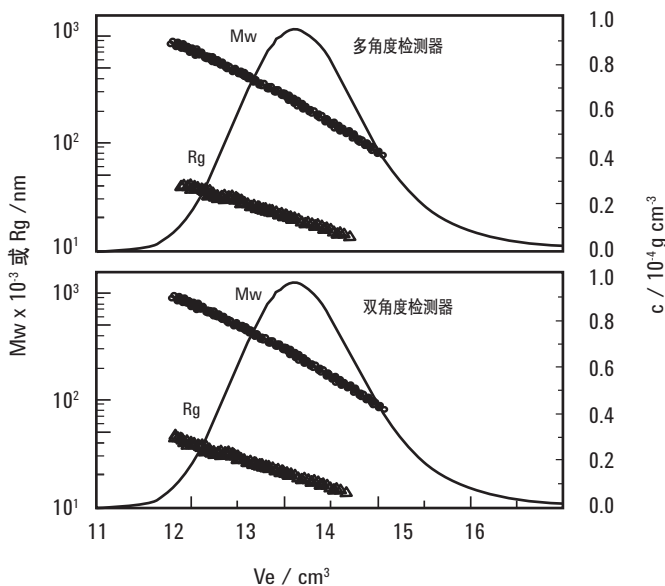


2000000 g/mol 标准品双角度外推分析的光散射数据

## 多角度光散射 — 不对称测量法

不对称法是分析双角度或三角度数据（其中一个角度是 90°）的另一种方法。在该方法中，对不同角度的响应进行对比，获得强度比。根据该信息，计算出散射分子的尺寸，从而计算出散射因子  $P\theta$  的值。然后，将其用来修正其中一个角度的响应（一般为 90° 角），得到散射光的真实强度。

在许多情况下，不对称法得到的结果与在多角度系统上用半 Zimm 法得到的结果非常相近，不过前提是各角度间隔较大，其中一个角度比较低，数据质量较好。下图 THF 中的聚苯乙烯显示，多角度系统和在 15° 与 90° 采集的双角度系统所得数据非常接近。



经 Isevier 公司许可复制，用双角度光散射检测器在线测量良溶剂中和 theta 溶剂中聚苯乙烯的分子量和回转半径数值。European Polymer Journal, 40(8), 2004; 许可经版权结算中心获得。

### 半 Zimm 法和双角度分析的比较

## 构象图 (The conformation plot)

以类似于粘度测量中的马克-霍温克关系式，用下列公式绘制反映分子尺寸 (Rg) 和分子量之间关系的构象图，

$$R_g = K M^\nu$$

这里的  $R_g$  为回转半径， $M$  是分子量， $\nu$  和  $K$  为常数。

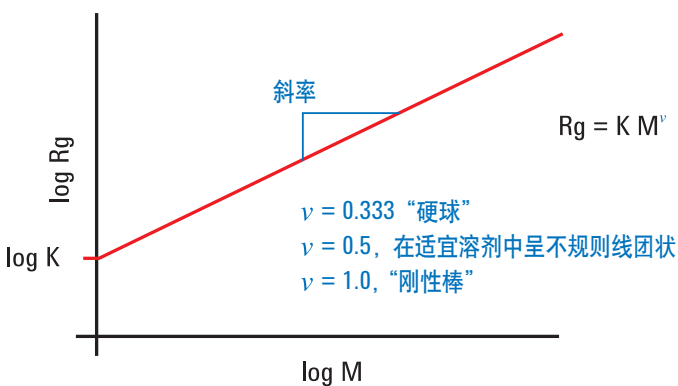
重新整理成对数形式为：

$$\log R_g = \log K + \nu \log M$$

根据该关系作图可得到一条直线，截距为  $\log K$ ，斜率为  $\nu$ 。

这一关系式非常有用，因为对于特定的溶剂和聚合物组合， $K$  和  $\nu$  均为常数，而  $\nu$  值提供了溶液中聚合物分子的动力学信息。 $\nu$  值应在 0.3 到 1.0 之间，该值越低表明结构越紧密（符合“硬球”模型），0.5 表示聚合物在良溶剂中为无规则线团。该值越大，表明拥有更大、更溶剂化的结构（极限值 1.0 则代表“刚性棒”模型，分子中的大部分成分远远偏离重心）。

构象图与马克-霍温克曲线类似，不过  $\nu$  值与  $a$  不同，一个是与尺寸相关的值，另一个则与密度相关。而且，构象图对于尺寸在 10 nm 以下的样品用处不大，因为在这个区域内没有角度不对称性，不能用静态光散射测量  $R_g$  值。不过，这两条曲线都是研究聚合物分子在溶液中行为的良好途径。



构象图实例

### 三检测器检测

三检测器检测是指用浓度型检测、粘度计和光散射检测器进行聚合物 GPC/SEC 分析。在该方法中，分子量的计算与带光散射 GPC 中相同，不过也会测量特性粘度。该方法的优点是可以利用所有数据，用马克-霍温克曲线或构象图对样品进行研究。由此可以采用特性粘度估算分析中的分子大小，从而对计算出的分子量进行修正。三检测器检测是多检测器 GPC 的最先进形式。

### 光散射检测的实际操作

光散射检测与 GPC 的其他形式相比，需要更严格的方法。溶剂和样品必须非常洁净，没有灰尘和不溶性物质，因为这些颗粒将产生极强的散射光，特别是在低角度下。为了得到高质量的数据，需用 0.02  $\mu\text{m}$  过滤器对溶剂进行过滤。

光散射检测尤为适用于分析较大分子量的聚合物以及具有足够大的  $dn/dc$  值的聚合物与溶剂组合。在计算中，假设在聚合物洗脱体积范围内，其  $dn/dc$  值保持不变，因而光散射检测最常用于均聚物的分析。光散射检测的最大优势在于可以不依赖色谱柱校准提供分子量，所以，得到分析数据比其他技术更快捷。

### 光散射检测小结

使用光散射检测的 GPC/SEC 是测量样品分子量的良好技术，不需要对色谱柱进行校准。但是，要得到高质量的光散射测量数据，需要严格的实验室操作，检测器响应对分子量和  $dn/dc$  值依赖性很强。因为后者的缘故，光散射检测不适用于共聚物。对于许多进行 GPC 光散射分析的样品，可以通过构象图对溶液中聚合物分子的行为进行研究。三检测器检测具有光散射检测和粘度检测的所有优点，是多检测器 GPC 的最先进形式。

### 聚合物支化

在多检测器 GPC 中，可通过检测分子大小或特性粘度的变化，将其作为分子量增加的函数，来评估支化度。对于化学性质相同的聚合物，由于支化点的存在，支链分子总是比直链类似物具有更低的  $R_g$  和 IV 值。

在所有方法中，支化度计算可以采用特性黏度（测量值或计算值）或回转半径（测量值或计算值）数据来计算。支化度结果的质量将取决于源数据的质量（特性黏度或回转半径）。收缩因子 (contraction factors) 可通过下列关系式，由马克-霍温克 ( $\log$  特性粘度 vs  $\log$  Mw) 曲线或构象曲线 ( $\log$  回转半径 vs.  $\log$  Mw) 确定。

回转半径的收缩因子

特性粘度收缩因子

$$g = \left( \frac{R_g \text{ 支化}}{R_g \text{ 线性}} \right)_{\text{MW}} \quad g' = \left( \frac{IV \text{ 支化}}{IV \text{ 线性}} \right)$$

这里的  $g = g'^{(1/\varepsilon)}$

$\varepsilon$  (结构因子) = 0.5 - 1.5, 一般为 0.75

通过采用支化模型并结合  $g$  值（直接获得或取自  $g'$  值和估算的结构因子，通常为 0.75）与支化单位（1000 乘以单体的分子量），能得到支化数。以数均三元支化模型为例。

$$g = [(1+B_n/7)^{1/2} + 4B_n/9\pi]^{-1/2}$$

其中  $n$  = 每 1000 个碳原子的支化数

支化数用每 1000 个碳原子的支化数表示，是因为许多计算都始于主链中只含碳的聚烯烃样品。如果待测聚合物不是聚乙烯，那么实际的支化数可能没有直接意义。但是，样品间的对比是仍然可行的。

## Agilent 1260 Infinity 多检测器套件 (MDS) 的实际应用

1260 Infinity MDS 是集成的检测器套件，可作为任何液相色谱系统的附件，帮助进行所有形式的 GPC 分析。1260 Infinity MDS 包含了各种检测器选件，具有多功能性，是聚合物分析的强大工具。无论您需要什么样的 GPC，1260 Infinity MDS 都可以按照您的需求进行定制。

- 如果您已有液相色谱系统，只需要在现有系统上添加配备一个粘度计或光散射检测器，或带这两种检测器的 1260 Infinity MDS 即可
- 如果您拥有运行各种溶剂的不同系统，1260 Infinity MDS 也能适用，可以根据需要方便地在各系统间进行切换
- 如果您只需要一个检测器，可以将 1260 Infinity MDS 配置为一台独立粘度计，以获得聚合物结构信息，也可以将其配置为一台光散射检测器，以获取绝对分子量和进行支化研究

对于整套系统而言，只要简单地将粘度计和光散射检测器与现有的 RI 检测器组合在一起，即可提供大量信息，进行完整的聚合物表征。



1260 Infinity 多检测器套件 — 利用任何液相色谱系统进行 GPC/SEC 分析

## 用粘度测定法分析星形聚苯乙烯

由于星形支化聚苯乙烯与线形类似物相比，具有特殊的流动性和粘度，人们对其合成越来越感兴趣。星形支化聚合物由几个连接到中心核的“臂”构成，可以先制备几个臂，再将其链接到中心分子上，即“先臂后核”法，也可以从中心核引发形成聚合物臂，即“先核后臂”法。许多商用星型支化聚合物，其合成相对简单，但其表征仍然对分析化学家构成挑战。采用浓度型检测器（一般为示差折光检测器）与粘度计组合的 GPC，不仅可以测定该材料的分子量，还可以研究其星形支化结构。

我们对一系列 PS 星形支化聚合物进行了分析，这些聚合物用“先核后臂”法合成，理论上为 5-、14- 和 21-臂结构。

### 条件

样品:	聚苯乙烯星形支化聚合物
色谱柱:	2 x PLgel 5 $\mu$ m MIXED-C, 300 x 7.5 mm
洗脱液:	THF
流速:	1.0 mL/min
温度:	40 °C
检测器温度:	所有检测器均设置在 40 °C
检测器配置:	1260 Infinity MDS 配备粘度计和 DRI

样品由华威大学 Haddleton 教授提供

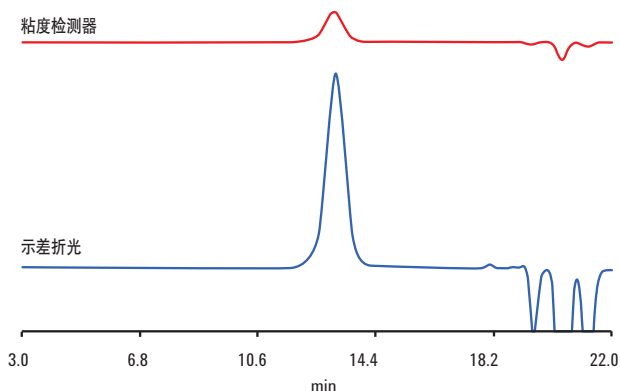


图 1. 14-臂星形支化聚苯乙烯的粘度和示差折光检测结果

图 1 显示了 14-臂聚合物的双检测色谱图。

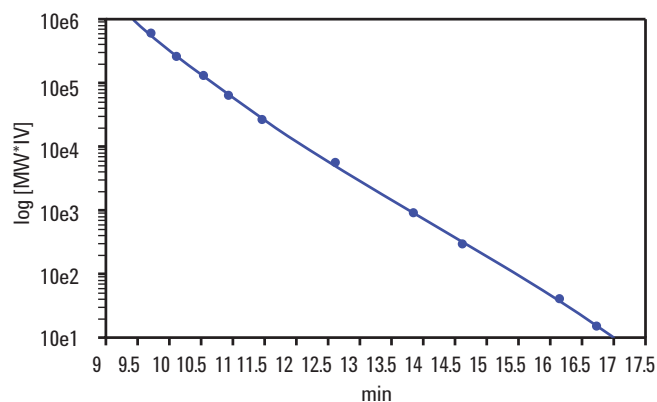


图 2. 用聚苯乙烯标准品得到的普适校正曲线

用普适校正法计算出了该星形支化聚合物的平均分子量。普适校正曲线使用窄分布线性聚苯乙烯 (PS) 标准品，如图 2 所示。

表 1. 星形支化聚合物的平均分子量和重均粘度

样品	平均分子量 (g/mol)						PD	IVw
	Mp	Mn	Mw	Mz	Mz+1	Mv		
5-臂	56120	10460	64856	98594	134877	46292	6.20	0.28
14-臂	27436	26812	29310	32425	36542	28687	1.10	0.10
21-臂	149752	111377	157884	201225	256977	141293	1.42	0.21

基于该星形聚合物马克-霍温克曲线的线性区域，计算收缩因子  $g'$ 。

根据校准，得到这些 PS 星形支化聚合物的平均分子量和重均特性粘度 (IVw)，见表 1。

用马克-霍温克曲线， $\log$  特性粘度与  $\log$  分子量的关系曲线，对 PS 星形支化聚合物和已知不含支链的宽分子量 PS 材料进行计算。图 3 显示了所得马克-霍温克曲线的叠加图，表明与宽分子量线性 PS 相比，对于给定分子量的星形支化 PS，其特性粘度随着臂数量的增加而降低。但是，对于 21-臂星形支化聚合物，其特性粘度相对于线性 PS 会随分子量发生剧烈波动。

从  $g'$  数据可计算出回转半径收缩因子  $g$ ，这里的  $a = 1.104$ ， $p = 7$ ， $b = 0.906$  (Weissmüller 等, 1997)

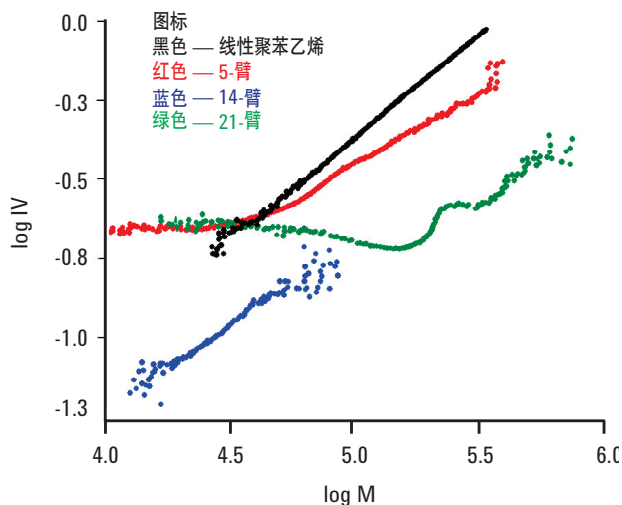


图 3. 不同星形支化聚合物的马克-霍温克曲线叠加图

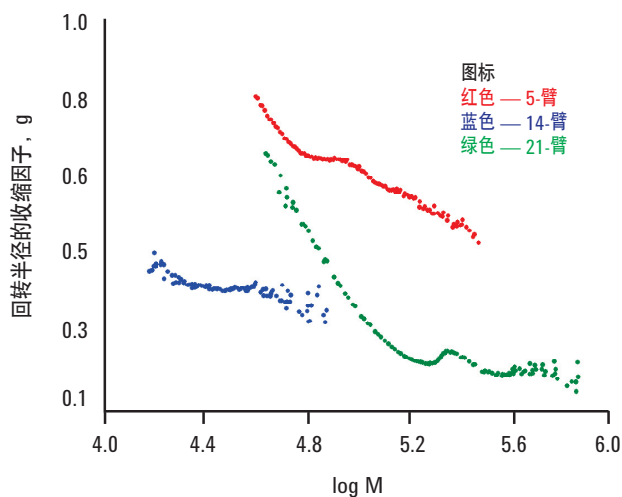


图 4. 不同星形支化聚合物的  $R_g$  收缩因子  $g$  曲线叠加图

图 4 显示了 5-、14- 和 21-臂星形支化聚合物  $R_g$  收缩因子  $g$  曲线叠加图。使用星形聚合物的  $g$  计算值和  $f$ ，即假设这些臂是随机的，用公式 1 中的模型计算臂的理论值，其为分子量的多分散性 (Burchard 1977, 1983)。

$$g = \frac{3f}{(f+1)^2}$$

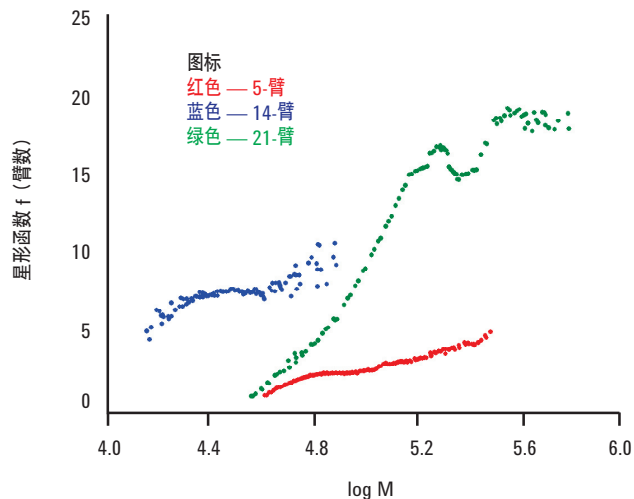


图 5. 不同星形支化聚合物的函数  $f$  曲线叠加图

图 5 显示了这些星形聚合物  $\log$  分子量函数  $f$  的曲线叠加图。随机模型给出了  $f$  (臂数预测值)，与合成的预期值完全吻合。但是，对于所有星形支化聚合物，尤其是 21-臂 PS， $f$  的计算值随分子量增加而显著增加，表明在相当一部分低分子量样品中，臂值比期望的臂数要少。

函数  $f$  随分子量的变化为该材料“先核后臂”的合成机制提供了有价值的研究线索。

#### 参考文献

Burchard, W. (1977) Particle scattering factors of some branched polymers. *Macromols*, 10, 919-927.

Burchard, W. (1983) Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers. *Adv. Polym. Sci.*, 48, 1-124.

Weissmüller, M. and Burchard, W. (1997) Molar mass distributions of end-linked polystyrene star molecules. *Polymer Internat.*, 44, 380-390.

## 用粘度测定法分析环氧树脂

环氧树脂是由“树脂”与“硬化剂”反应制成的复杂材料。产生的交联聚合物极为强韧，可以用来将材料粘合在一起。该混合物的树脂部分是一种环氧预聚物，通常由环氧化物与双酚-A 反应制得。产生的短链材料含侧链 -OH 和环氧化物功能团，而且本身具有极性。树脂中环氧化物链的分子量很重要，因为在与硬化剂混合时，它影响着最终环氧树脂配方产品的固化速度，但由于环氧化物链的复杂性和不均一性，要得到准确分子量非常困难。

用 GPC 可以评估聚合物的分子量分布，一个影响着许多物理性质（如环氧树脂的固化时间）的特性。采用粘度计与示差折光检测器组合，利用普适校正法，可以测定结构复杂的聚合物和共聚物的准确分子量。采用这一方法，无论建立校准曲线使用的是何种标准品，都可以得到相同的样品分子量。

### 条件

样品:	环氧化物预聚物
色谱柱:	2 x PolarGel-L, 300 x 7.5 mm
洗脱液:	二甲基甲酰胺 + 0.1% LiBr
进样量:	200 $\mu$ L
流速:	1.0 mL/min
检测器温度:	所有检测器均设置在 60 $^{\circ}$ C
检测器配置:	1260 Infinity MDS 配备粘度计和 DRI

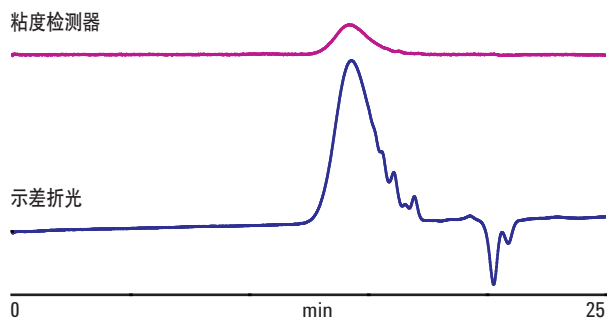


图 6. 示例环氧化物预聚物的多检测器色谱叠加图

环氧化物预聚物本身具有极性，可以使用一组 PolarGel-L 色谱柱，在极性有机溶剂（如二甲基甲酰胺）中进行分析。我们选择 1260 Infinity MDS 作为系统的一部分，以完成在极性溶剂中的多检测器 GPC 分析。

图 6 显示了其中一个环氧化物预聚物样品的多检测器叠加色谱图。清晰显示了采用 PolarGel-L 色谱柱可以分离低聚物。

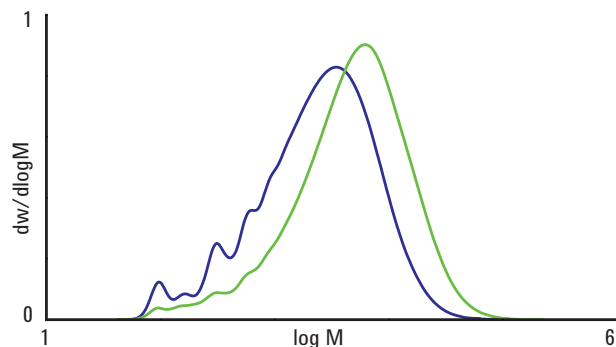


图 7. 两种环氧化物预聚物样品的多检测器分子量分布叠加图

图 7 是两个待测样品的准确分子量分布叠加图。从图中可以看出，这两个样品分子量分布明显不同，表明这些材料是不同等级的环氧化物预聚物，在与环氧树脂混合物的硬化剂混合时具有不同的硬化速度。

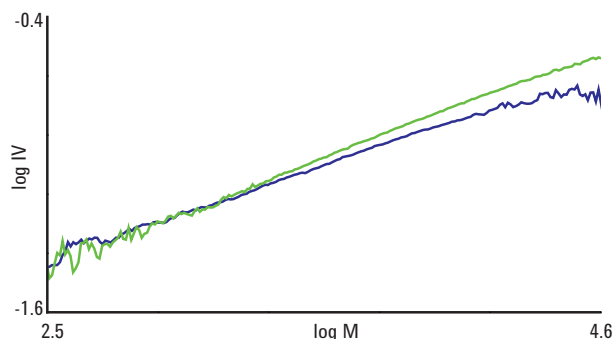


图 8. 两种环氧化物预聚物样品的马克-霍温克曲线叠加图

图 8 是两个样品的 log 特性粘度对分子量函数的马克-霍温克叠加图。两个等级的环氧化物预聚物都显示了类似的关系曲线，只在高分子量范围有所偏离。

这说明，两种材料的分子尺寸在低分子量时大致相同，但随着分子量增大，很可能是由于样品的化学性质发生了改变，两种材料出现了结构差异。

## 使用三检测器检测分析聚乙烯醇缩丁醛

聚乙烯醇缩丁醛 (PVB) 是由聚乙烯醇与丁醛反应制成的一种树脂。PVB 是一种应用范围广泛的重要材料，具有强粘合性、透光性、良好的表面附着性和柔韧性。PVB 最为人知的应用就是安全玻璃的夹层材料，如汽车的挡风玻璃。在这种产品中，PVB 被用作两层钢化玻璃之间的中间层。中间层能吸附冲击能量、将玻璃碎片粘合在一起，还可以大面积分散受力。夹层玻璃的使用大大降低了车祸带来的损伤。PVB 的粘弹性在夹层玻璃的性能上起了重要作用，所以必须对该材料的分子量分布进行严密监测，以确保最佳性能。

配有光散射检测器和粘度计的三检测器凝胶渗透色谱 (GPC)，可以测定聚合物的准确分子量 (如 PVB)。我们用这项技术分析了三 PVB 材料，其中的一种在应用测试中未达到预期的要求。

### 条件

样品:	聚乙烯醇缩丁醛
色谱柱:	2 x PLgel 5 $\mu$ m MIXED-C, 300 x 7.5 mm
洗脱液:	四氢呋喃 (稳定的)
进样量:	100 $\mu$ L
流速:	1.0 mL/min
检测器温度:	所有检测器均设置在 40 $^{\circ}$ C
检测器配置:	1260-MDS, 包括双角光散射检测器、粘度计和 DRI

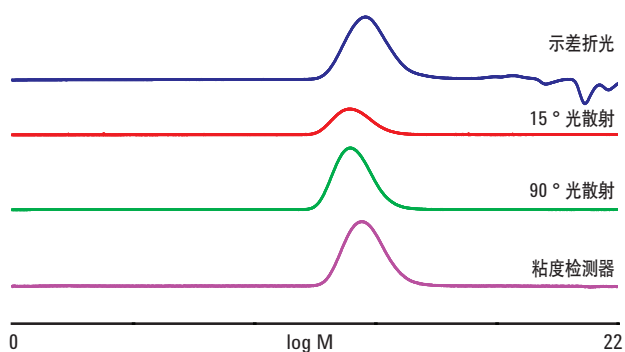


图 9. 聚乙烯醇缩丁醛多检测器的叠加色谱图

图 9 是 PVB 样品的多检测器叠加色谱图。所有样品在各检测器上都显示了一定宽度的强信号，表明这些材料具有高度的多分散性。

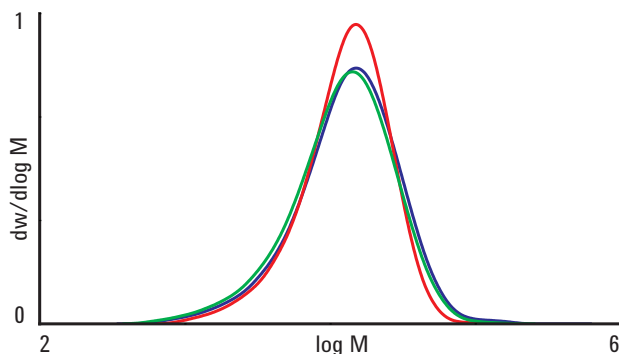


图 10. 三种聚乙烯醇缩丁醛的三检测器分子量分布叠加图

图 10 是三种 PVB 的分子量分布叠加图。其中两个样品分子量相似，仅在分布上略有不同。但是，第三个样品在分子量分布上存在明显差异，特别是高分子量区域，在该区域中此样品比其他两种样品含量更少。而这种变化应该就是该材料与其他两种材料相比性能发生改变的原因。

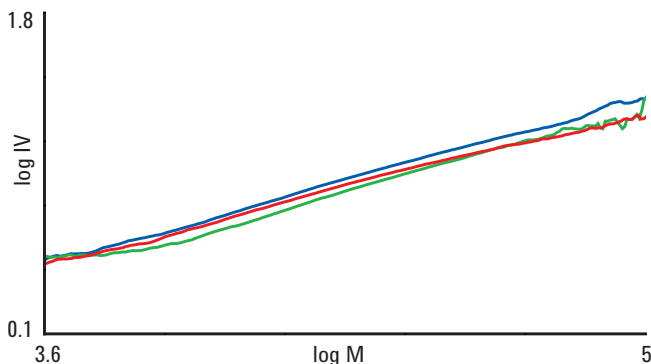


图 11. 三种聚乙烯醇缩丁醛样品的马克-霍温克曲线叠加图

图 11 显示了 log 特性粘度作为分子量函数的马克-霍温克曲线。所有样品随分子量和特性粘度的增加都呈现出相似的关系曲线，说明几种 PVB 都具有类似结构。因此，检测到的分子量差异是合成方法造成的，而不是聚合物本身的性质发生了改变。

## 使用三检测器检测分析聚丁二烯

聚丁二烯是一种弹性体，即具有弹性的聚合物。弹性是一种在外部应力下产生变形，而去除外力后又恢复原状的性质。聚丁二烯是一种合成橡胶，由 1,3-丁二烯单体制得。它在应力形变后具有 80% 的恢复率，这是合成材料中形变恢复值最高的材料之一。由于其具有极高的电阻率，常用于涂覆电子组件。聚丁二烯具有较高的耐磨性、反复摩擦后的低生热性，以及低滚动阻力，适用于轮胎等方面的应用中。常与其他材料组合在一起制成具有不同性质的混合橡胶。

我们使用配备三检测器的 1260 Infinity MDS 测定了没有窄分子量分布标准的聚合物（如聚丁二烯）的准确分子量。

### 条件

样品:	聚丁二烯
色谱柱:	2 x PLgel 5 $\mu$ m MIXED-C, 300 x 7.5 mm
洗脱液:	四氢呋喃 (含稳定剂)
进样量:	100 $\mu$ L
流速:	1.0 mL/min
检测器温度:	所有检测器均设置在 40 $^{\circ}$ C
检测器配置:	1260 Infinity MDS, 包括双角度光散射检测器、粘度计和 DRI

聚丁二烯能溶解于四氢呋喃 (THF) 中，因为其为合成弹性体，所以其不会像天然橡胶那样含交联凝胶成分。因此 THF 是这类分析的理想溶剂。

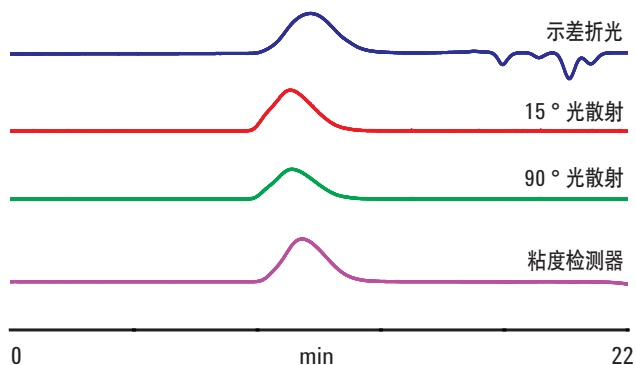


图 12. 聚丁二烯样品的多检测器叠加色谱图

图 12 是聚丁二烯样品的多检测器叠加色谱图。该聚合物在所有检测器上都呈现出了一定宽度的强信号，说明这是一种具有高度多分散性的材料。

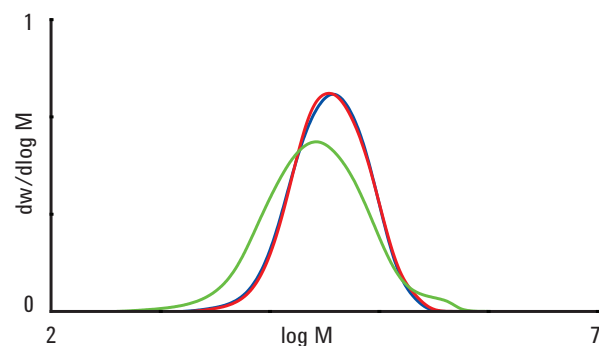


图 13. 三种聚丁二烯样品的三检测器分子量分布叠加图

图 13 是三种聚丁二烯样品的分子量分布叠加图。其中两个样品分子量相似，仅在分布上略有不同。但第三个样品分子量分布明显不同，特别是在高分子量区存在轻度完全排阻。该变化应该是此材料加工困难的原因。

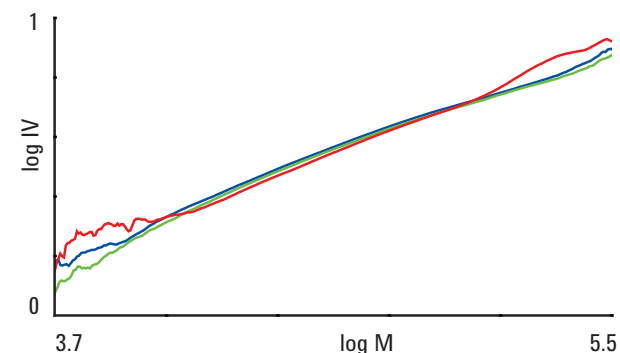


图 14. 三种聚丁二烯样品的马克-霍温克曲线叠加图

图 14 显示了 log 特性粘度作为分子量函数的马克-霍温克曲线。所有样品随 log 特性粘度和 log 分子量的增加，呈现出相似的关系曲线。这表明这些聚合物结构相同，因此，检测到的分子量差异是合成方法造成的，而不是聚合物本身的性质发生了改变。

## 使用三检测器检测分析溴化苯乙烯

许多常见聚合物种类都可以通过聚合后改性反应或使用改性单体来对其结构进行改性，得到具有新性质的材料。要开发这些材料的新用途，必须了解和评估这些改性结构在各种应用中对聚合物行为的影响。聚苯乙烯是最常见的聚合物之一，主要用于生产包装材料。对聚苯乙烯的改性可以通过使用新的苯乙烯单体实现。

三检测器可用来测定这些没有可用窄分子量分布标准的聚合物的准确分子量，并评估其溶剂化性质。

### 条件

样品:	聚苯乙烯和聚溴化苯乙烯
色谱柱:	2 x PLgel 5 $\mu$ m MIXED-C, 300 x 7.5 mm
洗脱液:	四氢呋喃 (稳定的)
进样量:	100 $\mu$ L
流速:	1.0 mL/min
检测器温度:	所有检测器均设置在 40 $^{\circ}$ C
检测器配置:	1260-MDS, 包括双角光散射检测器、粘度计和 DRI

图 15 是聚溴化苯乙烯样品的多检测器叠加色谱图。该聚合物在所有检测器上都呈现出了一定宽度的强信号，说明这是一种具有高度多分散性的材料。

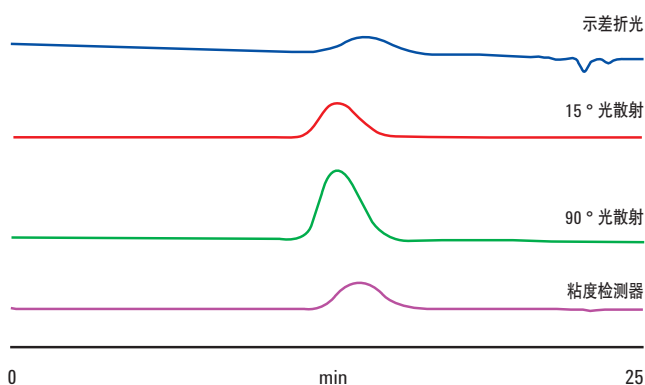


图 15. 聚溴化苯乙烯的多检测器检测叠加色谱图

图 16 是两个样品的分子量分布叠加图。从图中可以看出，聚溴化苯乙烯比聚苯乙烯样品的分子量高得多。

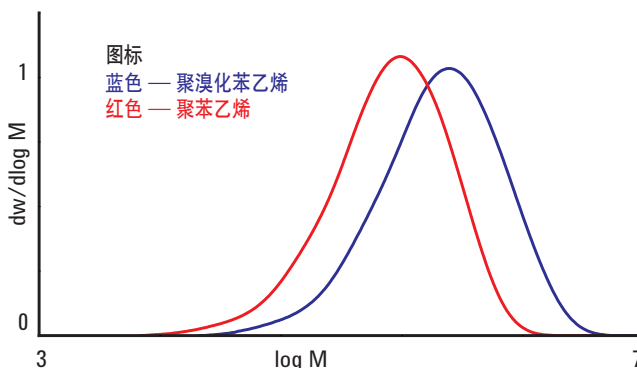


图 16. 两种样品的三检测器分子量分布叠加图

图 17 是两个样品的 log 特性粘度对分子量函数的马克-霍温克叠加图。在任何给定的分子量下，特性粘度值较低的聚溴化苯乙烯与聚苯乙烯的马克-霍温克图相比差异较大。表明在整个分子量范围内，溶液中的聚溴化苯乙烯要比聚苯乙烯小，这是聚合物线团和溶剂相互作用水平发生改变造成的。而曲线与聚苯乙烯的曲线平行，说明正如用改性单体制造新聚合物时所预期的那样，结构在整个分子量范围内均相同。

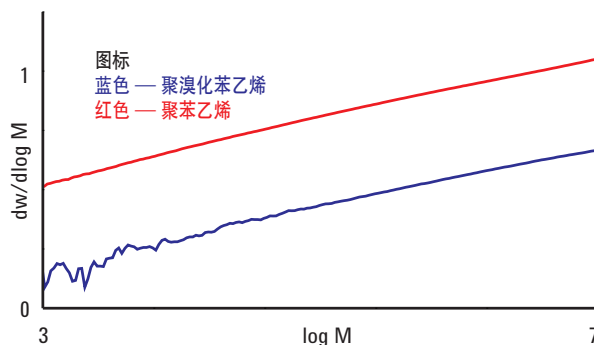


图 17. 两个样品的马克-霍温克曲线叠加图

## 结论

配备粘度计或光散射检测器（或者二者都带）的多检测器 GPC/SEC 是一项既提高了实验准确度又增加了信息量的强大技术。包含的粘度检测或光散射检测还弥补了只使用浓度型检测器的常规 GPC 的局限。

配置粘度检测和浓度型检测器的 GPC，可以通过普适校正计算准确分子量。用该技术还可以通过马克-霍温克曲线了解溶液中的分子行为，揭示聚合物主链结构改变的细节。粘度检测是一项操作简单的技术，通常能够得到高质量数据，因而是分析工作者的理想选择，用最小的精力就能提高 GPC 结果的准确性和质量。

配备光散射检测和浓度型检测器的 GPC 是分析聚合物的极强大方法，可以不依赖任何形式的色谱柱校准就能得到分子量。另外，通过光散射检测还能了解聚合物分子的结构性质，特别是其在溶液中的大小。虽然与带粘度检测的 GPC 相比，其对试验的要求更严格，但由于这项技术可以提供大量信息，光散射检测的使用已越来越普遍。

使用粘度计、光散射检测器和浓度型检测器的三检测器 GPC 是功能最全面的分析仪器。三检测器检测吸取了粘度检测和光散射检测的优点，是深入分析聚合物的理想技术。

## 进一步阅读建议

*Modern HPLC for Practicing Scientists.*  
John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, U.S.

Houlgate, P. and Lee, E. (1999)  
*Guide to Improving Analytical Quality in Chemistry.*  
LGC, Teddington, UK.

Huglin, M.B. (1972)  
*Light scattering from polymer solutions. A series of monographs in Physical Chemistry, 27.*

Lewis, G.F. (1985)  
*Analytical Chemistry, An Introduction (2nd Ed.).*  
Macmillan, London, UK.

Mori, S. & Barth, H. (1999)  
*Size Exclusion Chromatography.*  
Springer Verlag, Berlin, Germany.

Striegel, A. (2004)  
*Multiple Detection in Size-Exclusion Chromatography.*  
American Chemical Society.

Wu, C-S. (2003)  
*Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques.*  
Marcel Dekker, New York, NY, U.S.

Yau, W. (2007)  
*Size Exclusion Chromatography.*  
John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, U.S.

安捷伦 GPC/SEC 产品：  
[www.agilent.com/chem/gpcsec:cn](http://www.agilent.com/chem/gpcsec:cn)

在线购买：  
[www.agilent.com/chem/store](http://www.agilent.com/chem/store)

查找当地的安捷伦客户服务中心：  
[www.agilent.com/chem/contactus:cn](http://www.agilent.com/chem/contactus:cn)

安捷伦客户服务中心：  
免费专线：800-820-3278  
400-820-3278（手机用户）

联系我们：  
[customer-cn@agilent.com](mailto:customer-cn@agilent.com)

在线询价：  
[www.agilent.com/chem/quote:cn](http://www.agilent.com/chem/quote:cn)

[www.agilent.com/chem/quote:cn](http://www.agilent.com/chem/quote:cn)

本文中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。  
© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012  
2012年4月26日，中国印刷  
5990-7196CHCN



**Agilent Technologies**