

一种新的标定体积排除色谱 (SEC) 的方法*

吴奇 张玉宝

(香港中文大学化学系 沙田 新界 香港)

严小虎 程谔时

(南京大学化学系 南京 210008)

摘要 基于体积排除色谱中测得的淋出体积和动态激光光散射中测得的平动扩散系数都直接依赖于高分子的流体力学体积这一事实,本文在理论上提出了一种把淋出体积分布和平动扩散系数分布二者结合起来标定体积排除色谱的新方法,并且在实验上通过对宽分布的聚苯乙烯标准样品的测试证实了该方法的可行性。

关键词 体积排除色谱,动态光散射,色谱柱标定,高分子分子量分布的表征,淋出体积分布,平动扩散系数分布

高分子分子量分布的表征是高分子研究中一个古老而又没有完全解决的课题。体积排除色谱 (Size Exclusive Chromatography, SEC) 作为一种应用广泛的表征方法,在实践中取得了很大的成功^[1]。但是在表征一些特殊高分子时,如:聚电解质和不宜分级的宽分布样品,色谱柱的标定,即:淋出体积和分子量二者之间关系的确定仍是一个令人困扰的问题。最近的10年里,动态激光光散射 (Dynamic Laser-Light Scattering, DLS) 被逐步引入高分子实验室,并成为一种常规的研究手段^[2]。物理上,体积排除色谱和动态激光光散射二者观察了高分子的同一个内在特性——流体力学体积。这一内在的联系,使得我们利用动态激光光散射中测得的平动扩散系数分布来标是淋出体积和分子量之间的关系。除了理论上提出并在实验上证实了这一新的,非常规的方法外,本文还讨论了该方法在实际应用中的优越性和不足之处。

1 实验部分

聚苯乙烯:美国国家标准局宽分布聚苯乙烯标准样品 (NBS 706)。 M_n [经典(静态)光散射] = $2.80 \times 10^5 \text{g/mol}$, $M_w/M_n = 2.1$ 。

激光光散射:实验仪器为 ALV-5000 激光光散射仪(德国),光源是相关公司(美国)生产的 4W 氩离子激光器。激光器的工作波长是 488 nm,功率是 400 mW。在目前的仪器设置中仪器的相关常数 (β) 约为 0.85,因此,我们可以测量很稀的高分子溶液的时间相关函数。有关动态激光光散射的原理和实验细节可参阅文献^[2]。动态激光光散射中所用的溶剂是甲苯,所有测量均在 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 下进行。

体积排除色谱:实验仪器为 Waters 244 型体积排除色谱仪,检测器是微折光指数仪。SEC 实验在室温下用四氢呋喃为淋洗剂。

2 基本原理

* 1994-06-08 收稿

在体积排除色谱中,作为一级近似,淋出体积 (V) 和分子量 (M) 可通过两个标定常数 A 和 B 联系起来,即:

$$V = A + B \lg(M) \quad (1)$$

在动态激光光散射中,平动扩散系数 (D) 和分子量 (M) 同样可以通过另外两个标定常数 k_D 和 α_D 联系起来,即:

$$D = k_D \cdot M^{-\alpha_D} - \alpha_D \quad \lg(D) = \lg(k_D) - \alpha_D \lg(M) \quad (2)$$

结合式(1)和(2)可得:

$$V = P + Q \lg(D) \quad (3)$$

其中 $P = A + B \lg(k_D)/\alpha_D$ 和 $Q = B/\alpha_D$. 将式(3)两边平方,可得:

$$V^2 = P^2 + 2PQ \lg(D) + Q^2 \lg^2(D) \quad (4)$$

对式(3)和(4)两边分别对淋出体积分布 $C(V)$ 积分,并归一化,可得:

$$\langle V \rangle = P + Q \langle \lg(D) \rangle \quad (5)$$

和

$$\langle V^2 \rangle = P^2 + 2PQ \langle \lg(D) \rangle + Q^2 \langle \lg^2(D) \rangle \quad (6)$$

其中

$$\langle V \rangle = \int_0^\infty V C(V) dV / \int_0^\infty C(V) dV \quad (7)$$

$$\langle V^2 \rangle = \int_0^\infty V^2 C(V) dV / \int_0^\infty C(V) dV \quad (8)$$

$$\langle \lg(D) \rangle = \int_0^\infty \lg(D) C(V) dV / \int_0^\infty C(V) dV \quad (9)$$

$$\langle \lg^2(D) \rangle = \int_0^\infty \lg^2(D) C(V) dV / \int_0^\infty C(V) dV \quad (10)$$

一方面,因为在体积排除色谱中, $C(V)$ 是一个淋出体积的浓度(或重量)分布,所以:

$$\int_0^\infty C(V) dV \propto \int_0^\infty f_w(M) dM \propto \int_0^\infty f_w(M) M d[\lg(M)] \quad (11)$$

其中, $f_w(M)$ 是分子量的重量分布. 从式(1)中已知, $dV \propto d[\lg(M)]$, 因此,从式(11)可导出:

$$C(V) \propto f_w(M) M \quad (12)$$

另一方面,因为在动态激光光散射中, $G(D)$ 是一个平动扩散系数的散射光强(或 Z -)分布,所以:

$$\int_0^\infty G(D) dD \propto \int_0^\infty f_w(M) M dM \propto I \quad (13)$$

或改写为:

$$\int_0^\infty G(D) D d[\lg(D)] \propto \int_0^\infty f_w(M) M^2 d[\lg(M)] \quad (14)$$

从式(2)中已知 $d[\lg(D)] \propto d[\lg(M)]$. 因此,从式(14)可导出:

$$G(D) D \propto f_w(M) M^2 \quad (15)$$

利用式(3)和(12)以及(2)和(15),我们可从重均分子量的定义:

$$M_w = \int_0^\infty f_w(M) M dM / \int_0^\infty f_w(M) dM$$

分别推出

$$M_{w,DLS} = \frac{\int_0^{\infty} M C(V) dV}{\int_0^{\infty} C(V) dV} = \frac{k_D^{1/\alpha_D} \int_0^{\infty} 10^{(P-V)/(\alpha_D Q)} C(V) dV}{\int_0^{\infty} C(V) dV} \quad (16)$$

和

$$M_{w,SEC} = \frac{\int_0^{\infty} G(D) dD}{\int_0^{\infty} G(D)/M dD} = \frac{k_D^{1/\alpha_D} \int_0^{\infty} G(D) dD}{\int_0^{\infty} G(D) D^{1/\alpha_D} dD} \quad (17)$$

对于一个给定的高分子样品, $M_{w,DLS}$ 和 $M_{w,SEC}$ 均应等于经典(静态)光散射所测的 M_w 。进一步利用(2),(12)和(15)可得:

$$\langle \lg(D) \rangle = \frac{\int_0^{\infty} \lg(D) G(D) D^{1/\alpha_D} dD}{\int_0^{\infty} G(D) D^{1/\alpha_D} dD} \quad (18)$$

$$\langle \lg^2(D) \rangle = \frac{\int_0^{\infty} \lg^2(D) G(D) D^{1/\alpha_D} dD}{\int_0^{\infty} G(D) D^{1/\alpha_D} dD} \quad (19)$$

基于以上的讨论不难看到, 如果已知 α_D , 那么就可首先利用式(17), 从 $G(D)$ 和 M_w 中算出 k_D , 然后利用式(18)和(19), 从 $G(D)$ 算出 $\langle \lg D \rangle$ 和 $\langle \lg^2 D \rangle$ 。再加上从 $C(V)$ 算出的 $\langle V \rangle$ 和 $\langle V^2 \rangle$ 。我们可得到式(5)和(6)中的 P 和 Q , 进而得到式(1)中的 A 和 B , 即, 完成了体积排除色谱的标定。

实践中, 我们可从以下几种途径获得 α_D :

其一, 从高分子链的刚柔性来推估 α_D , 或至少一个很窄的 α_D 的范围^[3]。因为高分子溶液理论已经指出各种典型的高分子链在不同溶剂中的 α_D , 如: 柔性链在 θ 溶剂中 $\alpha_D = 0.5$; 在良溶剂中 $\alpha_D \leq 0.6$, 以及刚性链的 α_D 的极限值是 1.0 等。这些理论上的推算, 已经被许多的实验所证实和确定。

其二, 从实验中所测的两个或两个以上样品的 D 和 M 定出 α_D ^[4]。

其三, 从 Mark-Houwink 方程 $[\eta] = k_\eta M^{\alpha_\eta}$ 中的 α_η 求出 α_D , 因为对柔性链而言, $\alpha_D = (\alpha_\eta + 1)/3$ 。

其四, 也是本文要特别阐述的方法。在以上方法均难确定 α_D 的情况下, 从式(16)和式(17)以及 $M_{w,DLS} = M_{w,SEC} = M_w$ 可得:

$$\frac{\int_0^{\infty} 10^{(P-V)/(\alpha_D Q)} C(V) dV}{\int_0^{\infty} C(V) dV} = \frac{\int_0^{\infty} G(D) dD}{\int_0^{\infty} G(D) D^{1/\alpha_D} dD} \quad (20)$$

如果结合式(5)~(8)以及(18)和(19), 我们可知式(20)中仅有 α_D 一个未知数, 通过迭代算法, 最终可以找到一个适当的 α_D , 使得式(20)的左右两边之差最小。在实际的计算程序中, 首先假定一个 α_D , 通过式(18)和(19)算出 $\langle \lg D \rangle$, 和 $\langle \lg^2 D \rangle$, 然后利用式(5), (6)加上已知的 $\langle V \rangle$ 和 $\langle V^2 \rangle$ 解出 P 和 Q , 进而分别算出式(20)左右两边。如

果左右两边不等,则从重复以上过程,直至找到一个最佳的 α_D 使得式(20)成立。由此可见,我们可以通过仅仅一个宽分布的样品本身来标定体积排除色谱,进而达到表征该样品分子量分布的目的。

3 结果和讨论

在动态激光光散射中,实际所测得的是光强的时间相关光谱,即^[5]:

$$G^{(2)}(t) = \langle I(t)I(0) \rangle = A[1 + \beta |g^{(1)}(t)|^2] \quad (21)$$

其中, A 是测量基线, β 是仪器的相关因子, $g^{(1)}(t) [= \langle E(0)E^*(t) \rangle]$ 是电场-电场时间相关光谱。对一个多分散的体系而言, $g^{(1)}(t)$ 同特征线宽分布 $G(\Gamma)$ 之间的关系为:

$$g^{(1)}(t) = \langle E(t)E^*(0) \rangle = \int_0^\infty G(\Gamma)e^{-\Gamma t} d\Gamma \quad (22)$$

一般而言,特征线宽既是散射角度 (θ), 又是溶液浓度 (C) 的函数。当 $\theta \rightarrow 0$ 和 $C \rightarrow 0$ 时 $\Gamma/q^2 = D$ 。因此, $G(\Gamma)$ 可转变为 $G(D)$ 。

实验上,通过对时间相关光谱的拉普拉斯变换,我们可得到平动扩散系数的分布 $G(D)$ 。这项工作中,所用的拉普拉斯变换计算程序为国际上应用最广泛的 CONTIN^[6]。图 1 显示了一个典型的平动扩散系数分布 $G(D)$, 其中散射角和浓度均已外推到零。图 2 显示了在体积排除色谱中测得的淋出体积分布 $C(V)$ 。

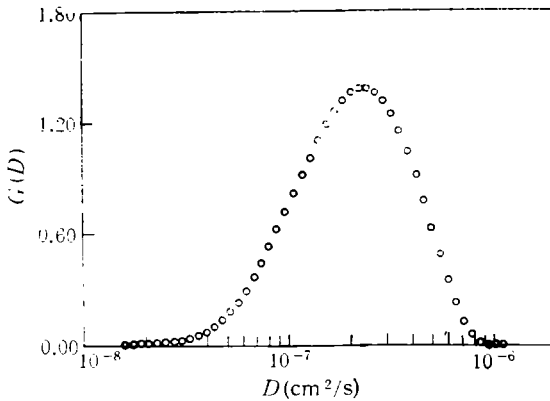


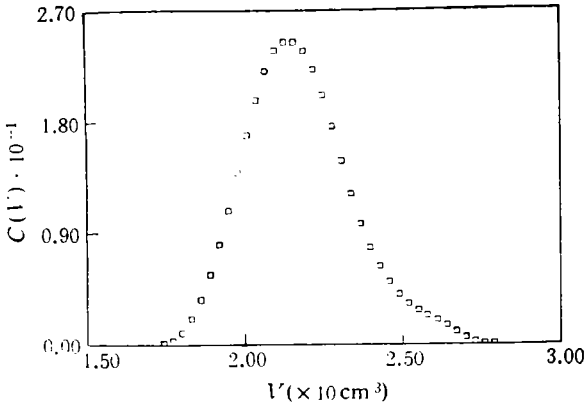
Fig. 1 Typical translational diffusion coefficient distribution $G(D)$

按照本文所提出的分析方法,从 $C(V)$, $G(D)$ 和 M_w 可算出 A 和 B 以及 α_D 和 k_D 。结果列于表 1。

Tab. 1 A, B, k_D and α_D obtained with different methods

Method	A	B	$k_D/10^{-4}$	α_D
SEC + DLS	46 ± 1	$-(4.6 \pm 0.1)$	3.9 ± 0.1	0.580 ± 0.005
SEC*	45 ± 1	$-(4.4 \pm 0.1)$		
DLS**			3.64	0.577

* Calibrated with a set of narrowly distributed polystyrene standards with different molecular weights. ** Reference 7, where $T = 20^\circ\text{C}$

Fig. 2 Typical elution volume distribution $C(V)$

为了同常规的采用多个单分散的标准样品的标定方法比较,我们在表 1 中也列入了有关 A 和 B 的实际标定值以及 k_D 和 α_D 的文献值^[7]. 通过比较不难发现本文所得的 α_D 和 k_D 以及 A 和 B 是非常合理的. 利用已知的 A 和 B 以及 α_D 和 k_D , 我们可以将 $C(V)$ 和 $G(D)$ 分别转变成分子量重量分布. 图 3 分别显示了两个从 $C(V)$ 转变而得到的分子量分布,“○”为本文方法;“□”为常规方法.

Tab. 2 M_w and M_w/M_n obtained from different methods

Method	$M_w/10^5(\text{g/mol})$	M_w/M_n
SEC + DLS	2.86 ± 0.15	2.0 ± 0.1
SEC	2.80 ± 0.15	2.1 ± 0.1
Static LLS	2.80 ± 0.10	2.1 ± 0.1

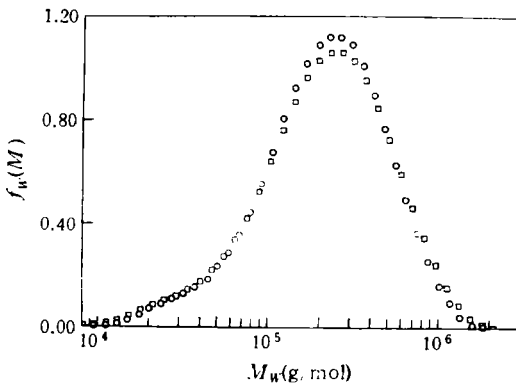
Fig. 3 Molecular weight distributions obtained from $C(V)$, where “○” this method; “□” conventional method

图 3 表明,利用本文和常规方法得到的分子量分布是一致的. 有关的分布参数列于表 2. 结果表明,本文所提出新的标定体积排除色谱的方法是可行的. 该方法优点在于,对任何一个给定的宽分布高分子样品,我们可以利用这个样品本身去标定体积排除色谱,进而达

到测定其分子量分布的目的。同时,该方法并不要求体积排除色谱和动态激光光散射在同一实验条件下操作以及使用同一溶剂。该方法的缺点在于需要一台额外的动态激光光散射仪和对该仪器使用的专业训练。

参 考 文 献

- [1] Mori S. *Anal Chem*, 1981, **53**: 1813
- [2] Chu B. *Laser Light Scattering*, New York: Academic Press, 1974
- [3] Flory P J. *Principles of polymer Chemistry*, Conell University Press, 1953
- [4] Wu C. *Macromolecules*. 1993, **26**: 3821 and references therein
- [5] Pecora R. *Dynamic Light Scattering*, New York: Plenum Press, 1976
- [6] Provencher S W. *J Chem Phys*, 1978, **69**(9): 4273
- [7] Appelt B, Meyerhoff G. *Macromolecules*, 1980, **13**: 657

A NOVEL METHOD TO CALIBRATE SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

WU Chi, ZHANG Yubao

(*Department of Chemistry, The Chinese University of Hong Kong, Shatin, N.T. Hong Kong*)

YAN Xiaohu, CHENG Rongshi

(*Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210008*)

Abstract A conventional calibration of size exclusion chromatography (SEC) requires a set of narrowly distributed polymer standards with different molecular weights (M). In this study, a novel method was proposed, wherein the intrinsic connection between the measured retention volume (V) in SEC and the diffusion coefficient (D) in dynamic laser light scattering (LLS), i.e., both v and D are related to the same hydrodynamic volume, is utilized to calibrate both SEC and DLS in a single process by using only ONE broadly distributed polymer sample. One broadly distributed polymer standard (NBS706) was used in this study to verify this proposed method. The calibration between v and M from this method is fairly comparable to that from the conventional method, and the calibration between D and M is also in agreement with the literature values. With these two calibrations, both of the conversions from the retention volume distribution in SEC and diffusion coefficient distribution $\ln G(D)$ to molecular weight distribution have been accomplished. This novel method will enable us to use SEC to characterize special polymers where the conventional SEC calibration is not applicable.

Key words Size exclusion chromatography, Dynamic light scattering, Calibration of chromatography column, Characterization of molecular weight distribution of polymer, Elution volume distribution, Translational diffusion coefficient distribution