

聚丙烯酸的凝胶渗透色谱分离及相对分子质量测定

杜小弟, 张安富, 雷家珩, 巫辉

(武汉理工大学 理学院 化学系, 湖北 武汉 430070)

摘要: 采用 Sepax Nanofilm SEC-150 色谱柱和自制窄分布聚丙烯酸标样, 考察了不同无机盐及其离子强度、酸度等对不同相对分子质量的聚丙烯酸分离效果的影响。在此基础上确定了凝胶渗透色谱分离聚丙烯酸的最佳条件: 以磷酸盐缓冲液 (离子强度 0.10 mol/L, pH = 6.9) 为流动相, 流速 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 试样的质量浓度为 0.5~2.0 g/L, 进样量 50 μL。在优化实验条件下, 可按分子大小实现对聚丙烯酸的分离。通过渐近校正法对自制聚丙烯酸标样的峰值相对分子质量定值, 并对待测聚丙烯酸样品的相对分子质量及其分布进行测定。

关键词: 聚丙烯酸; 相对分子质量; 凝胶渗透色谱; 非体积排除效应

中图分类号: O657.7; TQ325.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2011)02-0167-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2011.02.009

Separation of Polyacrylic Acid and Determination of Its Relative Molecular Mass by Gel Permeation Chromatography

DU Xiao-di, ZHANG An-fu, LEI Jia-heng, WU Hui

(Department of Chemistry, College of Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Abstract Using Sepax Nanofilm SEC-150 chromatographic column and selfmade narrow distribution polyacrylic acid (PAA) standard sample, effects of different inorganic salts and their ionic strength as well as pH value on the separation of PAA were investigated. The results indicated that the different relative molecular masses of PAA with mass concentration of 0.5~2.0 g/L could be separated by using ionic strength of 0.10 mol/L and pH 6.9 phosphorous buffer as mobile phase, with a flow rate of 1.0 mL/min, column temperature of 25 °C and sample volume of 50 μL. Under the optimal chromatographic conditions, the relative molecular mass and its distribution of PAA sample were measured accurately by the asymptotic calibration method, and the difference between result of viscometric and GPC methods was less than 10%.

Key words polyacrylic acid; molecular weight; gel permeation chromatography (GPC); non-size exclusion effect

聚丙烯酸 (PAA) 及其钠盐 (PAA-Na) 在工业生产和科学研究中有广泛的应用。研究表明, 聚丙烯酸的相对分子质量及其分布对其性能有显著影响^[1-4]。通过光散射法、粘度法等传统方法一般只能测定 PAA 的平均相对分子质量, 难以得到相对分子质量分布的详细信息。凝胶渗透色谱 (GPC) 在测定 PAA 和丙烯酸共聚物相对分子质量及其分布方面已有应用^[3-8]。由于获取 PAA 标样较为困难, 测定中常以聚乙二醇 (PEG) 标样作为替代品^[4-5,7]。但 PAA 是一种聚电解质, 分子中的带电基团与 GPC 固定相之间存在一定的静电作用, 从而导致非体积排除效应^[5-6,9], 因此其 GPC 行为与 PEG 有较大差异。为屏蔽 PAA 分子与固定相之间的静电作用, 有学者^[5-6]提出向流动相中添加小分子强电解质的方法。但对不同的电解质种类、浓度和酸度条件下分离效果的研究尚不全面。另外, 由于 PEG 与 PAA 在分子形态、电荷分布、双电层结构等方面有较大差异, 即使在消除非体积排除效应的情况下, 也难以通过 PEG 标样准确测定 PAA 的相对分子质量^[9]。

为实现 PAA 相对分子质量的准确测定, 本文通过沉淀分级制备了不同相对分子质量的窄分布 PAA 标样, 考察了不同无机盐及其离子强度、酸度以及试样浓度等对 GPC 分离效果的影响, 确定了最佳色

收稿日期: 2010-08-10 修回日期: 2010-11-02

基金项目: 交通部西部交通建设科技项目 (2007319811130)

通讯作者: 雷家珩, Tel: 027-87756662, E-mail: yhx2000@263.net

谱条件, 并在此基础上通过渐近校正法对标样的峰值相对分子质量定值, 从而实现了对 PAA 样品相对分子质量及其分布的准确测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

色谱分析使用安捷伦 1100 色谱系统, 配柱温箱和折光指数检测器 (RID), 色谱柱为 Sepax Nano film SEC-150 (7.8 mm × 300 mm, 5 μm)。乌氏毛细管粘度计, 内径为 0.6 mm, 粘度计常数为 0.006 861 mm² · S²。

实验所用试剂均为分析纯, 色谱用水为二次蒸馏水, 丙烯酸使用前经减压蒸馏提纯。PAA 标样和待测 PAA 试样均为自制。

1.2 实验方法

待测 PAA 试样的制备: 以异丙醇为链转移剂, 过硫酸钾为引发剂进行自由基聚合制备 PAA。通过改变聚合温度和引发剂用量得到 7 种不同相对分子质量的聚合物。

PAA 标样的制备: 按文献 [10] 所述方法, 以 0.4 mol/L 的 NaOH 水溶液为良溶剂, 0.4 mol/L 的 NaOH 甲醇溶液为沉淀剂, 对 PAA 试样进行沉淀分级。将 PAA 用良溶剂配成 1% (质量分数) 的溶液, 在 (25.0 ± 0.1) °C 条件下逐渐加入适量沉淀剂, 使相对分子质量较大的 PAA 先沉淀出来, 静置 24 h 后倾出上层母液, 沉淀用甲醇洗涤后真空干燥, 得到相对分子质量较大的 PAA 标样。对母液重复上述操作, 共得到 6 个不同相对分子质量的窄分布 PAA 标样。

特性粘数测定: 将样品用 0.10 mol/L 的 NaBr 溶液溶解, 通过乌氏毛细管粘度计测定其特性粘数 η, 测定温度为 (15.0 ± 0.1) °C, 按浓度稀释外推法处理数据。

1.3 凝胶渗透色谱分析

试样经中和后用流动相配成 1.0 g/L 的溶液, 通过 0.45 μm 滤膜过滤后进行色谱分析, 进样量 50 μL。流动相为 0.025 mol/L KH₂PO₄ - 0.025 mol/L Na₂HPO₄ 混合溶液 (pH 6.9, 离子强度 I = 0.10 mol/L)。流速 1.0 mL/min, 柱温 25 °C。

通过 PEG 标样测得所用色谱系统的排斥极限为 5.05 mL, 渗透极限为 9.60 mL。以甲醇测得柱效为 2.1 × 10⁴ 塔板 /m, 因此 GPC 色谱峰扩展可不考虑。

2 结果与讨论

2.1 流动相离子强度的影响

水相 GPC 分析所用的固定相主要有以多孔硅胶为代表的刚性凝胶和以交联葡聚糖为代表的有机软胶两大类^[10]。多孔硅胶固定相由于品种丰富、柱效高, 广泛应用于水溶性聚合物的分离^[11]。本研究所用 Sepax Nano film GPC 柱的固定相为改性多孔硅胶, 表面经钝化处理以减少与试样间的强相互作用。但由于硅胶表面的残余羟基无法完全消除, 因此本文通过向流动相中添加无机强电解质屏蔽其影响^[5-6]。

本文选用的无机强电解质为 KH₂PO₄ - Na₂HPO₄ 缓冲体系, 其优点是可在调节离子强度的同时控制体系的酸度, 有利于控制 PAA 的电离平衡。考察了不同离子强度的磷酸盐缓冲溶液为流动相时 PAA 标样的分离结果 (见图 1)。由图 1 可见, 以纯水为流动相时, 不同相对分子质量的 PAA 标样的淋洗体积均与排斥极限接近, 不能实现分离。这是由于硅胶固定相表面的硅羟基残留难以完全消除, 因此仍带有少量负电荷, 对 PAA 分子中离解的羧基有一定的排斥作用。当在流动相中加入 KH₂PO₄ - Na₂HPO₄ 缓冲盐后, 固定相对 PAA 分子的排斥作用明显减弱。当离子强度为 0.02 mol/L 时, 不同相对分子质量的标样能部分分离; 当离子强度达 0.05 mol/L 时, 各标样的淋洗体积 V_e 存在明显差

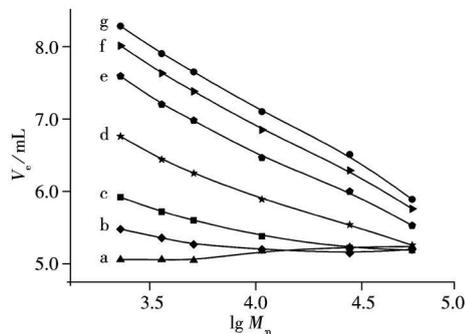


图 1 流动相离子强度对 PAA 分离效果的影响
Fig 1 Effect of ionic strength of mobile phase on PAA separation

phosphate buffer as mobile phase pH = 6.9 ionic strength (a - g): 0.00 0.01, 0.02 0.05, 0.10 0.20, 0.40 mol/L, respectively

别, V_e 与 $\lg M_n$ 之间具有一定的线性关系, 说明 PAA 与固定相之间的静电斥力已较弱; 当离子强度为 0.10 mol/L 时, 各标样淋洗体积 V_e 之差达到最大, 且 V_e 与 $\lg M_n$ 之间有良好的线性关系。此时 PAA 与固定相之间的相互作用以体积排除效应为主, 静电斥力的影响基本消除。当 $I > 0.10$ mol/L 时, 随着离子强度的继续增大, 各标样的淋洗体积进一步增大, 但分离度无明显变化。这可能是因为磷酸盐浓度较高时对 PAA 分子有一定的盐析作用, 从而降低了其水化程度, 使其分子体积减小。因此, 本文选择离子强度为 0.10 mol/L 的流动相以消除 PAA 分子与固定相之间的静电作用。

以磷酸盐、 NaNO_3 、 KCl 、 NaBr 4 种不同无机盐溶液分别作为流动相时 ($I = 0.10$ mol/L), PAA 标样的分离效果见图 2。结果表明, 当离子强度一定时, 上述各种流动相对 PAA 的分离效果相近, $\lg M_n$ 与 V_e 之间均有较好的线性关系。但由于磷酸盐具有控制体系 pH 的作用, 因此本文选用磷酸盐缓冲溶液作为最佳流动相。

2.2 流动相酸度的影响

PAA 是弱酸 ($\text{p}K_a = 4.9$), 其与固定相之间的相互作用将随着流动相 pH 的变化而显著改变。以不同 pH 值的磷酸盐缓冲液 ($I = 0.10$ mol/L) 为流动相时, PAA 标样 (标样 3) 的色谱图见图 3。由图可知, 当 $\text{pH} \leq 4.0$ 时, 标样不出峰; 当 $\text{pH} \leq 4.8$ 时, PAA 标样的色谱响应信号明显减小, 且峰形出现拖尾现象, 这是由于此时 PAA 主要以中性分子的形式存在, 其羟基与固定相表面残余的硅羟基有明显的氢键作用, 从而导致固定相对 PAA 分子有较强的吸附, 而不能从色谱柱中淋洗出来。当 $\text{pH} \geq 5.8$ 时, PAA 主要以阴离子形式存在, 体系中添加的无机盐可有效地屏蔽固定相与 PAA 阴离子间的强相互作用。因此, 当 $\text{pH} \geq 5.8$ 时, 色谱峰的强度基本不变, 且不同相对分子质量的标样能有效分离, V_e 与 $\lg M$ 之间相关性较好。

当 $\text{pH} > 4.8$ 时, 随着流动相 pH 值的提高, PAA 标样的淋洗体积逐渐减小 (见图 3)。其原因是电离度增大时, PAA 分子内电离羧基间的排斥作用增强, 从而导致 PAA 分子处于伸展状态, 有效体积变大^[8]。当 $\text{pH} = 6.8$ 时, PAA 的电离度已达 99%, 此时再提高流动相 pH 值对 PAA 分子体积的影响不明显, 各标样的淋洗体积基本不再变化。由于硅胶基质的固定相在碱性条件下稳定性差, 流动相 $\text{pH} < 7.5$ 较为合适。综合考虑, 选择流动相的最佳 pH 值为 6.9。

2.3 样品浓度的影响

在 GPC 分离中, 待测物质的分子在固定相中迅速达到扩散平衡是实现按分子尺寸大小进行分离的基础^[12]。但高分子溶液的粘度较大, 对分子扩散有一定的阻碍作用, 浓度较大时尤为显著。实验表明, 当试样的质量浓度为 0.5~2.0 g/L 时, 淋洗体积和峰形基本不变。当试样质量浓度增加至 5.0 g/L 以上时, 其淋洗体积有所增加, 色谱峰变宽。因此试样质量浓度宜选用 0.5~2.0 g/L。

2.4 PPA 标样相对分子质量的测定

对于自制的 PAA 标样, 按文献 [13] 根据其特性粘数计算粘均相对分子质量 (M_n), 结果见表 1。

按“1.3”的最佳条件对所得 PAA 标样进行 GPC 分

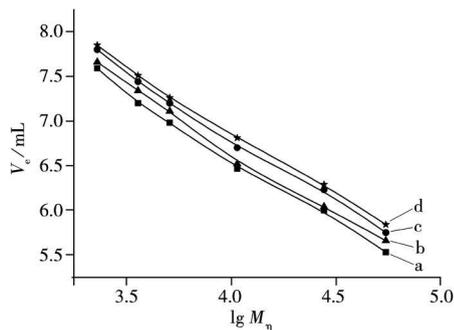


图 2 流动相添加不同电解质对 PAA 分离效果的影响

Fig. 2 Effects of electrolytes added to mobile phase on PAA separation
 $I = 0.10$ mol/L; electrolytes a phosphate buffer ($\text{pH} = 6.9$), b NaNO_3 , c KCl d NaBr

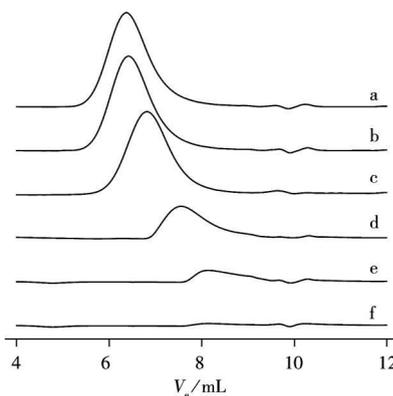


图 3 流动相酸度对 PAA 标样色谱行为的影响

Fig. 3 Effects of acid values of mobile phase on chromatography behavior of PAA standard sample phosphate buffer as mobile phase; $I = 0.10$ mol/L; pH values (a-f): 7.8, 6.8, 5.8, 4.8, 4.3, 4.0

表 1 PAA 标样的粘均相对分子质量和峰值相对分子质量

Table 1 Viscosity average molecular weight (M_n) and molecular weight peak (M_p) of PAA standard samples

Standard sample	1	2	3	4	5	6
$M_p / 10^3$	57.6	26.9	12.6	5.7	4.0	2.1
$M_n / 10^3$	44.8	27.8	10.7	5.1	3.6	2.2

析, 结果见图 4。根据图 4 中的数据, 并以粘均相对分子质量为基础, 通过渐近校正法^[14-15]处理数据, 得到相对分子质量校准方程为: $\lg M = 8.795 - 0.697 V_e$ 。

根据上述校准方程和图 4 中峰值对应的淋洗体积 V_e 可计算出各 PAA 标样的峰值相对分子质量 M_p , 结果见表 1。

2.5 PAA 试样相对分子质量的测定及准确度

在优化实验条件下, 以标样的峰值相对分子质量 M_p 与淋洗体积 V_e 建立校正曲线, 两者在色谱柱有效分离范围内 (相对分子质量为 $2 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$) 具有良好的线性关系, 相对分子质量校准方程的相关系数 $r^2 > 0.999$ 。根据该校正方程, 在相同条件下测定了 7 个自制 PAA 试样。试样的数均相对分子质量 M_n 、重均相对分子质量 M_w 和粘均相对分子质量 M_η 分别按其定义计算, 计算公式如下:

$$M_n = \sum W_i / \sum (W_i M_i)$$

$$M_w = \sum (W_i \cdot M_i) / \sum W_i$$

$$M_\eta = (\sum (W_i \cdot M_i^\alpha) / \sum W_i)^{1/\alpha}$$

上述各式中, W_i 由 GPC 图中获得, M_i 由 GPC 图并结合“2.4”所得的相对分子质量校准方程计算得到。参照文献 [10], 取 $\alpha = 0.755$, 试样相对分子质量的计算结果见表 2。

通过粘度法对 GPC 法的测定结果进行检验 (表 2), 结果表明, GPC 法所得结果与粘度法较为接近, 二者之间的差异小于 10%。根据统计检验, 在 95% 的置信水平下, $M_{\eta, GPC}$ 与 M_η 之间不存在系统误差, 表明本文的测定方法准确可靠。

表 2 PAA 试样的重均相对分子质量、粘均相对分子质量和相对分子质量分布系数
Table 2 Weight average molecular weight (M_w), viscosity average molecular weight (M_η) and molecular weight distribution (M_w/M_n) of PAA standard samples

Sample	$M_w / 10^3$	M_w/M_n	$M_\eta / 10^3$ (Viscosity method)	$M_{\eta, GPC} / 10^3$ (GPC)	Difference between viscosity method and GPC /%
1	32.6	4.41	28.6	29.4	2.8
2	18.0	4.51	16.3	15.9	-2.5
3	15.3	4.50	13.8	13.4	-2.9
4	10.0	4.24	8.21	8.81	7.3
5	3.43	3.37	3.32	3.00	-9.6
6	3.07	2.96	2.58	2.80	8.5
7	5.14	4.68	3.87	4.15	7.2

3 结 论

本文得到了 Sepax Nanofilm SEC-150 凝胶色谱柱分离测定 PAA 的最佳色谱分离条件: 以磷酸盐缓冲液 (离子强度 0.10 mol/L, pH = 6.9) 为流动相, 流速 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 试样质量浓度 0.5~2.0 g/L, 进样量 50 μ L。在此条件下通过粘度法和渐近校正法可对 PAA 标样准确定值, 并可实现待测 PAA 试样的相对分子质量及其分布的准确测定。

参考文献:

[1] BOISVERT J.P, PERSELLO J, FOISSY A, CASTANG J.C, CABANE B. Effect of surface charge on the adsorption mode of sodium poly(acrylate) on aluminum-coated TiO₂ used as coating pigment [J]. Colloids Surf A, 2000, 168(3): 287-296

[2] 卢维奇, 杨建红. 自制聚丙烯酸钠用作陶瓷助磨减水剂和增强剂 [J]. 精细化工, 2006, 23(3): 294-297.

[3] LOY J.E, GUO J, SEVERTSON S. Role of adsorption fractionation in determining the CaCO₃ scale inhibition performance of polydisperse sodium polyacrylate [J]. J Ind Eng Chem Res, 2004, 43(8): 1882-1887

[4] 吴伟, 张凌云, 阎虎生. 窄相对分子质量分布的聚丙烯酸的合成及其阻垢性能 [J]. 应用化学, 2007, 24(9): 1050-1053.

(下转第 175 页)

- [5] 孙天云. 丙酮吸入急性中毒致两下肢瘫痪一例报告 [J]. 中国综合临床, 1982, 4(5): 64.
- [6] KUKONGVIRIYAPAN V, KUKONGVIRIYAPAN U, STACEY N H. Interference with hepatocellular substrate uptake by 1, 1, 1-trichloroethane and tetrachloroethylene [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1990, 102(1): 80-90.
- [7] 许正锯, 张启华, 杨红. 1, 1, 1-三氯乙烷致急性中毒性肝炎 19 例 [J]. 中华肝病杂志, 2003, 11(9): 557.
- [8] 吴从容. 急性丙酮中毒两例报告 [J]. 中国工业医学杂志, 1995, 8(4): 248.
- [9] 陈芸, 杨海英. 纺织品有机挥发物的测定 [J]. 印染, 2005, 31(12): 33-37.
- [10] 招云芳, 陆舍铭, 曲国福, 刘春波, 孟昭宇, 倪朝敏, 曹秋娥, 缪明明. HS/GC - MS 法对卷烟包装材料中挥发性有机化合物的检测 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(8): 954-957.
- [11] 许瑛华, 朱炳辉, 钟秀华, 李少霞. 顶空气相色谱法测定化妆品中 15 种挥发性有机溶剂残留 [J]. 色谱, 2010, 28(1): 73-77.
- [12] 李宁, 刘杰民, 温美娟, 江桂斌, 程慧琼. 吹扫捕集 - 气相色谱联用技术在挥发性有机化合物测定中的应用 [J]. 色谱, 2003, 21(4): 343-346.
- [13] 丁翔, 王新明, 粟娟, 盛国英, 傅家谟. 吹扫捕集 - 质谱法测定植物叶片中的单萜烯类化合物 [J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 83-85.
- [14] 李勇, 杜鹃. 顶空固相微萃取气质联用对硒鼓中挥发性有机物的研究 [J]. 分析实验室, 2009, 28(B05): 272-274.
- [15] 李宁, 刘杰民, 温美娟, 梅一飞, 江桂斌. 顶空固相微萃取 - 气相色谱法测定环保水性涂料中的挥发性有机物 [J]. 分析实验室, 2005, 24(5): 24-28.
- [16] 李振国, 王志. 固相微萃取气相色谱 - 质谱法测定自来水中的挥发性卤代烃 [J]. 光谱实验室, 2009, 26(4): 870-871.
- [17] 谢国辉, 黄振辉, 黄海雄, 余淑婉. 室内装修材料有机挥发物测定及其微核试验观察 [J]. 华南预防医学, 2002, 28(4): 52-53.
- [18] 卢志刚, 蔡建和, 封亚辉, 朱海鸥. 纺织铺地物中挥发性有机物的测定 (一) [J]. 印染, 2009, 35(8): 39-43.
- [19] 沈宏林, 向能军, 高茜, 杨柳, 陆舍铭, 缪明明. 顶空液相微萃取 / 气相色谱 - 质谱对中药枳壳中有机挥发物的快速分析 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(2): 186-189.

(上接第 170 页)

- [5] KATO T, TOKUYA T, NOZAKI T, TAKAHASHI A. Molecular characterization of sodium poly(acrylate) by an aqueous g.p.c./LS method [J]. Polymer, 1984, 25(2): 218-224.
- [6] ADLER M, PASCH H, MEIER C, SENGEL R, KOBAN H, AUGENSTEIN M, REINHOLD G. Molecular mass characterization of hydrophilic copolymers. I. Size exclusion chromatography of neutral and anionic(meth)acrylate copolymers [J]. Polymers, 2004, 55: 1-16.
- [7] 沈晓亮, 马建中, 周建华, 廉晓敏. 基于 RAFT 过程的丙烯酸可控自由基聚合 [J]. 精细化工, 2009, 26(9): 904-910.
- [8] PLUCKTAVEESAK N, KONOPAJA J, COLBY R H. Viscosity of polyelectrolyte solutions with oppositely charged surfactant [J]. J Phys Chem: B, 2003, 107(32): 8166-8171.
- [9] 韩冬, 叶美玲, 施良和. 水溶性凝胶色谱中的非体积排除效应 [J]. 色谱, 1995, 13(6): 432-436.
- [10] WU C S. Column handbook for size exclusion chromatography [M]. San Diego: Academic Press, 1997: 75-157.
- [11] WU C S. Handbook of size exclusion chromatography [M]. New York: Marcel Dekker, NC, 1995: 249-380.
- [12] 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 472.
- [13] TAKAHASHI A, NAGASAWA M. Excluded volume of polyelectrolyte in salt solutions [J]. J Am Chem Soc, 1964, 86(4): 543-548.
- [14] 张寿春, 温月芳, 杨永岗, 郑经堂, 凌立成, 贺福. 凝胶渗透色谱法测定聚丙烯腈共聚物相对分子质量中宽分布校正法的应用 [J]. 理化检验: 化学分册, 2004, 40(9): 511-513.
- [15] 彭平. 陶瓷先驱体 - 含钛聚碳硅烷凝胶渗透色谱校准方程研究 [J]. 色谱, 1998, 16(5): 436-438.