

示差折光和光散射双检测体积排除色谱的绝对量化*

刘承果¹ 谢鸿峰¹ 郑 云¹ 程镭时^{1,2**}

(¹ 南京大学化学化工学院介观化学实验室 高分子科学与工程系 南京 210093)

(² 华南理工大学材料学院高分子研究所 广州 510640)

摘 要 讨论了示差折光和光散射联用双检测体积排除色谱的绝对量化的原理, 强调指出了试样注入量在数据处理中的重要作用. 测量注入试样的这两种检测器的检测常数, 可以同时得到试样的折光指数增量和重均分子量的绝对值. 这一方法除了适用于各种均聚物外, 还可以应用于高分子混合物的分析. 此时, 如将混合物看作为单一溶质, 从所得折光指数增量和重均分子量, 可对它们的组成作出定量分析, 还可以判断混合物两个组分之间有无分子缔合等现象的产生. 这一方法应用于聚甲基丙烯酸甲酯/聚苯乙烯 (PMMA/PS) 混合物的溶液, 指明在四氢呋喃中两者产生缔合而形成了复合物.

关键词 体积排除色谱, RI-LS 双检测器, 检测常数, 高分子混合物间的缔合

示差折光-光散射 (RI-LS) 双检测体积排除色谱 (SEC) 方法在分离柱具有良好分离效率时, 可以用来直接测量高分子的重均分子量和分子量分布, 无需对 SEC 分离柱作事先的分子量分离校准. 此时, 由于两个检测池中的溶液并不是同一个溶液, 流过的时间有先有后, 因而必须做池间体积的移位校准. 另一方面, 如果色谱柱的分离效率不佳, 或者试样的分子量分布超越了色谱柱的分离极限, 甚至失去分离作用 (相当于将色谱柱从仪器中移除) 此时将得到两条接近重复的检测曲线. 按照一般的处理办法, 这样的数据似乎用处不大. 本文则将说明, 运用这两种检测器的绝对量化原则^[1~4]之后, 除了分子量分布以外, 还可以得到被测试样的许多额外信息. 本文将对其中的两个, 即折光指数增量的分子量依赖性和高分子混合物在溶液中的缔合两方面的应用做一简要的说明.

1 双检测体积排除色谱的绝对量化原理和方法

在 SEC 过程中, 溶质分子按其分子尺寸的大小而分离. 分子体积一定的溶质, 在给定的色谱柱中具有一定的淋出体积. 在常规 SEC 的操作过程中, 用示差折光或紫外吸收作为溶质的浓度检测器, 只要得到淋出溶液在某一淋出体积时的浓度检测信号, 除以信号的总和 (归一化), 即可得到该淋出体积时淋出溶质在总体试样中所占的重量分数. 再与事先订定的高分子的淋出体积与分子量

的关系 (校准关系) 相结合, 即可计算出试样的各种平均分子量, 而归一化实验谱图可视为试样的分子量分布图. 长期以来, 由于这一处理方式无须知道试样中各个组分含量的绝对值, 注入溶液的浓度无须确知, 而分子量的绝对值可以计算得到, 被认为是 SEC 的一个特别优点.

按照检测器绝对量化的原则^[1~4], 检测器的输出信号的大小与注入色谱柱的试样质量有关. 注入色谱柱一个单一溶质的试样, 只会出现一个单独的色谱峰 $H(V)$, 将此峰的输出信号除以注入溶质的质量 w_{inj} 后, 得到注入单位溶质质量的输出信号, 记作 $Hw(V)$

$$Hw(V) = \frac{H(V)}{w_{\text{inj}}}$$

w_{inj} 等于注入试样溶液的体积与浓度的乘积. $Hw(V)$ 的总面积称为检测器的响应常数 K

$$K = \int Hw(V) dV = \frac{\int H(V) dV}{w_{\text{inj}}} = \frac{A}{w_{\text{inj}}}$$

其中 A 为输出信号 $H(V)$ 色谱峰下的总面积.

示差折光浓度检测器的输出信号 $H_{\text{RI}}(V)$ 与浓度的关系为^[1~4]

$$H_{\text{RI}}(V) = k[n(V) - n_0] = k \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right) \cdot c(V) \quad (1)$$

式中 $n(V)$, n_0 分别是检测池中溶液和参比池中溶剂的折光指数, k 是仪器常数, $\frac{dn}{dc}$ 是试样溶液

的折光指数增量. 如在谱图覆盖的整个淋洗体积范围里对(1)式积分, 则示差折光检测响应峰的总面积 A_{RI} 为

$$A_{\text{RI}} = \int_V H_{\text{RI}}(V) \text{d}V = K \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right) \cdot \int c(V) \text{d}V$$

其中

$$\int_V c(V) \text{d}V = c_{\text{inj}} \cdot V_{\text{inj}} = w_{\text{inj}}$$

c_{inj} , V_{inj} 和 w_{inj} 分别为注入色谱柱内的原始溶液的浓度、体积和注入溶质的质量. 示差折光检测器的响应常数 K_{RI} 为

$$K_{\text{RI}} = \frac{A_{\text{RI}}}{w_{\text{inj}}} = k \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right) \quad (1\text{a})$$

如果选择一种其折光指数增量已知的试样为标准试样, 计作

$$K_{\text{RI}}^* = k \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^* \quad (1\text{b})$$

则待定试样的折光指数增量 $\frac{\text{d}n}{\text{d}c}$ 可从两者的示差折光检测响应常数的比值算出

$$\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right) = \frac{K_{\text{RI}}}{K_{\text{RI}}^*} \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^* \quad (1\text{c})$$

光散射的检测响应输出信号 $H_{\text{IS}}(V)$ 也就是检测池中淋出溶液的瑞利因子 $R_{\theta}(V)$, 它与检测池中溶液的浓度 $c(V)$ 成正比, 两者间具有下式所示的浓度依赖性^[5]

$$H_{\text{IS}}(V) = R_{\theta}(V) = K \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^2 \cdot M_{\text{w}} \cdot c(V) \quad (2)$$

式中的光散射光学常数 $K = \frac{1}{N_{\text{A}}} \cdot \left(\frac{2 \cdot \pi \cdot n_0}{\lambda^2} \right)^2 (N_{\text{A}}$ 为 Avogadro 常数, n_0 为溶剂的折光指数, λ 为入射光在真空中的波长). 上式还指示, 检测输出信号 $H_{\text{IS}}(V)$ 也同时与池中溶质的重均分子量 M_{w} 和折光指数增量的平方 $\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^2$ 成正比.

如对式(2)在覆盖整个淋洗体积范围内积分, 则光散射检测响应峰的总面积 A_{IS} 为

$$A_{\text{IS}} = \int_V H(V) \text{d}V = K \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^2 \cdot M_{\text{w}} \cdot \int c(V) \text{d}V$$

如令检测响应峰的总面积 A_{IS} 与注入色谱柱内的溶质质量的比值为光散射的检测响应常数 K_{IS} , 则

$$K_{\text{IS}} = \frac{A_{\text{IS}}}{w_{\text{inj}}} = K \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^2 \cdot M_{\text{w}} \quad (2\text{a})$$

它与溶质的重均分子量与折光指数增量平方的乘积成正比.

如果选择一个重均分子量和折光指数增量均已确知的试样作为标准试样, 它的重均分子量和折光指数增量分别为 M_{w}^* 和 $\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^*$, 光散射响应常数为 K_{IS}^* 则可分别计算得到示差折光检测器的仪器常数 k 和光散射的光学常数 K

$$k = \frac{K_{\text{RI}}^*}{\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^*} \quad (3)$$

$$K = \frac{K_{\text{IS}}^*}{M_{\text{w}}^* \left[\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^* \right]^2} \quad (4)$$

得到仪器常数和光学常数后, 无论什么试样只要同时测出它们的示差折光检测常数 K_{RI} 和光散射检测常数 K_{IS} , 该试样的折光指数增量 $\frac{\text{d}n}{\text{d}c}$ 和重均分子量 M_{w} 即可按

$$\left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right) = \frac{K_{\text{RI}}}{k} \quad (5)$$

$$M_{\text{w}} = \frac{K_{\text{IS}}}{K \cdot \left(\frac{\text{d}n}{\text{d}c} \right)^2} \quad (6)$$

或

$$M_{\text{w}} = \frac{k^2 K_{\text{IS}}}{K \cdot K_{\text{RI}}^2} \quad (6\text{a})$$

计算得到.

运用这一计算方法, 可以从 RI-LS 双检测 SEC 同时得到待定试样的折光指数增量和重均分子量的绝对值, 不受色谱柱是否有分离作用的限制. 唯一的实验要求是, 注入试样溶液的浓度和体积必须确知, 以便计算注入色谱柱内溶质的准确质量, 从而获得该试样的两个检测常数 K_{RI} , K_{IS} 和重均分子量 M_{w} . 对于一系列分子尺寸不等的同系高分子而言, 通过上述处理方法可以得到高分子在淋洗溶剂中的折光指数增量、重均分子量、折光指数增量的分子量依赖性以及浓度检测器中分子量与淋出体积之间的校准关系. 此时, 由于检测响应常数是对整个实验谱图而言的, 无须考虑两个检测器之间的连接管道长短的影响.

2 绝对量化方法的应用

2.1 折光指数增量的分子量依赖性

本工作使用了 1 组由 3 根 Styragel 色谱柱串接组成的 WATERS 515 型液相色谱仪, 配接了

Wyatt DOWN EOS 型光散射仪和 Wyatt Optilab rEX 型示差折光仪作为在线检测器联用. 实验用 THF 作为淋洗剂, 柱温和流速分别固定为 25.0℃ 和 1.00 mL/min. 运用上节所述处理方法, 对一组窄分布聚苯乙烯试样的实验数据, 除以各自的试样注入量后, 得到两个检测器的单位质量下的实验谱图 $Hw_{RI}(V)$ 和 $Hw_{LS}(V)$, 如图 1 和图 2 所示.

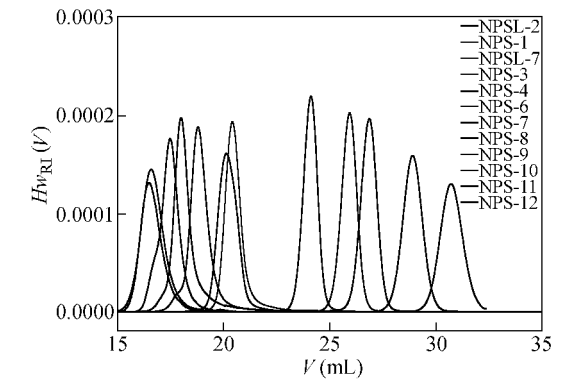


Fig. 1 The injected mass normalized experimental chromatograms $Hw_{RI}(V)$ for a series of narrow molecular weight distribution (NMWD) polystyrene samples
The lables from top to bottom are corresponding to the chromatograms from right to left.

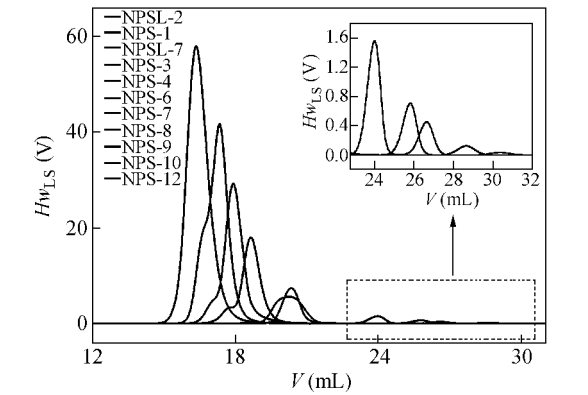


Fig. 2 The injected mass normalized experimental chromatograms $Hw_{LS}(V)$ for a series of NMWD polystyrene samples
The inserted diagram is the enlarged portion for $V > 23$ mL.
The lables from top to bottom are corresponding to the chromatograms from right to left.

由图可见, 用 $Hw_{RI}(V)$ 和 $Hw_{LS}(V)$ 可以定量表示这两个检测器对试样的响应特征. 例如, 示差折光的响应几乎等高, 而光散射的响应则随淋洗体积的增大而逐个变小. 对实验数据只作一个简单的绝对量化处理(除以试样注入量), 就可以直观地反映试样的分子量大小, 色谱柱的分离效

果等定性信息. 如指定一个聚苯乙烯试样(NPS-3)作为标准, 其折光指数增量为 0.1845, 按上节所述方程(3)和方程(4), 计算得到示差折光检测器的仪器常数 k 和光散射的光学常数 K . 它们分别是 $k = 1.007 \times 10^{-3}$ 和 $K = 1.817 \times 10^{-3}$. 这两个常数确定之后, 就可以用它们对经过注入质量归一化的响应常数 K_{RI} 和 K_{LS} 来计算任意一个试样的折光指数增量和重均分子量.

图 1 和图 2 中各个聚苯乙烯试样的重均分子量有很大差别, 互不相同. 它们的折光指数增量虽然十分接近, 但可看到当分子量小于 1×10^4 时, 有下降的趋势, 如图 3 所示. 在图 3 上也画出了文献所载^[1] 苯乙烯低聚物在四氢呋喃中的折光指数增量, 与本工作的实验结果能平滑地衔接, 两者均满足聚苯乙烯折光指数增量分子量依赖性的理论关系^[1]

$$\frac{dn}{dc} = \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\infty} \left[1 + (K_v - 1) \frac{M_E}{M_n} \right] \quad (10)$$

其中 $\left(\frac{dn}{dc} \right)$ 为分子量趋于无穷大时的折光指数增量, K_v 为端基与结构重复单元折光指数增量的比值, M_E 为端基分子量.

可见, 当用单一示差折光检测器测量分子量分布, 如聚苯乙烯的分子量小于 1×10^4 时, 折光指数增量的偏离必须加以考虑.

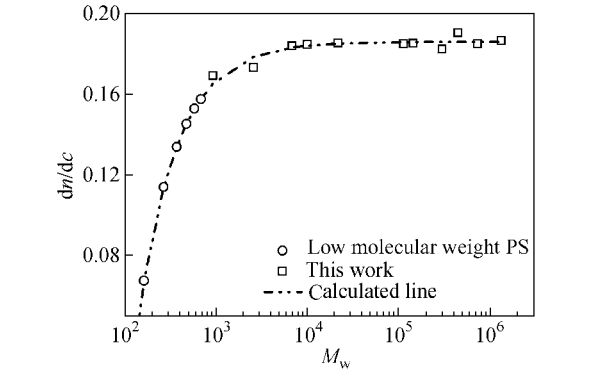


Fig. 3 The molar mass dependence of dn/dc of polystyrene in THF

在图 4 上, 画出了实验所得的聚苯乙烯的重均分子量与示差折光检测响应的峰位体积 V_p 之间的关系. 它们与用常规方法从标样的 M_p 与 V_p 所得的校准曲线十分接近, 两者间的微小差异是由于聚苯乙烯试样的重均分子量略高于峰位分子量所引起, 此差异可以根据光散射-示差折光检测

器所得谱图的扩展效应理论作出预计^[6].

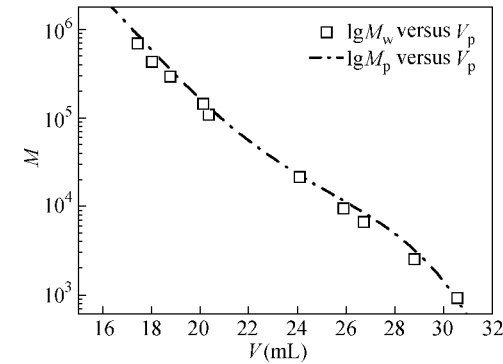


Fig. 4 The weight average molar mass versus peak volume of RI detector plot and the calibration curve obtained by usual way

2.2 高分子共混物组成分析及缔合作用研究

运用单一示差折光计响应的绝对定量化原则,可以从复杂混合物的质量归一化示差折光谱图 $Hw_{RI}(V)$ 计算得到二元混合物中组分的组成^[4].本工作用 RI-LS 双检测 SEC 测量了聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)、聚苯乙烯 (PS) 以及一系列组成确知的两者混合物的 SEC 谱图.按前节所述原理,从溶质质量归一化的实验响应谱图,分别计算得到这两个检测器给出的检测响应常数 K_{RI} 和 K_{IS} .从 K_{RI} 又可计算得到共混物在溶液中的折光

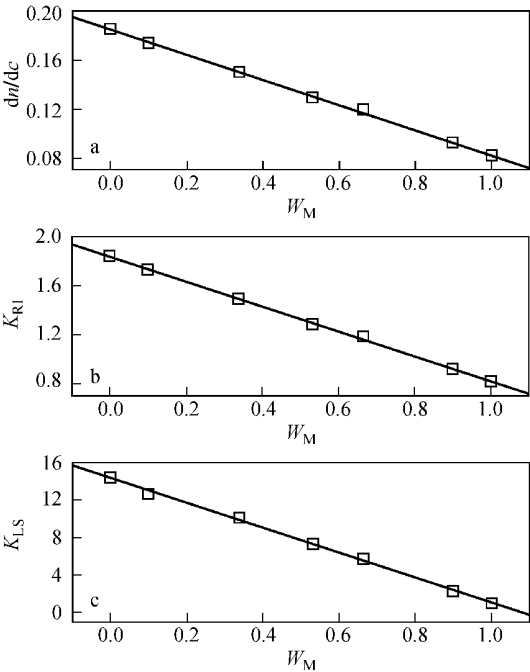


Fig. 5 The linear dependency of the detector response constants and $\frac{dn}{dc}$ of the PS-PMMA mixture on the composition of the component

指数增量 $\frac{dn}{dc}$.在整个共混物的组成范围内,它们都与混合物中 PMMA 的质量分数 w_M 间具有十分良好的线性关系,如图 5 所示.

它们都满足组分重量分数加和定则

$$K = (1 - w_M) K_{PS} + w_M K_{PMMA} \tag{7}$$

的事实指示,一个组成待定的 PMMA-PS 二元混合物,它的组成可以通过检测常数或折光指数增量的测量结果,按

$$w_M = \frac{K_{PS} - K}{K_{PS} - K_{PMMA}} \tag{8}$$

或

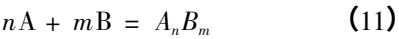
$$w_M = \frac{\left(\frac{dn}{dc}\right)_{PS} - \left(\frac{dn}{dc}\right)}{\left(\frac{dn}{dc}\right)_{PS} - \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PMMA}} \tag{9}$$

计算得到混合物中聚甲基丙烯酸甲酯所占质量分数 w_M .

另一方面,测量得到各混合物的重均分子量并不满足重量分数加和率

$$M_{w,0} = (1 - w_M) M_{w,PS} + w_M M_{w,PMMA} \tag{10}$$

显现了一种有规律的巨大正偏离,如图 6.此事实明确指示,由于聚甲基丙烯酸甲酯与聚苯乙烯在溶液中产生缔合反应而生成复合物,导致分子量的增大.如复合反应按



的模式进行,则可求得每克混合物中复合物 A_nB_m 的摩尔数 x 为

$$x = \Delta M_w \frac{1}{(n - 1) n M_A^2 + (m - 1) m M_B^2 + 2 n m M_A M_B} \tag{12}$$

其中 M_A 和 M_B 分别为 A 分子 (聚甲基丙烯酸甲酯) 和 B 分子 (聚苯乙烯) 的分子量, ΔM_w 则为差值

$$\Delta M_w = M_w - M_{w,0} \tag{13}$$

当组成复合物的原始分子数 n 和 m 都等于 1 时,式(13)成为

$$x = \frac{1}{2} \Delta M_w \frac{1}{M_A M_B} \tag{14}$$

由于 PS 和 PMMA 分子量的差别比较大,而且各有其本身的分子量分布,复合物中 PS 和 PMMA 的分子数 (n 和 m) 需要推定.运用求解复合反应 (11) 的方法,再与实验结果对比,推知当 $n = 3$ 和 $m = 1/3$ 时,理论计算的结果与实验数据有最佳的一致性,参见图 6 和图 7,此时复合常数 $K_a = 4.6 \times 10^5$.

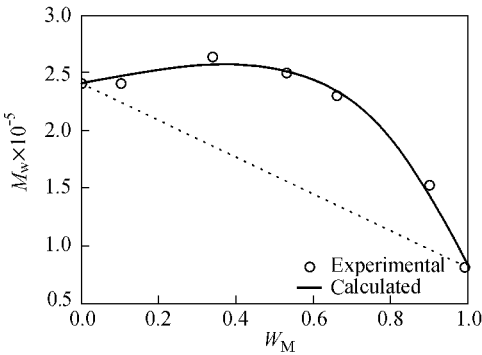


Fig. 6 The weight average molecular weights of PMMA-PS mixtures in THF solution
The solid line is theoretically calculated line for $n = 3$, $m = 1/3$ and $K_a = 4.6 \times 10^5$.

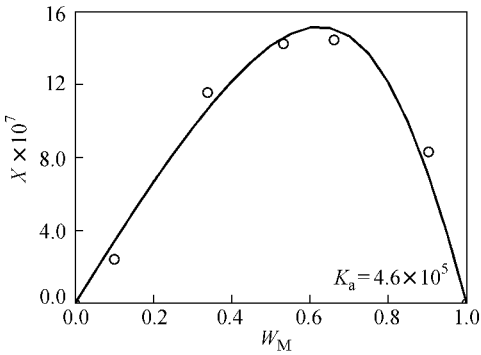


Fig. 7 The number of moles of $A_n B_m$ per gram of PMMA-S mixture in THF solution for $n = 3$ and $m = 1/3$
Circles : calculated from experimental molecular weight data. Solid line : theoretical line with $K_a = 4.6 \times 10^5$

从以上的实验和所作理论分析的结果可知, PMMA 和 PS 混合物在 THF 溶液中,两种结构不同的高分子由于分子间吸引力的存在,要发生缔合作用.复合物的产生导致分子量的增大.对此过程可以作出理论的定量诠释.

3 结论

在前两节中,本文针对示差折光-光散射双检

测体积排除色谱(SEC)绝对量化的原理和原则以及它的两个实际应用做了扼要的介绍.这里所谓的绝对量化,事实上是将常规 SEC 中通常都忽视的试样注入量作为一个必要因素在数据处理过程中加以运用.这样的改动,并不影响 SEC 数据的常规应用,反而可能得到更多意料之外的信息.

REFERENCES

1 Cheng Rongshi(程镗时),Yan Xiaohu(严晓虎). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),1989,(6) 647 ~ 654
2 Cheng R S,Zhao S L. ACS Symposium Series,1993,113 ~ 121
3 Wang Zhiliu(王治流),Zhou Caihua(周采华),Qian Jun(钱军),Cheng Rongshi(程镗时). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),1995,(2) 189 ~ 193
4 Chen Zhengnian(陈正年),Xie Hongfeng(谢鸿峰),Yang Hu(杨琥),Wang Zhiliu(王治流),Cheng Rongshi(程镗时). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2007,(8) 689 ~ 692
5 Wolfgang R,Peter F W S,Axel H E M. Macromolecules,1996,29 4926 ~ 4930
6 He Z D,Zhang X C,Cheng R S. J Liq Chromatogr,1982,5(7) 1209 ~ 1222

ABSOLUTE QUANTIFICATION FOR SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY WITH DIFFERENTIAL REFRACTOMETRY AND LIGHT SCATTERING DUAL DETECTORS

LIU Chengguo¹, XIE Hongfeng¹, ZHENG Yun¹, CHENG Rongshi^{1,2}

(¹ Key Laboratory of Mesoscopic Chemistry of MOE, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

(² College of Materials Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640)

Abstract The principle of absolute quantification for size exclusion chromatography (SEC) with refractive index-light scattering (RI-LS) dual detectors was discussed with emphasis on the importance of the injected mass of the sample. By the measurement of the response constant of dual detectors for the injected whole sample, the specific refractive index increment ($\frac{dn}{dc}$) and the absolute weight average molecular weight (M_w) could be simultaneously determined. The proposed data treatment procedures are first applied to a series of narrow-MWD polystyrene (PS) samples for determining the values of $\frac{dn}{dc}$ and M_w . The experimental relationship between $\frac{dn}{dc}$ and M_w for PS is in coincidence with the theoretical formula derived from the end group effect. The correction of $\frac{dn}{dc}$ when $M_w < 10^4$ must be considered. The proposed method is not only useful for homo-polymers, but is also applicable to polymer mixture and blends. Regarding an unlike polymer mixture with a given composition as a single solute, the specific refractive index increment and the absolute weight average molecular weight of the polymer mixture can be measured to decide whether molecular association between the two components happens or not. The method is illustrated by the system of poly(methyl methacrylate) and polystyrene (PMMA/PS) in THF solution. PMMA chains will partially associate with PS chains to form complexes. The M_w values of PMMA/PS mixtures in THF show a great positive deviation from the linear composition addition rule. The deviation is attributed to the formation of PMMA/PS complex. The complex formation could be described by a simple reaction scheme of $nA + mB = A_nB_m$. Analyzing and fitting the experimental data yields $n = 3$, $m = 1/3$ and an association constant of $K_a = 4.6 \times 10^5$.

Keywords SEC, RI-LS dual detector, Response constant, Association of polymer mixture