

УДК 543.544: 678.01

© Б. Г. Беленький

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ, РАЗМЕРА И РАЗВЕТВЛЕННОСТИ МАКРОМОЛЕКУЛ С ПОМОЩЬЮ ДВУХДЕТЕКТОРНОЙ ГПХ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГПХ С РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТОРОМ И МНОГОУГЛОВЫМ ЛАЗЕРНЫМ НЕФЕЛОМЕТРОМ (MALLS)

Важнейшим видом анализа полидисперсности полимеров является гель-проникающая хроматография (ГПХ) как метод определения их молекулярно-массового распределения (ММР). Рассмотрены виды ГПХ-анализа и их применение в исследовании полимеров.

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярные характеристики полимеров: молекулярно-массовое распределение (распределение по молекулярным массам макромолекул M), разветвленность (распределение по типам разветвленности), композиционная неоднородность (распределение по химическому составу гетерополимеров), функциональность олигомеров (распределение по типам функциональности) — играют важнейшую роль в химии, физике и технологии высокомолекулярных веществ. С одной стороны, эти характеристики позволяют судить о процессах полимеризации, сертифицировать полимерные материалы, с другой — прогнозировать технические характеристики полимерных изделий, получаемых при переработке полимерных материалов, определять оптимальные условия этой переработки.

Важнейшим видом анализа полидисперсности полимеров является гель-проникающая (эсклюзивная, size-exclusion) хроматография ГПХ (GPC) [1] как метод определения их молекулярно-массового распределения (ММР). Здесь наибольшие достижения связаны с колоночной двухдетекторной ГПХ, где колонка с макропористым сорбентом используется для фракционирования макромолекул по размеру, а переход от размера макромолекул к их M связан с использованием уравнения Бенуа:

$$V_R = A - B \ln(M[\eta]). \quad (1)$$

Здесь V_R — удерживаемый объем, $[\eta]$ — коэффициент динамической вязкости. Если знать параметры (k_η, a) уравнения Марка—Куна

$$[\eta] = k_\eta M^a, \quad (2)$$

то этот переход несложен:

$$V_R = A - B \ln k_\eta - B(a+1) \ln M = C - D \ln M. \quad (3)$$

Здесь коэффициенты A и B определяют из универсальной калибровочной зависимости ГПХ (1), полученной по узкодисперсным полимерным стандартам (чаще всего полистирольным) с известными M и коэффициентами k_η и aB при применении для ГПХ растворителя. C и D — коэффициенты рабочей калибровки ГПХ, которая может быть получена непосредственно, если использовать полимерные стандарты с известным ММР.

Используя в качестве детекторов для ГПХ, наряду с проточным рефрактометром (для определения весовой концентрации), проточный вискозиметр (для определения $[\eta]$), можно определить ММР полимера при отсутствии его стандартов и при неизвестных константах Марка—Куна в использованном для ГПХ растворителе. При этой процедуре определяются также K_η и a для исследуемой системы полимер—растворитель, если известно ММР полимера.

Более простая процедура определения ММР неизвестного полимера получается при использовании комбинации ГПХ с рефрактометром и многоугловым лазерным нефелометром (Multiangle Laser Light Scattering Photometer — MALLS) [2]. Этот метод позволяет определить не только ММР полимера, но и распределение по размерам, а в случае разветвленного полимера — идентифицировать его разветвленность. Новые возможности анализа полимеров представляют сочетание ГПХ (с рефрактометрическим детектором) и Matrix Laser Desorption and Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry — MALDI MS [3]. Эта техника позволяет определять M и структурные особенности фракционируемых макромолекул.

Все эти возможности связаны с использованием дорогостоящей техники, которая однако не

обеспечивает фракционирование макромолекул, различающихся по химической структуре, но идентичных по размеру.

Здесь полезно использовать не ГПХ, а другие виды хроматографии, например адсорбционную, особенно удачно реализуемую в тонкослойном варианте [4].

Эти виды хроматографии можно рассматривать как "неидеальную" ГПХ, отличающуюся от "идеальной" ГПХ, при которой удерживаемый объем зависит только от соотношения размеров макромолекул (R) и размеров пор (r):

$$V_R = V_R(R/r). \quad (4)$$

Уравнение (4) может быть названо уравнением Касаса (Cassasa) [1], предсказавшего теоретически эту универсальную зависимость. Зависимость Касаса (4) отличается от зависимости Бенуа (1) своей универсальностью, поскольку она справедлива для любого макропористого сорбента, в то время как зависимость (1) можно использовать только для сорбента со строго определенным распределением пор по размеру.

Развитие представлений о "неидеальной" ГПХ, открытие соответствующих законов и использование "неидеальной" ГПХ в анализе полимеров с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и колоночной хроматографии были сделаны в наших работах, выполненных в ИВС АН СССР [5].

1. ПРОБЛЕМЫ ГПХ

При использовании "идеальной" ГПХ, в том числе и в двухдетекторном варианте, имеют значение два вопроса: как найти точное распределение пор по размеру, адекватному размеру макромолекул, и как учесть термодинамическое качество растворителя, определяющего набухание макромолекул, а в случае набухающего сорбента и степень его набухания, искажающего поровую структуру сорбента. Правильное разрешение этой проблемы позволяет решать как прямую задачу — определение распределения макромолекул по размеру на основании V_R и поровой структуры сорбента, так и обратную задачу — определение поровой структуры сорбента (хроматографическая порометрия), используя V_R и распределение макромолекул по размеру (на основании ММР полимера и констант Марка—Куна). Эти задачи "идеальной" ГПХ обычно решаются с помощью колоночной ГПХ.

Теперь рассмотрим "неидеальную" ГПХ. Здесь существенны три проблемы.

Первая проблема — это ГПХ гигантских макромолекул (с $M > 5 \cdot 10^6$ Да), где существенную роль играют следующие обстоятельства:

— Необходимость использования гигантских сорбентов, через поры которых протекает поток элюента, что приводит к

- уменьшению на величину протекаемого объема пор и

- к деструкции макромолекул, перемещающихся в каналах сорбента.

— Необходимость увеличения размеров зерен сорбента (который должен быть в 5–10 раз больше диаметра пор). Последнее ведет к

- увеличению сопротивления массопердаче (пропорционального квадрату диаметра зерна сорбента) и

- сильной неравновесности ГПХ, приводящей к зависимости V_R от скорости элюции.

Все это кладет естественный предел M макромолекул, доступных для ГПХ ($M \leq 5 \cdot 10^6 - 10^7$ Да).

Вторая проблема — это ГПХ при адсорбционном взаимодействии макромолекул с поверхностью пор сорбента [5]. При этом энергия адсорбционного взаимодействия макромолекулярного сегмента со стенкой пор ($-\varepsilon$) может варьировать от $-\varepsilon = -\infty$, когда пристеночный слой растворителя (толщиной в один сегмент) недоступен для сегментов макромолекулы, до $-\varepsilon = +\infty$, при которой наблюдается необратимая адсорбция. Можно выбрать (и в принципе рассчитать) критическую энергию $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}$, при которой для макромолекулярного сегмента термодинамически безразлично где находится: в объеме пор или в пристеночном слое. В этих условиях переход макромолекулы из межчастичного объема в поры сорбента не связан с изменением свободной энергии Гиббса ($-\Delta G = 0$), и поскольку при изменении $-\varepsilon$ состояние $-\Delta G = 0$ наступает у макромолекулы любой M одновременно ($-\varepsilon_{cr}$ не зависит от M), то ГПХ при $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}$ не фракционирует макромолекулы по M (размеру). Измеренный в этих условиях хроматографический коэффициент распределения $\ln k_d = \ln(V_p/V_0)$, где V_p и V_0 — объемы пор и межчастичного пространства, позволяет определить отношение V_p/V_0 :

$$k_d(-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}) = V_p/V_0. \quad (5)$$

Таким образом, измеренный хроматографически в критических условиях k_d может быть использован для определения V_p/V_0 слоя сорбента, а следовательно, и геометрического размера пор $V_p^{(r)}$. Характерно, что

$$\begin{aligned} V_p(-\varepsilon = -\infty) < V_p(-\varepsilon = 0) < \\ < V_p(-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}) < V_p(-\varepsilon > -\varepsilon_{cr}). \end{aligned} \quad (6)$$

При $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}$, когда макромолекулы не фракционируются по M , они как бы являются "хроматографическими невидимками". При $-\varepsilon > -\varepsilon_{cr}$ мы наблюдаем переход к адсорбционной хроматографии, когда $-\Delta G > 0$.

Так, в зависимости от величины $-\varepsilon$ наблюдаются три вида хроматографии:

- ГПХ при

$$-\varepsilon \in [-\infty, -\varepsilon_{cr}], (-\Delta G < 0);$$

- адсорбционная при

$$-\varepsilon \in [-\varepsilon_{cr}, +\infty], (-\Delta G > 0);$$

- критическая при

$$-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}, (-\Delta G = 0).$$

В первом случае имеет место монотонное убывание k_d от числа сегментов $N(M)$ макромолекулы ($\partial k_d / \partial N < 0$), во втором случае монотонное возрастание k_d от $N(M)$ — ($\partial k_d / \partial N > 0$), в критических условиях $k_d = 1$ для всех M . Переход макромолекулы от отрицательной адсорбции к неограниченной адсорбции в точке $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr} - 0$ представляет фазовый переход первого рода с характерными для него явлениями: резким изменением знака $-\Delta G$ (при достаточно большом N), коллапсе размеров макромолекулы. У гетерополимеров (блок- и привитых сополимеров, функциональных олигомеров) можно поставить в критические условия "хроматографической невидимки" одну из частей макромолекулы и определить ММР ее "видимой" части — одного из блоков, ветвей или основы привитого сополимера, функциональных групп олигомеров. Практически выгодно работать в следующих энергетических областях хроматографии: $-\varepsilon \rightarrow -\infty$ (ГПХ), $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr} - 0$ (докритические условия), $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr} + 0$ (околокритические условия), $-\varepsilon = -\varepsilon_{cr}$ (критические условия). Докритические и околокритические условия можно использовать для фракционирования олигомеров по M отдельно для каждого типа функциональности, а критические условия — для фракционирования сополимеров по M одной его части, в то время как другая часть (части) является "хроматографической невидимкой". Последнее возможно потому, что Гиббсова свободная энергия $-\Delta G$ представляет сумму его частей $-\Delta G_i$.

Третья проблема неидеальной ГПХ связана с отклонением от идеальности вследствие концен-

трационных эффектов — относительно небольших у обычных полимеров из-за уменьшения их размеров при увеличении концентрации и значительных при связанной с увеличением концентрации ассоциации макромолекул, подавления полиэлектролитного набухания, вязкостными эффектами, вызывающими деформацию и разрушение границ полимерных зон.

Последний эффект может моделировать прорыв воды через вязкий нефтяной слой в пористой среде при законтурном обводнении нефтяных скважин. С другой стороны, этот феномен может быть использован для определения хроматографической вязкости полимера из ТСХ-эксперимента [4].

2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДВУХДЕТЕКТОРНОЙ ГПХ С КОНЦЕНТРАЦИОННЫМ ДЕТЕКТОРОМ (РЕФРАКТОМЕТРОМ) И МНОГОУГЛОВЫМ ДЕТЕКТОРОМ СВЕТОРАССЕЯНИЯ

Вопрос интерпретации данных ГПХ — это прежде всего вопрос получения скорректированной на хроматографическое размывание гелехроматограммы:

$$F(V) = \int_{y_1}^{y_2} W(y)G(V, y)dy, \quad (7)$$

где $F(V)$ — гелехроматограмма, $W(y)$ — скорректированная на хроматографическое размывание гелехроматограмма, $G(V, y)$ — хроматограмма полимергомолога (функция размывания гелехроматограммы), y_1, y_2 — объемы удерживания, ограничивающие гелехроматограмму образца.

Функция $G(V, y)$ может представлять простую двухпараметрическую Гауссову функцию, а может быть, если добиваться наиболее точной коррекции хроматограммы, выражена четырехпараметрической асимметричной функцией. Выбор этой функции диктуется двумя обстоятельствами:

- необходимостью получения точных результатов ($W(y)$) и
- сложностью процедуры коррекции, представляющей при решении интегрального уравнения Фредгольма 1-го рода (к классу которых относится уравнение (7)) некорректную задачу. Подходы к этому выбору описаны в [1]. Процедуру коррекции хроматограммы той или иной сложности включают все ЭВМ-программы интерпретации гелехроматограмм.

Далее, имея скорректированную хроматограмму $W(y)$, необходимо получить калибровочную зависимость

$$V_R = V_R(M). \quad (8)$$

Наиболее эффективна для точности интерпретации линейная зависимость (3), если ее получить

для колонки, заполненной сорбентом, с линейной зависимостью V_R от M , используя значительное число полимерных стандартов. Погрешность подобной калибровки уменьшается пропорционально корню квадратному из числа стандартов. Поэтому наиболее эффективно для калибровки линейной ГПХ-колонки использовать бимодальные полистирольные (ПС) стандарты, созданные в ИВС РАН [6], и ГПХ-колонки с линейной калибровочной зависимостью, процедура получения которой также разработана в ИВС РАН [6].

Калибровочные колонки $V_R = V_R(M)$ — это основная проблема ГПХ. Ее просто решать, если обладать охарактеризованными по M узкодисперсными стандартами (фракциями) анализируемого полимера. Известны методы калибровки с использованием широкодисперсных фракций полимера с известным ММР. Существуют также методы калибровки на основе универсальной калибровочной зависимости Бенуа (1) и полимерных фракций с известными средними M (M_w , M_n) или характеристической вязкостью $[\eta]$ [1]. Выражения для средних масс (M_w , M_n) приводятся далее.

Создание высокочувствительных детекторов для ГПХ на основе фотометров (нефелометров)

рассеянного света решило проблему калибровки для гомополимеров, превратив ГПХ в абсолютный метод определения их ММР.

В семидесятых годах на рынке появился малоугловой лазерный детектор светорассеяния LALLS. Созданный в восьмидесятых годах многоугловой лазерный детектор светорассеяния MALLS представляет наиболее эффективный детектор для ГПХ на сегодняшний день. Этот детектор вместе с концентрационным детектором (рефрактометром) позволяет определять не только M полимера, но и распределение по размерам макромолекул. А сравнивая размер макромолекулы, характерный для линейного полимера определенной молекулярной массы и того же химического состава, с измеренным в ГПХ-эксперименте, можно определить индекс разветвленности

$$g_M = \left(\frac{\langle r_g^2 \rangle_{br}^{1/2}}{\langle r_g^2 \rangle_{lin}^{1/2}} \right)_M, \quad (9)$$

Методы определения ММ и ММР

Метод	Преимущества, возможности	Недостатки
Классическое светорассеяние	Определение: M , $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$, A_2 Нет деструкции высокомолярных полимеров	Не дает информации по ММР, распределению $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$. Ограничены возможности определения разветвленности, т.к. определяет M и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ только для узкодисперсных полимеров. Результаты искажаются присутствием пыли, высокомолярных агрегатов
Классическая ГПХ	Недорогой метод, позволяет получить точное ММР лин. полимеров, для которых имеются стандарты и константы Марка—Куна. Можно получить приближ. ММР по ПС-стандартам	Неэффективна при нечетком механизме ГПХ и разветвленных полимерах
GPC + LALLS	ММР без стандартов. Распредел. по $[\eta]$ из хроматограммы с универс. калибровкой и ММР полимера. Необязателен механизм ГПХ	Не дает информацию по распределению $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ из-за отсутствия информации по $I(\theta)$
ГПХ + вискозиметр	Измеряет распределение по $[\eta]$. При универс. калибровке определяет ММР.	Чувствительна к нарушению механизма ГПХ
GPC+MALDI TOF MS	То же, что метод 3, дает сведения о структуре молекул	Не дает информации по распределению $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$

где $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ — среднеквадратический размер макромолекулы (расстояние между ее концами), или радиус инерции, индексы br и lin относятся к разветвленной и линейной макромолекулам одного M . Поскольку размер более плотной разветвленной макромолекулы всегда меньше размера линейной макромолекулы соответствующей M , индекс разветвленности g_M меньше единицы.

В таблице приводится сравнение ГПХ—MALLS с другими методами определения M и ММР полимеров. Здесь не рассматриваются методы седиментации — диффузии [7] и лазерной корреляционной спектроскопии [8] — как дорогостоящие и недостаточно информативные для низкомолекулярной фракции полимеров.

3. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАСSEЯНИЯ СВЕТА ПОЛИМЕРНЫМИ РАСТВОРАМИ

Фундаментальная теория рассеяния света растворами полимеров изложена в работах Дебая и Зимма [9–11] и обобщена в руководстве [12]. Теоретические обоснования и приборное решение MALLS вместе с некоторыми полученными результатами изложены в обзоре Вьятта (Wyatt) [2].

Доступная информация о светорассеянии полимерными растворами изложена в монографии Кратохвила [13]. Математическое моделирование ГПХ с детекторами светорассеяния и вискозиметрическим детектором изложено в работе Яу и Джексона [14]. Анализ точности определения ММР с помощью ГПХ с "on-line" детектором светорассеяния сделан в работах Прохазки и Кратохвила [15, 16].

Интенсивность рассеяния света из единицы объема разбавленного полимерного раствора под углом θ определяется уравнением:

$$\frac{R_\theta}{K_c} = MP(\theta) - 2A_2CM^2P^2(\theta) + \dots, \quad (10)$$

где R_θ — избыток Релеевского отношения, $P(\theta)$ — функция рассеяния частицами, C — концентрация полимерного раствора (г/мл), M — молекулярная масса (вместо M можно использовать средневесовую молекулярную массу M_w в случае полидисперсных образцов), A_2 — второй вириальный коэффициент (мл·моль/г), K_c — константа, которая для вертикально поляризованного света имеет вид

$$K_c = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_A} \cdot (dn/dc)^2.$$

Здесь λ_0 — длина волны падающего луча в вакууме, n_0 — показатель преломления растворителя при данной длине волны, N_A — число Авогадро, dn/dc — инкремент показателя преломления полимера (может быть найден в литературе [17] или измерен непосредственно в эксперименте).

Избыток Релеевского отношения (сравнительно с растворителем) определяется следующим уравнением:

$$R_\theta = \frac{(I_\theta - I_{\theta, solvent})\rho^2}{I_0 V} = f \cdot \frac{I_\theta - I_{\theta, solvent}}{I_0},$$

где I_θ — интенсивность света (количество энергии, проходящей за единицу времени) в направлении под углом θ к падающему лучу, I_0 — интенсивность падающего (первичного) луча, $I_{\theta, solvent}$ — интенсивность рассеяния света растворителем, V — объем рассеивающего раствора, ρ — коэффициент рассеяния между рассеивающим объемом и детектором, f — калибровочная константа, связанная с геометрией инструмента. Размерность R_θ — $[L^{-1}]$ (cm^{-1}).

Второй вириальный коэффициент A_2 определяет термодинамическое качество растворителя для данного полимера, связанное с его растворимостью. Высокое положительное значение A_2 характеризует термодинамически хороший растворитель. Для большинства полимерных систем A_2 уменьшается с увеличением M :

$$A_2 \approx M^{-\theta}, \quad (11)$$

где $\theta \in [0.15, 0.35]$. Уравнение (11) иллюстрирует ухудшение растворимости с ростом M полимера.

Значение A_2 можно найти в литературе [17], или оно может быть измерено экспериментально DAWN-фотометром, используя стандартную диаграмму Зимма (см. дальше).

Функция рассеяния частицами (фактор рассеяния частицами) $P(\theta)$ описывает угловую зависимость интенсивности рассеяния света

$$P(\theta) = \frac{R_\theta}{R_0},$$

где R_θ и R_0 — соответственно избыток Релеевского отношения под углами θ и 0° . Для малых молекул (у которых максимальное расстояние между двумя точками частицы не превышает $\lambda/20$) угловая зависимость рассеяния света пренебрежимо мала и $P(\theta) = 1$ для всех углов рассеяния. Важное свойство $P(\theta)$ — его зависимость от размера частиц:

$$P(\theta) = 1 - \frac{16\pi}{3\lambda^2} \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right) \langle r_g^2 \rangle + \dots,$$

а для $\theta \rightarrow 0$

$$P^{-1}(\theta) = 1 + \frac{16\pi}{3\lambda^2} \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right) \langle r_g^2 \rangle + \dots,$$

где λ — длина волны падающего луча в данном растворителе ($\lambda = \lambda_0/n_0$), $\langle r_g^2 \rangle$ — средний квадрат радиуса макромолекулы.

Квадратный корень из среднего квадрата радиуса — радиус инерции $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ — описывает размер макромолекулы в растворе независимо от ее формы. Если разделить частицу на N независимых элементов равной массы (например, сегментов макромолекулы), то

$$r_g = \left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N r_i^2 \right)^{1/2},$$

где r_i^2 — квадрат расстояния i -го элемента от центра тяжести макромолекулы.

У гибкоцепного полимера каждая конформация имеет различные r_g , и отсюда только средняя величина r_g имеет практическое значение:

$$\langle r_g^2 \rangle^{1/2} = \left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \langle r_i^2 \rangle \right)^{1/2},$$

где $\langle r_i^2 \rangle$ — среднее квадрата расстояния i -го элемента от центра тяжести всех конформаций и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ — среднеквадратический радиус (в нм). Отметим, что среднеквадратический радиус не идентичен геометрическому радиусу.

Уравнение (10) можно записать в обращенной форме, которая приблизительно линейна относительно $\sin^2(\theta/2)$

$$\frac{K_c}{R_\theta} = \frac{1}{MP(\theta)} + 2A_2C + \dots \quad (12)$$

Эксперименты выполняются обычно при низких концентрациях, и членами с высшими степенями концентраций можно пренебречь.

Уравнение (10) — основа расчета в программе "ASTRA" (WYATT-программа для использования в DAWN-фотометре), но расчеты по уравнению (12) можно также выполнить, используя специальный модуль "ASTRA".

Чтобы определить M и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$, должна быть измерена концентрация образца (с помощью концентрационного детектора), построена зависи-

мость R_θ/K_c (или K_c/R_θ) от $\sin^2(\theta/2)$ и определены интерсепт при угле 0°

$$m_0 = d[R_\theta/K_c]/d[\sin^2(\theta/2)]$$

или

$$d[K_c/R_\theta]/d[\sin^2(\theta/2)].$$

При угле 0° $P(\theta)$ приближается к 1, M и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ могут быть получены из уравнения (10) или (12). Например, решив уравнение (12) для M , получим

$$M = \left(\frac{K_c}{R_\theta} - 2A_2C \right)^{-1},$$

а если $A_2=0$, то

$$M = \left(\frac{K_c}{R_\theta} \right)^{-1},$$

и для размера (радиуса инерции) молекулы

$$\langle r_g^2 \rangle^{1/2} = \frac{\sqrt{3}\lambda_0}{4\pi n_0} \sqrt{m_0 M}.$$

Если определены C_i , M_i и $\langle r_g^2 \rangle_i^{1/2}$ для каждого фрагмента хроматограммы, то можно определить их средние величины.

Среднечисленную M :

$$M_n = \frac{\sum C_i}{\sum C_i/M_i}.$$

Средневесовую M :

$$M_w = \frac{\sum C_i M_i}{\sum C_i}.$$

z-Среднюю M :

$$M_z = \frac{\sum C_i M_i^2}{\sum C_i M_i}.$$

Среднечисленный среднеквадратичный радиус:

$$\langle r_g^2 \rangle_n = \frac{\sum \langle r_g^2 \rangle_i C_i / M_i}{\sum C_i / M_i}.$$

Средневесовой среднеквадратичный радиус:

$$\langle r_g^2 \rangle_w = \frac{\sum \langle r_g^2 \rangle_i C_i}{\sum C_i}.$$

z-Средний среднеквадратичный радиус:

$$\langle r_g^2 \rangle_z = \frac{\sum \langle r_g^2 \rangle_i C_i M_i}{\sum C_i M_i}$$

Поскольку хроматограмма в ГПХ представляет суперпозицию хроматографических зон полимергомологов, каждый фрагмент хроматограммы содержит смесь полимергомологов. Вследствие этого M_i и $\langle r_g^2 \rangle_i$ в вышеуказанных уравнениях представляют соответственно средневесовые и z -средние величины. Следовательно, ГПХ с детектором светорассеяния имеет тенденцию завышать среднечисленные величины M и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$. Однако, используя высокоэффективные колонки для ГПХ, можно получать в каждом фрагменте хроматограммы очень узкие фракции полимергомологов и определять таким образом точные значения указанных средних величин.

Концентрация полимеров в каждом фрагменте хроматограммы определяется рефрактометрическим детектором. Для этого предлагаются три метода:

1. Массовый метод. Концентрация рассчитывается из массы пробы, отношения сигнал/показатель преломления R1-детектора (единиц рефракции на один вольт) и объема фрагмента хроматограммы. Метод позволяет рассчитать инкремент показателя преломления dn/dc , необходимый для расчета M .

2. dn/dc -метод не требует изменения массы пробы, но требует знания постоянной детектора ($U/R1$ -индекс).

3. Комбинированный метод использует массовый метод для расчета концентраций каждого фрагмента хроматограммы и dn/dc -метод для расчета M . Преимущество метода 3 — в отсутствии необходимости знать постоянную R1 детектора.

4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В этом разделе представлены экспериментальные результаты по применению GPC MALLS, описанные в работах [18, 19].

На рис. 1 показана гель-хроматограмма широкодисперсного образца полимера PS NBS 706, полученная с использованием ультрастирогельлинейных колонок, MALLS-детектора DAWN-F и рефрактометрического детектора Optilab 903 фирмы WYATT Technology Corporation при скорости элюента 1 мл/мин. Видно, что хроматограммы, полученные с разными детекторами, смещены вследствие последовательного движения элюата через MALLS и R1-детекторы. Величина этого смещения определяется с помощью узкодисперсного ПС-стандарта. Совместная работа двух детекторов при использовании ЭВМ-программы по-

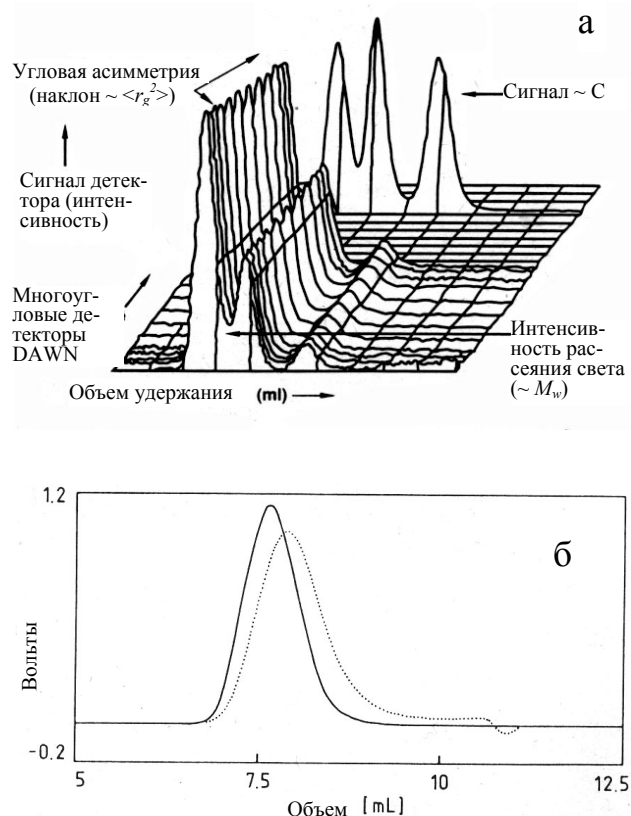


Рис. 1. Гель-хроматограммы полистирольного стандарта PS NBS 706. а — смещение R1 и MALLS-гельхроматограммы; б — R1 (точечная линия) и MALLS (сплошная линия)

зволяет определить M , $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ и фрагменты хроматограммы объемом 0.01 мл.

Эти результаты позволяют получить средние величины $\langle M \rangle$ и $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ полимеров.

На полученные результаты влияет величина второго вириального коэффициента A_2 . Это влияние, направленное в сторону завышения результатов, увеличивается с ростом M полимера (до 10 % для $M=3 \cdot 10^6$ Да). Последнее связано с зависимостью A_2 от M (11).

Зависимость M от объема удерживания различается у разных полимеров вследствие трех обстоятельств:

- различной молекулярной массы сегментов макромолекулы;
- различий в степени набухания макромолекулярного клубка;
- различий в его плотности вследствие разветвленности макромолекулярной цепочки.

Как указано выше, интенсивность рассеянного света определяется двумя уравнениями: (10) и (12). Уравнение (12) имеет преимущество линейности в более широком диапазоне M . При использовании же уравнения (10) необходимо при M

больше $5 \cdot 10^5$ Да применять полиномиальное выражение высшего порядка.

Определение размера макромолекулы

Размер макромолекулы — важная физическая характеристика, доступная для определения в GPC—MALLS эксперименте. Как указывалось выше, его можно определить из наклона зависимости R_θ / K_c от $\sin^2(\theta/2)$ или K_c / R_θ от $\sin^2(\theta/2)$ (рис. 2). Точность определения сильно зависит от соотношения сигнал/шум. Поэтому точно определяется только $\langle r_g^2 \rangle$ средней части ММР. Можно сравнить полученные таким образом результаты с результатами из уравнений Флори—Фокса [7]

$$\langle r_g^2 \rangle^{1/2} = \frac{1}{\sqrt{6}} \left(\frac{[\eta]M}{\Phi} \right)^{1/2} \quad (13)$$

и Птицына—Эйзнера [7]

$$\Phi = 2.86 \cdot 10^{21} \cdot (1 - 2.63\varepsilon + 2.86\varepsilon^2), \quad (14)$$

где $\varepsilon = (2a - 1)/3$, a — экспонента уравнения

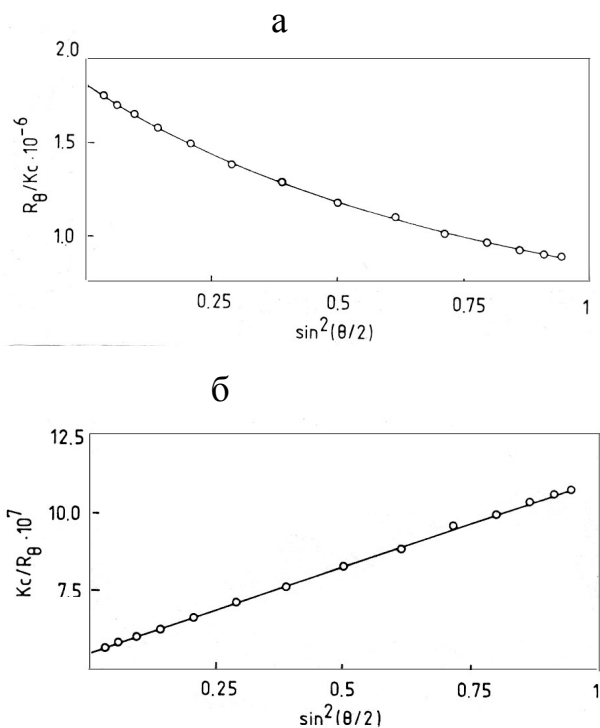


Рис. 2. Зависимость R_θ / K_c от $\sin^2(\theta/2)$ (а) и K_c / R_θ от $\sin^2(\theta/2)$ (б) для гель-хроматограммы полистирольного стандарта $M=1\ 840\ 000$

Марка—Куна (2). Здесь K_η и a — константы для данного полимера, растворителя и температуры. Обозначая $[\eta]$ в дл/г (1 дл/г=100 см³/г), получаем $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ в сантиметрах. Расхождения величин $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$, полученных методом MALLS и из $[\eta]$ по процедуре (13)–(14), не превышают 10 %. Нижний лимит определения $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ методом MALLS ≈ 10 нм.

Двойная экстраполяция результатов светорассеяния по θ и C показана на рис. 3, при малых концентрациях полимера можно ограничиться экстраполяцией только по θ (рис. 2).

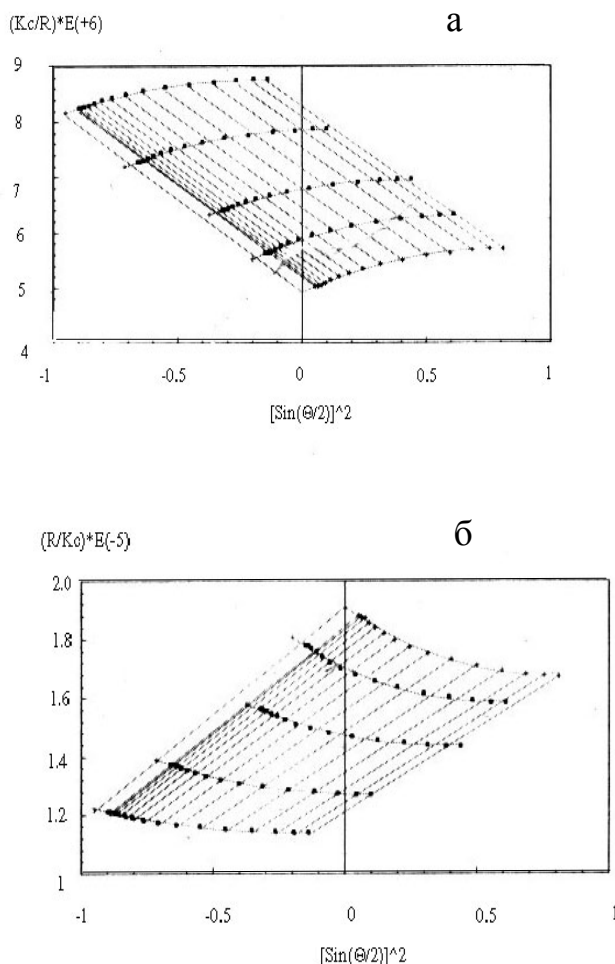


Рис. 3. Диаграммы двойной экстраполяции (по C и θ) Зимма (а) и Дебая—Берри (б), автоматически полученные с помощью программы "AVRORA" из пакета программ "DAWN"

Рис. 4 представляет логарифмические зависимости $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ от M . Для линейных полимеров (рис. 4, а) этот наклон равен 0.5–0.6. Для разветвленных (рис. 4, б) ≈ 0.38 . Если $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ представить как зависимость от V_R , можно определить средние величины $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$. Для широкодисперсного полистирольного стандарта PS NBS 706 эти величины составляют соответственно:

$$\langle r_g^2 \rangle_n^{1/2} = 12 \text{ нм},$$

$$\langle r_g^2 \rangle_w^{1/2} = 23 \text{ нм},$$

$$\langle r_g^2 \rangle_z^{1/2} = 29 \text{ нм}.$$

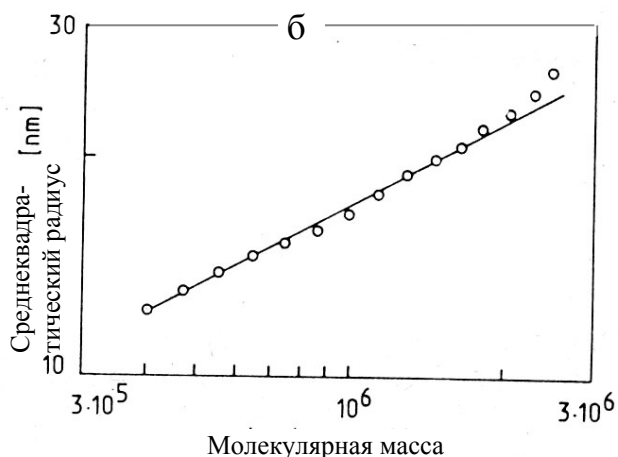
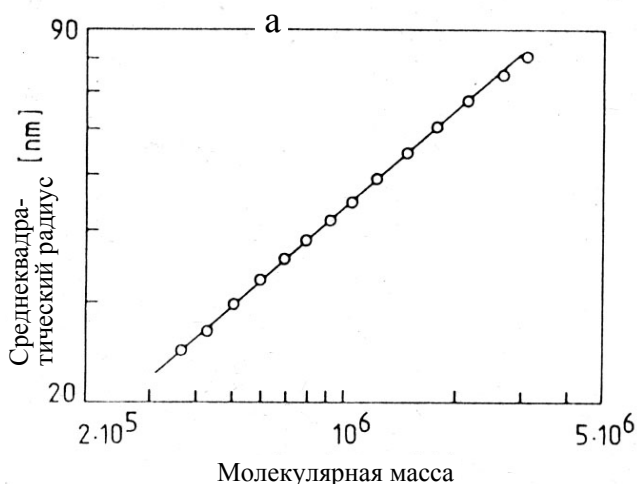
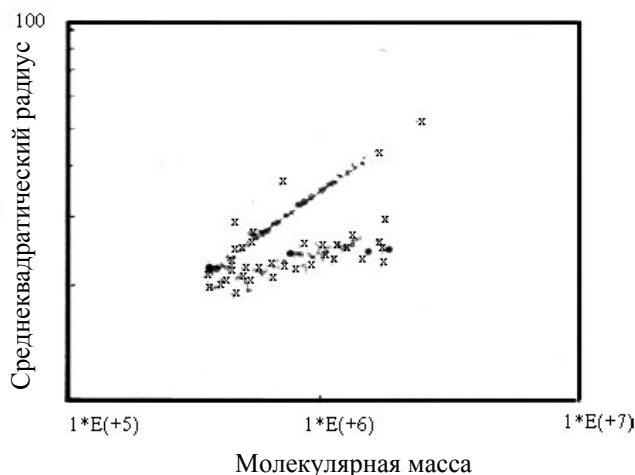


Рис. 4. Среднеквадратический размер макромолекулы как функции от M для ПММА (наклон 0.57) (а) и алкидной смолы (наклон 0.38) (б)

Характеристика разветвленности

При сопоставлении $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ линейных (lin) и разветвленных (br) макромолекул одной M и идентичного химического состава можно определить фактор разветвленности (9). g_M можно определить как функцию M . Поскольку разветвленные макромолекулы более компактны, чем линейные, g_M всегда меньше 1.

а



б

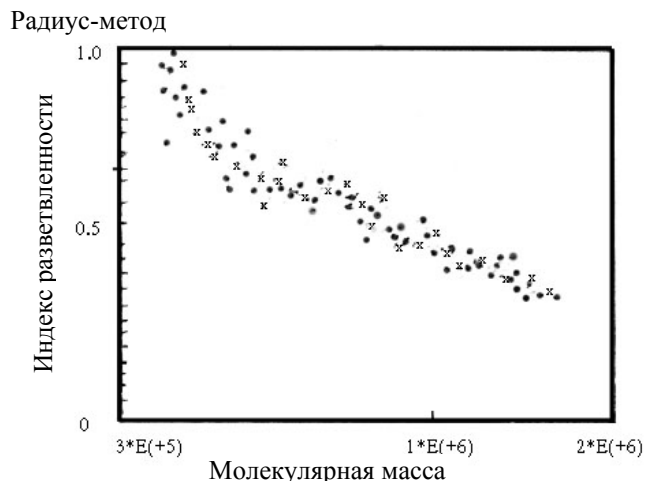


Рис. 5. Молекулярно-массовая (ММ) зависимость индекса разветвленности для линейного (x) и разветвленного (•) ПММА. а — ММ-зависимость $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$; б — ММ-зависимость g_M разветвленного ПММА. Программа "EASI" пакета программ "DAWN" позволяет рассчитать g_M , а также B_w — средневесовое число ветвлений в макромолекуле и среднюю длину ветвей при предположении типа ветвления

Наклон зависимости в $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ от M позволяет определить конформацию макромолекулы: при наклоне 0.5–0.6 — молекула разветвленная, при меньшем 0.5 (у сферы 0.33) — молекула клубкообразная, при наклоне, близком к 1, — палочковидная. Поскольку в ГПХ, особенно воднорастворимых полимеров, могут быть нарушения механизма хроматографии с наложением адсорбции при высокой M , лучше сопоставлять z -средний размер $\langle r_g^2 \rangle_z^{1/2}$ со средневесовой M — M_w . Рис. 5 показывает зависимость g_M от M полимера.

Другая возможность идентификации разветвленных макромолекул — это использование двойной логарифмической зависимости $[\eta]$ от M . Из универсальной калибровки Бенуа (1) и измерений M с помощью MALLS или LALLS можно определить $[\eta]$ как функцию M и вычислить средние величины $[\eta]$. Это определение идентично определению с помощью ГПХ с вискозиметрическим детектором. Используя универсальную калибровочную зависимость, можно определить при этом и M .

На рис. 6 показана зависимость $[\eta]$ от M для линейного ПММА (наклон 0.72). Рис. 7 показывает соответствующую зависимость для двух образцов феноксиполимера. Отклонение от линейности свидетельствует о наличии разветвленных молекул в этих образцах.

Рис. 8 показывает R1-хроматограммы и зависимость M (V_R) для двух образцов поли-(3-0-метакрилоил) глюкуроновой кислоты. Смещение зависимости указывает на разветвленность образца (●). Хроматограмма (○) смещена к низшим объемам элюции. В результате, при обычной ГПХ образец (●) был бы определен как более низкомолекулярный.

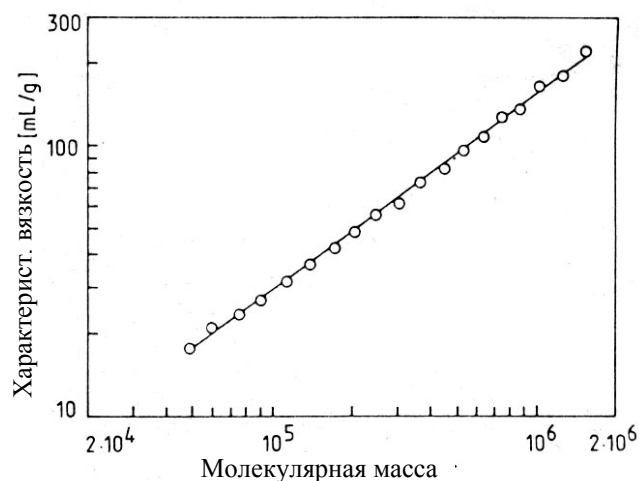


Рис. 6. Зависимость $[\eta]$ от M ПММА

Если имеется линейный стандарт полимера той же химической структуры и M , то параметр разветвленности может быть определен с использованием уравнения (11):

$$g_M = \left(\frac{M_{\text{lin}}}{M_{\text{br}}} \right)_{V_R}^{(a+1)/e},$$

где M_{lin} и M_{br} — молекулярные массы линейного и разветвленного полимеров, V_R — указывает на идентичный объем удерживания, a — экспонента

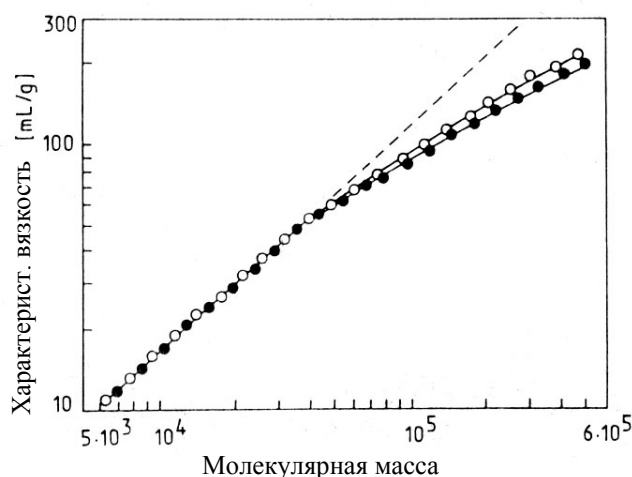


Рис. 7. Зависимость $[\eta]$ от M для феноксиимол UCAR PKHC (○) и UCAR PKHJ (●)

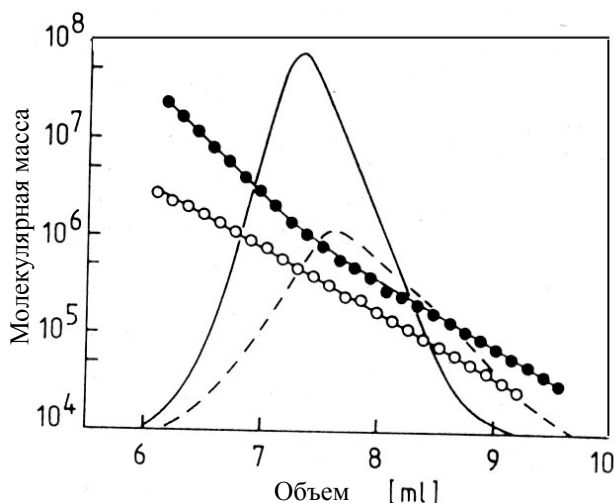


Рис. 8. M как функция U_R для двух образцов поли-(3-0-метакрилоил) глюкуроновой кислоты, совмещенная с R1 — ГПХ-хроматограммой

уравнения Марка—Куна (2) для линейного полимера, e — параметр протекания макромолекулы: $e \in [0.5, 1.5]$.

Рис. 9, а показывает интересный пример применения ГПХ с MALLS (90°) и R1-детекторами для этилового эфира поли-(2-(D)-глюкопиранозил-3-оксиметил) акриловой кислоты. С помощью MALLS-детектора получается бимодальная хроматограмма, а R1-детектора — унимодальная. Второй пик на MALLS-хроматограмме объясняется присутствием сильноразветвленных макромолекул или агрегатов в малых концентрациях, незаметных для R1-детектора (но детектируемых с высокой чувствительностью при использовании MALLS). Аналогичный пример — R1 и MALLS совмещенные программы смеси белков (рис. 9, б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинация ГПХ с MALLS-детектором обеспечивает:

— Определение ММР и получение средних M для калибровки колонок.

— Определение распределения макромолекул по размерам и моментов этого распределения.

— При универсальной калибровке колонок определение распределения по $[\eta]$ и коэффициентов Марка—Куна.

— Характеристику разветвленности макромолекул, используя зависимость $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ от M , $[\eta]$ от M и M от V_R , определение параметра разветвленности g_M как функции M .

— Высокочувствительное детектирование минорных высокомолекулярных фракций и агрегатов полимера.

— Исследование приборного уширения и деструкции полимеров при ГПХ.

— Получение полезной информации для интерпретации результатов обычной ГПХ (определения ММР и разделения по $\langle r_g^2 \rangle^{1/2}$ для реперных образцов исследуемых полимеров).

Другие варианты определения разветвленности макромолекул показаны в таблице.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Belenkii B.G., Vilenchik L.Z. Modern Chromatography of Macromolecules. Elsevier, Amsterdam, 1983. 450 p.
2. Wyatt P.J. // Anal. Chim. Acta. 1993. V. 272, N. 1. P. 1–40.
3. Chakel L. // International Laboratory. 1994, Nov.–Decemb. V. 24, N. 6. P. 21–28.

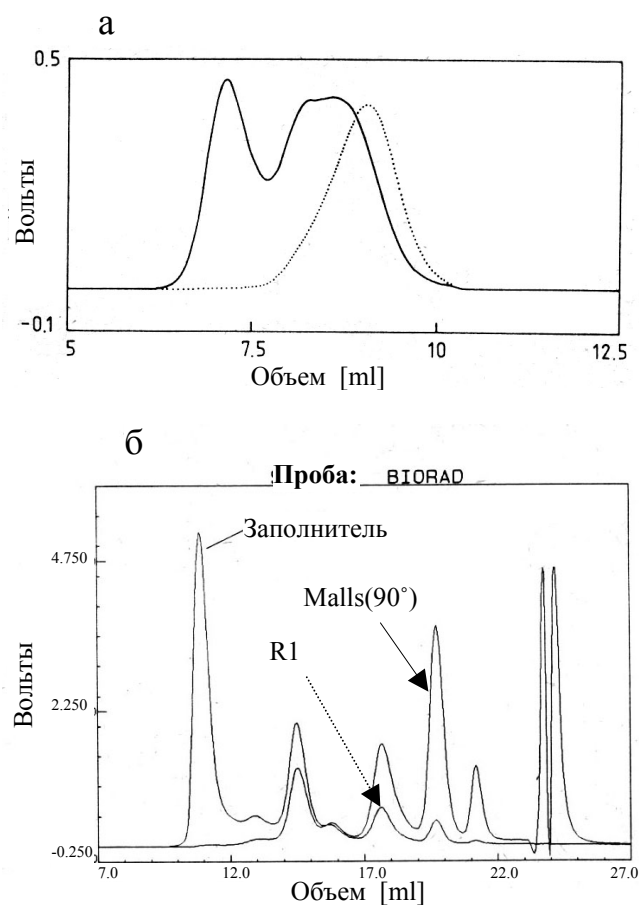


Рис. 9. Гель-хроматограммы. а — R1 (точечная линия) и MALLS (90°) (сплошная линия) этилового эфира поли-(2-D-глюкопиранозил-3-оксиметил) акриловой кислоты; б — то же для смеси белков

4. Gankina E.S., Belenkii B.G. // Handbook of Thin-Layer Chromatography / ed. J. Sherma and B. Fried. Marcel Dekker Inc., 1991. 1047 p.
5. Belenkii B.G. // Pure & Appl. Chem. 1979. V. 51, N. 7. P. 1519–1535.
6. Alexandrov M.L., Belenkii B.G., Gotlib V.A. and Kever E. // J. Microcol. Sep. 1992. N. 4. P. 385–392.
7. Цветков В.Н., Эскин В.Э., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. М.: Наука, 1964. 719 с.
8. Виленчик Л.З., Беленький Б.Г., Нестеров В.В. и др. // ДАН СССР. 1987. Т. 295. С. 119–121.
9. Debye P. // J. Appl. Phys. 1944. V. 15. P. 338–342.
10. Zimm B.H. // J. Chem. Phys. 1945. V. 13, N. 4. P. 141–145.
11. Zimm B.H. // J. Chem. Phys. 1948. V. 16. P. 1093–1099.

12. Эскин В.Э. Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул. Л.: Наука, 1986. 288 с.
13. Kratochvil P. Classical Light Scattering from Polymer Solutions // Polymer Science Library / A.D. Jenkins (ed). Elsevier, Amsterdam, 1987.
14. Jackson C. and Yau W.W. // J. of Chromatogr. A. 1993. V. 645, N. 2. P. 209–217.
15. Prochazka O. and Kratochvil P. // J. Appl. Polym. Sci. 1986. V. 31, N. 3. P. 919–928.
16. Prochazka O. and Kratochvil P. // J. Appl. Polym. Sci. 1987. V. 34, N. 6. P. 2325–2336.
17. Polymer Handbook (3rd ed) / J. Brandrup and E.H. Immergut (eds.). John Wiley & Sons, N.Y., 1989.
18. Podzimek S. // J. Polymer Sc. 1994. V. 54, N. 1. P. 91–103.
19. Wayatt Technology Corp. Application Notes.

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург*

Материал поступил в редакцию 22.11.2000.

**DETERMINATION OF MOLECULAR MASS, SIZE
AND BRANCHING BY DOUBLE-DETECTOR GPC.
USING GPC WITH A REFRACTOMETRIC DETECTOR
AND MULTIANGLE LASER NEPHELOMETER (MALLS)**

B. G. Belenkii

Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

Gel-permeation chromatography (GPC) is an important tool of polymer polydispersity analysis as a method for measuring polymer molecular mass distribution (MMD). Main types of GPC and their applications are considered.