

应用纪要

## 使用配备四元溶剂管理器和蒸发光散射检测器的超高效聚合物色谱对聚合物进行梯度洗脱色谱分析

---

Jennifer Gough, Will Martin, Neil J. Lander

Waters Corporation



---

## 摘要

配备QSM的APC专门针对高分子材料行业常用的强溶剂而设计。沃特世ACQUITY超高效聚合物色谱(APC)系统专为需要持续使用THF、氯仿和二甲基亚砷等强溶剂的分析而设计。通过在行业认可的APC系统中增加灵活的四元泵，使得聚合物分析可选的分析技术不再局限于HPLC一种。

## 优势

- p-QSM具有兼容强溶剂的天然优势。
- 可进行反相、正相和体积排阻分离，分析的灵活性极高。
- 低扩散性的APC系统配备了p-QSM，溶剂用量低于HPLC或GPC，因此更具可持续性。
- 配合亚3 μm BEH色谱柱技术可实现高分离度的分离

---

## 简介

图1是使用Alliance HPLC（高效液相色谱）系统运行聚合物梯度洗脱色谱分析(GPEC)得到的色谱图，运行时间为30 min。如果将此方法转换至超高效液相色谱(UPLC)系统，则运行时间可以大大缩短。然而，大多数UPLC系统都不兼容四氢呋喃(THF)等有机溶剂，系统的稳定性也不足以支持分析方法持续使用100%有机溶剂。

沃特世ACQUITY超高效聚合物色谱(APC)系统专为需要持续使用THF、氯仿和二甲基亚砷等强溶剂的分析而设计。APC系统最初是为改进采用等度泵的凝胶渗透色谱(GPC)分析而设计的。APC系统中增加了可以运行梯度洗脱的聚合物四元溶剂管理器(p-QSM)以及蒸发光散射检测器(ELSD)，在10 min内即可完成GPEC分析（图1）。

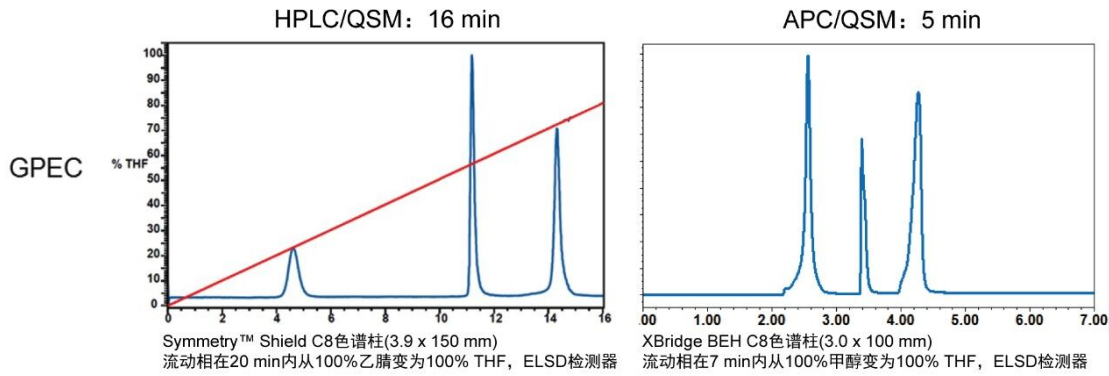


图1.HPLC与APC的GPEC分析时间比较

## 实验

系统:	配备p-QSM的APC
色谱柱:	XBridge BEH C8, XP, 2.5 $\mu$ m, 3.0 $\times$ 100 mm (部件号: 186006047)
流动相A/B:	甲醇
流动相C/D:	四氢呋喃
流速:	0.7 mL/min
柱温:	40 $^{\circ}$ C
进样体积:	1 $\mu$ L
样品浓度:	PMMA (1 mg/mL), PS (0.12 mg/mL), PBD (0.5 mg/mL)

梯度:

序号	时间	流速( mL/min)	%A	%B	%C	%D	曲线
1	初始	0.700	100.0	0.0	0.0	0.0	初始
2	1.00	0.700	60.0	0.0	40.0	0.0	11
3	2.00	0.700	35.0	0.0	65.0	0.0	11
4	3.00	0.700	15.0	0.0	85.0	0.0	11
5	4.00	0.700	15.0	0.0	85.0	0.0	11
6	5.00	0.700	0.0	0.0	100.0	0.0	6
7	6.00	0.700	100.0	0.0	0.0	0.0	6
8	7.00	0.700	100.0	0.0	0.0	0.0	11

为了让聚合物在色谱柱上沉淀，我们需要确定聚合物在梯度混合溶剂中的溶解度。文献认可的方法是使用非溶剂（不良溶剂）向浓度已知的聚合物溶液( $10^{-2}\sim 10^{-3}$  mg/mL)滴加。随着滴定的进行，聚合物溶液将变浑浊，这是因为聚合物发生了聚集和沉淀：非溶剂排斥聚合物，迫使聚合物分子聚集在一起。使用公式1计算不良溶剂的体积分数，其中 $\phi$  ( $\Phi$ )等于浊点(CP)除以100，也等于不良溶剂的体积( $V_{ns}$ )除以聚合物体积、良溶剂体积和不良溶剂体积的总和( $V_p+V_s+V_{ns}$ )。此法称为浊点测定法<sup>4,5</sup>。

$$\text{公式1. } \Phi = CP/100 = V_{ns}/(V_p+V_s+V_{ns})$$

如果无法通过优化线性梯度得到可重现的峰面积，则可能需要使用分级梯度。本实验使用GPEC方法分析三种聚合物：聚苯乙烯(PS)、聚丁二烯(PBD)和聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)（表1）。采用线性梯度时，PS和PMMA的峰面积重现性很差，PBD未洗脱出峰。

	1	2	3
样品	聚丁二烯(PB)	聚苯乙烯(PS)	聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)
摩尔质量 (g/mol)	120,000	200,000	200,000
色谱浊点 [甲醇(非溶剂)/THF]	30/70	46/54	65/35

表1.GPEC实验使用的聚合物

因此，我们采用分级梯度方法来控制聚合物在梯度中的不可溶区域的停留时间。不可溶区域(11)采用陡峭的梯度曲线，而可溶区域(6)则是一条相对平缓的曲线，如梯度表和色谱图（图2）所示。

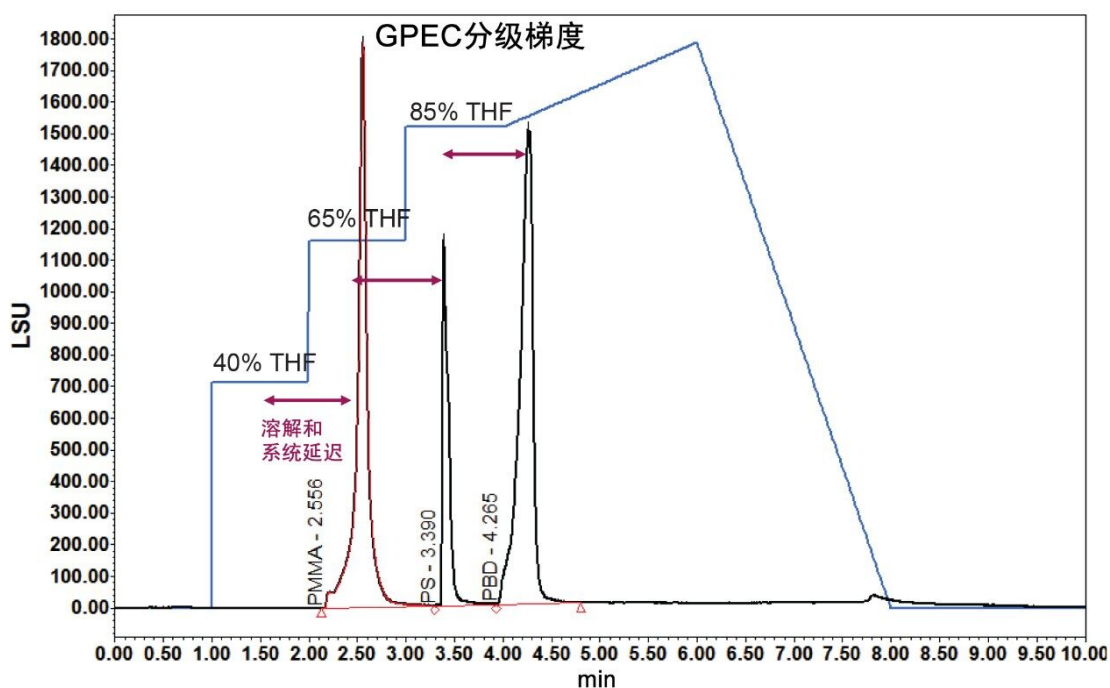
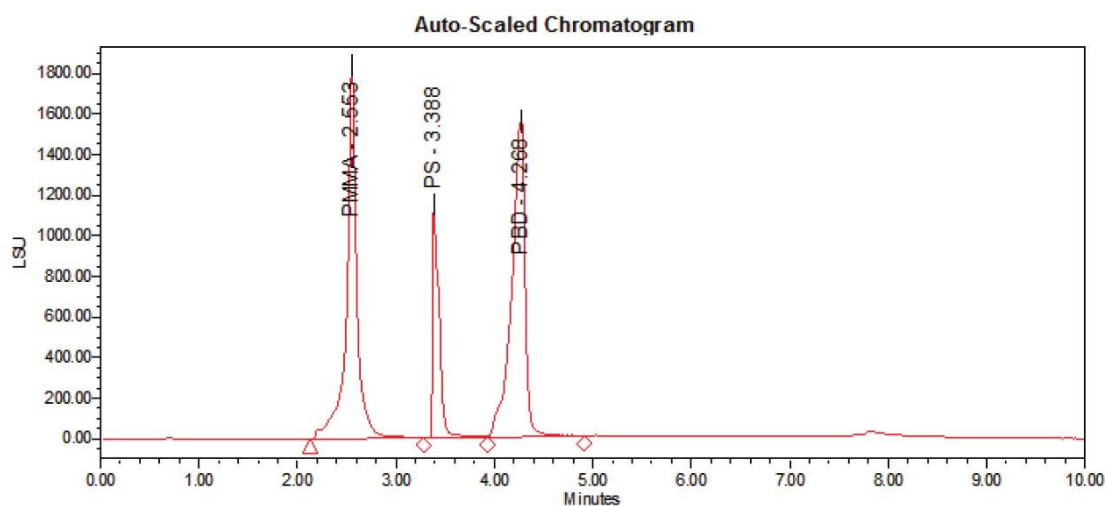


图2.Empower软件处理的PMMA、PS和PBD的GPEC分析结果叠加图

使用Empower 3 CDS的自定义计算和报告功能，无需将数据导出至单独的电子表格即可进行数据处理和报告。图3所示的报告中包含Empower计算出的峰面积比和梯度比。完整的GPEC项目和详细的GPEC指南可以通过沃特世网站和Empower Marketplace获取。

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Mix (1,012,05) PMMA,PS,PBD	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	GPEC Usability Sample Set
Vial:	1:A,4	Acq. Method Set:	40C MeOH 10min Step 1
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method	New GPEC Processing Method.
Injection Volume:	0.80 ul	Channel Name:	% A, % C, ELSD Signal
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	% A, % C, ELSD Signal
Date Acquired:	8/28/2019 10:05:33 AM EDT, 8/28/2019 10:16:04 AM EDT, 8/28/2019 10:26:36 AM		
Date Processed:	9/24/2019 2:24:31 PM EDT, 9/24/2019 2:24:32 PM EDT		



**% Area Summarized by Name**  
Channel: ELSD Signal

	SampleName	Inj	Channel	Vial	PMMA	PS	PBD
1	Mix(1,012,05) PMMA,PS,PBD	1	ELSD Signal	1:A,4	39.75	15.56	44.69
2	Mix(1,012,05) PMMA,PS,PBD	2	ELSD Signal	1:A,4	39.65	16.21	44.14
3	Mix(1,012,05) PMMA,PS,PBD	3	ELSD Signal	1:A,4	40.12	15.55	44.33
Mean					40	16	44
Std. Dev.					0	0	0
% RSD					0.6	2.4	0.6

Channel: % A

Channel	YValue_Pk1	YValue_Pk2	YValue_Pk3
1 % A	35.000	15.0	13.0

Channel: % C

Channel	YValue_Pk1	YValue_Pk2	YValue_Pk3
1 % C	65.000	85.0	87.0

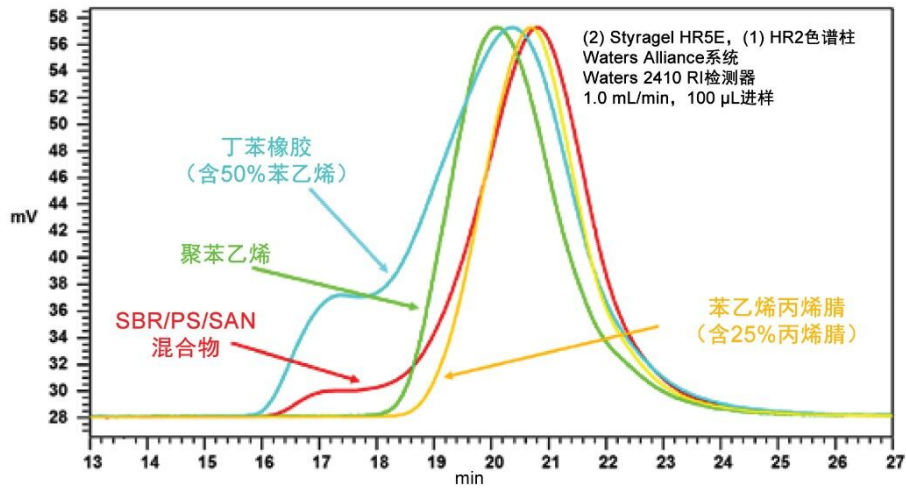
图3.执行三次独立进样并运行梯度自定义计算的GPEC分析的Empower报告

## 结果与讨论

GPEC分析与GPC分析不同。在图4的示例色谱图中，使用GPC进行分离时，三种化学性质不同的聚合物因具有相近的流体动力学体积而共流出。如果对这些聚合物进行反相色谱分离，它们在整个分离过程中会始终保持部分溶解的状态，因此无法实现基线分离：色谱峰部分重叠。GPEC方法有意让聚合物暂时沉淀在色谱柱或色谱柱筛板上，直至梯度中的良溶剂比达到聚合物的溶解点，将聚合物从色谱柱表面释放。不同于基于分子大小进行分离的GPC，GPEC基于聚合物的化学溶解性进行分离。GPEC是LC应用的一种，与GPC完全不同<sup>1</sup>。



GPC



GPEC

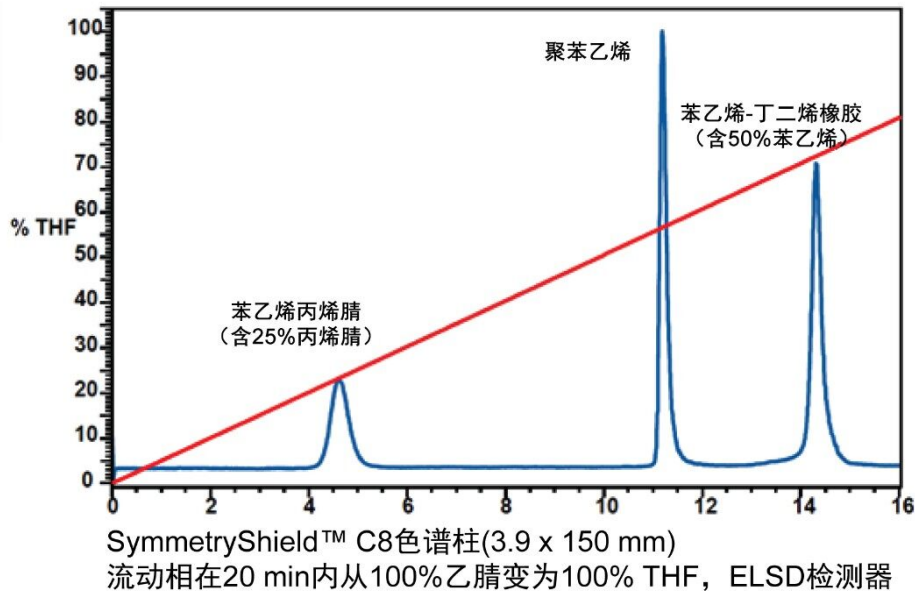


图4.使用Alliance系统对三种聚合物进行GPC和GPEC分析得到的色谱图

专为GPEC分析设计的APC系统采用了全新配置（图5）。为了适配使用100%有机溶剂的梯度洗脱，聚合物等度溶剂管理器(p-ISM)被替换为聚合物四元溶剂管理器(p-QSM)。由于示差折光(RI)检测器不兼容梯度洗脱，RI被替换为蒸发光散射检测器(ELSD)。本文的应用示例未采用光电二极管阵列(PDA)检测器，原因是并非所有目标聚合物都具有紫外吸收活性<sup>2,3</sup>。



图5. 配备p-QSM和ELSD的APC系统

## 结论

当共流出峰会对混合物中聚合物比例的确定产生干扰时，可将GPEC用作GPC的补充分析技术。这种不常见的分析技术已有数十年的历史，但一直以来都只应用于传统HPLC仪器。UPLC仪器的溶剂兼容性有限，限制了GPEC等分析选项的应用。配备QSM的APC专门针对高分子材料行业常用的强溶剂而设计。通过在行业认可的APC系统中增加灵活的四元泵，使得聚合物分析可选的分析技术不再局限于HPLC一种。



---

## 参考文献

1. Uliyanchenko, E.; van der Walac, S.; Schoenmakers, P.J., Challenges in Polymer Analysis by Liquid Chromatography. *Polym.Chem.* 2012, 3, 2313-2335. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/py/c2py20274c#ldivAbstrac>.
2. Waters ACQUITY UPLC ELS Detector, <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=514219>.
3. ACQUITY UPLC Evaporative Light Scattering Detector Getting Started Guide (《ACQUITY UPLC蒸发光散射检测器入门指南》), <https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/71500109303rd.pdf>.
4. Klumperman, B.; Cools, P.; Philipsen, H.; Staal, W. (1996), A Qualitative Study to the Influence of Molar Mass on Retention in Gradient Polymer Elution Chromatography (GPEC). *Macromol.Symp.*, 110: 1-13. doi:10.1002/masy.19961100102, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/masy.19961100102>.
5. Klenin, V. J.; Shmakov, S.L. Features of Phase Separation in Polymeric Systems: Cloud-Point Curves (discussion). *Universal Journal of Materials Science* 2013, 1 (2), 39-45. <https://pdfs.semanticscholar.org/44cf/8e3fc4396d2d8bc6bc55b5be0b2648e70619.pdf>.

---

## 特色产品

ACQUITY超高效聚合物色谱系统 <<https://www.waters.com/134724426>>

Empower 3色谱数据软件 <<https://www.waters.com/513188>>

720006705ZH, 2019年11月

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.