

水动力色谱及其在分子科学中的应用

刘德华* 曹同玉 王艳君 袁才登 许涌深

(天津大学化工学院, 天津, 300072)

摘要 综述了水动力色谱(HDC)的理论研究及三种主要水动力色谱方法,即微毛细管 HDC、毛细管 HDC 和填充柱 HDC,并着重介绍了 HDC 在胶体颗粒及聚合物大分子的分析与分离方面的应用。

关键词 水动力色谱, 胶体颗粒, 聚合物大分子, 分析, 分离

前言

如何测定胶体物质的粒子尺寸无论在理论研究还是实际生产中都有着非常重要的意义。目前常用的测定颗粒直径的方法有三种,即光散射法、离心法及电子显微镜法。由于这些方法都存在其各自的局限性,如光散射法虽测定速度较快,但其仅限于测定粒径分布较窄的胶体物质;离心法由于颗粒的沉降决定于其密度和尺寸,要求很高级的设备和关于胶体颗粒密度的精确数据;而电子显微镜法则测定速度慢,费用昂贵且要求纯熟的技术^[1]。因此如何实现快速而准确测定胶体体系的颗粒尺寸,是人们所致力于研究的热门课题。

为了快速而准确地测定聚合物乳液的粒度,Small 等^[1~4]于 70 年代初开发了一种可同时测定乳胶粒直径及其分布的方法—水动力色谱法(hydrodynamic chromatography,缩写为 HDC)。水动力色谱仪是利用无孔刚性固体颗粒来填充其分离柱,让含有被测乳液的淋洗液在高压下通过床层,由于水动力效应,使粒径不同的粒子流出速度不同,从而实现了对聚合物乳液或胶体悬浮液中的粒子分级或分离。Mori 等^[5],Hoagland^[6]等研究者进一步发展和完善了 HDC,并将其引伸到某些天然高分子和高分子量水溶性聚合物如 PAM 的分离。Noel 等^[7],Brough 等^[8]和 Shuster^[9]等人在实验中发现在一根直径为几百微米的毛细管中同样可实现不同粒径混合物的分离,这种采用毛细管而不是填充柱作为分离柱的分离方法无论在理论研究还是实际应用上都有着非常重要的意义。Elie 和 Rehaud 曾利用管径为 1.5mm 的毛细管成功地对纸纤维悬浮液中的纤维颗粒进行了分离^[10]。内径小于 10 μm 的毛细管称其为微毛细管,其分离机理与内径大于 10 μm 的毛细管不同,Silebi 和 DosRamos^[11,12]以及 Tijssen 和 Bos^[13,14]对微毛细管 HDC 进行了详细的理论探讨和应用研究。在填充柱 HDC(packed column HDC)、毛细管 HDC(capillary HDC)和微毛细管 HDC(microcapillary HDC)三种类型的水动力色谱装置中,微毛细管 HDC 的理论研究较为充分,可由样品的相对停留时间直接计算粒径大小而不必借助于标准曲线;而毛细管 HDC 和填充柱 HDC,由于分离机理比较复杂,目前尚无完善的理论,故深入地考察各种水动力色谱法的分离机理以及影响因素对能否实现准确、快速测定分散体系的粒子直径或对其进行分级具有重要意义。



刘德华 1975 年 12 月 16 日生于山东省单县。1992~1996 年就读于天津理工学院化工系高分子专业,毕业后在天津大学化工学院攻读高分子材料专业硕士学位,师从曹同玉教授,从事乳液聚合、分散聚合及反应性聚合物微凝胶的研究。

* 通讯联系人。

1 HDC 分离原理

1.1 HDC 装置^[15]

微毛细管 HDC、毛细管 HDC 和填充柱 HDC 三种水动力色谱装置基本相同,所不同的就在于各自的分离色谱柱,微毛细管 HDC 和毛细管 HDC 采用管径不同的毛细管,而填充柱 HDC 则使用由无孔刚性固体颗粒填充而成的色谱柱。以填充柱 HDC 为例,其装置如图 1 所示。

相对于微毛细管 HDC 和毛细管 HDC,填充柱 HDC 的设备更为简单,操作更为简便,尤其是检测手段的简化,使用一般的紫外检测器即能满足要求。而微毛细管 HDC 和毛细管 HDC 受到进样量和聚合物浓度的限制,要求检测器对聚合物的响应非常灵敏,通常使用高灵敏度紫外检测器或其它手段如电位分析、激光激发荧光法及激光光散射法等^[16]。

1.2 物理模型

填充 HDC 的分离柱是由粒径均一的无孔刚性固体球形颗粒装填而成,如果将颗粒间的间隙空间当作毛细管体系来处理,则其就类似于微毛细管 HDC,所不同的是由于填料颗粒直径不可能完全均一以及装填方式的不同会造成填料层内部孔隙的形状非常复杂,而微毛细管却是一根长管,其与毛细管的差别仅是管径的差别。下面以微毛细管为模型进行处理,当淋洗液流经微毛细管时,由于其管径足够小且为层流流动,故可确保仅有水动力效应存在而使流型为典型的抛物面,如图 2 所示。

当颗粒分散体系流经半径为 R 的微毛细管时,粒径为 a 的球形颗粒将由由于布朗运动而扩散到径向各个位置。在径向 r 处该颗粒的运动速度 $u(r)$ 可由下式给出:

$$u(r) = \bar{u} [1 - (r/R)^2] \quad (1)$$

式中 $\bar{u}$ —— 平均速度;

r —— 径向距离;

R —— 微毛细管半径。

对于可在径向任意位置上迁移的分子如淋洗液分子,因其分子很小,以致于体积可以忽略,其平均速度 $\bar{u}$ 可由下式计算:

$$\bar{u} = \frac{2}{R^2} \int_0^R u(r) r dr \quad (2)$$

其通过长度为 L 的微毛细管所需时间 t_m 为:

$$t_m = \frac{L}{\bar{u}} \quad (3)$$

而对于具有一定体积的球形颗粒或大分子而言,其重心无法出现在距管壁距离为 a 的区域内,故其平均速度 $\bar{u}_p$ 为

$$\bar{u}_p = \frac{2}{(R-a)^2} \int_0^{R-a} u(r) dr \quad (4)$$

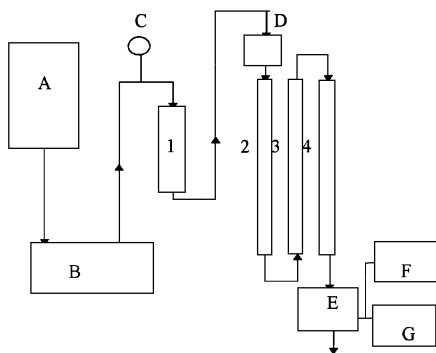


图 1 水动力色谱装置示意图

A — 淋洗液高位槽; B — 高压计量泵; C — 压力表; D — 进样阀; E — 检测器; F — 记录仪;
G — 计算机; 1 — 过滤柱; 2, 3, 4 — 工作柱

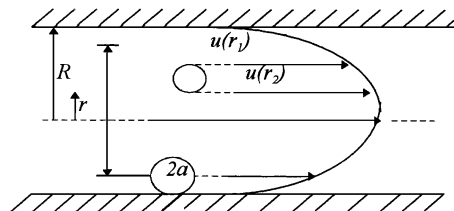


图 2 毛细管内层流流动流速分布图

其通过长度为 L 的微毛细管所需时间 t_p 为

$$t_p = \frac{L}{u_p} \quad (5)$$

此处仍假设传质过程足够快以致颗粒在淋洗过程中可出现在 $(R - a)$ 区域中的任何一个位置, 则结合方程式 (1)、(2) 及 (4), 可得到:

$$\bar{u}_p = \bar{u}(1 + 2\lambda - \bar{\lambda}) \quad (6)$$

式中 $\bar{\lambda} = a/R$

相对停留时间 τ 为:

$$\tau = \frac{t_p}{t_m} = \frac{1}{(1 + 2\lambda - \bar{\lambda})} \quad (7)$$

上述的推导将被测粒子作为刚性的不旋转微球来处理, 而实际上对于一流动中的粒子来说, 其上下所受的力是不平衡的, 在力偶的作用下将发生旋转, 反过来将会影响其流动速度。这个现象最早由 DiMarzio 和 Guttman^[17] 以及 Brenner 和 Gaydos^[18] 论及。

Tijssen 等将其结果归纳为下式^[10]:

$$\tau = (1 + 2\lambda - C\bar{\lambda})^{-1} \quad (8)$$

其中 C 为一系数, 对于刚性颗粒 $C = 4.89$, 对于大分子无规线团 $C = 2.698$ 。

由式 (8) 可看出, 对于粒径不同的颗粒来说, 其相对停留时间也不相同, 经检测器检测后, 就可得到关于颗粒直径的信息, 这正是水动力色谱分析与分离胶体颗粒的理论基础。

2 微细管 HDC

式 (8) 的推导对于微毛细管是成立的, 故可将其直接用于微毛细管 HDC 的结果分析, 即可由相对停留时间 τ 直接估算出颗粒直径 a 的大小而不必借助于标准曲线。

微毛细管 HDC 由于其理论相对完善, 故可用于聚合物在不同溶剂中的状态研究、嵌段聚合物胶束的形成与解离及对细小固体颗粒的表征等方面。另外, 也可用于胶体颗粒或聚合物的分析与分级, 但由于其淋洗量小, 检测较为困难, 所以并未显示出特别大的优越性。

HDC 一个突出优点就是不必使用与填料相容性好的淋洗液, 且可直接获得样品的粒度数据。表 1 为由 τ 估算的粒径与光散射法所测粒径的比较。可看出, 微毛细管 HDC 和光散射法所测粒径结果相当接近, 这说明 HDC 确实是一种简单有效的方法, 而其设备却要比光散射法简单得多。

3 毛细管 HDC

式 (8) 是基于在流经分离柱时间内某一粒子或大分子可随机地出现在毛细管径向上的任何一处, 以致在径向上可认为扩散均匀的前提下推导出的。而当毛细管直径较大时, 在有限的测定时间内这一前提并不能满足, 即式 (8) 不能适用于毛细管 HDC。Tijssen 引入了傅立叶常数 F_0 来表示在淋洗时间内某一颗粒在毛细管径向上所来回迁移的次数^[10]。

$$F_0 = D_m t / R^2 \quad (9)$$

式中 D_m —— 扩散系数;

t —— 时间;

R —— 毛细管内径。

如果 $F_0 \ll 1$ 则表明某一颗粒在淋洗时间内将几乎停留在径向某一确定位置处,也就是说,胶体颗粒在最初进入毛细管和最终流出毛细管时的状态基本上是相同的,这样在淋洗时间内样品是不可能得到分离的。虽然当 F_0 较小时可通过延长分析时间来实现样品分离,而这是以牺牲分离效率为代价的。在实验中,Tijssen 发现 $F_0 \geq 10$ 即可确保径向传质过程的充分进行而使样品分离得以实现,其以不同管径和颗粒直径计算 F_0 ,结果列于表 2 中^[10]。

表 1 HDC 和光散射所测粒径比较

分子量 /Da	HDC 所测粒径/nm		光散射法所测粒径/nm	
	THF	DEM	THF	θ溶剂
127000	12.2	9.7	12.3	9.8
233000	17.8	13.5	17.6	13.2
411000	22.3	18.0	24.6	17.5

表 2 毛细管 HDC 不同管径所得 F_0

管径 / μm	分子量 ($\times 10^{-6}$)	扩散系数 / $\times 10^4 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	F_0
3	3.8	67	3500
10	2.9	21	102
30	190	7.4	3.9
100	1500	2.3	0.1

毛细管长 300cm;淋洗时间 20min;样品为 PSt;流动相为 THF

由表 2 可看出,毛细管管径对 F_0 的影响最大,这是由于 F_0 与 $1/R^2$ 成正比。故对于管径 $> 10 \mu\text{m}$ 的毛细管 HDC,其 F_0 不会太大,尤其是当管径为 $100 \mu\text{m}$ 时, $F_0 = 0.1$,似乎毛细管 HDC 用于样品的分离是不可行的。但实际在实验中人们发现,即使对于管径为 $500 \mu\text{m}$ 的毛细管,待分离颗粒粒径为 $25 \mu\text{m}$ 的情况,样品的分离仍可在几分钟内完成。这说明在毛细管 HDC 中必然存在另一种分离机理,人们称其为 tubular pinch 效应^[10]。目前人们对其机理了解尚不深刻,只是认为对于流动中的颗粒,存在两种相反的力,其中一个力使颗粒离开管壁,而另一个力则使颗粒远离毛细管中心,两个力的共同作用就使某一粒径的颗粒在径向的某一处富集,形成一套管状区域,从而仍可实现不同粒径颗粒的分离。但与此同时,水动力效应也是存在的,故毛细管 HDC 的分离是基于此两种效应。

毛细管 HDC 的应用主要集中在乳胶粒、花粉、颜料等的分析与分离,所用毛细管管径范围在 $(14 \sim 500) \mu\text{m}$,但更大的管径也是可行的。Elie 和 Renaud 就曾成功地利用管径为 1.5 mm 的毛细管分离纸纤维悬浮液中的纤维颗粒^[10]。相对来说,毛细管 HDC 在聚合物大分子的分离方面应用较少,这与聚合物大分子在分离中所处的状态更为复杂有关。Revillon 和 Boucher^[19]曾利用长为 120 m ,内径为 $250 \mu\text{m}$ 的毛细管,以 THF 为淋洗液成功地分离了交联 PSt 样品。随着理论的进一步完善,毛细管 HDC 在高分子量聚合物的分离和表征上有着广阔的应用前景。

4 填充柱 HDC

当不同粒径的胶体粒子通过由不可渗透的无孔刚性球状颗粒,如玻璃、二氧化硅或高分子微球

填充而成的床层时,分离在床层的孔隙中进行。若将床层的孔隙当作许多长度、管径各不相同的毛细管组成的体系,则必然存在水动力效应和 tubular pinch 效应。此外在淋洗液与填料间还存在有静电作用以及胶体粒子和填料颗粒间的范德华作用力,而且由于填料颗粒直径不可能完全均一以及填充方式的不同而导致不能完全确定填料层内部孔隙的状况,这些均将会影响样品的分离和分析。所以与微毛细管 HDC 及毛细管 HDC 相比,填充柱 HDC 的情况要更为复杂,并不能单纯由相对停留时间估算出淋洗组分的尺寸大小,而需借助于标准曲线。标准曲线可用以下方法制作:用已知尺寸的单分散的 PS_t 乳液作为标准试样,分别测得不同粒径 PS_t 试样的淋洗时间,计算其 R_F 值。 R_F 为通过床层的胶体粒子的传递速率与淋洗液的传递速率之比,该参数为表明胶体颗粒和流动相对速率的最直接的物理量。以 R_F 对已知 PS_t 粒径作图即为标准曲线。

对于粒径未知的试样,只需测出其淋洗时间,由标准曲线即可获得胶体粒子的尺寸信息。 R_F 值的大小与胶体粒子直径、填料颗粒直径及离子强度等因素有关。一般来讲, R_F 总大于 1,且随胶体粒子直径的增大而增大,随填料颗粒直径的增大而减小,随离子强度的减小而增大^[21]。填充柱 HDC 之所以可被广泛推广,就在于在一定条件下人们可确定一通用标准曲线。Nagy^[20]通过试验表明,即使对于不同化学组成的乳胶粒,如 PS_t、聚醋酸乙烯酯、胶体 SiO₂ 等,也均符合于同一条标准曲线而与化学组成无关,这样就可以利用 PS_t 颗粒作标准曲线,然后以此去确定任何聚合物样品的尺寸大小。

虽然相对于微毛细管 HDC,填充柱 HDC 也存在一些缺点,但许多适用微毛细管 HDC 的场合,原则上也可使用填充柱 HDC,关键在于如何提高填充柱的柱效。实验表明,采用非常小的单一粒径的微球作为填料可显著提高 HDC 柱的柱效。Stegeman 等^[21,22]在该领域进行了较多研究工作,他利用粒径范围在(1.4~2.7) μm 单分散 SiO₂ 微球为填料分离 PS_t、胶体 SiO₂ 颗粒和蛋白质等,取得了良好的分离效果。若以水力半径 R_0 ,即与填充柱具有相同比表面积的微毛细管径来表示流动孔道半径的平均值,则填料为粒径 1.4 μm 的 SiO₂ 微球,床层孔隙度为 0.380 的填充柱,其 R_0 可达 0.268。而如此小的半径在微毛细管 HDC 中尚未获得,其最小管径也达 0.6 μm ,从而可将 HDC 分析聚合物的分子量范围增大至 10^7 。

考虑到 HDC 的分离机理在体积排除色谱(size exclusion chromatography,缩写为 SEC)中同样存在,故可将 HDC 与 SEC 结合,从而拓宽了所分析分子量的范围。Cheng^[23]利用填料为粒径不同的玻璃微球的填充柱分离 PS_t,以此讨论了 SEC 和填充柱 HDC 的异同。Stegeman 等^[24]利用填充有孔状 SiO₂ 颗粒和苯乙烯与二乙烯基苯交联共聚物颗粒的填充柱分离 PS_t,小分子量 PS_t 主要按 SEC 机理分离,而高分子量 PS_t 则按 HDC 机理分离,分子量范围可扩充至从 10^2 到 10^7 之间。

自从 Small^[2~4]于 70 年代初开发了填充柱 HDC 以来,迄今已应用于许多方面,和毛细管 HDC 一样,填充柱 HDC 也主要应用于分散颗粒的分离。Molina 等^[25]和 Cebamanos^[26]利用改进的填充柱 HDC 对脂质体进行分离。Hoagland 和 Prud'homme 详细讨论了利用填充柱 HDC 对聚合物大分子在流动中所处状态的研究^[27]及分离聚糖和高分子量水溶性聚合物 PAM 的实验结果^[6]。由于不同于分散颗粒的分离,无校正标准,他们的结果均以“等效颗粒直径”表示。为了避免样品峰和标识物峰的重叠,他们采用了由 McGowan 和 Langhorst^[28]提出的“延迟标识物注射法”。乳液聚合是工业生产一种重要的聚合方法,如何实现乳液聚合过程的在线测量与控制乳胶粒直径变化一直是该领域的一个重要课题。Anthony 和 Thornton^[29]等人利用水动力色谱对乳液聚合物及商品胶进行质量控制,同一时期, Van Gilder 和 Langhorst^[30]两人建立了一套全新的水动力色谱装置,应用于对乳胶粒的增长进行检测和分析,均取得了良好的效果。

5 结束语

通过以上讨论可以看出,水动力色谱由于其可靠性高,设备简单,测试快速、高效,故无论在科学研究还是工业生产上均有着广阔的应用前景。目前,水动力色谱的应用主要集中在胶体分散颗粒的分析与分离以及乳液聚合过程的在线测量。而对于聚合物大分子由于其构型易改变,分离过程中易吸附、断裂,应用尚不广泛,但这无疑是水动力色谱研究领域中的一个重要课题和方向。此外,应加强对其分离机理的进一步研究,提高理论的完善性和分析的定量性,并使其与其它分离方法结合,提高其分析范围的广谱性。

6 参考文献

- 1 Small H, Ssunders F L, Solc J. *Adv in Collid and Interface Sci*, 1976, 6(3):237
- 2 Small H. *J Collid Interface Sci*, 1974, 48(1):147
- 3 Small H. *Adv Chromatogr*, 1977, 15:113
- 4 Small H. *Anal Chem*, 1982, 54(6):892A
- 5 Mori S, Porter R S, Johnsons J F. *Anal Chem*, 1974, 46(11):1599
- 6 Hoagland D A, Larson K A, Prud'homme R K, Barth H G. *Modern Methods of Particle Size Analysis*. New York:Wiley. 1984
- 7 Nole R J, Gooding K M, Regnier F E, Ball D M, Mullins M E. *J Chromatogr*, 1979, 166(3):373
- 8 Brough A W J, Hillman D E, Perry R W. *J Chromatogr*, 1981, 208(2):175
- 9 Shuster C D, Schroeder J R, McIntyre D. *Rubber Chem and Tech*, 1980, 54:882
- 10 Bos J, Tijssen R. *J of Chromatogr Libr Ser*, 1995, 56:95
- 11 Silebi C A, DosRamos J G. *J Collid Interface Sci*, 1989, 130(1):14
- 12 DosRamos J G, Silebi C A. *J Collid Interface Sci*, 1989, 133(2):302
- 13 Tijssen R, Bos J, van Kreveld M E. *Anal Chem*, 1989, (56):3036
- 14 Bos J, Tijssen R, van Kreveld M E. *Anal Chem*, 1989, 61(13):1318
- 15 曹同玉,刘庆普,胡金生. 聚合物乳液合成原理、性能及应用. 北京:化学工业出版社,1997
- 16 Zarrin F, Norman Dovichi J. *Anal Chem*, 1985, 57(9):1826
- 17 DiMarzio E A, Guttman C M. *Macromolecules*, 1970, 3(1):131
- 18 Brenner H, Gaydos L J. *J Collid Interface Sci*, 1977, 58(2):312
- 19 Revillon A, Boucher P. *J Appl Polym Sci:Appl Polym Symp*, 1989, 34(1):115
- 20 Nagy D J, *J Collid Interface Sci*, 1983, 93(2):590
- 21 Stegeman G, Oostervink R, Kraak J C, Poppe H. *J Chromatogr*, 1990, 506:547(chrom symp)
- 22 Stegeman G, Kraak J C, Poppe H. *J Chromatogr*, 1993, 634(2):149
- 23 Cheng W. *J Chromatogr*, 1986, 362(3):309
- 24 Stegeman G, Kraak J C, Poppe H. *J Chromatogr*, 1991, 550:721
- 25 Molina F J, Vila A O, Dieguez P, Figueruelo L E. *J High Resol Chromatogr*, 1989, 12:560
- 26 Cebamanos F, Vila A O, Dieguez P, Molina F J. *J High Resol Chromatogr*, 1990, 13:583
- 27 Hoagland D A, Prud'homme, R K, *Macromolecules*, 1989, 22(2):775
- 28 McGowan G R, Langhorst M A. *J Collid Interface Sci*, 1982, 89(1):94
- 29 Thornton A W, Olivier J P, Smart C G, Gilman L B, *ACS Symp Ser(Part SizeDistrib)*, 1987
- 30 Van Gilder R L, Langhorst M A. *ACS Symp Ser(Part Size Distrib)*, 1987

Hydrodynamic Chromatography and Its Applications in Polymer Chemistry

Liu Dehua, Cao Tongyu, Wang Yanjun, Yuan Caideng, Xu Yongshen

(Institute of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072)

Summary In this paper, the theoretical studies of the hydrodynamic chromatography (HDC) and the three types of HDC: microcapillary HDC, capillary HDC and packed-column HDC are reviewed. Then, the HDC's applications to the analysis and separation of colloidal particles and macromolueules are also introduced.

Key words Hydrodynamic chromatography (HDC), Colloidal particles, Macromolecules, Analysis, Separation

1999 年高分子领域的学术会议

- 1 1999 年全国高分子学术论文报告会
时间: 1999 年 5 月 9~14 日 联系人: 上海市, 上海交通大学化学化工学院 刘念才教授
邮编: 200240
- 2 1999 年高分子物理暑期国际研讨会
时间: 1999 年 8 月 2~13 日 联系人: 上海市, 复旦大学高分子系 邵正中教授 邮编: 200433
- 3 第四届国际有机金属络合物和催化学术会议
时间: 1999 年 7 月 30~8 月 2 日 联系人: 兰州市, 西北师范大学化学系 王云普教授
邮编: 730070
- 4 第二届国际高技术高分子与高分子络合物
时间: 1999 年 9 月 13~16 日 联系人: 郑州市, 郑州大学材料工程系 曹少魁教授
邮编: 450052
- 5 "纳米有机复合材料及聚合物成型技术研讨会"(中国塑料协会和国家基金委主办)
时间: 1999 年 9 月 联系人: 济南市, 济南 108 信箱"工程塑料应用"杂志社 阎恒梅
邮编: 250031
- 6 第九届国际精细化学和功能高分子讨论会
时间: 1999 年 11 月 29~12 月 5 日 联系人: 海口市, 海南师范学院化学系 李华明教授
邮编: 571158
- 7 第六届太平洋地区高分子大会
时间: 1999 年 12 月 7~11 日 联系人: 北京市, 中国科学院化学所 何嘉松研究员 邮编: 100080
- 8 第二届甲壳素化学与应用研讨会
联系人: 武汉市, 武汉大学环境科学系 杜予民教授 邮编: 430072

(胡汉杰)