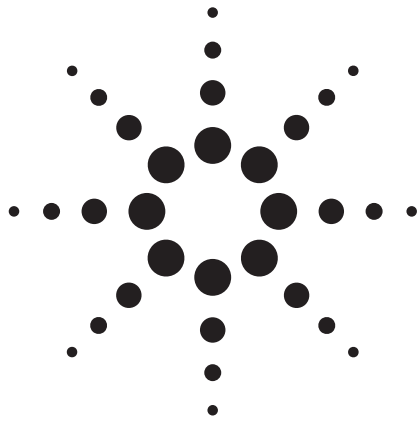


采用 GPC-SEC 分析高聚物

技术文章



前言

凝胶渗透色谱 (GPC)，也称分子排阻色谱 (SEC)，是一种按混合物组分的分子大小进行分离的液相色谱模式。在 GPC-SEC 中，大分子先从柱中流出，然后小分子流出。它是分析高聚物的重要工具。基本结果是得到分子量值和分子量分布曲线，以区分高聚物性质的不同。尽管 GPC-SEC 也可用于低聚物的分析，但主要用于分子量为 2000 以上的样品分析。没有分子量的检测上限，甚至可分析分子量为几百万的高聚物。由于采用 X-轴的洗脱体积与 Y-轴上分子量对数的特殊校正方法，对仪器的要求非常严格。

机理

GPC-SEC 的柱填料为已知孔径的刚性的或半刚性的多孔材料。图 1 列出了分离机理。孔为圆锥形，实际上可能不是这样。下例为包含 A, B 和 C 三种组分的混合物，A 最大，和 C 为最小。由于组分被流动相携带通过色谱柱，组分 A 不能分散到孔内，(称为被排阻)，组分 B 约部分分散到孔内，(称为部分渗透)，组分 C 可能全部进入到孔内 (称为全部渗透)。这样，从色谱柱内的洗脱顺序为 A, B, C。



分子量的相互关系：校正

GPC-SEC 的分离机理是基于在流动相中溶剂化分子的大小。在分子量和分子大小间建立校正关系。图 2 表明：对选择性透过柱填料的组分分子量的对数值 $\log M$ 对保留体积作图，为线性关系。从校正图和样品的保留体积，可测定分子量或分子量范围。

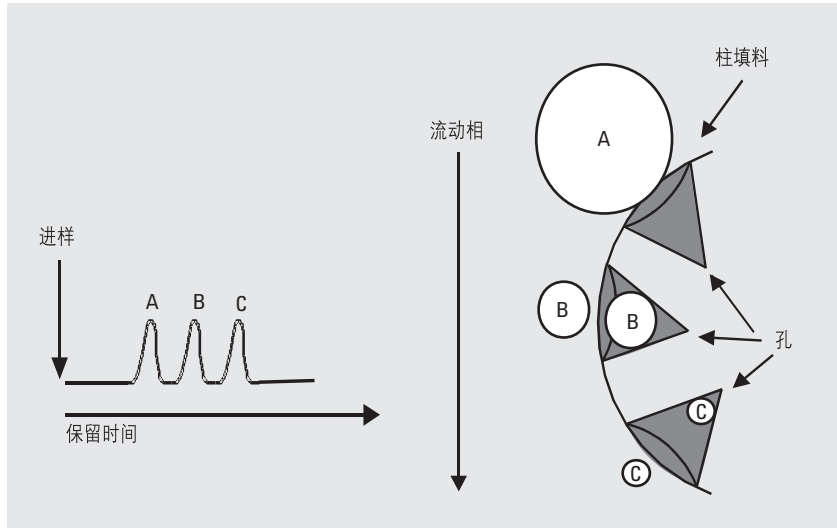


图 1. GPC-SEC 分离机理

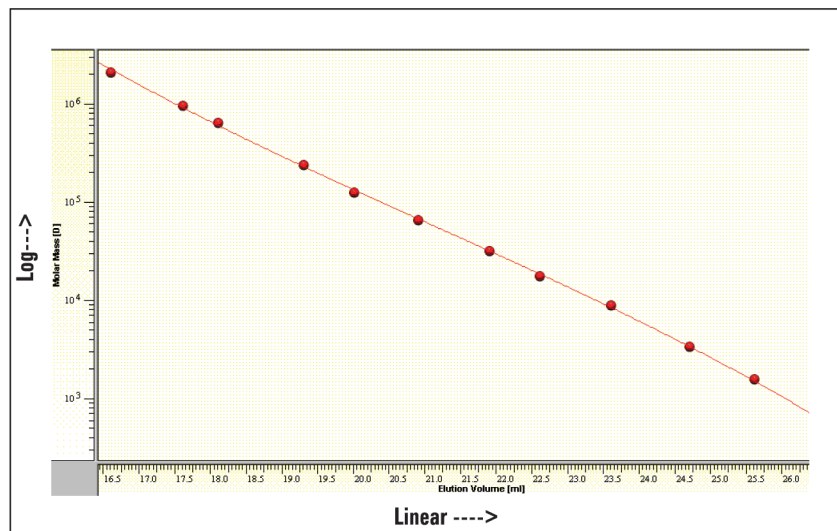


图 2. 典型的 GPC-SEC 校正图

平均分子量和摩尔质量分布

简单将峰顶点对应的洗脱体积计算转换为分子量 M_p 并不能得到足够的信息，因为它只代表了单一点的分子量特性。为了更好的鉴定，洗脱峰被分为几个相等的体积段，按右边的方程计算平均分子量，这里 $h(M)$ 为分子量 M 对应的片段高度。最重要的平均分子量为 M_n 和 M_w 。 M_n 为材料柔韧性信息， M_w 为材料的强度信息。平均分子量反映了高聚物在峰不同点

的分子量特性。这些信息也可通过膜渗透或光散射等传统技术获得。然而，GPC-SEC 是能同时提供分子量分布的唯一技术。这是分子量分布函数与分子量对数值的关系图。分子量或摩尔质量分布是区分高聚物最重要的特性。平均分子量值只是表述了样品的平均性质。图 3 给出了三种具有相同平均分子量的高聚物的摩尔质量分布，完全不同的摩尔质量分布清晰表明他们有不同的性质。

$$\text{Number average molecular weight: } M_n = \frac{\sum h(M) \cdot M}{\sum h(M)} = \frac{\sum w(M)}{\sum w(M)/M}$$

$$\text{Weight average molecular weight: } M_w = \frac{\sum h(M) \cdot M^2}{\sum h(M) \cdot M} = \frac{\sum w(M) \cdot M}{\sum w(M)}$$

$$\text{z-average molecular weight: } M_z = \frac{\sum h(M) \cdot M^3}{\sum h(M) \cdot M^2} = \frac{\sum w(M) \cdot M^2}{\sum w(M) \cdot M}$$

$$\text{Viscosity average molecular weight: } M_v = \left(\frac{\sum w(M) \cdot M^a}{\sum w(M)} \right)^{1/a}$$

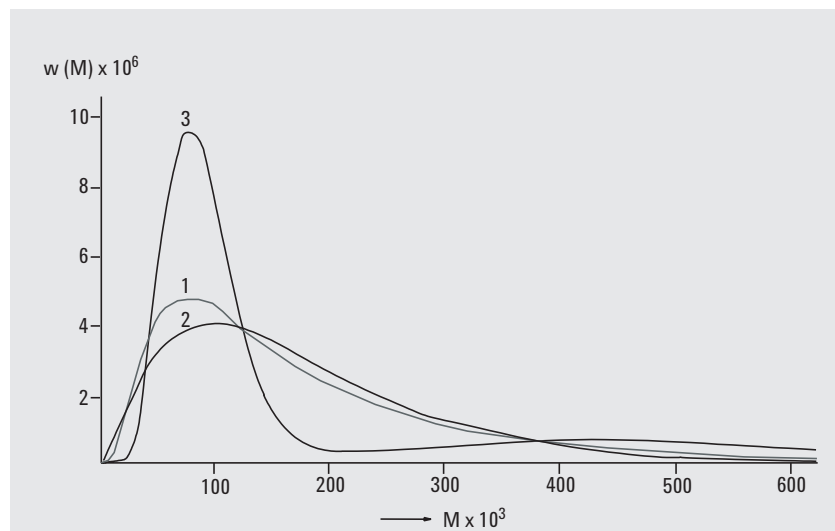


图 3. 三种相同平均分子量的摩尔质量分布

流动相选择

理论上，流动相只是溶解样品并携带样品通过色谱柱。在其它的 HPLC 模式中，如分配、吸附和离子交换机理，样品在流动相和柱填料上的固定相之间存在相互作用，通过改变流动相强度可以改变保留，在 GPC-SEC 中，由于在不同流动相中样品的流体动力学体积会发生变化，改变流动相可能引起保留的微小变化，此外，流动相的变化会引起凝胶的胀缩，也会引起凝胶填料孔大小的变化。这种保留变化相对于其它 HPLC 模式中看到的非常小。在 GPC-SEC 中，流动相只是溶解样品并携带样品通过色谱柱，改变溶剂只得到保留相对的微小变化，因此，不使用梯度洗脱。

流动相可粗略地分为有机相和水相。四氢呋喃 (THF) 是最常使用的有机溶剂。可用于大量的高聚物，如聚苯乙烯，聚甲基丙烯酸酯，环氧树脂，聚碳酸酯，聚氯乙烯和聚苯乙烯丙烯腈。其它溶剂，如甲苯，二甲基乙酰胺，二甲基甲酰胺。对更多高聚物，可选择的更广泛的流动相和色谱柱的更多信息见参考文献 1。

柱填料

最常使用两种类型的柱填料类型为聚合凝胶和硅胶。两种类型的填料均有优缺点。高聚物凝胶使用更广泛。其优势在于可忽略吸附效应，然而，使用这些凝胶分析所用溶剂受到限制，由于具有可压缩性，这些凝胶易受到压力冲击而被破坏。硅胶材料在物理学上很稳定，可适于大量的流动相。然而，采用硅胶填料，吸附是大问题，除非对表面进行脱活。高度交联的苯乙烯/二乙烯基苯颗粒填充的 Agilent PL 凝胶柱是最常用的有机流动相分离高聚物的色谱柱。具有不同颗粒和孔大小的填料适用于测定分子量分布范围很广的高聚物 (图 4)。分析宽分布的高聚物，单独使用一根色谱柱是不够的。这样，多数情况下需使用几根色谱柱，典型的为 2 至 3 根 (直到 6 根)。关于流动相和柱选择的更多信息见参考文献 1。

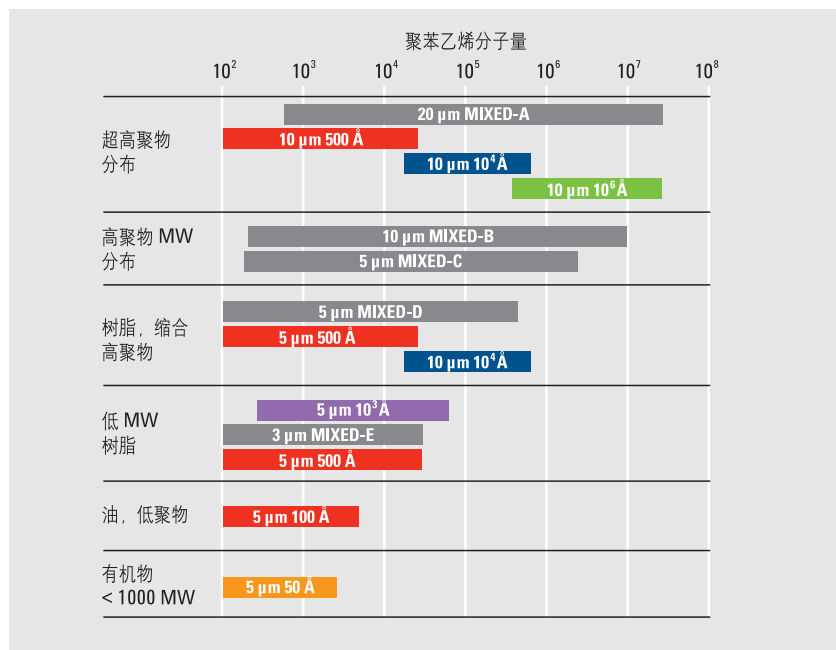


图 4. PLge 柱上, 分子量应用范围

ZORBAX PSM 固定相可以作为聚苯乙烯/二乙烯基苯基固定相以外的另一种选择，这是一种小的 (5 μm) 多孔微球体 (PSM)，分为脱活和未处理两种。脱活材料经过硅烷化处理，用于在非水或含部分水的流动相条件下分析非极性到较强极性的高聚物。未处理材料即可用于非水也可用于含水流动相。专用于水相流动相分析的是安捷伦带有亲水的多羟基表面的 PL 水凝胶羟基柱。可分析中性的亲水聚合物，可扩展用于包括如聚丙烯酰胺和聚环氧乙烷的高分子量聚合物 (图 5) 的分析。

仪器硬件要求

由于采用 X-轴的洗脱体积 (保留时间) 与 Y-轴上分子量的对数的特殊校正方法，对仪器的硬件和软件要求非常严格。分子量数值的精密度和准确度取决于表 1 列出的几个硬件和软件参数。

最重要的参数之一是流速的精密度。表 2 给出了流速的偏差对测得的聚苯乙烯样品的分子量 M_w 结果的严重影响。整个系统在 1 mL/min 的流速下校正，在严格按照这个流速条件下分析，分子量 M_w 值为 35400。表 2 表明流速仅有 +0.60% 或 +1.30% 的偏差，分子量就会有 11.0% 和 23.6% 的偏差。

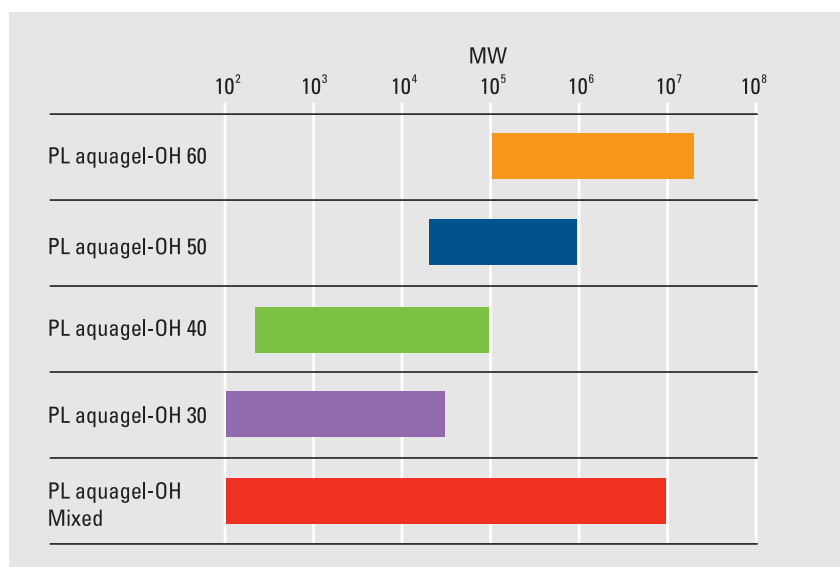


图 5. PL aquagel-OH 柱上，分子量的应用范围

硬件参数	软件参数
<ul style="list-style-type: none"> • 色谱柱稳定性 • 泵流量精密度、保留时间的精密度 < 0.1 % • 柱温精密度 ± 0.15 °C • 最小的短期和长期噪音 • 稳定耐用的自动进样器 	<ul style="list-style-type: none"> • 计算过程的精密度 • 精密的基线判定 • 计算开始和结束标记的精密度 • 可选择的数据点个数 • 多种校正程序 • 自动和交互式的数据分析与报告 • 可以使用内标校准流速变化

表 1. 影响分子量数据准确度和精密度的硬件和软件参数

流速 [ml/min]	流速偏差 [%]	分子量	偏差 [%]
1.013	+1.30	43400	+23.6
1.006	+0.60	39300	+11.0
1.0	0	35400	0
0.992	-0.80	31100	-12.2
0.985	-1.50	27700	-21.80

表 2. 流速波动对分子量的影响

在校正和样品运行中柱温的稳定性也很重要。例如在柱温箱没有进行温度控制的情况下，4℃ 的温度变化很容易发生，它将使结果产生 2.6% 的偏差。

在软件方面重要的是：软件的正确安装和正确的进行计算。最好的 GPC-SEC 软件可提供安装确认和系统确认程序。在安装后，可执行安装确认程序，然后可定期地检验所有部分安装正确。系统确认用于证实软件技术正确。被作为程序的保护部分提供的数据文件和校正文件将被保护，并生成报告打印。已知样品的 GPC 原始数据以与安捷伦工作站数据采集相同的方式处理。这不但保证最终的计算结果真实，也保证了完全的数据处理路径。然后将结果与理论结果比较，如果结果与指定的百分率差异很小，系统确认测试通过。硬件与软件参数对分子量数据的准确度和精密度的影响在参考文献 2 和 3 中有进一步讨论。

示差折光检测器是采用 GPC-SEC 鉴定高聚物最常用的检测器。一些高聚物，如聚环氧乙烷，右旋糖苷，纤维素在紫外-可见光范围内无吸收。

另一方面，有些高聚物，如果洗脱液透明，且选择了正确的检测波长，可用紫外-可见光检测器分析。例如含芳香基团的高聚物，如聚苯乙烯或聚苯乙烯；丙烯腈和不含芳香基团的高聚物，如聚甲基丙烯酸甲酯，聚丁二烯，聚碳酸酯，聚酰胺和聚丙烯酸。图 6 给出了采用示差折光和紫外-可见光检测器分析聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 的重叠色谱图。

双检测器的优点之一是操作者可得到更多的样品信息。聚甲基丙烯酸甲酯色谱图在高聚物区非常相似，但由于 UV 检测器的高灵敏度，在低聚物区的色谱图明显不同。

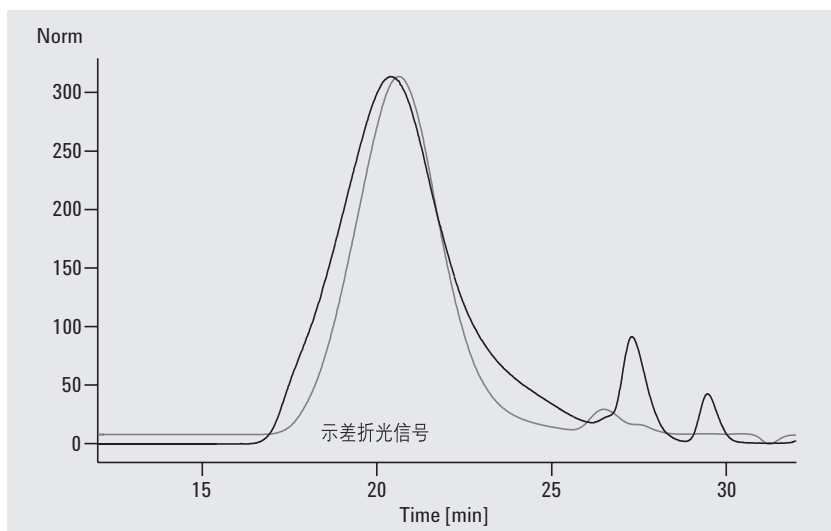


图 6. 采用示差折光和紫外-可见光检测器分析聚甲基丙烯酸甲酯的重叠色谱图

	平均值		精密度	
	M_n	M_w	M_n	M_w
参考值	86000 (GPC)	246000 (光散射)	-	-
UV-DAD	90700	265000	0.69	0.33
RID	91530	265000	1.24	0.36

表 3. UV-DAD 和示差折光检测器准确度和精密度的比较

如果 UV 检测器是二极管阵列检测器，在分析中可得到光谱图，以用于峰识别与峰纯度控制。相关例子可参见文献 5。紫外-可见光检测器的另一个优点是低的基线噪音和漂移。这些对分子量数据的准确度和精密度都会有影响。为进行研究，我们采用 UV-二极管阵列检测器和示差折光检测器，分析了一系列苯乙烯样品。表 3 给出了从 10 次自动分析得到的 M_n 和 M_w 平均值和计算出的各自相对标准偏差。

最先进的示差折光检测器在基线噪音，漂移和自动化方面有明显提高。因此，表 3 中，除精密度数据有所不同外，两个检测器数据非常相似。紫外-可见光检测器的精密度数据明显优于示差折光检测器约 2 倍。

结论

GPC-SEC 是最广泛用于分析高聚物的技术。可用于有机相和水相中的样品分析，可测定的分子量范围从约 100 至几百万道尔顿。同传统分析技术相比，它可得到平均分子量和分子量分布信息。为得到准确可靠的分析结果，相比其它液相色谱分离模式，对硬件和软件的要求要严格得多。

参考文献

1. “Polymer and Hydrocarbon Processing Solutions with HPLC”, Agilent Solutions Guide, publication number 5968-7020E, **1999**
2. R. J. Bruessau, *Macromol. Symp.* 110, 15-32, **1996**
3. “Precision in GPC-SEC Analysis”, Agilent Application Brief, publication number 5988-0109EN, **2000**
4. E.M. Barral, M.J.R. Cantow and J.F. Johnson, *J. Appl. Polym. Sci.* 12, 1373, **1968**
5. “Characterization of light emitting polymers”, Agilent Application Brief, publication number 5988-0116EN, **2000**

安捷伦科技公司对本材料可能存在的错误或与装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本资料中的信息，如有改变，恕不另行通知。

安捷伦科技公司版权所有©, 2000

2000年10月中国印刷
出版号: 5988-0110CHCN