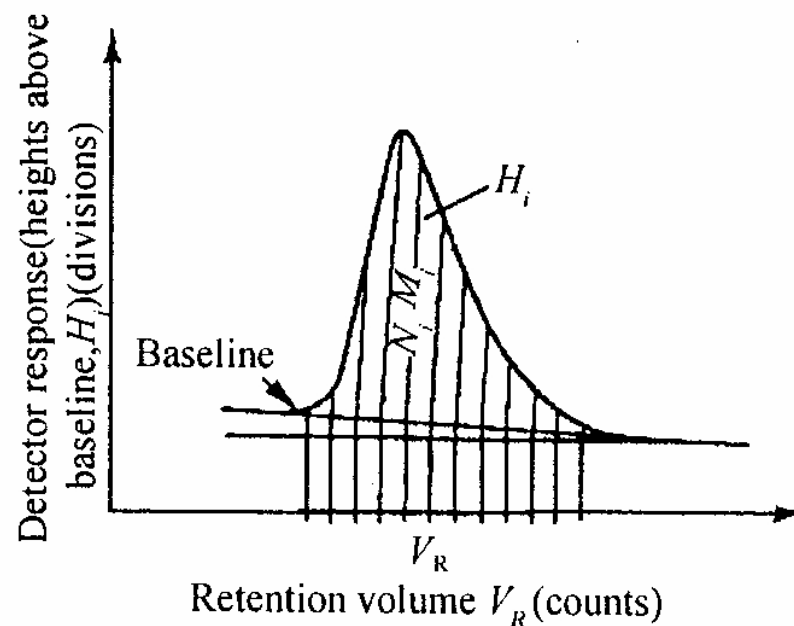


# GPC

- GPC称为凝胶(渗透)色谱(gel permeation chromatography)或尺寸排除色谱(size exclusion chromatography, SEC)
- 利用多孔填料柱将溶液中的高分子按尺寸大小分离的一种色谱技术
- 色谱柱分级机理：分子尺寸较大的高分子渗透进入多孔填料孔洞中的几率较小，即保留时间较短而首先淋洗出来；尺寸较小的高分子则容易进入填料孔洞而且滞留时间较长从而较后淋洗出来。由此得出高分子尺寸大小随保留时间(或保留体积 $V_R$ )变化的曲线，即分子量分布的色谱图

谱图等距分割后，对应每个保留体积 $V_{R,i}$ (或 $V_{e,i}$ )的色谱峰高度即代表该种分子的浓度(由示差折光或紫外检测仪得出)。通过谱图的归一化，可以求得对应 $V_{R,i}$ 的 $i$ 种高聚物重量分数 $W_i$ ，并可利用标定曲线将 $V_{R,i}$ 换算成分子量值 $M_i$ ，进而得到重均分子量 $M_w$ 、数均分子量 $M_n$ 以及多分散系数 $d$ 。



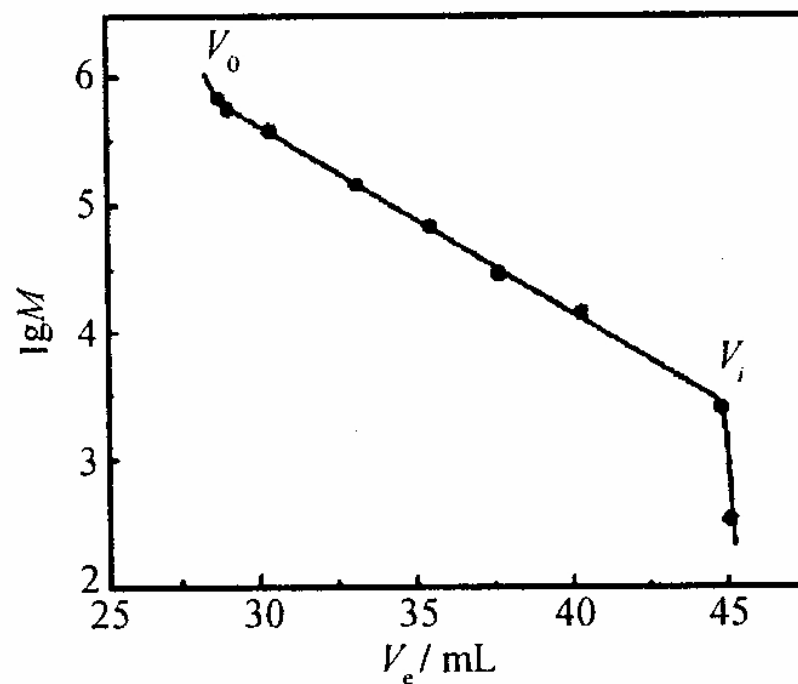
选择一种能描述GPC谱图的函数，按照此函数和分子量定义求取 $M_w$ ， $M_n$ 和 $d$ 值。迄今用于处理GPC数据的程序已有大量报道，而且商品仪器都装有专门的软件收集和数据处理数据

# 色谱柱填料的物性和指标

- 多孔填料是GPC色谱柱的关键部分，常用的填料有交联聚苯乙烯凝胶、多孔硅胶、交联葡聚糖凝胶、交联聚丙烯酰胺凝胶和琼脂糖凝胶等。前两种多半用于有机溶剂相，后几种多用于水体系及生物大分子
- 粒径：凝胶粒子尺寸及其分布
- 比表面：每克多孔填料的内、外表面积总和
- 骨架密度：材料本身的密度
- 平均孔径及其分布：多孔填料孔洞直径的平均值和它的分布
- 床体积：每克干填料溶胀后的总体积

高聚物分子量及其分布测定结果的好坏与色谱柱密切相关，GPC色谱柱主要指标包括：

**分离范围：**即色谱柱可分离的最高和最低分子量，它指  $\lg M - V_R$  (或  $\lg M - V_e$ ) 淋洗线的直线部分。如图所示，分子量大于  $7 \times 10^5$  的高分子完全不能进入填料孔洞而直接从填料粒间空隙流出。此处  $V_0$  为填料间隙总体积，也称为色谱柱的死体积。 $V_i$  孔洞体积，表示最低分子量的分离极限。



$$V_t = V_0 + V_i + V_g$$

$$\lg M = A - BV_e$$

**柱效(N)**：它是GPC柱分离效率的量度，通常用单分散有机化合物如正庚烷、苯甲醇、乙腈、异丙醇等作为溶质得出色谱图的峰 $V_e$ ，并按下式计算N：

$$N=16 \times (V_e/W)^2/L$$

式中，W为峰底宽，L为色谱柱长度。

**分配系数K**：具有一定分子量的第i级分(流出体积为 $V_{R,i}$ 在填料孔洞中所能占据的体积分数。

$$K=(V_{R,i}-V_0)/(V_i-V_0)$$

K值在0与1之间，分子尺寸愈小的级分，其K值愈大。因此在GPC测量前必须选择适合待测高聚物分子量范围，且分离效率较高的GPC柱。

# 普适校正

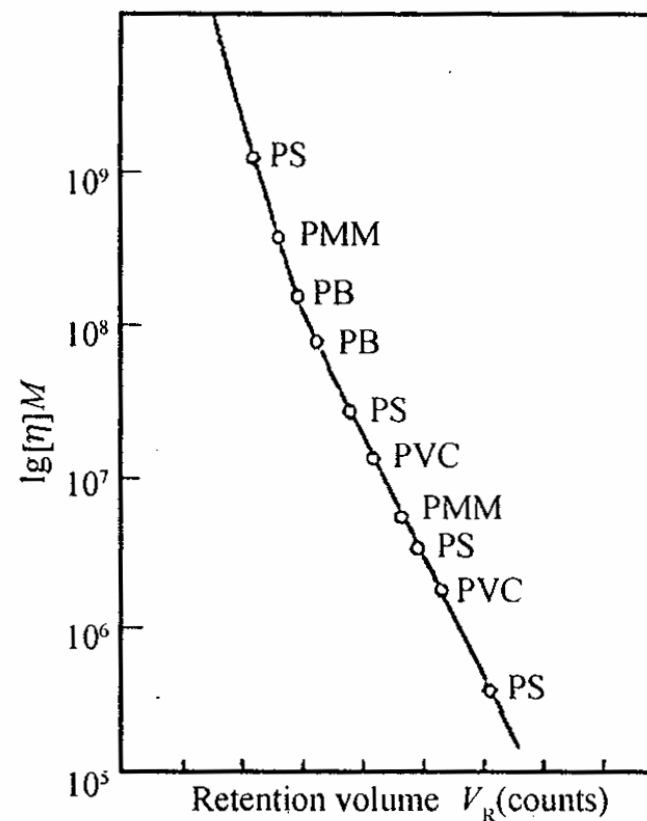
- 众所周知，只有很少的高聚物能制得窄分布的标准试样，例如用于有机溶剂相的聚苯乙烯标样和水溶剂体系的曲芽短梗霉聚糖(Pullulan)和聚氧化乙烯标样
- 不同的高聚物由于分子链形态不同，致使它们相同分子量的级分淋洗体积相差很大。因此依靠某种聚合物标样标定的方程来确定其他高聚物色谱图的分子量会导致严重误差
- 按照Einstein粘度定律， $[\eta]M\eta$ 可视为高分子的流体力学体积。大量实验证明，各种不同的高聚物通过同一根色谱柱所得的 $[\eta]M\eta$ 与保留体积 $V_R$ 的关系几乎在同一直线上，因此 $[\eta]M\eta$ 可以作为GPC的一个普适标定参数，即如果两种单分散高聚物的流出体积相同，表明它们在溶液中具有相同的流体力学体积，即 $[\eta]_1M\eta_1=[\eta]_2M\eta_2$

$$[\eta]_1 = K_1 M_1^{\alpha_1} \quad [\eta]_2 = K_2 M_2^{\alpha_2}$$

$$\lg M_1 = A - B V_e$$

普适校正方程

$$\lg M_2 = [1/(1+\alpha_2)] \lg(K_1/K_2) + [(1+\alpha_1)/(1+\alpha_2)](A - B V_e)$$



通过普适校正将GPC谱图的 $V_e$ 换算为对应的分子量 $M_i$ ，然后由计算机处理可得到较可靠的 $M_w$ 、 $M_n$ 及 $d$ 值。但是，应当指出并不是所有高聚物都符合普适校正。

# 加宽效应的修正

- 高分子溶液流经GPC仪的接头、检测池时易产生脉冲扩展而形成较宽的峰，同时填料颗粒的大小、形状以及填充不均匀也会引起高分子扩散而导致谱峰加宽，即加宽效应。
- GPC谱峰变宽必将引起d值偏大，即 $M_w$ 偏高而 $M_n$ 偏低，因此在计算中必须进行修正。首先用光散射和膜渗透压法分别测定几个高聚物试样的 $M_w$ 和 $M_n$ 作为真实值，然后用GPC法测出它们的 $M_{w, GPC}$ 和 $M_{n, GPC}$ 值
- 校正因子 $G = [(M_{w, GPC}/M_{n, GPC}) / (M_w/M_n)_{true}]^{1/2}$
- 校正后的 $M_n = M_{n, GPC} \times G$      $M_w = M_{w, GPC} / G$
- G值一般为1.1~1.8，经校正后的d值明显变小。

# 非尺寸排除效应

近年来发现有些水溶性高聚物尤其是聚电解质在水相GPC分离过程中存在某些与体积排除(尺寸排除)无关的作用, 并对分析结果产生影响。它包括以下几种因素:

- ①色谱柱填料的极性基团产生弱阳离子交换作用, 致使高分子尺寸变化以及吸附加剧
- ②填料与带相同电荷的聚电解质之间的静电排斥作用, 引起高分子被过早淋洗出来;
- ③色谱柱固定相因Donnan平衡而使包含的较低分子量聚电解质滞留时间增加, 导致主峰后出现低分子量次峰
- ④流动相离子浓度过高使高分子链收缩产生疏水作用使峰形歧化或出现鬼峰
- ⑤填料和聚电解质之间的氢键、疏水作用及离子交换等引起大分子吸附而使保留时间增长或出现拖尾现象

- **解决上述问题的主要途径**
- 适当提高淋洗液的离子强度
- 调节流动相的pH值使填料和高聚物的极性基团处于电中性状态
- 加入添加剂改善大分子与固定相的相互作用以及固定相的表面性质，例如：为防止聚乙烯醇在柱中的吸附可加入氢氧化四甲基季胺盐、甲醇、乙二醇或聚氧化乙烯等；对蛋白质类试样可加入0.5%十二烷基硫酸钠或6M脲溶液，也可对硅胶表面进行化学修饰等

# GPC-LS联用

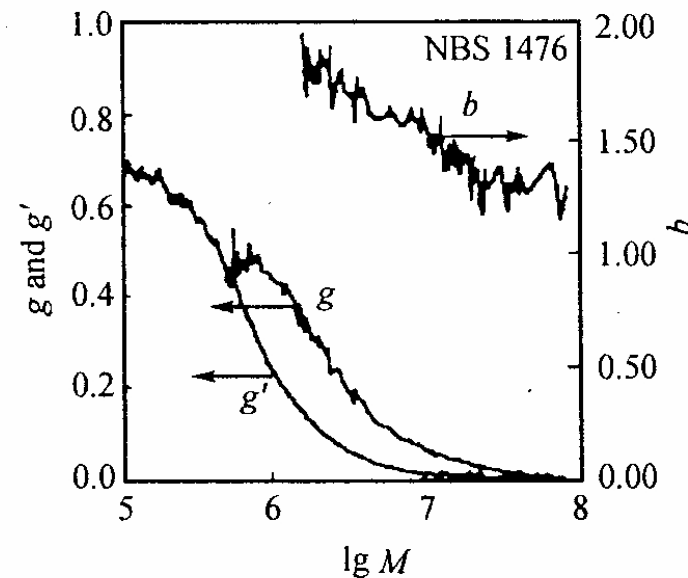
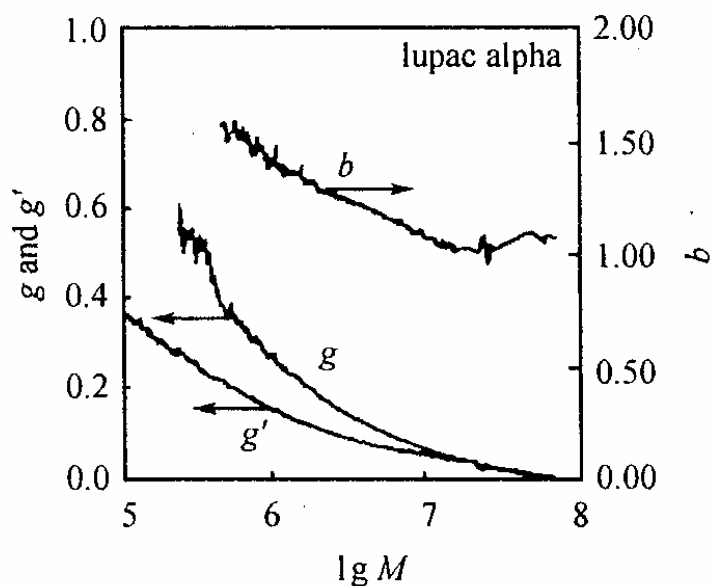
- 尺寸排除色谱属于分子量测量的相对方法，但是GPC仪与光散射装置联用(GPC-LS)则变为绝对方法，可直接测定分子量及其分布以及均方旋转半径 $\langle s^2 \rangle$ ，而不需要借助标样作标定曲线或普适校正
- 其主要原理如下：由示差折光和光散射两个检测器同时检测高聚物所有淋洗出的级分。由于注射到GPC柱的高聚物溶液浓度较低，并且通过色谱柱时又进一步稀释使其浓度更低，可视作 $c \rightarrow 0$ ，这样就可用光散射检测得到的数据

- 十分简便，不必作繁琐的校正
- 采用GPC-LS联用装置不仅能得到高聚物的分子量( $M_w$ 和 $M_n$ )及其分布，而且还能取得 $\langle s^2 \rangle$ 分布的谱图和数据
- 由GPC柱淋出的分布曲线上每个点都可视为单分散的级分。因此用谱图上无数个级分的 $M_{w,i}$ 和 $\langle s^2 \rangle_i$ 数据，由 $\langle s^2 \rangle^{1/2} = KM_w^\alpha$ 关系式的指数 $\alpha$ ，由此推测高分子链的构象，也可按照高分子溶液理论计算各种分子参数而确定链构象
- 采用这种联用装置从一个高聚物试样就可以得到分子量和均方旋转半径及其分布以及链构象的大量信息，因此它的应用已愈来愈广泛。

## 应用 1：表征聚合物分子量和支链结构

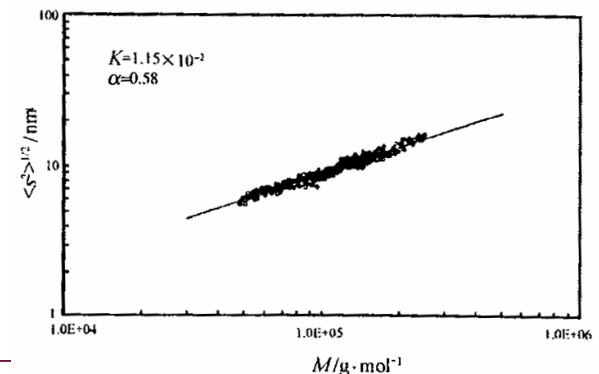
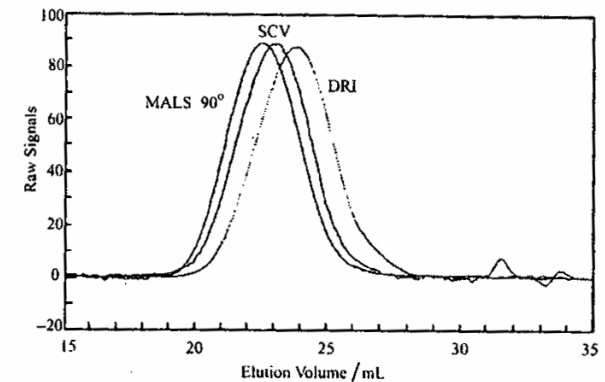
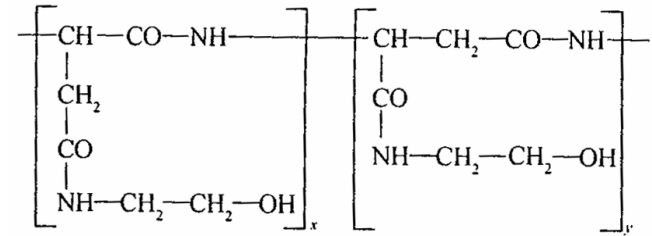
- 用不同的聚合工艺条件生产的高聚物产品的分子量及其分布、支化结构和结晶度是不相同的，它们直接影响材料的加工和使用性能。因此工业上普遍采用GPC分析和监控聚合反应过程、加工过程和产品质量
- 高聚物的支化分为短链支化和长链支化。一般带支链的高聚物比相同分子量的线型高分子具有较小的分子体积，即较大的GPC保留体积值。为此常用分子的体积(或分子尺寸)衡量支化程度，支化因子G(或 $g'$ )表示： $G=g^b=[\eta]_b/[\eta]_l$ ， $g=\langle s^2 \rangle_b/\langle s^2 \rangle_l$

- $b$ 是一个重要的常数，它与支链的形状、长短以及高聚物分子量有关，而且影响高聚物流变行为。 $b$ 值的变化可衡量两个支链点之间长度与支链长度之比的变化，该比值从零增到很大时， $b$ 从0.5变到2.0。一般高度支化的短支链高聚物的 $b$ 为2，而星型和无规支化高聚物的 $b$ 约为0.5。
- 低密度聚乙烯(LDPE)由于分子内和分子间链转移反应而存在短支链和长支链结构，而且长支链又分为梳形和无规支化。不同的LDPE产品具有不同 $b$ 值
- 图为由GPC-LS测定两种LDPE的结果。表明这种高压LDPE产品(lupac  $\alpha$ )的 $b$ 值低于管型(高温条件)产品(NBS 1476)，说明后者支链较短。同时，它们的支化因子和 $b$ 值均随分子量的增加而减小。



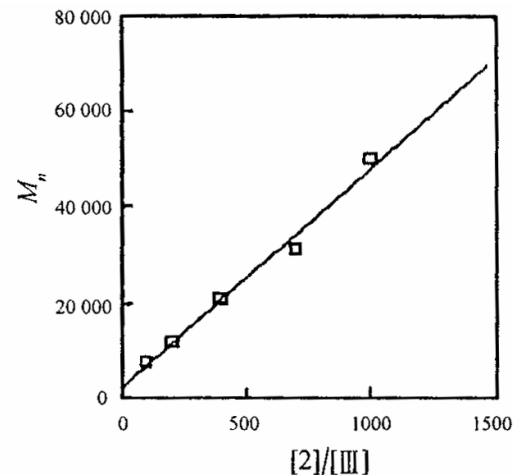
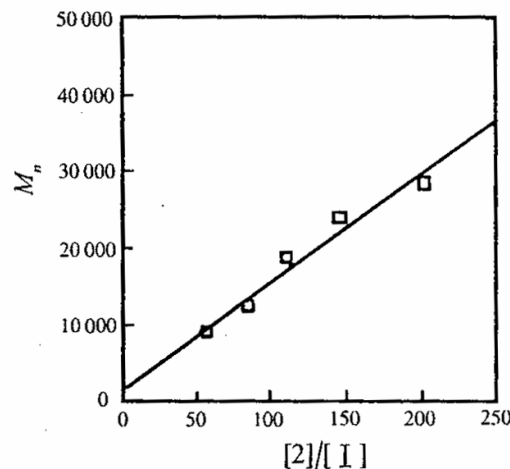
## 应用 2：测定聚合物溶液的分子参数

- 具有智能释放、缓释、靶向传递及探针功能的生物高分子材料不论在学术或应用上都很有价值。高聚物材料用于药物控制释放体系的成功与否很大程度上取决于大分子的分子量及其分布、分子尺寸和构象以及高分子与介质的亲和力等
- 聚 $\alpha,\beta$ -(N-羧乙基)-DL-天冬酰胺(PHEA)是一种新的合成高分子，毒性小，具有抗原性和免疫原性，因而不仅用于生物领域，而且也是一种有前途的药物载体。
- 采用多角度光散射仪(MALS)和配置毛细管粘度计(SCV)的GPC-LS联用装置研究了PHEA试样在0.2M NaCl/0.1M Tris水溶液中的分子量及其分布和分子参数，得出 $M_w$ ， $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ 和第二维利系数 $A_2$ 分别为 $5.35 \times 10^4$ ，8.3 nm和 $2.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-2}$
- $\langle s^2 \rangle^{1/2} = 1.15 \times 10^{-2} M_w^{0.58}$
- $[\eta] = 1.76 \times 10^{-4} M_w^{0.67}$
- $\alpha$ 值表明：典型无规线团高分子在良溶剂中的特征，由此表明PHEA在水溶液中为柔顺链高分子

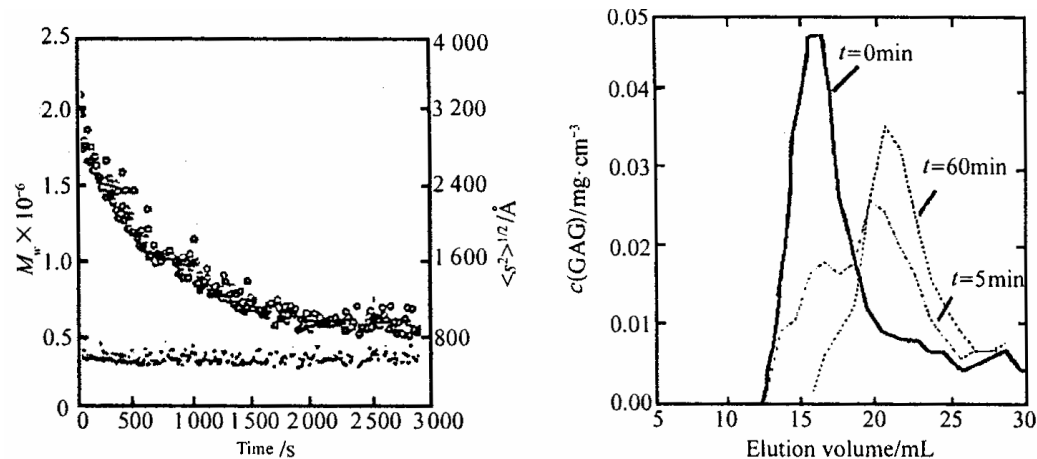


## 应用 3：研究聚合反应和降解过程

- 近年使用钛复合物为引发剂，通过活性聚合路线合成具有高分子量以及有序螺旋链和伸展链构象的高聚物研究很引人注目。因为这类高聚物表现出高模量、高强度和液晶性质，因而很有应用前景
- 针对钛复合物对高湿、氧或水敏感的弱点，改用铜I和II复合物为引发剂通过活性聚合制备聚碳二亚胺，它是一种具有螺旋链构象的新高聚物材料
- 为了弄清整个过程是否为活性聚合，即不存在链转移，用GPC-LS联用研究了碳二亚胺聚合反应动力学
- 产物的数均分子量 $M_n$ 随单体(2)和脒盐引发剂I和III的浓度比,不论是引发剂I或III，也不论是否有氧存在， $M_n$ 对 $[2]/[I]$ 或 $[2]/[III]$ 作图均为一直线。聚合反应过程中聚碳二亚胺的 $M_n$ 随单体浓度增加而呈直线增大，由此证明这里未发生链转移，确实是活性聚合。

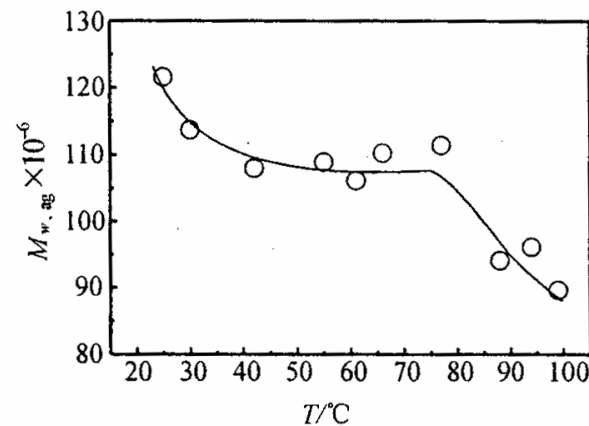
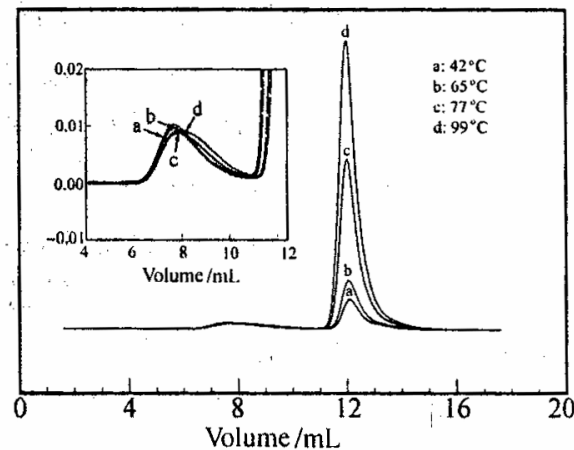


- 研究一种从牛嗅觉软骨中提取的蛋白聚糖(PGM)的降解过程。其由线型蛋白质( $M_w=4\times 10^5$ )作为主链，葡萄糖胺聚糖硫酸酯(GAGs,  $M_w=1\sim 50\times 10^3$ )为侧链并通过化学键组成。用GPC与光散射、示差折光指数仪以及二甲基亚甲基蓝(DMMB)试验法联用
- 在NaOH水溶液中降解，PGM的 $M_w$ 值由初始的 $2\times 10^6$ 到 $5\times 10^5$ ，然后基本维持稳定。而产物的旋转半径即分子体积在整个降解过程几乎不变。由此表明蛋白质主链的尺寸(或主链分子量)及其柔顺性并未发生变化，而仅仅是GAGs侧链被切掉引起 $M_w$ 降低。这主要是因为分子体积由主链的分子量和柔顺性决定，而对支链变化并不敏感
- 用DMMB检测降解产物中GAGs所得的GPC谱图。可以清楚看到水解前GAGs与蛋白质结合为复合物，并形成一个较高分子量的峰。然而水解5min后谱图上出现双峰，第二个峰代表切下的GAGs侧链。当水解60min后则GPC谱图上只显示一个GAGs侧链分子的峰，表明GAGs侧链全部从蛋白质分子上剥离下来，剩下的蛋白质分子核因为不含GAGs而不能由DMMB试验检测出
- 通过GPC联用技术有力地证明了这种蛋白复合聚糖在NaOH水溶液中易发生水解，其降解过程是葡萄糖胺聚糖硫酸酯支链被切断，并与蛋白质主链剥离



## 应用 4: 研究聚集体形成和解缔合

- GPC-LS联用研究了一种用作食品增稠剂和稳定剂的气单胞菌酸性杂多糖(A-gum)在0.5M NaCl水溶液中的聚集行为
- 该多糖的GPC谱为双峰，内插图放大淋洗体积在约8mL处的多糖聚集体峰，而在约12.3mL处的峰代表多糖的单链分子，随溶液的温度升高(从42°C到99°C)，该峰面积明显增大。由此表明，它在水溶液中形成无规聚集体和单链并存，加热可以使它解缔合
- 随着温度增加， $M_{w,ag}$ 和 $\langle s^2 \rangle_{ag}^{1/2}$ 值(未示出图)明显降低，而且在35°C和75°C附近出现转折，表明发生了与分子质量和体积有关的显著变化



## 应用 5: 分子量分布对材料性能和加工的影响

- 酚酞型聚苯撑醚酮(PEK-C)和聚苯撑醚砜(PES-C)都是很有价值的材料，它们具有优良的力学性能、耐热性、环境稳定性以及玻璃化转变温度较高等特点。但是较高的转化温度和融体粘度限制了它们在纤维成型及微量级制造中的应用
- 通过环状齐聚物进行开环聚合制备出上述聚合物PEK-C和PES-C，并且检测出它们的粘度低于商业产品的粘度。
- GPC谱图显示两个峰即新合成的聚合物和未反应的环状物。由此得出PEK-C和PES-C的 $M_w$ 和 $M_n$ 值分别为 $5.23 \times 10^4$ ， $1.72 \times 10^4$ 和 $5.91 \times 10^4$ ， $2.01 \times 10^4$ ，而且各含环状齐聚物10.5%和18.6%。由此得出这两个新聚合物粘度降低的主要原因是产物中存在环状齐聚物，并且可能还有线性齐聚物。

