

利用超高效聚合物色谱对聚羟基脂肪酸酯基生物塑料原料进行多维表征

Claudia Lohmann, Wolfgang Radke, Michael Forrester, Eric Cochran

Waters Corporation, Polymer Standards Service, Iowa State University

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

聚羟基脂肪酸酯(PHA)是一类通过发酵产生的可生物降解的聚合物，具有取代一次性化石燃料衍生塑料的潜力。PHA是典型的共聚物，不同的PHA可能基于生化原料、所用的微生物和生物反应条件而在组成上存在很大差异。但是，共聚物中最常见的两种组分是聚-3-羟基丁酸酯(PHB)和聚-3-羟基戊酸酯(PHV)，其中PHB是主要组分。这些组分的比例决定了材料的性质，例如热性质、机械性质和结晶度。

在本可行性研究中，利用超高效聚合物色谱(Advanced Polymer Chromatography™)和蒸发光散射检测(ELSD)进行二维分析，以更深入地了解化学组成分布，因为一维SEC分析通常不足以解析随PHB与PHV比率变化的不同行为。

优势

- APC的溶剂兼容性支持在第一维和第二维采用正相色谱和典型的非极性溶剂
- 使用WinGPC软件对轮廓图和分子量进行简单直接的数据采集和数据处理
- 在单个实验中按组成和体积分离共聚物

简介

由于应用广泛（特别是在包装领域），塑料已成为日常生活中必不可少的商品。塑料可分为两大类：由化石燃料衍生的塑料和生物来源的塑料。目前，大多数塑料都是由化石燃料衍生的，但随着生态意识的不断增强，生产开始转向生物来源的塑料。生物塑料很有吸引力，因为它们来源于可再生原料，可持续性更强。此外，虽然并非全部适用，但大多数生物塑料的生物降解能力都比对应的化石燃料强。聚羟基脂肪酸酯(PHA)就是生物来源/生物可降解塑料的一个示例，它们有望取代常用的聚乙烯PE和PP以及PET和PS。PHA是可生物降解的线性（共）聚酯，由多种细菌通过发酵大量选定的碳原料来合成。PHA具有很高的生物降解性和生物相容性，因此是一种环保物质。PHA目前用于各种应用中，包括食品包装和饮料瓶涂层等。

聚-3-羟基丁酸酯(PHB)及其共聚物仍然是最常用的PHA。PHB是一种结晶聚合物，具有强而脆的物理特性。向PHB主链中掺入聚-3-羟基戊酸酯(PHV)，能够提高聚合物的拉伸和冲击韧性，并改变其他特性，例如降低所得共聚物相比于纯PHB的熔点，从而改善加工性能。聚(3-PHBV)共聚酯已被证明是无规（共）聚酯的混合物，在共聚单体组成和分子量方面分布广泛。由于市售PHA中可能存在化学组成的类似变化，因此它们的表征通常非常重要，因为化学组成的变化对于商业应用来说尤其棘手。传统表征方法是在部分降解后进行GC-MS分析^{1,2}。但这种方法既无法提供关于分子量分布的信息，也不能提供原始聚合物样品中可能存在的共聚物组成变化或分布的信息。体积排阻分离本身不太可能分离流体动力学体积相同但化学组成不同的组分。另一方面，纯化学分离可以提供有关组成分布更详细的信息，但无法辨别共聚单元在分子量分布中的分布情况。要解决这种依赖关系，二维(2D)分析不失为一种选择。

在本可行性研究中，使用二维APC分析方法并以氯仿为两个维度的主要溶剂组分，分析选定的具有不同PHV与PHB比率但玻璃化转变温度（ T_g ，数据未显示）相似的聚(3-PHBV)聚酯，以深入了解分布差异。

实验

将聚(3-PHBV)样品溶于经乙醇稳定的氯仿中，制得10 mg/mL溶液，然后低速翻滚过夜。在使用0.22 μm PTFE过滤器过滤之前，将样品溶液在3900 rpm下离心70 min以去除不溶性物质（尤其是来自吸管的不溶性物质）。按1:4稀释滤液，制得2 mg/mL样品溶液，并装入2 mL样品瓶中以备进样。

结果与讨论

在进行2D分析之前，使用BEH XT 450 Å色谱柱在氯仿中进行体积排阻分离。色谱图见图1，每个样品仅显示出一个峰。假设样品包含至少两种组分，则可以认为发生了共洗脱。体积排阻分离无法区分三种聚(3-PHBV)样品。

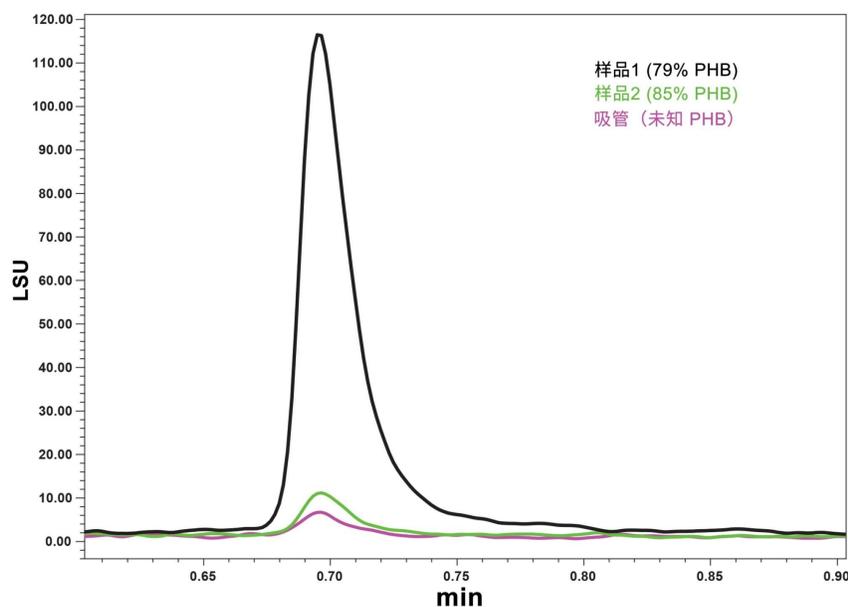


图1.所有三个样品的一维体积排阻分离，X轴为保留时间，Y轴为光散射单位(LSU)。

在后续步骤中使用SunFire™硅胶柱，应用从氯仿到氯仿/四氢呋喃混合物的梯度按化学组成进行分离。从图2中可以看出，在使用陡峭梯度进行试验性分离后，除样品1外，所有样品均产生两个峰。样品1的单峰比样品2和样品3的第一个峰更早洗脱，仅样品2和样品3在约8 min处产生第二个峰。样品1与样品2和样品3之间似乎存在差异，但没有获得有关样品2与样品3之间差异的信息。在本次试验中，任何一种单独的技术都无法提供足够的信息。不同的ELSD信号强度源于不同的进样体积和样品浓度。

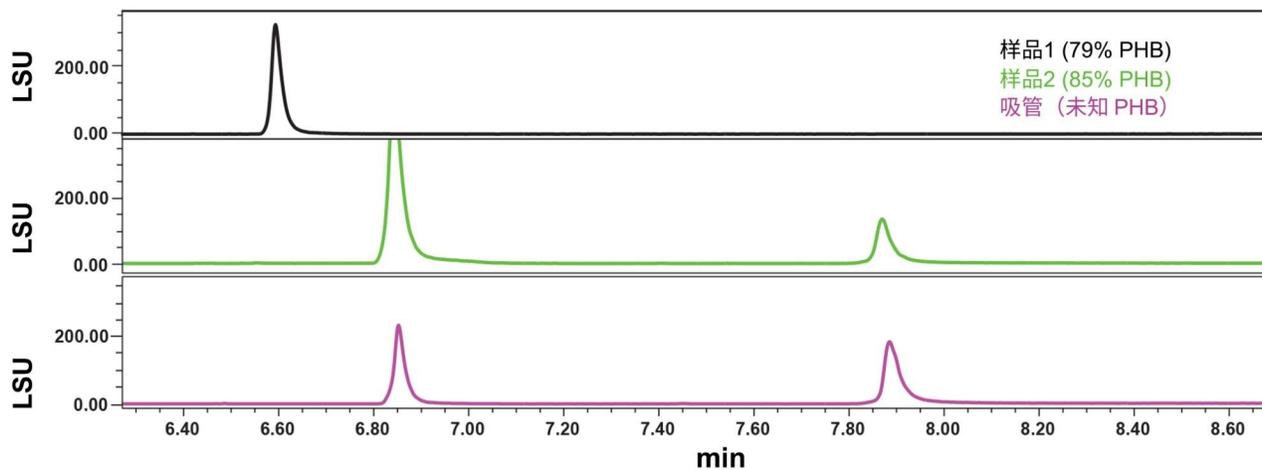


图2.三个聚(3-PHBV)样品的一维梯度分离，X轴为保留时间，Y轴为光散射单位(LSU)。

单个基于化学组成的分离和体积排阻分离的关键参数有助于手动计算WinGPC软件中2D设置所需的运行条件。

- 完整2D测量中第一维的流速由第二维的运行时间和定量环体积决定。
- 在第二维中分离的转移馏分的量，由直到最后一个峰洗脱的单个第一维进样的体积以及定量环体积决定
- 将上述体积除以第一维流速，即可得到两种技术串联使用时完整2D运行的总运行时间。

在WinGPC中进行简单的引导式2D阀设置需要这些值。首先，加载仪器方法（图3）。

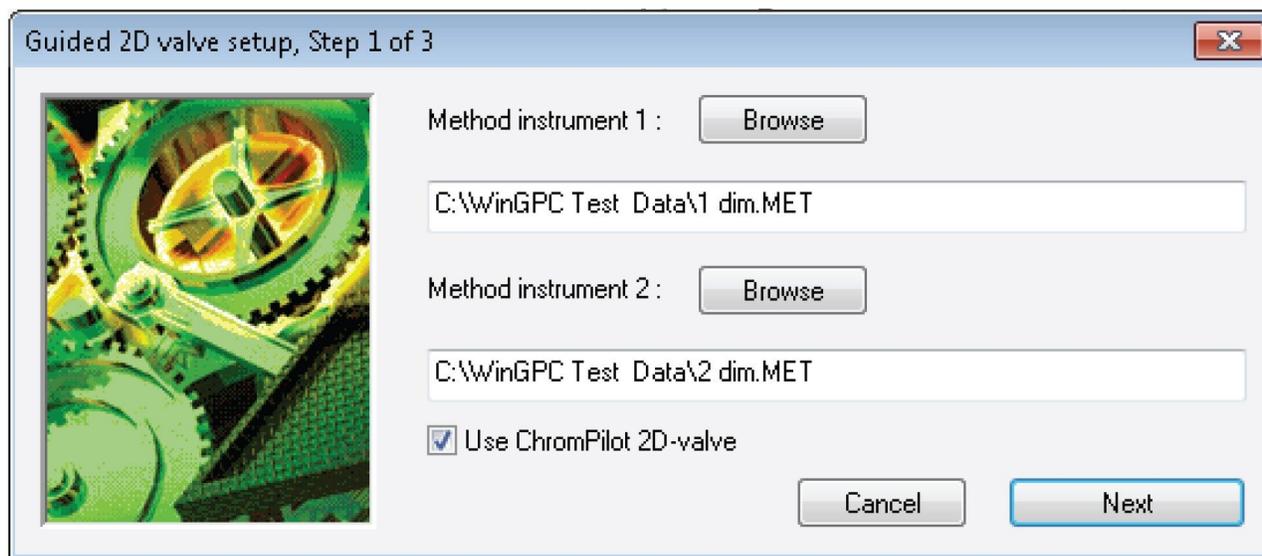


图3.在引导式2D阀设置中加载两种仪器的方法

输入上述计算出的参数，按照提示“将设置应用于阀”并加载保存的序列，开始2D运行（图4）。也可以通过样品向导设置样品序列。

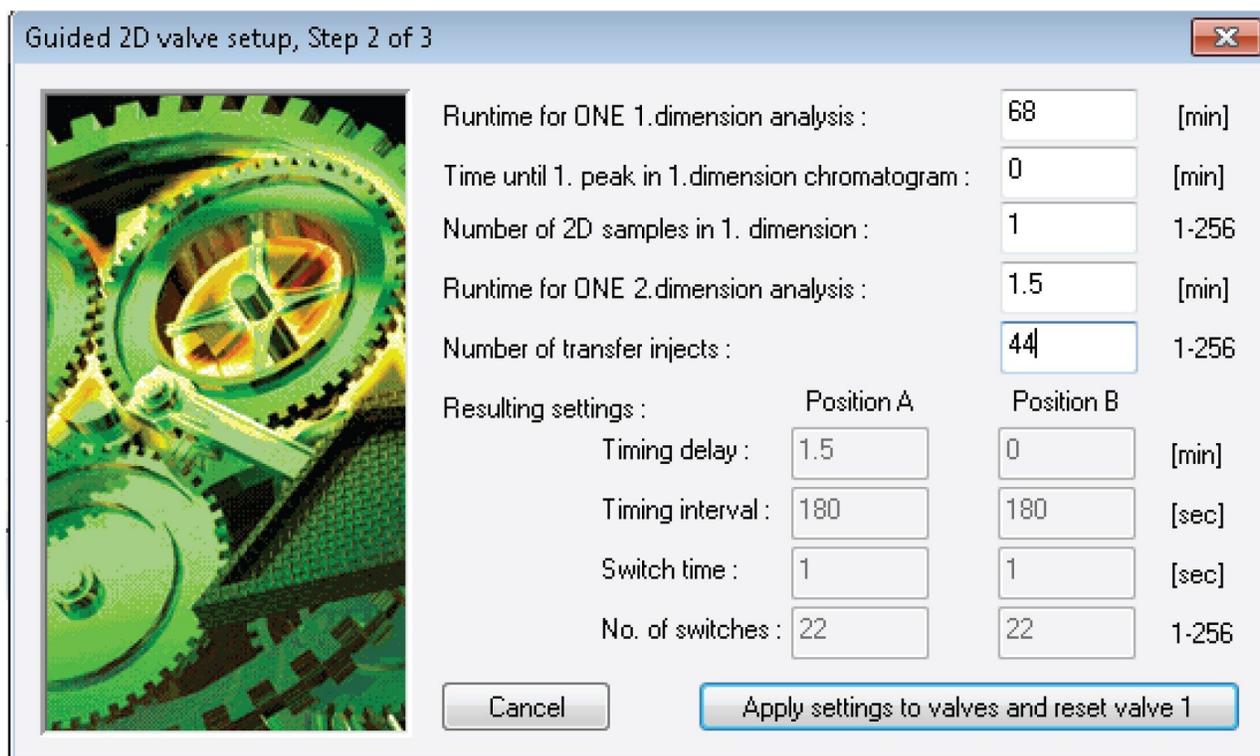


图4.引导式2D阀设置窗口，其中输入了试运行之一的计算参数

所获得的所有三个聚(3-PHBV)样品的轮廓线图显示在图5~7中。以X轴上第二维运行（体积排阻分离）的洗脱体积相对于Y轴上第一维运行（梯度分离）的洗脱时间作图。尽管单张色谱图显示出明显的相似性，但所有轮廓线图看起来各不相同。图5中样品1的轮廓线图显示出三个群组，而不是图1和图2中的单峰（黑色迹线）。X轴上洗脱体积介于1.1 mL~1.2 mL之间的两个群组（图5），最初在体积排阻分离运行中共洗脱，而在第一维梯度运行中得到分离。图5中洗脱体积约1.5 mL的第三个群组在单个体积排阻进样中被洗脱时间在0.7~0.8 min之间的尾巴掩盖（图1）。

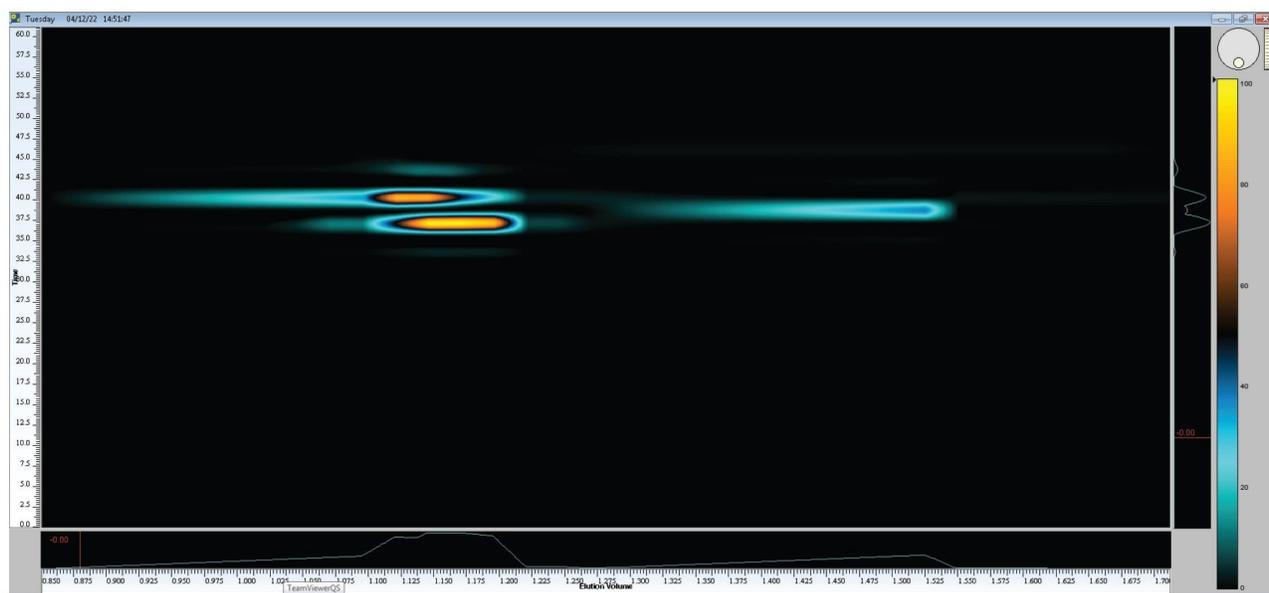


图5.样品1的轮廓线图显示出三个分离的群组，它们的化学组成和/或分子量各有不同。X轴上绘制的是第二维的洗脱体积相对于第一维运行的洗脱时间的关系。

图6显示了样品2的轮廓线图。尽管最初在体积排阻分离（图1）运行中发生共洗脱的分析物在第一维梯度运行（图2）中得到分离，但从图6可以看出，在梯度色谱中洗脱时间约40 min的晚洗脱群组在SEC中的洗脱体积不同于早洗脱群组。因此，两个群组的组成（第一维洗脱时间）和分子量（第二维洗脱时间）有所不同。这是单靠SEC或梯度分离都无法获得的额外信息。

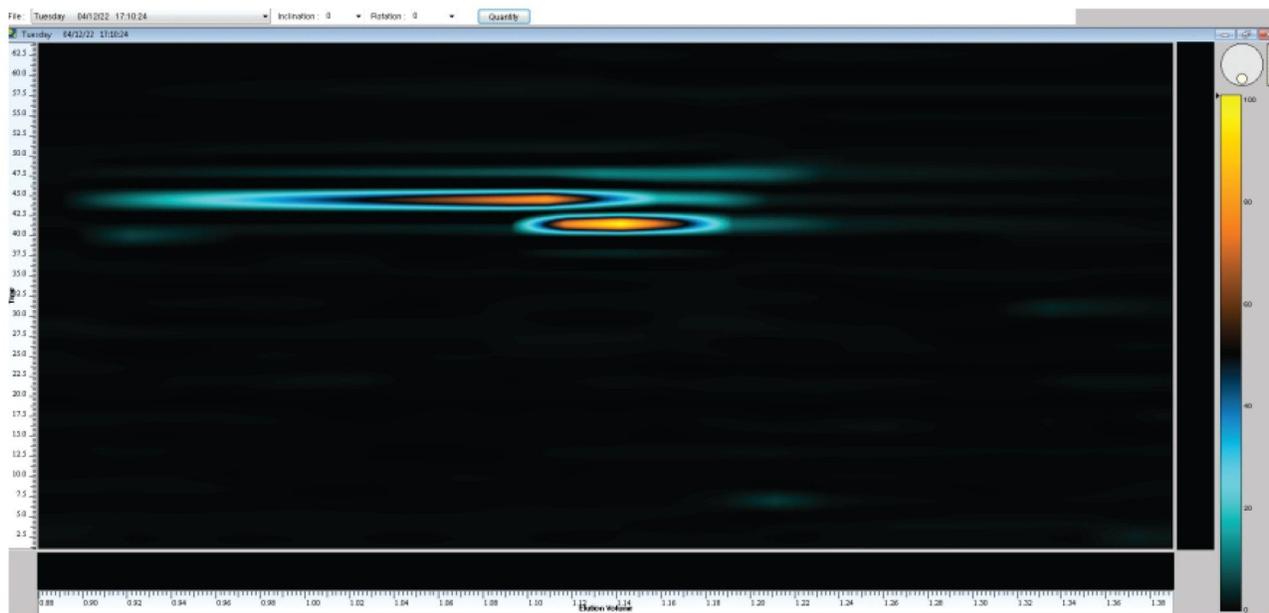


图6.样品2的轮廓线图显示出两个分离的群组，它们的化学组成和/或分子量各有不同。X轴上绘制的是第二维的洗脱体积相对于第一维运行的洗脱时间的关系。

图7展示了吸管样品的轮廓线图。尽管吸管的2D分离模式看起来与样品2相似，但从图7的轮廓线图中获得的信息却并非如此。两个群组具有相同的SEC洗脱体积，因此它们的分子量几乎相同，而样品2也展示出两个化学组成不同的群组，它们具有不同的SEC洗脱体积及相应的分子量。仅通过运行SEC和梯度均无法获得此类信息。

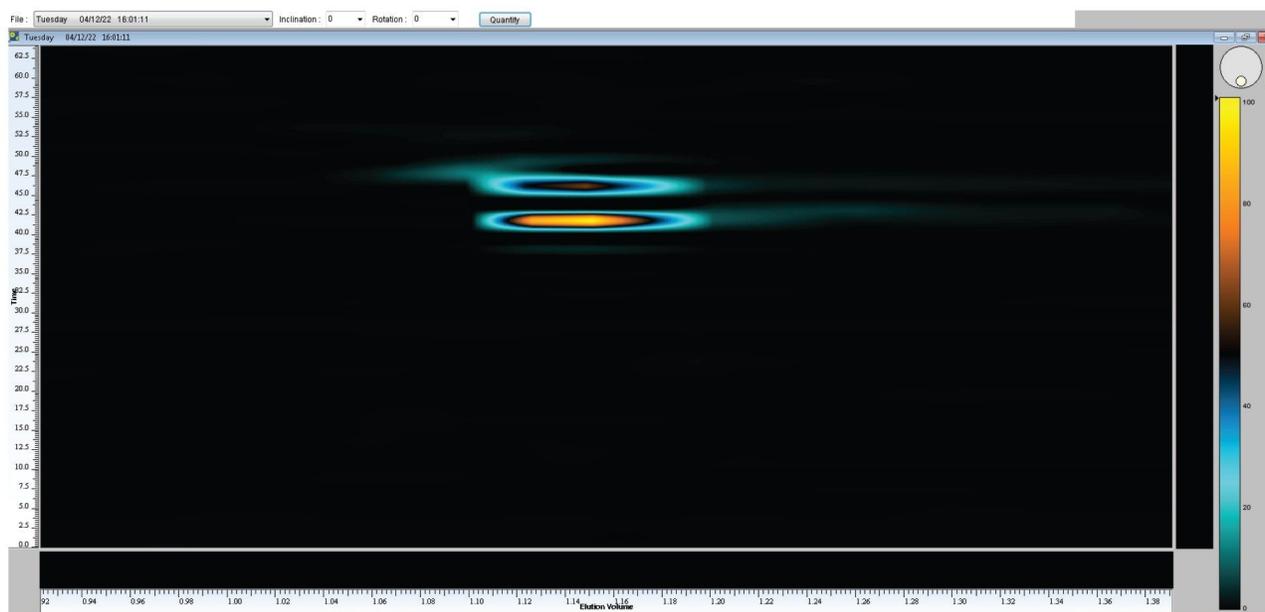


图7.吸管的轮廓线图，显示出化学组成不同的两个分离的群组。X轴上绘制的是第二维的洗脱体积相对于第一维运行的洗脱时间的关系。

结论

使用2D-APC-ELSD方法分析几个聚(3-PHBV)样品，结果表明样品之间存在显著差异，这些差异无法通过一维分离来确定。

通过在第一维添加基于化学组成的分离，使样品1中在单个体积排阻分离中发生共洗脱的组分得到成功分离。样品2和吸管之间的细微差别在于，样品2中化学组成不同的组分具有不同的分子量，而吸管样品中化学组成不同的组分的分子量则几乎相同。

WinGPC软件的功能有助于简化系统设置以进行完整的2D分析，从而在有时限的仪器上为分析人员节省时间。

APC溶剂可兼容卤代溶剂以及典型的非极性溶剂，从而支持连续运行，无需在运行过程中或空闲时间更换为腐蚀性较低的溶剂。

参考资料

1. Adamus G. Aliphatic Polyesters for Advanced Technologies – Structural Characterization of Biopolyesters with the Aid of Mass Spectrometry. *Macromol.Symp.* 2006 Jun;239:77–83.
2. de Rijk T, van de Meer P, Eggink G. Biopolymers - Polyesters II Properties and Chemical Synthesis. Ed: Steinbuechel A. Wiley-VCH. 2001.

特色产品

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

ACQUITY UPLC ELS检测器 <<https://www.waters.com/514219>>

720007702ZH, 2022年8月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#)

[隐私](#)

[商标](#)

[网站地图](#)

[招聘](#)

[Cookie](#)

[Cookie](#)

[设置](#)