

**В. Г. БЕЛЕНЬКИЙ
Л. З. ВИЛЕНЧИК**

ХРОМАТОГРАФИЯ ПОЛИМЕРОВ



МОСКВА
ИЗДАТЕЛЬСТВО
«ХИМИЯ» 1978

Беленький Б. Г., Виленчик Л. З.

Хроматография полимеров. — М.: Химия, 1978. — 344 с., ил.

В книге изложены современные представления об адсорбции и хроматографии синтетических высокомолекулярных веществ; рассмотрены теоретические и методические основы гель-проникающей и тонкослойной хроматографии полимеров; показана возможность применения этих методов для разделения олигомеров и полимеров, определения молекулярно-массового распределения, композиционной однородности сополимеров и др. В книге рассматриваются различные сочетания хроматографических и других методов, которые могут быть использованы для анализа сложных полимерных систем.

Книга предназначена для научных работников и инженеров-технологов, занимающихся синтезом высокомолекулярных соединений, изучением их свойств, технологией получения и переработки полимеров, а также преподавателям, аспирантам и студентам, специализирующимся как в области химии полимеров, так и в области физико-химического анализа веществ.

344 с., 19 табл., 163 рис., список литературы 485 ссылок.

Б $\frac{20505-041}{050(01)-78}$ 41-78

© Издательство «Химия», 1978 г.

Содержание

Предисловие	8
Введение	10
Л и т е р а т у р а	12
<i>Глава I. Теория хроматографии</i>	<i>13</i>
1.1. Характеристика хроматографического метода	13
1.2. Способы описания хроматографического процесса для некоторых конкретных хроматографических систем	16
1.3. Кинетика хроматографического процесса	18
1.4. Неравновесность хроматографического процесса	24
1.5. Метод статистических моментов в хроматографии	29
1.5.1. Изучение динамики размывания хроматографической зоны с помощью метода статистических моментов	31
1.5.1.1. Динамика расширения хроматографической зоны без явного выделения профиля скорости потока	31
1.5.1.2. Динамика расширения хроматографической зоны с учетом профиля скорости потока	35
1.5.1.3. Описание хроматографического процесса в трехфазной системе	36
1.6. Определение коэффициента продольной диффузии для различных систем уравнений, описывающих хроматографический процесс	37
1.7. Учет размывания, связанного с межфазным массообменом	40
1.7.1. Общее выражение для хроматографического размывания	40
1.7.1.1. Экстраколоночное размывание	44
1.8. Оптимизация хроматографических процессов	48
Л и т е р а т у р а	52
<i>Глава II. Современные представления об адсорбции полимеров из растворов</i>	<i>54</i>
II.1. Способы описания адсорбции изолированной макромолекулы	54
II.1.1. Метод множителей Лагранжа	55
II.1.2. Метод обобщенных производящих функций	56
II.1.3. Метод конечных цепей Маркова	56
II.1.4. Метод Монте-Карло	57
II.2. Особенности адсорбции изолированной макромолекулы	58
II.3. Экспериментальное изучение структуры адсорбционного слоя	67

II.4. Зависимость адсорбционного взаимодействия от химической природы сорбента, полимера и растворителя	70
II.4.1. Молекулярная теория адсорбции	71
II.4.2. Корреляционная теория адсорбционной хроматографии Снайдера	74
Л и т е р а т у р а	79

Глава III. Гель-проникающая хроматография полимеров (ГПХ) 81

III.1. Определение метода ГПХ	81
III.2. Сорбенты для гель-проникающей хроматографии	82
III.3. Подготовка хроматографических колонок	85
III.4. Растворители для ГПХ	88
III.5. Детекторы для ГПХ полимеров	90
III.5.1. Рефрактометрический детектор	92
III.5.2. Фотометрический (спектрофотометрический) детектор	94
III.5.3. Другие детекторы для жидкостной хроматографии	97
III.6. Жидкостные хроматографы для ГПХ	98
III.7. Развитие теоретических концепций в ГПХ	102
III.7.1. Модель эквивалентных сфер	103
III.7.2. Конформационная модель	108
III.8. Универсальная калибровочная зависимость в гель-проникающей хроматографии	110
III.9. Общее описание процесса ГПХ	113
III.10. Влияние конформационных изменений макромолекул при межфазных переходах на результаты ГПХ-анализа	114
III.11. Зависимость результатов ГПХ-анализа от концентрации раствора, его температуры и растворителя	118
III.12. Особенности гель-проникающей хроматографии линейных гибкоцепных полимеров на набухающих макропористых сорбентах	122
III.13. Оптимизация хроматографического режима в гель-проникающей хроматографии	131
Л и т е р а т у р а	136

Глава IV. Применение гель-проникающей хроматографии для анализа олигомеров и высокомолекулярных веществ 139

IV.1. Гель-проникающая хроматография олигомеров	139
IV.2. Гель-проникающая хроматография высокомолекулярных соединений	145
IV.3. Скоростная ГПХ полимеров	150
IV.4. Препаративная ГПХ	157
IV.5. Использование рецикла для повышения эффективности хроматографической системы	161
IV.6. Гель-проникающая хроматография полиэлектролитов	164

IV.7. Использование гель-проникающей хроматографии для изучения изомеризации, ассоциации и комплексообразования белков и определения их молекулярной массы	168
IV.7.1. Гель-проникающая хроматография изомеризующихся систем	169
IV.7.2. Гель-проникающая хроматография ассоциирующихся систем	176
IV.7.3. Гель-проникающая хроматография комплексообразующих систем	183
IV.8. Использование ГПХ для определения размеров пор сорбента	184
Л и т е р а т у р а	186

Глава V. Интерпретация данных гель-хроматографического анализа полимеров 189

V.1. Задачи интерпретации	189
V.2. Уровни интерпретации	190
V.3. Калибровочные зависимости в ГПХ	192
V.4. Калибровка хроматографа	195
V.4.1. Калибровка по узким стандартам	197
V.4.2. Калибровка по широким стандартам с известным ММР	198
V.5. Определение калибровочной зависимости с помощью линейных полидисперсных полимерных образцов с известными значениями среднемассовых и среднечисленных характеристик	199
V.6. Определение констант a и K_{η} уравнения Марка — Куна — Хауvinка по данным ГПХ-эксперимента	202
V.7. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров без коррекции хроматографических данных на «приборное уширение» (первый уровень интерпретации)	206
V.8. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров с учетом «приборного уширения», описываемого функцией Гаусса (второй уровень интерпретации)	209
V.9. Определение дисперсии хроматографического размытия	212
V.9.1. Экстремальный характер дисперсии	212
V.9.2. Определение дисперсии с учетом ММР калибровочных образцов	213
V.9.3. Приближенные методы определения дисперсии	214
V.9.4. Определение дисперсии с использованием ММР стандартов	215
V.10. Определение полидисперсности полимеров без предварительной калибровки прибора	216
V.11. Об оценке погрешности первого уровня интерпретации, связанной с «приборным уширением»	217
V.12. О принципиальной погрешности, допускаемой на втором уровне интерпретации данных ГПХ	219
V.13. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров с учетом асимметрии хроматограмм гомополимеров (третий уровень интерпретации)	221
V.14. Использование асимметричных функций для описания «приборного уширения» (четвертый уровень интерпретации)	223
V.15. О погрешности при определении молекулярных масс методом ГПХ	226
Л и т е р а т у р а	229

Глава VI. Сочетание гель-проникающей хроматографии с другими физико-химическими методами для анализа разветвленных и химически неоднородных полимеров 230

VI.1. Анализ разветвленных полимеров путем сочетания методов ГПХ и вискозиметрии	230
VI.1.1. Использование проточного вискозиметра	232
VI.1.2. Использование обычного (непроточного) вискозиметра	234
VI.2. Определение ММР разветвленных полимеров сочетанием методов ГПХ и вискозиметрии без постулирования модели ветвления	239
VI.3. Определение ММР разветвленных полимеров сочетанием методов ГПХ и седиментации	241
VI.4. Сочетание ГПХ с независимыми методами получения усредненных молекулярных характеристик	244
VI.5. Определение ММР статистических сополимеров сочетанием методов ГПХ, вискозиметрии, осмометрии, светорассеяния и пиролитической газовой хроматографии	246
VI.6. Комбинированные хроматографические методы анализа сложных полимерных систем с использованием гель-проникающей, тонкослойной и пиролитической газовой хроматографии	247
VI.6.1. Исследование смеси линейных и разветвленных полимеров методами гель-проникающей и тонкослойной хроматографии	247
VI.6.2. Определение полидисперсности блоксополимеров стирола и метилметакрилата с помощью гель-проникающей, тонкослойной и пиролитической газовой хроматографии	250
VI.6.3. Исследование привитых сополимеров целлюлозы с помощью гель-проникающей и тонкослойной хроматографии	251
Л и т е р а т у р а	252

Глава VII. Общая характеристика метода тонкослойной хроматографии 254

VII.1. Развитие метода и его особенности	254
VII.2. Математическое описание процесса ТСХ	256
VII.3. Основные закономерности тонкослойной хроматографии	258
VII.4. Полизональная и градиентная тонкослойная хроматография	265
VII.5. Количественная тонкослойная хроматография	267
VII.6. Методы количественного анализа тонкослойных хроматограмм, основанные на измерении распределения вещества в хроматографическом пятне	269
VII.6.1. Денситометрическое определение количества вещества в хроматографическом слое	270
VII.6.1.1. Способы сканирования при денситометрическом анализе тонкослойных хроматограмм	270
VII.6.2. Количественная тонкослойная хроматография на основе сканирующей флюориметрии	274
VII.6.3. Количественный анализ тонкослойных хроматограмм по размерам пятен	275

VII.6.3.1. Количественный анализ тонкослойных хроматограмм по размерам пятна при наличии эталонов анализируемых веществ	275
VII.6.3.2. Количественный анализ по размерам пятна в отсутствие эталонов хроматографируемых веществ	275
Л и т е р а т у р а	277

Глава VIII. Применение тонкослойной хроматографии для анализа полимеров 278

VIII.1. Развитие метода тонкослойной хроматографии и его разновидности	278
VIII.2. Адсорбционная тонкослойная хроматография полимеров	280
VIII.2.1. Адсорбционная ТСХ сополимеров	280
VIII.2.2. Адсорбционная ТСХ гомополимеров	288
VIII.2.3. Тонкослойная гель-проникающая хроматография (ТСГПХ)	289
VIII.3. Основные закономерности адсорбционной хроматографии полимеров	290
VIII.4. Осадительная и экстракционная тонкослойная хроматография полимеров	296
VIII.4.1. Особенности осадительной ТСХ полимеров	297
VIII.4.2. Образование ложных хроматографических зон при осадительной ТСХ полимеров	302
VIII.5. Зависимость формы хроматографического пятна при ТСХ от концентрации полимера	305
VIII.6. Исследование микроструктуры полимеров с помощью тонкослойной хроматографии	306
VIII.6.1. Изучение стереорегулярности полимеров	306
VIII.6.2. Разделение изомерных полибутадиенов и полиизопренов с помощью тонкослойной хроматографии	308
VIII.7. Тонкослойная хроматография блок- и привитых сополимеров	309
VIII.8. Тонкослойная хроматография олигомеров	312
VIII.8.1. Разделение олигомеров по функциональности	319
VIII.9. Способы определения молекулярно-массового и композиционного распределения полимеров по данным ТСХ	320
VIII.9.1. Фотометрический метод количественного анализа	321
VIII.9.2. Анализ распределения полидисперсного полимера по ширине хроматографической зоны	323
VIII.9.3. Расчет молекулярно-массовых распределений олигомеров по степеням полимеризации с использованием эквивалентных изображений тонкослойных хроматограмм	326
VIII.9.4. Количественное определение низкофункциональных примесей в олигомерах с помощью ТСХ	327
VIII.9.5. Использование сканирующего пламенно-ионизационного детектора для количественной ТСХ полимеров с разделением компонентов на отдельные зоны	329
Л и т е р а т у р а	330
З а к л ю ч е н и е	333
П р е д м е т н ы й у к а з а т е л ь	335

Предисловие

Механические, термические и реологические свойства полимерных материалов, определяющие режимы их переработки и эксплуатационные характеристики, в значительной мере зависят от полидисперсности полимеров, и прежде всего от их молекулярно-массового распределения (ММР) и композиционной (по химической структуре) однородности. Определение этих показателей при современном состоянии производства и постоянном увеличении выпуска полимерных материалов приобретает массовый характер, что настоятельно требует использования автоматических методов анализа.

Классические методы определения полидисперсности полимеров, такие, как дробное осаждение и растворение, из-за их громоздкости и невысокой точности не в состоянии обеспечить потребности массового анализа. Непригоден для этих целей и метод скоростной седиментации из-за сложности его аппаратуры (ультрацентрифуги) и невысокой производительности. Поэтому естественным выглядит обращение к хроматографическим методам анализа и фракционирования полимеров, при помощи которых возможно разделение самых сложных смесей в режимах, близких к автоматическим.

В настоящее время ММР полимеров обычно находят с помощью гель-проникающей хроматографии (ГПХ), композиционная однородность сополимеров определяется методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Успешное использование ГПХ при массовом определении ММР полимеров связано с высокой разделяющей способностью этого метода, большой производительностью (до 100 анализов в сутки), универсальной применимостью для любых типов полимеров и полной автоматизацией анализа, начиная с ввода пробы в хроматограф и кончая графическим изображением ММР и расчетом средних молекулярных масс, осуществляемых ЭВМ.

Тонкослойная хроматография дает возможность в течение нескольких десятков минут определять ММР полимеров, их поли-

дисперсность по составу и структуре, исследовать композиционную однородность сополимеров и стереорегулярность полимеров, анализировать блоксополимеры и находить ММР и функциональность олигомеров. Комбинация ГПХ и ТСХ позволяет исследовать сложные полимерные смеси с компонентами разного типа. Таким образом, современные хроматографические методы дают возможность исследовать любые типы полидисперсности полимеров и, тем самым, контролировать их качество.

Для широкого внедрения хроматографических методов анализа полимеров как наиболее эффективных средств контроля за их качеством в настоящее время имеются все предпосылки: разработаны высокоэффективные жидкостные хроматографы для ГПХ полимеров, макропористые стекла для наполнения хроматографических колонок, градуировочные полимерные стандарты и математическое обеспечение метода (алгоритмы и ЭВМ-программы для интерпретации результатов ГПХ при определении ММР полимеров).

Цель настоящей книги — оказать помощь в овладении методом хроматографии полимеров сотрудникам исследовательских и промышленных лабораторий нашей страны. В ней изложены основные хроматографические методы анализа полимеров: гель-проникающая и тонкослойная хроматография. Большое внимание уделено специфике хроматографии макромолекул и интерпретации хроматографических данных.

Ранние хроматографические методы фракционирования и анализа полимеров, такие, как осадительная хроматография Бейкера — Вильямса и элюирование в колонке без температурного градиента, в настоящее время развиваются мало. Они хорошо и достаточно полно описаны в ранее вышедших руководствах по фракционированию полимеров и поэтому в данной книге не рассматриваются.

Авторы надеются, что эта книга будет интересна не только для специалистов в области анализа полимеров, но и для широкого круга хроматографистов, поскольку применение хроматографии для анализа высокомолекулярных веществ обогатило и сам хроматографический метод, дав толчок к дальнейшему развитию его теории и аппаратуры.

Авторы благодарны сотрудникам ИВС АН СССР: Нефедову П. П., Нестерову В. В. и Мальцеву В. Г., экспериментальный материал которых они использовали, а также М. Б. Тенникову, совместно с которым написаны разделы II.1 и II.2, О. И. Куренбину, совместно с которым написан раздел IV.4, Ганкиной Э. С., совместно с которой написана гл. VIII, и Красновой Г. П., оказавшей помощь в подборе литературы к разделу IV.1.

Введение

Открытая в 1903 г. русским ученым М. С. Цветом [1] хроматография является разновидностью динамического сорбционного процесса в двухфазной системе, где смесь веществ, движущаяся вместе с потоком растворителя через пористую среду, разделяется на отдельные компоненты в соответствии с их сорбционной активностью. По типу подвижной фазы хроматография делится на газовую и жидкостную, а по разнообразию сорбентов, используемых в качестве неподвижной фазы, — на распределительную (жидкость наносится на инертный твердый носитель), адсорбционную (используется сорбент с развитой внутренней поверхностью), ионообменную (на ионитах) и гель-проникающую (на макропористых инертных сорбентах). Газовая хроматография (газо-адсорбционная, газо-жидкостная) применяется для разделения летучих веществ, жидкостная хроматография — для анализа и фракционирования термолабильных и нелетучих веществ.

Стремительное развитие биоорганической химии, физической химии полимеров и молекулярной биологии дало хроматографии новый объект исследований — высокомолекулярные соединения. Возникла необходимость в разделении синтетических полимеров и биополимеров, нуклеиновых кислот, белков, а также вирусов, фагов, рибосом и пр. Достигнутый в этом направлении успех позволил одному из крупнейших специалистов в области молекулярной биологии Френсису Крику сказать, что хроматография наряду с рентгеноструктурным анализом, электронной микроскопией и ультрацентрифугированием обеспечила все наиболее крупные успехи молекулярной биологии. Здесь следует особо выделить методы фракционирования биополимеров на ионообменных целлюлозах [2] и основанную на биоспецифической сорбции аффинную хроматографию [3].

Первым хроматографическим методом, использованным для фракционирования и анализа синтетических полимеров, была осадительная хроматография в варианте, предложенном Бей-

кером и Вильямсом [4], в котором фракционирование осуществлялось по механизму многостадийного последовательного растворения — осаждения. Измеряя количество полимера в полученных фракциях и находя их молекулярные массы, можно затем построить молекулярно-массовое распределение исследуемого образца. Однако такой анализ требует длительного времени (около месяца), он дорог и трудоемок, и поэтому непригоден для решения проблемы массового определения ММР полимеров. В настоящее время метод Бейкера — Вильямса используется главным образом для препаративных целей. Не нашел широкого применения и метод элюирования полимеров в колонке без температурного градиента, основанный на последовательном растворении полимерных фракций, нанесенных на твердую подложку [5]. Использование фронтальной адсорбционной хроматографии [6] также встретило значительные трудности.

Подлинный успех хроматографии полимеров связан с открытием в 1959 г. Поратом и Флодиным [7] гель-проникающей хроматографии, впервые использованной ими для фракционирования биополимеров на сшитых декстрановых гелях. В отличие от метода Бейкера — Вильямса фракционирование здесь осуществляется намного проще и быстрее вследствие диффузионного обмена макромолекулами между фазой пористого сорбента и свободным пространством хроматографической колонки, а молекулярно-массовые распределения получают автоматическим пересчетом хроматограмм в соответствии с характерной для данной хроматографической системы молекулярно-массовой зависимостью удерживаемых объемов.

Для анализа синтетических полимеров ГПХ была введена в практику в 1964 г. Муром [8], который использовал в качестве сорбента сшитые полистирольные гели и разработал хроматографическую методику эффективного функционирования на этих гелях полимеров с одновременным определением их молекулярно-массовых характеристик. В 1966 г. появились серийные жидкостные хроматографы для ГПХ полимеров.

Создание метода ГПХ разрешило все трудности, связанные с организацией массовых определений ММР, и позволило сделать этот анализ не только инструментом научных исследований, но и методом заводского и цехового контроля в промышленности полимеров.

Большой успех выпал на долю адсорбционной и осадительной хроматографии полимеров в тонкослойном варианте (ТСХ) [9—16]. Основополагающими здесь явились работы Инагаки с сотрудниками в Киотском университете [9—11] и Б. Г. Беленького и Э. С. Ганкиной в ИВС АН СССР [12—16]. Метод тонкослойной хроматографии оказался пригодным для разделения полимеров по молекулярной массе, составу, микроструктуре (в том числе по стереорегулярности), для определения молекулярно-массовых распределений и функциональности олигомеров.

Хроматографический анализ полимеров опирается на основные закономерности статистики и динамики сорбции [17], а также учитывает статистическую природу макромолекул, их сравнительно малую диффузионную подвижность и существенную полидисперсность полимерных образцов [18].

В настоящее время все большее развитие получают методы анализа полимеров, в которых различные хроматографические методики (ГПХ, ТСХ, ПГХ) комбинируются друг с другом и с вискозиметрическими, седиментационными и спектроскопическими методами анализа.

Литература

1. *Цетт М. С.* Труды и протоколы заседаний общества естествоиспытателей при Варшавском университете. Отд. биол., 1903, т. 14, с. 1—20.
2. *Peterson E. A., Sober H. A.* J. Am. Chem. Soc., 1956, v. 78, p. 751—755.
3. *Черкасов И. А.* «Успехи химии», 1972, т. 41, с. 1911—1934.
4. *Baker C. A., Williams R. J.* Chem. Soc., 1956, p. 2352—2362.
5. Фракционирование полимеров. Под ред. М. Кантова. Пер. с англ. Под ред. Н. С. Наметкина и А. Д. Литмановича. М., «Мир», 1971. 444 с.
6. *Claesson S.* Discuss. Far. Soc., 1949, № 7, p. 321—325.
7. *Porath J., Flodin P.* Nature, 1959, v. 183, p. 1657—1659.
8. *Moore T. C.* J. Pol. Sci., 1964, v. A2, p. 835—843.
9. *Inagaki H., Matsuda H., Kamiyama F.* «Macromolecules», 1968, v. 1, p. 520—525.
10. *Kamiyama F., Matsuda H., Inagaki H.* Makrom. Chem., 1969, Bd. 125, S. 286—290.
11. *Inagaki H., Miyamoto T., Kamiyama F.* J. Pol. Sci., 1969, v. B7, p. 329—333.
12. *Беленький Ю. Г., Ганкина Э. С., Туркова Л. Д.* В кн.: «Лекции 20-й школы по методам очистки и оценки чистоты мономеров и полимеров». Черноголовка, 1968. См. с. 216.
13. *Барановская И. А. и др.* В сб.: «Синтез, структура и свойства полимеров». Л., «Наука», 1970, см. с. 77.
14. *Беленький Б. Г., Ганкина Э. С.* ДАН СССР, 1969, т. 186, с. 857—859.
15. *Беленький Б. Г., Ганкина Э. С.* ДАН СССР, 1970, т. 194, с. 573—576.
16. *Belenky B. G., Gankina E. S.* J. Chromat., 1970, v. 53, p. 3—25.
17. *Рачинский В. В.* Введение в общую теорию динамики и сорбции хроматографии. М., «Наука», 1964. 136 с.
18. *Flory P.* Principles of Polymer Chemistry. Ithaca, N. Y., Cornell univ. press, 1953. 672 p.

Теория хроматографии

I. 1. Характеристика хроматографического метода

Для хроматографического разделения смесей используют колонки, заполненные гранулированным сорбентом, пластинки, покрытые тонким слоем сорбирующего вещества, пленки из пористых материалов и специализированные сорта бумаги.

Хроматографическая система состоит из подвижной и неподвижной фаз. Благодаря тенденции к термодинамическому равновесию, между фазами происходит обмен молекулами разделяемых веществ, осуществляемый направленными диффузионными потоками из одной фазы в другую и протекающий на фоне случайных перемещений молекул в каждой из фаз. В неподвижной фазе это перемещение носит исключительно тепловой характер, а в подвижной — связано также с гидро(аэро)динамическими условиями течения раствора (или газовой смеси).

При движении вдоль хроматографической системы молекулы разделяемых веществ проводят часть времени в неподвижной фазе (где их средняя скорость в направлении движения равна нулю), а часть — в подвижной (где они перемещаются со скоростью движения фазы). Переход молекул из подвижной фазы в неподвижную называют сорбцией, а обратный переход — десорбцией. При наличии адсорбционного взаимодействия молекулы адсорбируются на поверхности сорбента (в адсорбционной хроматографии). В отсутствие адсорбционного взаимодействия сорбция сводится к пребыванию молекул в неподвижной фазе (в случае пористого сорбента — в его поровом пространстве, как, например, в гель-проникающей хроматографии).

В зависимости от химической природы молекул, определяющей взаимодействие с сорбентом в условиях данного хроматографического эксперимента, и от соотношения их размеров с размерами пор сорбента, задающего вероятность попадания молекул в поровое пространство, молекулы хроматографируемых веществ проводят разное время в фазах хроматографической системы. Те из них, которые являются более сорбируемыми, проводят в неподвижной фазе больше времени, нежели менее сорбируемые.

В результате они медленнее движутся вдоль хроматографической системы, чем и объясняется разделение смесей на составляющие их компоненты в процессе хроматографирования.

Одновременно с этим происходит размывание зоны каждого компонента смеси. Оно является следствием теплового движения молекул, стохастичности (случайного характера) хроматографического процесса, его неравновесности и наличия продольного и поперечного профилей скорости потока в подвижной фазе. Если скорость размывания зон компонентов смеси меньше разности скоростей их перемещения вдоль хроматографической системы (что экспериментально легко достижимо), то их можно выделить из смеси хроматографическим путем. Сформулированное условие лежит в основе принципа хроматографического разделения веществ, и его выполнение необходимо для каждого хроматографического эксперимента.

Теория хроматографии основывается на физических закономерностях, связанных со стохастичностью хроматографического процесса и особенностями его гидро(аэро)динамики, кинетики и статики [1—9].

Стохастичность хроматографического процесса обусловлена вероятностным распределением молекул анализируемого вещества между фазами системы [6—8]. При этом в качестве функций распределения выступают нормированные соответствующим образом концентрации вещества в каждой из фаз. По соотношениям этих концентраций можно судить о вероятностях перехода молекул из одной фазы в другую. Если представить хроматографический эксперимент, в котором участвовала бы только одна молекула анализируемого вещества, стохастичность хроматографического процесса привела бы к тому, что на выходе из хроматографической системы эта молекула в каждом отдельном эксперименте появлялась бы не в один строго фиксированный момент времени, а с определенной вероятностью, закон распределения которой в точности повторил бы распределение молекул по временам выхода из системы в обычном эксперименте, когда одновременно хроматографируется не одна, а большое число одинаковых молекул.

Стохастичность хроматографического процесса позволяет проводить явное описание кинетики, при котором обмен молекулами между фазами системы выражается через вероятности их сорбции и десорбции. Пусть вероятность сорбции одной молекулы i -го сорта в единицу времени есть λ_i . В общем случае она является функцией концентрации:

$$\lambda_i = \lambda_i(c_i) \quad (1.1)$$

Если считать, что взаимодействия между молекулами нет, а их конкуренция при сорбции незначительна, то число молекул N_i , сорбирующихся в элементе объема ΔV хроматографической системы в течение времени Δt (т. е. переходящих в не-

подвижную фазу), пропорционально вероятности перехода одной молекулы, т. е. вероятности сорбции λ_i , их числу в этом объеме $\alpha \Delta V c_i$ и времени Δt :

$$N_i = \lambda_i(c_i) \alpha \Delta V c_i \Delta t \quad (1.2)$$

где α — доля подвижной фазы в элементе объема системы ΔV . При этом доля неподвижной фазы составляет: $\beta = 1 - \alpha$.

Аналогично для вероятности десорбции молекулы удобно ввести величину λ'_i . В общем случае она также может быть функцией концентрации:

$$\lambda'_i = \lambda'_i(c_i) \quad (1.3)$$

Число молекул N'_i i -го сорта, переходящих в элементе объема ΔV из неподвижной фазы в подвижную за время Δt

$$N'_i = \lambda'_i(c_i) \beta \Delta V c_i \Delta t \quad (1.4)$$

где c'_i — концентрация i -го компонента, усредненная по сечению неподвижной фазы.

Если сорбент состоит из сферических зерен с радиусом r_s , внутри которых сорбированные молекулы имеют определенное распределение

$$c_s = c_s(r; x, y, z; t)$$

величина c'_i определяется как

$$c'_i(x, y, z; t) = \frac{3}{r_s^3} \int_0^{r_s} c_s(x, y, z; t; r) r^2 dr \quad (1.5)$$

где x, y, z — координаты центра зерна сорбента; r — текущая переменная внутри зерна, $0 \leq r \leq r_s$.

Таким образом, разность ΔN_i между числом сорбированных и десорбированных молекул i -го сорта в единице объема за время Δt есть

$$\Delta N_i = \frac{N_i - N'_i}{\Delta V} = (\alpha c_i \lambda_i - \beta c'_i \lambda'_i) \Delta t \quad (1.6)$$

Разделив обе части равенства (1.6) на Δt , переходя к пределу при $\Delta t \rightarrow 0$ и учитывая, что неподвижная фаза занимает в ΔV долю β , получим уравнение, описывающее кинетику процесса сорбции — десорбции с помощью вероятностей λ_i и λ'_i [10]:

$$\beta \frac{\partial c'_i}{\partial t} = \alpha \lambda_i c_i - \beta \lambda'_i c'_i \quad (1.7)$$

В простейшем случае, когда вероятности λ_i и λ'_i не зависят от концентраций, говорят, что кинетика процесса линейная. При наличии зависимостей (1.1) и (1.3) кинетика становится нелинейной.

1.2. Способы описания хроматографического процесса для некоторых конкретных хроматографических систем

Для полноты описания хроматографического процесса к кинетическому уравнению (I.7) следует добавить уравнение баланса, учитывающее гидро(аэро)динамические особенности процесса:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= D_i \Delta c_i - (\vec{U} \nabla c_i) - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'_i}{\partial t} \\ \beta \frac{\partial c'_i}{\partial t} &= \alpha \lambda_i c_i - \beta \lambda'_i c'_i \end{aligned} \right\} \text{I.I}$$

где \vec{U} — скорость движения растворителя в каналах подвижной фазы колонки; D_i — коэффициент молекулярной диффузии в растворе молекул i -го сорта.

Перенос вещества в подвижной фазе и его конвективное перемешивание учитываются членом $(\vec{U} \nabla c_i)$, диффузионное размывание — членом $D_i \Delta c_i$, а массообмен между фазами — членом $(\beta/\alpha)(\partial c'_i/\partial t)$.

Систему уравнений I.I можно упростить, если поперечный перенос вещества в подвижной фазе (как диффузионный, так и конвективный) описывать с помощью коэффициента квазидиффузии $D_{r,i}$, считая, что вектор \vec{U} имеет только одну, отличную от нуля, составляющую U_x , зависящую лишь от расстояния до оси колонки ρ (рис. I.1). В этих условиях система I.I принимает следующий вид:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= D_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} + \frac{D_{r,i}}{R_k^2} \frac{1}{r_k} \frac{\partial}{\partial r_k} \left(r_k \frac{\partial c_i}{\partial r_k} \right) - \\ &- U(r_k) \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'_i}{\partial t} \\ \frac{\partial c'_i}{\partial t} &= \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i c_i - \lambda'_i c'_i \end{aligned} \right\} \text{I.II}$$

где R_k — радиус хроматографической колонки, $r_k = \rho/R_k$; $D_{l,i}$ — коэффициент диффузии, характеризующий размывание вещества только в продольном направлении.

Следует отметить, что в рамках системы I.II поперечная квазидиффузия играет положительную роль, несколько сглаживая размывание, вызванное наличием профиля скорости.

Описание хроматографического процесса можно сделать еще более простым, если скорость потока U считать постоянной как по сечению колонки, так и вдоль нее, а все отклонения от $U = \text{const}$ рассматривать как случайные и описывать их некоторым

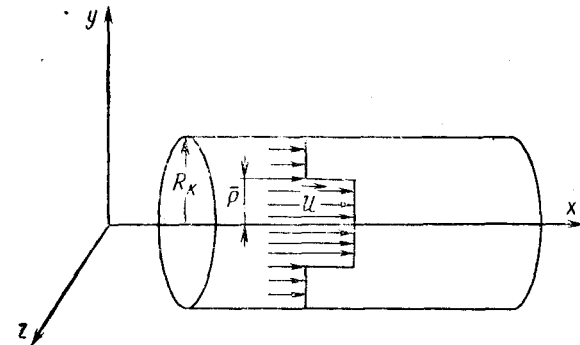


Рис. I.1. Условный профиль скорости потока \vec{U} в хроматографической колонке.

квазидиффузионным уравнением с коэффициентом продольной квазидиффузии $\tilde{D}_{l,i}$:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - U \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'_i}{\partial t} \\ \frac{\partial c'_i}{\partial t} &= \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i c_i - \lambda'_i c'_i \end{aligned} \right\} \text{I.III}$$

При этом надо помнить, что упрощение в описании хроматографического процесса с помощью систем уравнений I.II и I.III по сравнению с системой I.I достигнуто введением коэффициентов квазидиффузии, которые являются своеобразными параметрами хроматографической системы и выбранного режима работы. Эти коэффициенты подлежат предварительному определению, что представляет собой дополнительную задачу, решение которой можно рассматривать как «плату» за упрощения, введенные в систему уравнений I.I.

В тонкослойном варианте хроматографический процесс может быть описан системой уравнений I.IV, более простой, чем I.I:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} + D_i^* \frac{\partial^2 c_i}{\partial y^2} - U(x) \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'_i}{\partial t} \\ \frac{\partial c'_i}{\partial t} &= \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i c_i - \lambda'_i c'_i \end{aligned} \right\} \text{I.IV}$$

Как и в колоночном варианте, в эту систему можно не вводить профиль скорости потока в поперечных направлениях, т. е. в глубину слоя и по его ширине, учитывая размывание, вызываемое им, с помощью некоторых коэффициентов квазидиффузии D^* . Кроме того, в отличие от колоночного варианта здесь следует рассматривать размывание в двух направлениях (вдоль пластинки и по ее

ширине) и помнить об изменении скорости в продольном направлении, т. е. с точки зрения хроматографического размывания процесс ТСХ необходимо рассматривать как двухмерный.

1.3. Кинетика хроматографического процесса

Упрощения в описании хроматографического процесса, рассмотренные в предыдущем параграфе, связаны с различными моделями его гидро(аэро)динамики. Многие конкретные разновидности хроматографии допускают также упрощения и в описании кинетики процесса. При этом обмен молекулами анализируемого вещества между фазами хроматографической системы удобно рассматривать как гетерогенный процесс, понимая под гетерогенными превращениями, происходящими на границах раздела фаз. Гетерогенные процессы состоят из нескольких стадий. Первой из них является стадия переноса частиц, участвующих в процессе, к месту гетерогенного превращения. В хроматографии — это перенос молекул исследуемого вещества к границе раздела фаз в результате молекулярной диффузии и совокупности ряда гидро(аэро)динамических факторов. На второй стадии процесса происходит собственно гетерогенная реакция. В хроматографии — это сорбция-десорбция элюируемых молекул. Третья стадия заключается в отводе прореагировавших частиц от места реакции. В хроматографии — это отвод сорбированных или десорбированных молекул от границы раздела фаз. Суммарная скорость гетерогенного процесса контролируется скоростью наиболее медленной стадии. В том случае, когда медленной стадией является подача или отвод реагентов, говорят, что реакция характеризуется диффузионной кинетикой. Если наиболее медленной является стадия химического или физического превращения, то она и определяет скорость реакции. А когда скорость переноса реагентов и происходящих с ними превращений сравнимы между собой, говорят о гетерогенных реакциях смешанного типа. Большинство хроматографических процессов, в которых суть гетерогенного превращения состоит в переходе элюируемых молекул из подвижной фазы в неподвижную и обратно, характеризуются диффузионной кинетикой. В адсорбционной хроматографии этот переход сопровождается энергетическим взаимодействием с поверхностью сорбента.

Диффузия при хроматографических процессах в свою очередь подразделяется на две стадии: внешнюю и внутреннюю. На стадии внешней диффузии элюируемые молекулы перемещаются в подвижной фазе и, достигая ее границы, адсорбируются. На стадии внутренней диффузии они находятся внутри зерен сорбента. Среди хроматографических процессов, идущих по диффузионной кинетике, часто встречаются такие, в которых одна из рассмотренных стадий диффузии протекает значительно медленнее дру-

гой. В таком случае процесс лимитируется этой стадией и она определяет скорость сорбции. Для диффузии внутрь зерен характерно быстрое падение скорости сорбции. В начальной стадии процесса количество сорбируемого вещества пропорционально \sqrt{t} . Выполнение этого может быть одним из критериев применимости к процессу представления о внутренней диффузии как о его лимитирующей стадии.

К числу процессов, характеризующихся внутридиффузионной кинетикой, относится большинство ионообменных хроматографических процессов. При сорбции из газовой среды на пористом адсорбенте внутренняя диффузия играет дополнительную роль по сравнению с внешней диффузией, которую следует рассматривать как стадию, лимитирующую процесс.

В ряде хроматографических процессов скорости стадий внутренней и внешней диффузии сравнимы между собой, и кинетику процесса следует рассматривать как смешанную, т. е. лимитируемую обеими стадиями диффузии.

В хроматографии полимеров стадия, лимитирующая процесс, зависит от выбора системы полимер — сорбент — растворитель, пористости сорбента, доступности его внутренних областей для исследуемых макромолекул, величины их адсорбционного взаимодействия с поверхностью сорбента, скорости потока растворителя, концентрации раствора и температурного режима. Здесь о характере кинетики часто можно судить по коэффициенту распределения вещества между фазами хроматографической системы:

$$Kd = c'/c \quad (1.8)$$

где c и c' — средние (по сечению) концентрации вещества в подвижной и неподвижной фазах хроматографической колонки.

Малые его значения ($Kd \ll 1$) показывают, что поровое пространство сорбента либо почти недоступно для макромолекул (например, из-за малого размера пор или термодинамической несовместимости данных макромолекул с матрицей сорбента), либо оно само по себе невелико. В этом случае макромолекулы проводят в неподвижной фазе незначительную часть времени по сравнению со всем временем их пребывания в хроматографической системе. Поэтому при малых значениях Kd естественно ожидать, что кинетика хроматографического процесса лимитируется внешедиффузионной стадией. С возрастанием Kd роль этой стадии начинает уменьшаться, а внутридиффузионной увеличиваться. При значениях $Kd > 1$ стадия внутренней диффузии становится лимитирующей.

Рассмотренные кинетические особенности хроматографического процесса хорошо описываются уравнением (1.7). Входящие в него вероятности сорбции и десорбции представляют собой величины, обратно пропорциональные средним временам пребывания молекул в каждой из фаз хроматографической системы на протяжении

одного акта сорбции — десорбции. Следовательно, они определяют скорость межфазного массообмена на каждой из его стадий. Конечность величин λ_i и λ'_i отражает невозможность мгновенного перехода молекул из одной фазы в другую. Это означает, что уравнение (I.7) описывает хроматографический процесс с неравновесной кинетикой. В равновесном случае левая часть этого уравнения обращается в нуль и отношения вероятностей сорбции и десорбции оказывается пропорциональным коэффициенту распределения в равновесных условиях:

$$\frac{\lambda_i}{\lambda'_i} = \frac{\beta}{\alpha} \left(\frac{c'_{i, \text{равн}}}{c_{i, \text{равн}}} \right) \equiv \frac{\beta}{\alpha} K d_{i, \text{равн}} \quad (\text{I.9})$$

В отсутствие равновесия имеем

$$\frac{\lambda_i}{\lambda'_i} = \frac{\beta}{\alpha} \left(K d_i + \frac{1}{\lambda'_i} \cdot \frac{1}{c_i} \cdot \frac{\partial c'_i}{\partial t} \right) \quad (\text{I.10})$$

Так как функции $c_i(x, y, z, t)$ и $c'_i(x, y, z, t)$, описывающие распределение концентрации i -го компонента в процессе его хроматографирования, являются унимодальными как по временной, так и по пространственным координатам, для любого сечения хроматографической системы найдутся моменты времени, когда концентрации c_i и c'_i достигают своих максимальных значений в этом сечении и их производные $\partial c_i / \partial t$ и $\partial c'_i / \partial t$ обращаются в нуль. Это происходит не одновременно. Из равенства (I.10) видно, что при $\partial c'_i / \partial t = 0$ соотношение между вероятностями сорбции и десорбции становится эквивалентным равновесному (I.9). Когда же через выбранное сечение $f(x, y, z, t) = 0$ проходит максимум концентрации c_i , соотношение между λ_i и λ'_i иное:

$$\frac{\lambda_i}{\lambda'_i} = \frac{\beta}{\alpha} \left(K d_i + \frac{1}{\lambda'_i} \frac{\partial K d_i}{\partial t} \right) + K d_i \frac{1}{\lambda'_i c_i} \frac{\partial c_i}{\partial t} \rightarrow \frac{\beta}{\alpha} \left(K d_i + \frac{1}{\lambda'_i} \frac{\partial K d_i}{\partial t} \right) \quad (\text{I.11})$$

Первая часть равенства (I.11) получается из (I.10) заменой c'_i на $c_i K d_i$, а вторая следует из первой при $\partial c / \partial t = 0$.

Таким образом, можно сделать следующие выводы. Во-первых, для каждого сечения хроматографической системы (независимо от ее варианта: колоночного, тонкослойного или пленочного) существует момент времени, когда соотношение между потоками молекул из одной фазы системы в другую становится эквивалентным равновесному. До этого момента в данном сечении преобладает поток молекул из подвижной фазы в неподвижную и вероятность сорбции выше вероятности десорбции. После этого момента преобладающим становится поток из неподвижной фазы в подвижную, и вероятность сорбции становится меньше вероятности десорбции. Во-вторых, максимумы концентраций c_i и c'_i в подвижной и неподвижной фазах хроматографической системы смещены друг относительно друга, и для каждого фиксированного момента времени равновесный обмен молекулами между

фазами происходит в сечении системы, расположенном между этими максимумами. Поскольку максимум концентрации c_i опережает максимум c'_i , можно говорить, что концентрация вещества в неподвижной фазе, равновесная с концентрацией в подвижной фазе, отстает от нее по времени. Пусть химические потенциалы компонентов в каждой из фаз есть некоторые функции координат и времени $\mu_i = \mu_i(x, y, z, t)$ и $\mu'_i = \mu'_i(x, y, z, t)$. При равновесном процессе они равны. Запоздывание в установлении равновесия нарушает это равенство, трансформируя его в одно из следующих:

$$\mu'_i(x, y, z, t + \Delta t) = \mu_i(x, y, z, t) \quad (\text{I.12})$$

$$\mu_i(x + \Delta x, y, z, t) = \mu'_i(x, y, z, t) \quad (\text{I.13})$$

В уравнении (I.13) предполагается, что смещение равновесных концентраций происходит вдоль оси x . Так как по определению

$$\mu_i(c_i) = \mu_{0,i} + RT \ln \gamma_i c_i \quad (\text{I.14})$$

где $\mu_{0,i}$ и γ_i — средние значения стандартных химических потенциалов молекул и их коэффициентов активности; T — температура; R — универсальная газовая постоянная

то при условии $\gamma_i = \gamma'_i$ равенство (I.13) можно переписать следующим образом:

$$\frac{c_i}{c'_i} + \frac{1}{c'_i} \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \Delta x + \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \frac{(\Delta x)^2}{2} \right) \approx \exp \left[- \frac{\mu_{0,i} - \mu'_{0,i}}{RT} \right] \quad (\text{I.15})$$

Подставляя равновесные концентрации $c_i(x + \Delta x, t)$ и $c'_i(x, t)$ в кинетическое уравнение (I.7), найдем

$$\frac{\lambda'_i}{\lambda_i} \frac{\beta}{\alpha} = \frac{c_i}{c'_i} + \frac{1}{c'_i} \left[\frac{\partial c_i}{\partial x} \Delta x + \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \frac{(\Delta x)^2}{2} \right] \quad (\text{I.16})$$

Сопоставление равенств (I.15) и (I.16) дает:

$$\frac{\lambda'_i}{\lambda_i} = \frac{\beta}{\alpha} \exp \left[\frac{\mu_{0,i} - \mu'_{0,i}}{RT} \right] \quad (\text{I.17})$$

При хроматографии высокомолекулярных веществ разность $\mu'_{0,i} - \mu_{0,i}$ учитывает конформационные изменения, происходящие с макромолекулами при межфазном переходе, $\mu_{0,i}$ зависит от деформаций, которым макромолекулы могут подвергаться в каналах подвижной фазы, а множитель β/α показывает соотношение объемов фаз и зависит от пористости сорбента, размера его зерен, их формы и качества упаковки хроматографического слоя. Поскольку соотношение между вероятностями сорбции и десорбции определяет кинетику хроматографического процесса, из уравнения (I.17) следует, что характер последней зависит от соотношения объемов фаз системы и разности в этих фазах стандартных значений химических потенциалов анализируемых компонентов.

В случае внешнедиффузионной кинетики, когда лимитирующей стадией процесса является внешняя диффузия, межфазный массообмен регулируется главным образом разностью средней концентрации вещества в подвижной фазе c_i и ее значением c_i^* на границе раздела фаз. Кинетическое уравнение принимает следующий простой вид:

$$\frac{\partial c_i'}{\partial t} = k_i' (c_i - c_i^*) \quad (I.18)$$

где k_i' — кинетический параметр.

К этому уравнению можно прийти, исходя из уравнения (I.7), если принять, что

$$\frac{\beta}{\alpha} \frac{\lambda_i'}{\lambda_i} c_i' \equiv c_i^*$$

Тогда

$$\frac{\partial c_i'}{\partial t} = \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i c_i - \lambda_i' c_i' = \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i \left(c_i - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\lambda_i'}{\lambda_i} c_i' \right) \rightarrow k_i' (c_i - c_i^*)$$

где $k_i' \equiv (\alpha/\beta) \lambda_i$.

Величина $(\beta/\alpha)(\lambda_i'/\lambda_i) c_i'$ близка к концентрации на границе раздела фаз, а в равновесном случае ($\Delta x = 0$), согласно (I.16), становится тождественной ей.

Уравнение (I.18) обычно получали в модели пленочной кинетики [11]. При этом предполагали, что на протяжении тонкого слоя подвижной фазы, примыкающего к поверхности сорбента и имеющего толщину δ , имеется перепад концентрации от значения c_i до c_i^* , вследствие чего возникает диффузионный поток из подвижной фазы в неподвижную. Так как градиент концентрации определяет ее изменение во времени

$$dc_i(x, t) = -D_i S \frac{\partial c_i(x, t)}{\partial x} dt$$

то в случае линейной зависимости этого градиента от разности $(c_i - c_i^*)$

$$\frac{\partial c_i}{\partial x} \approx \frac{c_i - c_i^*}{\delta}$$

для изменения концентрации с изменением времени получается следующее выражение

$$-\frac{\partial c_i}{\partial t} = \frac{D_i S}{\delta} (c_i - c_i^*)$$

которое легко трансформируется в (I.18) заменой

$$-\frac{\partial c_i}{\partial t} = \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c_i'}{\partial t} \text{ и } \frac{\alpha}{\beta} \frac{D_i S}{\delta} \equiv k_i'$$

где D_i — коэффициент молекулярной диффузии; S — площадь поверхности неподвижной фазы в единичном объеме хроматографического слоя.

Приближенность кинетического уравнения (I.18) заключается в том, что оно отвечает стационарному процессу и вместо величины градиента концентрации у поверхности неподвижной фазы содержит разность средней концентрации c_i в каналах подвижной фазы и некоторого равновесного значения c_i^* на границе раздела фаз. Следовательно, уравнение (I.18) справедливо лишь в том случае, когда время диффузии через пленку $t = \delta^2/D_i$ много меньше времени изменения концентрации в подвижной фазе. При этом толщину пленки δ следует рассматривать как функцию скорости потока подвижной фазы.

Таким образом, для описания хроматографического процесса с внешнедиффузионной кинетикой вместо кинетического уравнения (I.7) можно использовать уравнение (I.18) (характеризующее межфазный массообмен), дополняя его уравнением межфазного равновесия:

$$c_i' = \psi(c_i^*) \quad (I.19)$$

где ψ показывает функциональную связь концентраций c_i' и c_i^* .

При этом полезно помнить, что уравнение (I.18) является частным случаем уравнения (I.7), а уравнение (I.19) представляет собой изотерму сорбции и в случае линейной изотермы принимает вид

$$c_i' = k_i c_i^* \quad (I.19a)$$

где k_i — коэффициент адсорбции i -го компонента.

Подставляя вместо уравнения (I.7) два этих уравнения в каждую из систем уравнений I.I—I.IV, получим более простые системы уравнений, например, вместо системы I.III—I.IIIa:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - U \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c_i'}{\partial t} \\ \frac{\partial c_i'}{\partial t} &= k_i' (c_i - c_i^*) \\ c_i' &= \psi(c_i^*) \end{aligned} \right\} \quad \text{I.IIIa}$$

При внутридиффузионной кинетике нельзя пользоваться средними по зерну концентрациями c_i' , а необходимо учитывать распределение концентраций компонентов внутри зерен сорбента $c_{s,i}(r)$. Поэтому система уравнений I.III должна быть изменена следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - U \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} S D_{s,i} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \Big|_{r=r_s} \\ \frac{\partial c_{s,i}}{\partial t} &= D_{s,i} \left(\frac{\partial^2 c_{s,i}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right) \\ c_{s,i} \Big|_{r=r_s} &= \varphi(c_i), \quad 0 \leq r \leq r_s \end{aligned} \right\} \quad \text{I.IIIб}$$

где r_s — радиус зерен сорбента, имеющих сферическую форму; $D_{s,i}$ — коэффициент диффузии молекул вещества внутри этих зерен; $\left. \frac{\beta}{\alpha} SD_{s,i} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right|_{r=r_s}$ — число молекул, переходящих через границу фаз (т. е. через поверхность зерен сорбента) с диффузионным потоком, регулирующим массообмен между фазами (этот член заменил $\partial c_i' / \partial t$ в первом уравнении системы I.IIIa).

Второе уравнение системы I.IIIб описывает диффузию в сферические зерна сорбента и позволяет при заданных начальных и граничных условиях вычислить концентрацию $c_{s,i}(r)$. Третье уравнение в I.IIIб, как и в случае системы I.IIIa, представляет собой изотерму сорбции.

В случае, когда роли стадий внешней и внутренней диффузии сравнимы между собой, в описании хроматографического процесса должна быть отражена связь между диффузионными потоками по обе стороны границы раздела фаз. В соответствии с этим система I.III должна принять следующий вид:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - U \frac{\partial c_i}{\partial x} - \left. \frac{\beta}{\alpha} SD_{s,i} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right|_{r=r_s} \\ \frac{\partial c_{s,i}}{\partial t} &= D_{s,i} \left(\frac{\partial^2 c_{s,i}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right) \\ \left. SD_{s,i} \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right|_{r=r_s} &= \left. SD_i \frac{\partial c_i}{\partial \tilde{r}} \right|_{\tilde{r}=r_c} \\ c_{s,i} \Big|_{r=r_s} &= \varphi(c_i) \Big|_{\tilde{r}=r_c} \end{aligned} \right\} \text{I. IIIв}$$

где r_c — радиус каналов подвижной фазы; D_i — коэффициент молекулярной диффузии i -го компонента; \tilde{r} — переменная координата внутри каналов подвижной фазы, $0 \leq \tilde{r} \leq r_c$, определяющая расстояние от оси канала.

Третье уравнение этой системы связывает диффузионные потоки (регулирующие массообмен) по обе стороны границы раздела фаз. Четвертое уравнение описывает изотерму сорбции. В нем вместо средней концентрации c_i по каналам подвижной фазы фигурирует концентрация у стенок каналов, которая вычисляется с помощью третьего уравнения системы.

1.4. Неравновесность хроматографического процесса

В зависимости от условий эксперимента система I.IIIв может трансформироваться в системы I.IIIa и I.IIIб. Для каждой из этих модификаций характерна одна общая черта: все они описывают хроматографический процесс с учетом его неравновесности. Степень отклонения от неравновесности может быть разной, а в качестве ее меры удобно использовать либо смещение Δx равновесных концентраций в подвижной и неподвижной фазах в фиксированный момент времени, либо смещение этих концент-

ций во времени Δt в фиксированном сечении хроматографической системы, как это сделано в формулах (I.12, I.13). Подобные оценки лежат в основе «концепции запаздывания» в установлении термодинамического равновесия в хроматографическом процессе. В рамках этой концепции возможна еще одна модификация системы уравнений I.III, приводящая к упрощению описания хроматографического процесса.

Впервые «концепцию запаздывания» в хроматографии предложили С. Е. Бреслер и Я. С. Уфлянд в 1953 г. [12], а позднее, в 1959 г., она была использована Гиддингсом [13] для построения оригинальной теоретической схемы неравновесной кинетики распределительной, адсорбционной и адсорбционно-распределительной хроматографии.

В соответствии с «концепцией запаздывания» на любом элементарном участке хроматографической системы равновесие между фазами устанавливается по истечении некоторого времени τ_i . Поэтому концентрация вещества в неподвижной фазе c_i' в момент времени t должна быть равновесна с концентрацией c_i в подвижной фазе этого же участка, которая была здесь в более ранний момент времени $t' = t - \tau_i$, т. е.

$$c_i'(x, t) = \frac{\alpha}{\beta} k_i c_i(x, t - \tau_i) \quad (\text{I.20})$$

Так как за время τ_i зона с концентрацией c_i сместится вдоль хроматографической системы на расстояние

$$\Delta x = U \tau_i \quad (\text{I.21})$$

где U — скорость потока подвижной фазы

то

$$c_i'(x, t) = \frac{\alpha}{\beta} k_i c_i(x + U \tau_i, t) \quad (\text{I.22})$$

Если неравновесность процесса не очень велика, т. е. оценивается при временах эксперимента t , для которых $\tau_i \ll t$, или, что то же

$$U \tau_i \ll x$$

где x — расстояние, пройденное хроматографической зоной к моменту времени t

то, разлагая равенство (I.22) в ряд и пренебрегая величинами второго порядка малости относительно $U \tau_i$, можно записать:

$$c_i'(x, t) = \frac{\alpha}{\beta} k_i \left[c_i(x, t) + U \tau_i \frac{\partial c_i(x, t)}{\partial x} \right] \quad (\text{I.23})$$

Очевидно, что уравнение (I.23) аналогично уравнению (I.16), которое с учетом (I.21) может быть переписано следующим образом:

$$c_i'(x, t) \approx \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda_i'} \left[c_i(x, t) + U \tau_i \frac{\partial c_i(x, t)}{\partial x} \right] \quad (\text{I.24})$$

Таким образом, мы приходим к еще одной возможности описания хроматографического процесса:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \tilde{D}_{l,i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - U \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'_i}{\partial t} \\ c'_i(x, t) &= \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \left(c_i + U \tau_i \frac{\partial c_i}{\partial x} \right) \end{aligned} \right\} \text{I.11a}$$

Как уже отмечалось, неравновесность приводит не только к относительному смещению равновесных концентраций, но и к отличию коэффициента распределения в точках максимумов распределений веществ в каждой из фаз от его равновесного значения. Так, в соответствии с (I.16) имеем:

$$Kd_i(x, t) = \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \left\{ 1 + \frac{1}{c_i} \left[\frac{\partial c_i}{\partial x} U \tau_i + \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} \right] \right\} \quad (\text{I.25})$$

Из уравнения (I.25) видно, что в максимуме распределения вещества в подвижной фазе, где $\partial c_i / \partial x = 0$, Kd_i отличается от своего равновесного значения (I.9) на величину

$$\frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \frac{1}{c_i} \frac{\partial^2 c_i(x, t)}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} < 0$$

и равен:

$$Kd_{i, \text{макс}} = \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \left[1 + \frac{1}{c_i} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} \right] \quad (\text{I.26})$$

Поскольку вторая производная в максимуме всегда отрицательна, из (I.26) следует, что

$$Kd_{i, \text{макс}} < Kd_{i, \text{равн}} \quad (\text{I.27})$$

Исходя из равенства (I.16), легко показать, что

$$Kd'_{i, \text{макс}} = \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \left[1 - \frac{1}{c'_i} \frac{\partial^2 c'_i}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} \right] > Kd_{i, \text{равн}} \quad (\text{I.28})$$

Неравенства (I.27) и (I.28) позволяют сделать следующий вывод: в процессе хроматографирования зона анализируемого вещества расслаивается на две области, одна из которых, принадлежащая неподвижной фазе, отстает от другой, принадлежащей подвижной фазе; причиной этого расслоения является неравновесность хроматографического процесса, от которой зависит «степень расслоения» зоны и мерой которой может служить «время запаздывания» τ_i . Очевидно, что в точке x_0 , удовлетворяющей условиям

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial x} U \tau_i + \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} &= 0 \\ \frac{\partial c'_i}{\partial x} U \tau_i + \frac{\partial^2 c'_i}{\partial x^2} \frac{(U \tau_i)^2}{2} &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (\text{I.29})$$

коэффициент распределения является равновесным

$$Kd_i = \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \frac{\alpha}{\beta} \equiv Kd_{i, \text{равн}} \quad (\text{I.30})$$

Позади этой точки ($x < x_0$) справедливо неравенство

$$Kd_i > Kd_{i, \text{равн}}$$

впереди ($x > x_0$) — неравенство

$$Kd_i < Kd_{i, \text{равн}}$$

Это находится в соответствии с тенденцией к установлению термодинамического равновесия между фазами, которое приводит к преимущественному переходу молекул хроматографируемого вещества из неподвижной фазы в подвижную в области, где

$$Kd_i > Kd_{i, \text{равн}}$$

(т. е. в хвосте зоны), и к обратному переходу в области, где

$$Kd_i < Kd_{i, \text{равн}}$$

(т. е. в окрестности переднего фронта).

Неравновесность хроматографического процесса приводит к асимметрии распределений $c_i(x, t)$ и $c'_i(x, t)$ и их смещению относительно друг друга. При этом равновесный коэффициент распределения (I.30) определяется отношением вероятностей сорбции и десорбции и соответствует точке хроматографической зоны, удовлетворяющей условию (I.29) и лежащей между максимумами распределений вещества в каждой из фаз хроматографической системы.

Для оценки неравновесности процесса нужно определить «время запаздывания» τ_i . С этой целью найдем решение кинетического уравнения (I.7), считая, что вероятности сорбции и десорбции не зависят от концентраций c_i и c'_i :

$$\frac{\partial c'_i(x, t)}{\partial t} = \frac{\alpha}{\beta} \lambda_i c_i(x, t) - \lambda'_i c'_i(x, t) \quad (\text{I.7a})$$

В качестве начального условия выберем

$$c'_i(x, 0) = Kd_{i, \text{равн}} c_i(x, 0) \quad (\text{I.31})$$

которое предполагает, что в начальный момент времени $t = 0$ вещество распределено между фазами системы таким образом, что между ними установилось термодинамическое равновесие.

Решение уравнения (I.7) с начальным условием (I.31) есть

$$c'_i(x, t) \approx Kd_{i, \text{равн}} \left[c_i(x, t) - \frac{\partial c_i(x, t)}{\partial t} \frac{1}{\lambda'_i} \right] \quad (\text{I.32})$$

где использовано равенство (I.30) и отброшены члены, содержащие $1/\lambda_i$ в степени, большей двух*.

Правую часть уравнения (I.32) можно рассматривать как разложение в ряд функции $c_i(x, t - 1/\lambda_i)$, поэтому

$$c'_i(x, t) \approx K d_{i, \text{равн}} c_i(x, t - 1/\lambda_i) \quad (I.33)$$

Смысл этого равенства раскрывается при сравнении его с уравнением (I.31): в неравновесных условиях процесс протекает таким образом, как будто имеет место запаздывание в установлении равновесия на время $1/\lambda_i$. Другими словами, в момент времени $(t - 1/\lambda_i)$ концентрация i -го компонента в сечении подвижной фазы с координатой x равновесна с его концентрацией в неподвижной фазе в этом же сечении в момент t . Следовательно, время запаздывания τ_i , введенное равенствами (I.20—I.21), есть величина, обратная вероятности десорбции:

$$\tau_i = 1/\lambda_i^* \quad (I.34)$$

Для отыскания этой величины рассмотрим диффузию молекул внутри сферических зерен сорбента радиуса r_s

$$\frac{\partial c_{s,i}}{\partial t} = D_{s,i} \frac{1}{r^2} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial c_{s,i}}{\partial r} \right) \quad (I.35)$$

Начальное и граничное условия для уравнения (I.35) следующие:

$$c_{s,i}(r, 0) = 0 \quad (I.36)$$

$$c_{s,i}(r_s, t) = c_i(t) \quad (I.37)$$

где $c_i(t)$ — концентрация i -го компонента в каналах подвижной фазы в момент времени t .

Число молекул i -го сорта, проникших в сорбент к моменту времени t , определится выражением

$$N_i(t) = 4\pi \int_0^{r_s} c_{s,i}(r, t) r^2 dr \quad (I.38)$$

которое при подстановке $c_{s,i}(r, t)$, найденного из решения уравнения (I.35), принимает вид [12]:

$$N_i(t) \approx 4/3\pi r_s^3 c_i(t - \tau_i) \quad (I.39)$$

где

$$\tau_i = r_s^2 / 15 D_{s,i} \quad (I.40)$$

Равенство (I.40) позволяет сделать вывод, что в момент времени t сорбент содержит такое количество вещества, которое было равновесно с концентрацией $c_i(t - \tau_i)$ в момент времени $t - \tau_i$.

* Такое приближение возможно, так как $1/\lambda_i^*$ есть среднее время одного акта десорбции, которое много меньше времени t формирования рассматриваемого концентрационного профиля $c_i(x, t)$.

В соответствии с уравнениями (I.34) и (I.40) для вероятности десорбции из сферических зерен сорбента радиуса r_s можно записать:

$$\lambda_i^* = 15 D_{s,i} / r_s^2 \quad (I.41)$$

I.5. Метод статистических моментов в хроматографии

Все закономерности хроматографического процесса могут быть изучены путем решения систем дифференциальных уравнений I.I—I.IV. Однако этот путь очень трудоемок и далеко не всегда может быть реализован. В то же время существует альтернативный способ, позволяющий изучать особенности процесса, находя для систем I.I—I.IV статистические моменты, характеризующие распределение вещества вдоль хроматографической системы и на выходе из нее. При этом можно находить моменты $\mu_k(t)$ распределения в каждой из фаз системы по координатам в фиксированный момент времени и моменты $\mu_k(x)$ распределений во времени для фиксированных значений координат:

$$\left. \begin{aligned} \mu_k(t) &= \int_{-\infty}^{+\infty} x^k c_k(x, t) dx \\ \mu'_k(t) &= \int_{-\infty}^{+\infty} x^k c'_k(x, t) dx \end{aligned} \right\} \quad (I.42)$$

$$\left. \begin{aligned} \mu_k(x) &= \int_0^{\infty} t^k c_k(x, t) dt; \quad k=0, 1, 2, 3 \dots \\ \mu'_k(x) &= \int_0^{\infty} t^k c'_k(x, t) dt \\ c_0 &= c; \quad c'_0 = c'; \quad c_{k \neq 0} = c/\mu_0; \quad c'_{k \neq 0} = c'/\mu'_0 \end{aligned} \right\} \quad (I.43)$$

Моменты, определенные таким образом, называются начальными.

Часто удобно пользоваться центральными моментами распределений $M_k(t)$ и $M_k(x)$:

$$\left. \begin{aligned} M_k(t) &= \int_{-\infty}^{+\infty} [x - \mu_1(t)]^k c_k(x, t) dx \\ M'_k(t) &= \int_{-\infty}^{+\infty} [x - \mu'_1(t)]^k c'_k(x, t) dx \\ M_k(x) &= \int_0^{\infty} [t - \mu_1(x)]^k c_k(x, t) dt \\ M'_k(x) &= \int_0^{\infty} [t - \mu'_1(x)]^k c'_k(x, t) dt \end{aligned} \right\} \quad (I.44)$$

$k = 2, 3 \dots$

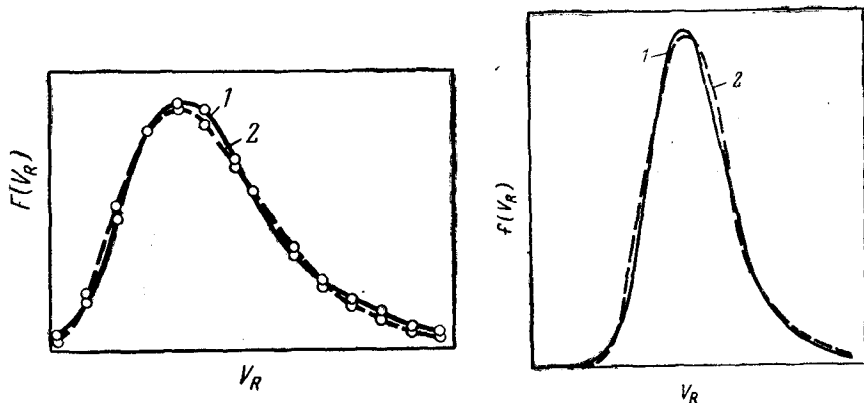


Рис. 1.2. Аппроксимация решения $F(V_R)$ системы уравнений I.3a (1) распределением Пирсона типа VI (2).

Рис. 1.3. Аппроксимация хроматограммы $f(V_R)$ узкодисперсного полимерного стандарта (полистирол в толуоле; $M_w = 98\,200$, $M_w/M_n \leq 1,1$) распределением Пирсона типа VI: 1 — экспериментальная кривая; 2 — теоретическая кривая.

Во многих случаях, когда известен тип распределений, сами распределения можно восстановить по значениям их статистических моментов. Именно такая ситуация имеет место в хроматографии. Анализ систем уравнений I.I—I.IV методами математической статистики, проведенный с помощью ЭВМ [14] (рис. 1.2), показывает, что все унимодальные хроматографические распределения с большой степенью достоверности могут рассматриваться как распределения Пирсона. Аналогичный анализ экспериментальных хроматограмм индивидуальных компонентов приводит к такому же результату (рис. 1.3). Это означает, что при хроматографировании анализируемое вещество размывается «пирсоновым образом» и его распределения в хроматографической системе как по координатам, так и по времени, представляют собой распределения из семейства Пирсона. Одним из таких распределений является, в частности, распределение Гаусса, к которому все хроматографические распределения стремятся в асимптотическом пределе. К семейству Пирсона относятся также гамма- и бета-распределения, логарифмическое и многие другие, т. е. это семейство включает в себя большинство распределений случайных величин, встречающихся на практике [15].

Отличительной особенностью распределений Пирсона является то, что они — четырехпараметрические; в качестве этих четырех параметров, полностью определяющих тип распределения и все его особенности, выступают четыре первых статистических момента. Это выделяет метод статистических моментов среди прочих

аналитических методов исследования закономерностей хроматографического процесса и позволяет сделать его одним из основных теоретических методов в хроматографии.

1.5.1. Изучение динамики размывания хроматографической зоны с помощью метода статистических моментов

Изучение размывания хроматографической зоны позволяет понять основные закономерности хроматографического процесса, сделать выводы о его механизме и внести определенную ясность в вопросы истолкования экспериментальных данных. Например, в хроматографии полимеров понимание характера размывания элюируемой зоны, ее асимметрии необходимо при количественной интерпретации хроматограмм с целью определения средних молекулярных масс и молекулярно-массовых распределений исследуемых образцов. Это понимание позволяет формировать высокоэффективные хроматографические системы и отыскивать для них оптимальный рабочий режим, что несомненно важно для дальнейшего развития хроматографической техники.

В хроматографии размывание зоны связано с двумя факторами: продольной диффузией и массообменом. Под продольной диффузией обычно понимают совокупность молекулярной диффузии, конвективного перемешивания вещества и размывания, связанного с профилем скорости.

Массообмен представляет собой стохастический обмен элюируемыми молекулами между фазами хроматографической системы. Стохастический характер массообмена приводит к расширению хроматографической зоны за счет дисперсии во времени пребывания молекул вещества в каждой из фаз. Кроме того, дополнительный вклад в размывание зоны дает неравновесность массообмена, с которой связана также и асимметрия размывания. Оба фактора, ответственных за размывание, — продольная диффузия и массообмен, а также вся динамика поведения вещества в хроматографе могут быть описаны с помощью рассмотренных ранее систем дифференциальных уравнений I.I—I.IV.

1.5.1.1. Динамика расширения хроматографической зоны без явного выделения профиля скорости потока

Рассмотрим систему уравнений I.III для одного компонента

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \tilde{D}_l \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - U \frac{\partial c}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'}{\partial t}$$

$$\frac{\partial c'}{\partial t} = \frac{\alpha}{\beta} \lambda c - \lambda' c'$$

при следующих начальных и граничных условиях:

$$\left. \begin{aligned} c(x, t) \Big|_{t=0} &= \delta(x) c_0 & c \rightarrow 0; c' \rightarrow 0 \\ c'(x, t) \Big|_{t=0} &= 0 & \frac{\partial c}{\partial x} \rightarrow 0; \frac{\partial c'}{\partial x} \rightarrow 0 \\ \text{при } x > 0 & & \text{при } x \rightarrow \pm \infty \end{aligned} \right\} \quad (I.45)$$

где $c_0 = q/\alpha$ — вводимый в хроматографическую систему концентрационный импульс; $\delta(x)$ — дельта-функция Дирака; q — количество вещества.

Применив к уравнениям системы I. III преобразования Лапласа и Фурье, получим следующие выражения для временных статистических моментов хроматографического пика на выходе из колонки длиной x :

$$M_1(x) = \frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \frac{1}{U} \left(x + \frac{2\tilde{D}_l}{U} \right) \quad (I.46)$$

$$M_2(x) = 2 \left(\frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \right)^2 \frac{\tilde{D}_l}{U^3} \left(x + \frac{4\tilde{D}_l}{U} \right) + \frac{2\lambda}{(\lambda')^2 U} \left(x + \frac{2\tilde{D}_l}{U} \right) \quad (I.47)$$

$$M_3(x) \approx 6 \frac{\lambda}{(\lambda')^3} \frac{x}{U} + 12 \frac{\lambda}{(\lambda')^2} \frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \frac{\tilde{D}_l x}{U^3} + \left(\frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \right)^3 \frac{12\tilde{D}_l^2 x}{U^5} \quad (I.48)$$

Распределение вещества внутри колонки в фиксированный момент времени t характеризуется моментами координаты x .

Для подвижной фазы:

$$M_1(t) = \frac{Ut}{1 + \lambda/\lambda'} + \frac{2(\lambda/\lambda')U}{(1 + \lambda/\lambda')^2 \lambda'} \quad (I.49)$$

$$M_2(t) = \frac{2\tilde{D}_l t}{1 + \lambda/\lambda'} + \frac{2U^2 t \lambda/\lambda'}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \quad (I.50)$$

$$M_3(t) = \frac{6Ut\lambda/\lambda'}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \left[2\tilde{D}_l - 3U^2 \frac{(\lambda/\lambda') - 1}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \right] \quad (I.51)$$

Для неподвижной фазы:

$$M'_1(t) = \frac{Ut}{1 + \lambda/\lambda'} + \frac{U[(\lambda/\lambda') - 1]}{(1 + \lambda/\lambda')^2 \lambda'} \quad (I.52)$$

$$M'_2(t) = \frac{2\tilde{D}_l t}{1 + \lambda/\lambda'} + \frac{2U^2 t \lambda/\lambda'}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \quad (I.53)$$

$$M'_3(t) = \frac{6Ut\lambda/\lambda'}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \left\{ 2\tilde{D}_l + \frac{4U^2[(\lambda/\lambda') - 1]}{3(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} \right\} \quad (I.54)$$

Выражения, полученные для статистических моментов распределений концентраций $c(x, t)$ и $c'(x, t)$, позволяют представить схематически распределение элюируемого вещества в колонке (рис. I.4).

Анализ этих выражений приводит к следующим выводам относительно динамики движения хроматографической зоны, а также времени выхода из колонки, ширины и формы хроматографического пика [16].

1. Скорость V движения зоны вдоль хроматографической системы постоянна и определяется отношением вероятностей сорбции и десорбции:

$$V = \frac{\partial M_1(t)}{\partial t} = \frac{U}{1 + \lambda/\lambda'} \quad (I.55)$$

2. При длине хроматографической системы x среднее время t выхода зоны из системы несколько больше величины

$$x/V = (x/U) \cdot (1 + \lambda/\lambda')$$

за счет «краевого эффекта» — дополнительного размывания заднего фронта зоны по сравнению с передним.

3. Так как с ростом неравновесности процесса увеличивается величина $\tau = 1/\lambda'$, отношение вероятностей λ/λ' при этом также возрастает, что приводит к более медленному продвижению всей зоны.

4. Разность математических ожиданий координат зоны в подвижной и неподвижной фазах отлична от нуля:

$$M_1(t) - M'_1(t) = \frac{U}{(1 + \lambda/\lambda') \lambda'} = \frac{U\tau}{1 + Kd(V_p/V_0)} \quad (I.56)$$

где V_0 — объем подвижной фазы, $V_0 = \alpha V_k$; V_p — объем пор сорбента; V_k — объем колонки за вычетом объема матрицы заполняющего ее сорбента.

Это подтверждает вывод, сделанный из кинетических соображений в разделе I.4, о том, что в процессе хроматографирования зона элюируемого вещества расслаивается на две области, одна из которых (принадлежащая неподвижной фазе) отстает от другой (принадлежащей подвижной фазе) на величину

$$U\tau/[1 + Kd(V_p/V_0)]$$

Выражение (I.56) позволяет оценить величину расслоения зоны, являющуюся функцией параметра τ , т. е. степени неравновесности хроматографического процесса.

5. Отмеченное расслоение зоны, естественно, приводит к ее дополнительному размыванию, которое определяется значением слагаемого

$$\frac{2U^2 t \lambda/\lambda'}{(1 + \lambda/\lambda')^3 \lambda'} = \frac{2U^2 t K d V_p/V_0}{[1 + Kd(V_p/V_0)]^3} \tau$$

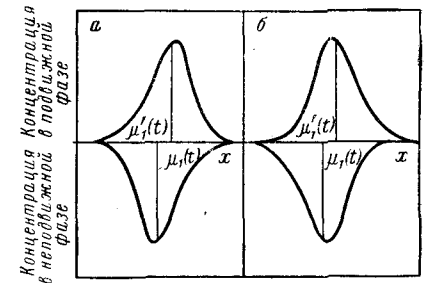


Рис. I.4. Распределение элюируемого вещества в подвижной и неподвижной фазах хроматографической колонки:

а — $KdV_p \gg V_0$; б — $KdV_p < V_0$.

в равенствах (I.50) и (I.53). По той же причине дополнительное размывание претерпевает хроматографический пик. Это отражается слагаемым

$$\frac{2\lambda}{(\lambda')^2 U} \left(x + \frac{2\tilde{D}_l}{U} \right) = \frac{2Kd(V_p/V_0)}{U} \left(x + \frac{2\tilde{D}_l}{U} \right) \tau$$

в уравнении (I.47). Наличие здесь члена

$$\frac{2Kd(V_p/V_0) 2\tilde{D}_l \tau}{U^2}$$

говорит о дополнительном расширении пика за счет размывания заднего фронта зоны при ее выходе из колонки.

6. Отличие от нуля третьих моментов $M_3(x)$, $M_3(t)$ и $M_3'(t)$, определенных равенствами (I.48), (I.51) и (I.54), свидетельствует об асимметричном распределении вещества в каждой из фаз колонки, а также об асимметрии хроматографического пика. Причиной этой асимметрии является неравновесность процесса: все три момента пропорциональны параметру τ . Кроме того, некоторый вклад в асимметрию пика дает уже отмечавшееся в предыдущем пункте дополнительное размывание заднего фронта зоны при ее выходе из колонки — слагаемое

$$\left(\frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \right)^3 \frac{12\tilde{D}_l^2 x}{U^5}$$

в уравнении (I.48).

7. Из равенства (I.48) следует, что хроматографический пик скошен в сторону переднего фронта:

$$M_3(x) > 0$$

Когда для отношения вероятностей λ и λ' выполняется неравенство

$$\lambda/\lambda' > 1 \quad (I.57)$$

максимум концентрации в подвижной фазе смещен в направлении движения, т. е. в сторону увеличения x — $M_3(t) < 0$, а в неподвижной фазе в противоположном направлении — $M_3(t) > 0$.

В случае, когда для отношения λ/λ' выполняется неравенство

$$\lambda/\lambda' < 1 \quad (I.58)$$

наблюдается обратная картина. Неравенство (I.57) выполняется для сорбентов с достаточно большим объемом доступных пор

$$V_{acc} = K dV_p \gg V_0$$

а неравенство (I.58) справедливо для сорбентов с малым объемом доступных пор

$$V_{acc} = K dV_p \ll V_0$$

8. Степень асимметрии пика можно определить значением отношения

$$A \equiv M_3^{1/3}(x)/M_2^{1/2}(x)$$

где в соответствии с уравнениями (I.47) и (I.48) $A \approx x^{-1/6}$, $A \approx \tau^{1/6}$, т. е. асимметрия хроматографического распределения убывает с ростом протяженности хроматографической системы и растет по мере увеличения неравновесности процесса.

I.5.1.2. Динамика расширения хроматографической зоны с учетом профиля скорости потока

Если в системе уравнений I. III вклад профиля скорости потока в размывание зоны учитывается изменением значения коэффициента продольной диффузии \tilde{D}_l , то в системе уравнений I. II для одного компонента профиль скорости учитывается в явном виде:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial c}{\partial t} &= D_l \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{D_r}{R_k} \frac{1}{r_k} \frac{\partial}{\partial r_k} \left(r_k \frac{\partial c}{\partial r_k} \right) - U(r_k) \frac{\partial c}{\partial x} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{\partial c'}{\partial t} \\ \frac{\partial c'}{\partial t} &= \frac{\alpha}{\beta} \lambda c - \lambda' c' \end{aligned} \right\} \quad I. II$$

Начальные и граничные условия для этого случая аналогичны предыдущему с той лишь разницей, что теперь концентрация вещества в подвижной фазе является функцией не только времени t и координаты x , но и «безразмерного расстояния» r_k от оси колонки. Входящая в систему I. II скорость потока $U(r_k)$ зависит от способа упаковки хроматографической колонки (около стенок она обычно больше, чем в центре) и может быть представлена с помощью ступенчатой функции, скачок которой приходится на точку r_η :

$$U(r_k) = \begin{cases} U_0, & \text{если } 0 \leq r_k \leq r_\eta \\ U_0(1+\eta), & \text{если } r_\eta \leq r_k \leq 1 \end{cases} \quad (I.59)$$

Такой выбор профиля скорости $U(r_k)$ позволяет получить выражения для статистических моментов в аналитическом виде. С помощью некоторого набора ступенчатых функций (I.59) можно как угодно приблизиться к истинному профилю скорости потока в колонке, соответствующим образом сшивая эти функции.

Применяя к исходной системе уравнений интегральные преобразования, можно получить следующие выражения для статистических моментов хроматографического пика [16]:

$$M_1(x) = \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right) \left\{ \frac{x}{U_{cp}} + \frac{2D_l}{U_{cp}^2} - \frac{\eta^2 R_k^2 r_\eta^4 (1 + 2 \ln r_\eta - r_\eta^2)}{2D_r (1 + \eta - \eta r_\eta^2)^2} \right\} \quad (I.60)$$

$$\begin{aligned} M_2(x) &= \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right)^2 \frac{1}{U_{cp}^2} \times \\ &\times \left\{ \frac{2D_l x}{U_{cp}} - \frac{x U_{cp} \eta^2 r_\eta^4 R_k^2 (1 + 2 \ln r_\eta - r_\eta^2)}{D_r 2 (1 + \eta - \eta r_\eta^2)^2} \right\} + \frac{2(\lambda/\lambda') x}{\lambda' U_{cp}} \quad (I.61) \end{aligned}$$

где U_{cp} — средняя по сечению колонки скорость

$$U_{cp} = 2 \int_0^1 U(r_k) r_k dr_k \quad (I.62)$$

Анализ выражений (I.60—I.61) показывает зависимость времени выхода хроматографического пика и его формы от профиля скорости в колонке. Эта зависимость отражена в дополнительных членах, появившихся в выражениях (I.60) и (I.61) по сравнению с уравнениями (I.46) и (I.47). Эти члены увеличивают среднее время выхода пика из колонки и размывание хроматографической зоны. Их вклад в выражения для $M_1(x)$ и $M_2(x)$ растет с уменьшением диффузионной подвижности элюируемых макромолекул.

Существенно, что особенно весом вклад профиля скорости в дисперсию хроматографического пика (I.61). Он растет с увеличением скорости потока U_{cp} диаметра колонки $2R_k$ и ее длины x . Для больших макромолекул он выше, чем для малых. Входящее в него выражение $(1 + 2 \ln r_\eta - r_\eta^2)$ отрицательно для всех значений r_η . Если, в соответствии с Гиддингсом [8], радиальную диффузию представить в виде двух слагаемых

$$D_r = \gamma D + k d_p U_{cp}$$

где d_p — диаметр частиц сорбента; γ — фактор извитости каналов; k — коэффициент пропорциональности

то можно увидеть, что вклад профиля скорости в дисперсию пика ведет себя аналогично вкладу «объединенной вихревой диффузии».

Оценка третьего центрального момента с учетом профиля скорости показывает, что общий характер его зависимости от x по сравнению с (I.48) не меняется.

I.5.1.3. Описание хроматографического процесса в трехфазной системе

Системы уравнений I.I—I.IV описывают поведение молекул элюируемого вещества в двухфазных хроматографических системах. При этом оба эффекта, регулирующих массообмен между фазами, — молекулярно-ситовой и адсорбционный — трактуются совокупно в рамках одного понятия «сорбция». Если необходимо разделять эти эффекты, хроматографическую систему следует рассматривать как трехфазную, выделяя из неподвижной фазы объемную фазу порового пространства сорбента, в котором молекулы элюируемого вещества находятся в неадсорбированном состоянии, и поверхностную, где эти молекулы адсорбированы на внутренней поверхности зерен сорбента.

В трехфазной хроматографической системе должны одновременно учитываться продольная диффузия в подвижной фазе, радиальная диффузия в зернах сорбента, плотно упакованных в хроматографической системе, конечная скорость массопередачи

через границу подвижная фаза — сорбент (которая аналогична диффузии в тонком слое неподвижной фазы у поверхности зерен сорбента) и адсорбция на внутренней поверхности зерен [17].

I.6. Определение коэффициента продольной диффузии для различных систем уравнений, описывающих хроматографический процесс

Упрощение в математическом описании хроматографического процесса при переходе от системы дифференциальных уравнений I.I к системе уравнений I.III сопровождается введением ряда новых параметров. Эти параметры подлежат дополнительному определению либо экспериментальным, либо теоретическим путем, а чаще — сочетанием того и другого. Наиболее сложным является определение коэффициентов продольной диффузии, входящих в уравнения систем I.II и I.III и в соответствующие выражения для статистических моментов. Для их отыскания будем считать, что молекулы элюируемого вещества, находясь в потоке подвижной фазы, совершают случайные перемещения в продольном направлении, шаг которых l может быть определен следующим образом:

$$l = \Delta U \tau' \quad (I.63)$$

где ΔU — разность между скоростью в данном канале и средней скоростью U_{cp} ; τ' — время, в течение которого совершается один шаг (на протяжении этого времени молекула находится внутри области, движущейся вдоль колонки с постоянной скоростью U_{cp}).

Скорость U_\perp , с которой молекулы пересекают эту область в поперечном направлении, складывается из средней скорости U_D диффузионного перемещения и средней скорости U_k конвективного переноса

$$U_\perp = U_D + U_k \quad (I.64)$$

Если Δr обозначить ширину области с постоянной скоростью потока U_{cp} , то

$$U_\perp = \Delta r / \tau' \quad (I.65)$$

Тогда время τ' будет определяться временем «чисто диффузионного переноса» τ_D и «чисто конвективного переноса» τ_k через область Δr следующим образом:

$$\tau' = \frac{1}{(1/\tau_D) + (1/\tau_k)} \quad (I.66)$$

Выражение (I.66) представляет собой запись так называемого закона сопряжения «вихревой» (конвективной) и обычной диффузии.

Для времени τ_D и τ_K Гиддингсом [8] получены следующие выражения:

$$\tau_K = \omega_\lambda d_p / U_{cp} \quad (I.67)$$

$$\tau_D = \omega_\alpha^2 d_p^2 / (2\gamma D) \quad (I.68)$$

где D — обычный коэффициент молекулярной диффузии; ω_α , ω_λ и γ — структурные параметры.

В соответствии с уравнениями (I.66—I.68) имеем:

$$\tau' = \frac{\omega_\alpha^2 \omega_\lambda d_p^2}{\omega_\alpha^2 d_p U_{cp} + 2\gamma D \omega_\lambda} \quad (I.69)$$

Поскольку

$$\Delta r^2 = 2D_r \tau' = \omega_\alpha^2 d_p^2$$

то с помощью уравнения (I.69) можно получить выражение для D_r ,

$$D_r = \gamma D + \frac{\omega_\alpha^2 d_p U_{cp}}{2\omega_\lambda} \quad (I.70)$$

Для нахождения коэффициента продольной квазидиффузии поступим следующим образом. Расстояние, на которое молекулы смещаются с потоком вдоль колонки за один шаг, равно

$$S = U_{cp} \tau' \quad (I.71)$$

поэтому полное число шагов в колонке длиной L есть

$$n = L/S \quad (I.72)$$

Поэтому для дисперсии в продольном направлении, вызванной обычной молекулярной диффузией σ_D^2 и случайным блужданием с длиной шага l и общим числом шагов n , можно записать

$$\begin{aligned} \sigma_l^2 &= \sigma_D^2 + l^2 n = \sigma_D^2 + \left(\frac{\Delta U}{U_{cp}} \right)^2 \tau' L U_{cp} = \\ &= \frac{2\gamma DL}{U_{cp}} + \frac{B}{1/(2\bar{\lambda} d_p) + \gamma D / (\omega_\alpha^2 U_{cp}^2)} \end{aligned} \quad (I.73)$$

где

$$\Delta U / U_{cp} = \omega_\beta; \quad \omega = \omega_\alpha^2 \omega_\beta^2 / 2; \quad \bar{\lambda} = \omega_\beta^2 \omega_\lambda / 2$$

Отсюда для коэффициента продольной квазидиффузии имеем:

$$D_l = \gamma D + \frac{1}{1/(\bar{\lambda} d_p U_{cp}) + 2\gamma D / (\omega_\alpha^2 U_{cp}^2)} \quad (I.74)$$

Как показал Гиддингс [8], существует пять типов структурной неоднородности хроматографической системы, каждый из которых характеризуется определенными значениями параметров $\bar{\lambda}$ и ω и приводит к соответствующим эффектам профиля скорости (рис. I.5).

1. Трансколоночный (или трансслоный) эффект связан с «макронеоднородностью» в упаковке сорбента, в результате чего появляется определенный профиль скорости по всей ширине колонки (слоя).

2. Межканальный эффект дальнего действия вызван неоднородностью в упаковке (меньших масштабов) и предполагает наличие однородно упакованных областей шириной в 5—15 диаметров частиц сорбента.

3. Межканальный эффект близкого действия предполагает, что области с различной упаковкой отделены друг от друга расстоянием в несколько (2 ÷ 3) диаметров частиц сорбента.

4. Трансканальный эффект связан с параболическим профилем скорости внутри каждого канала подвижной фазы хроматографической системы.

5. Трансчастичный эффект наблюдается, когда частицы сорбента протекаемы; при этом задержка вещества в каналах сорбента приводит к дополнительному размыванию хроматографической зоны.

Влияние всех типов неоднородности хроматографической системы на поведение элюируемой зоны, по крайней мере, по вкладу в D_l , согласно Гиддингсу, аддитивно. Поэтому, помечая каждый из параметров ω и $\bar{\lambda}$ индексом i , каждое значение которого ($i = 1$,

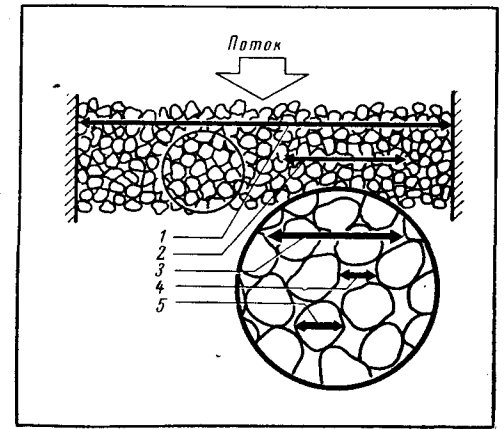


Рис. I.5. Эффекты, обусловленные профилем скорости в хроматографических колонках:

1 — трансколоночный эффект; 2 — межканальный эффект дальнего действия; 3 — межканальный эффект близкого действия; 4 — трансканальный эффект; 5 — трансчастичный эффект.

Таблица I.1. Параметры объединенной вихревой диффузии для разных типов структурной неоднородности хроматографического слоя (по Гиддингсу)

Эффект структурной неоднородности	ω_α, i	ω_λ, i	ω_β, i	ω_i	$\bar{\lambda}_i$
Трансколоночный	2	5,0	0,1	0,001	0,02
Дальнего действия	10	5,0	0,2	2,0	0,1
Близкого действия	1,25	1,5	0,2	0,5	0,5
Трансчастичный	$1/2$	10^4	1,0	0,1	10^4
Трансканальный	$1/8$	1,0	1,0	0,01	0,5

2, 3, 4, 5) относится к соответствующему типу неоднородности, получим следующие выражения для коэффициентов продольной и поперечной квазидиффузии:

$$D_r = \gamma D + \sum_{i=1}^5 \frac{\omega_{\alpha, i}^2 d_p U_{cp}}{2\omega_{\lambda, i}} \quad (I.75)$$

$$D_l = \gamma D + \sum_{i=1}^n \frac{1}{1/(\bar{\lambda}_i d_p U_{cp}) + 2\gamma D / (\omega_i d_p^2 U_{cp}^2)} \quad (I.76)$$

Второе слагаемое в равенстве (I.75) Гиддингс называет коэффициентом «сопряженной вихревой диффузии». Прикидочные значения параметров $\omega_{\alpha, i}$, $\omega_{\lambda, i}$, ω_i и $\bar{\lambda}_i$ приведены в табл. I.1.

I.7. Учет размывания, связанного с межфазным массообменом

I.7.1. Общее выражение для хроматографического размывания

Размывание хроматографической зоны, связанное с межфазным массообменом, обусловлено двумя факторами: внешнедиффузионным и внутريدиффузионным. На внешнедиффузионной стадии массообмена молекулы элюируемого вещества, двигаясь случайным образом, достигают стенок каналов подвижной фазы в разные моменты времени в соответствии с некоторой функцией распределения, что приводит к размыванию зоны в продольном направлении. На время внутريدиффузионной стадии молекулы хроматографируемого вещества выходят из потока растворителя. Возвращение в него, так же как и выход, имеет некоторое распределение по времени, что, в свою очередь, приводит к дополнительному размыванию зоны.

Рассмотрим подробнее размывание зоны, вызванное массообменом, на каждой из этих стадий.

Внешнедиффузионная стадия. Случайное блуждание молекул в канале подвижной фазы в поперечном направлении может быть описано следующим диффузионным уравнением:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_r \left(\frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right) - U \frac{\partial c}{\partial x} \quad (I.77)$$

Здесь в качестве квазидиффузионного коэффициента D_r используют выражение (I.75), в котором учитываются поперечные перемещения молекул как в результате молекулярной диффузии, так и в результате конвективного переноса. Из уравнения (I.77) можно получить выражение для потока P на стенки канала [18], как функций времени $P = \bar{P}(t)$.

$$P(t) = \frac{1}{k'} \bar{P}(t) = \frac{\pi r_k^2}{2tk'} \frac{1}{(4\pi D_r t)^{3/2}} \exp\left(-\frac{r_k^2 + U^2 t^2}{4D_r t}\right) dx \quad (I.78)$$

где r_k — радиус каналов подвижной фазы; dx — элемент длины хроматографической системы; $\bar{P}(t)$ — поток вещества на поглощающую стенку (для нее коэффициент аккомодации k' равен 1); $P(t)$ — поток вещества, когда стенка доступна для сорбции с вероятностью $k' \leq 1$.

Коэффициент аккомодации k' характеризует эффективность захвата стенкой подошедшей к ней молекулы. При отражении от стенки поток вещества $\bar{P}(t)$ увеличивается в $1/k'$ раз.

В соответствии с выражением (I.78) среднее время однократного достижения стенок макромолекулами, находящимися в канале, определится следующим образом:

$$t = \int_0^{\infty} t P_N(t) dt \quad (I.79)$$

где $P_N(t)$ — нормированная функция $\bar{P}(t)$:

$$P_N(t) = (1/k') \bar{P}(t) / \int_0^{\infty} \bar{P}(t) dt$$

Для дисперсии времени достижения стенок каналов получим выражение:

$$\sigma_t^2 = \int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 P_N(t) dt \approx \frac{2D_r r_k^3}{U(r_k U + 2D_r)^2 k'} \quad (I.80)$$

где

$$\bar{t}^2 = \int_0^{\infty} t^2 P_N(t) dt = \frac{r_k^3}{U(r_k U + 2D_r) k'} \quad (I.81)$$

$$\bar{t} = \int_0^{\infty} t P_N(t) dt = \frac{r_k^2}{(r_k U + 2D_r) k'^{1/2}} \quad (I.82)$$

Дисперсия хроматографического размывания на один шаг случайного блуждания

$$\sigma_L^2 = \sigma_t^2 U^2 = \frac{2r_k^3 D_r U}{(r_k U + 2D_r)^2 k'} \quad (I.83)$$

Чтобы получить выражение для ВЭТТ, связанной с внешнедиффузионной массопередачей, необходимо определить число шагов n случайного блуждания (т. е. актов сорбции — десорбции), связанного с массообменом между фазами. Для этого следует разделить среднее время нахождения молекул в хроматографической колонке $t = L/(R_f U)$ (где $R_f = V/U$) на время одного акта сорбции — десорбции, равное удвоенной сумме времени \bar{t} , определенного по формуле (I.82), и времени равновесного заполнения зерен сорбента τ (времени десорбции), вычисленного в соответствии с работой [12]

$$\tau = r^2 / 15 D_s \quad (I.84)$$

где r — радиус частицы; D_s — коэффициент диффузии в зерне сорбента

Отсюда связанная с внешнедиффузионным массообменом ВЭТТ определяется следующим выражением

$$H_1 = \frac{\sigma_1^2}{L} = \frac{\sigma_1^2 n}{L} = \frac{r_k^3 D_r}{R_f (r_k U + 2D_r)^2 k'} \cdot \frac{1}{r_k^2 / [(r_k U + 2D_r) k'] + r^2 / 15D_s} \quad (I.85)$$

Размывание, связанное с массообменом на его внешнедиффузионной стадии, можно учесть, используя коэффициент продольной диффузии $D_{l,1}$

$$D_{l,1} = \frac{H_1 R_f U}{2} = \frac{10D_s D_r d_p U}{k' (d_p U + 12D_r) [10D_s + (d_p U + 12D_r) k']} \quad (I.86)$$

Переход от формулы (I.85) к (I.86) связан с заменой величины r_k на $d_p/6$ [8].

Если включить внешний массообмен в коэффициент продольной диффузии D_l систем уравнений I. II и I. III, связывая тем самым кинетическое уравнение (I.7) только с внутридиффузионной кинетикой, то статистические моменты, полученные из системы уравнений I. II или I. III, дадут полную картину хроматографического размывания (включая внешний массообмен). Для этих систем коэффициент продольной диффузии должен быть записан следующим образом.

Для системы I. II

$$D_l = \gamma D + D_{l,1} + \sum_{i=3}^5 \frac{1}{1/(\bar{\lambda}_i d_p U) + 2D/(\omega_i d_p)} \quad (I.87)$$

Для системы I. III

$$D_l = \gamma D + D_{l,1} + \sum_{i=1}^5 \frac{1}{1/(\bar{\lambda}_i d_p U) + 2D/(\omega_i d_p)} \quad (I.88)$$

Внутридиффузионная стадия. Дисперсия σ_2^2 хроматографического размывания за счет внутридиффузионного массообмена определяется средним временем десорбции

$$\sigma_2^2 = 2(1-R_f) R_f^2 U^2 \tau = 2(1-R_f) R_f U \tau L \quad (I.89)$$

и соответственно ВЭТТ, связанная с внутридиффузионным массообменом

$$H_2 = \frac{\sigma_2^2}{L} = 2(1-R_f) R_f U \tau = 2(1-R_f) \frac{R_f r^2 U}{15D_s} \quad (I.90)$$

Поскольку $\tau = 1/\lambda'$ и $KdV_p/V_0 = \lambda/\lambda'$, из уравнения (I.47) можно также получить выражение для σ_2^2 и H_2

$$H_2 = \frac{\sigma_2^2}{L} = \frac{M_2(x) R_f^2 U^2}{L} \quad (I.91)$$

которое полностью соответствует уравнению (I.90) и выражению для H_2 , полученному Гиддингсом [8]. Поскольку, по Гиддингсу, H_2 записывается в виде [8]

$$H_2 = C_s U \quad (I.92)$$

где C_s — коэффициент, характеризующий кинетику хроматографического процесса на стадии внутренней диффузии

то, сопоставляя выражения (I.90) и (I.92), получаем соотношение

$$\tau = \frac{1}{\lambda'} = \frac{C_s}{2(1-R_f) R_f} \quad (I.93)$$

позволяющее подставлять в уравнения (I.46—1.54) и (I.60—1.61) выражение для C_s , полученные Гиддингсом и другими авторами (например, [19]) для многих конкретных случаев внутридиффузионного массообмена, в том числе для случая смешанной диффузионно-адсорбционной кинетики*.

Относительный вклад внешнего и внутреннего массопереноса в хроматографическое размывание. Запишем, используя уравнения (I.85) и (I.90), полное выражение для ВЭТТ, связанной с межфазным массопереносом

$$H = H_1 + H_2 = \frac{10d_p D_s D_r}{k' R_f (d_p U + 12D_r) [10D_s + (d_p U + 12D_r) k']} + \frac{(1-R_f) R_f}{30D_s / (d_p^2 U)} \quad (I.94)$$

Расчеты показывают, что ВЭТТ внешнедиффузионной массопереноса сопоставима с ВЭТТ внутридиффузионной массопереноса только в случае микроколоночной хроматографии низкомолекулярных веществ, где ее следует учитывать при расчетах. При этом, как видно из (I.94), с уменьшением R_f относительный вклад в ВЭТТ внешнедиффузионной массопереноса увеличивается, что совпадает с оценками влияния R_f на эти факторы размывания, приведенными в литературе [20]. Последнее свидетельствует о правильном учете внешнедиффузионной массопереноса в формуле (I.86), полученной из принципиально иной физической модели, чем принятая в литературе модель нернстовского слоя [11, 20].

* В этом варианте внутридиффузионной кинетики так называемая стоячая подвижная фаза включается во внутридиффузионный массообмен, а не учитывается в продольной диффузии, как это делается в ряде работ, рассмотренных в обзоре [9].

Для внешнедиффузионной стадии можно записать уравнение, аналогичное (I.92): $H_1 = C_m U$, в котором коэффициент C_m ответствен за массообмен между фазами колонки на этой стадии.

Используя формулы (I.47), (I.76) и (I.94), запишем выражение для ВЭТТ, учитывающее все факторы хроматографического размывания:

$$H_I = \frac{2\gamma D}{U} + 2 \sum_{i=1}^5 \frac{1}{1/(\lambda_i d_p) + 2D/(\omega_i d_p^2 U)} + \frac{1}{30} (1-R_f) \frac{d_p^2}{D_s} U + \frac{20D_s D_r d_p}{k' R_f (d_p U + 12D_r) [10D_s + k' (12D_r + d_p U)]} + H_{\text{эк}} \quad (I.95)$$

Аналогичное выражение можно также получить и из уравнения (I.61). Для полноты описания в правую часть (I.95) добавлено слагаемое $H_{\text{эк}}$, относящееся к экстраколоночному размыванию и учитывающее размывание вещества в узле ввода проб хроматографа, в его капиллярных коммуникациях, смесительных камерах и детекторах, а также связанное с инерционностью усилителя и самописца [21—24].

1.7.1.1. Экстраколоночное размывание

Жидкостные хроматографы помимо хроматографических колонок включают ряд дополнительных узлов гидравлической схемы: узел ввода проб, жидкостные коммуникации, реактор, смесительные камеры, детектор и т. п. Во всех этих узлах, так же как и в хроматографической колонке, происходит размывание зоны вещества, которое принято называть экстраколоночным размыванием.

Теория экстраколоночного размывания наряду с теорией хроматографии может служить базой для расчетов эффективности жидкостного хроматографа, позволяя свести к минимуму все факторы, приводящие к размыванию в его гидравлической и электрической системах [22].

Эффективность хроматографа, как известно, может быть оценена числом теоретических тарелок N :

$$N = \frac{V_R^2}{\sigma_V^2} = \frac{L^2}{\sigma_L^2} = \frac{t^2}{\sigma_t^2}$$

где V_R — удерживаемый объем; L — длина пробега зоны (длина колонки) t — время выхода зоны из хроматографа; σ_V^2 , σ_L^2 , σ_t^2 — объемный, линейный и временной вторые центральные моменты, определяющие соответствующие дисперсии распределений вещества:

$$\sigma_L^2 = \frac{\sigma_V^2 R_f^2}{\alpha^2 S_k^2} = \frac{F_U \sigma_t^2 R_f^2}{\alpha^2 S_k^2} = U^2 \sigma_t^2 R_f^2$$

где S_k — площадь сечения колонки; α — доля свободного объема колонки F_U и U — объемная и линейная скорости элюции.

Для оценки эффективности тонкослойной хроматографии и других неэлютивных хроматографических методов обычно используют σ_L^2 , а для элютивной колоночной хроматографии — σ_V^2 . Сумма хроматографической $\sigma_{V,c}^2$ и экстраколоночной $\sigma_{V,E}^2$ дисперсий определяет общее размывание в хроматографе, которое может быть охарактеризовано суммарной ВЭТТ:

$$H_{\Sigma} = H_c + \frac{\sigma_{V,E}^2 R_f^2 L}{V_m^2}$$

где H_c — ВЭТТ хроматографической колонки; V_m — объем подвижной фазы, включающей объем гидравлических магистралей и детектора.

Из этого уравнения видно, что вклад экстраколоночного размывания в ВЭТТ зависит не только от $\sigma_{V,E}^2$, но и от параметров хроматографической колонки: L , V_m , V_p и Kd . Так, например, с уменьшением Kd вклад экстраколоночного размывания в H_{Σ} увеличивается.

Вопросы математического описания экстраколоночного размывания детально рассмотрены в работе Стернберга [22].

Дисперсия полного экстраколоночного размывания $\sigma_{V,E}^2$ получается суммированием дисперсий $\sigma_{V,E,i}^2$ размываний во всех узлах жидкостного хроматографа. Выражения $\sigma_{V,E,i}^2$ для большей части элементов экстраколоночной системы достаточно хорошо известны [22]. Вот некоторые из них.

Размывание в соединительных трубках. Этот вид экстраколоночного размывания описывается уравнением Тейлора

$$\sigma_V^2 = r_c^4 \pi^2 l_c \left[\frac{2D}{U_c} + \frac{1}{24} \frac{r_c^2 U_c}{D} \right]$$

где D — коэффициент диффузии; r_c и l_c — радиус и длина трубки; U_c — скорость жидкости в ней.

Видно, что σ_V^2 с увеличением скорости потока U_c растет. Следует отметить, что при сплющивании трубок на отдельных участках, последовательно повернутых на 90° , размывание в них резко падает [28]. Другой способ уменьшения размывания в трубках связан с сегментированием потока пузырьками воздуха. Согласно [29], размывание зоны вещества в этом случае описывается формулой

$$\sigma_V^2 = \pi r_c^4 U_c^2 \left[\frac{2\delta \tau^2 l_c}{l' r_c} + \frac{1}{4} \tau^2 \right]$$

где l' — длина жидкого фрагмента; δ — толщина неподвижного пристеночного слоя жидкости; τU_c — расстояние между пузырьками.

Из этого выражения видно, что сегментирование потока позволяет использовать соединительные трубки большого диаметра с малым гидравлическим сопротивлением.

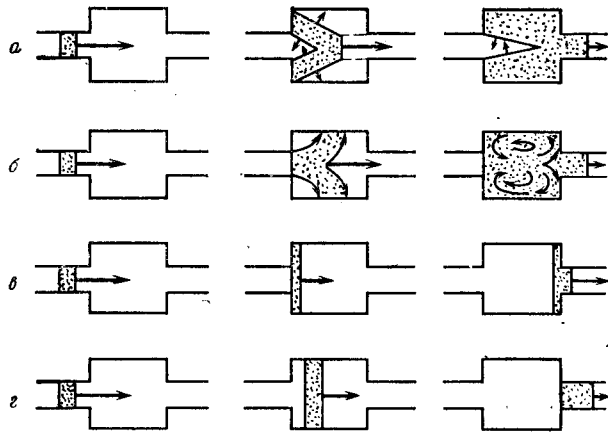


Рис. 1.6. Размывание в фитингах и коннекторах:

а — по типу диффузионной камеры: $\sigma_V^2 = \pi a^2 U^2 \left(\frac{r^2 - a^2}{2D} \right)^2$; б — по типу камеры смешения: $\sigma_V^2 = V^2$ (где V — объем камеры); в — размывание тейлоровского типа: $\sigma_V^2 = a^4 \pi^2 l_c \left(\frac{2D}{U_c} + \frac{1}{24} \frac{a^2 U_c}{D} \right)$ (где l_c — длина камеры; U_c — скорость жидкости в камере); г — размывание «нового» типа: $\sigma_{V, \text{вых}}^2 / \sigma_{V, \text{вх}}^2 = (a^2 / r^2)^2$.

Размывание в фитингах и коннекторах (рис. 1.6). Этот вид размывания связан с изменением диаметра трубки и зависит от скорости жидкости и коэффициента диффузии. Когда скорость велика, главную роль играет размывание по типу камеры смешения. При малых скоростях более существенную роль играет диффузия.

Размывание, связанное с детектором и усилителем. Для размывания в кювете детектора известно, что

$$\sigma_V^2 = \frac{S_k^2 \alpha^2 U^2}{12} \left(\frac{V_{\text{эфф}}}{F_U} \right)^2 = \frac{V_{\text{эфф}}^2}{12}$$

где $V_{\text{эфф}}$ — эффективный объем кюветы.

Размывание хроматографической зоны, связанное с искажением сигнала в усилителе и регистрирующем устройстве (рис. 1.7), может быть оценено с помощью постоянной времени этих приборов — T' , которую легко определить, используя соотношение максимумов постушившего в детектор пика $\hat{E}_{\text{вх}}$ и зафиксированных сигналов $\hat{E}_{\text{вых}}$

$$\Phi = \frac{\hat{E}_{\text{вых}}}{\hat{E}_{\text{вх}}} = \frac{\sigma_{\text{вх}}}{\sigma_{\text{вых}}}$$

где $\sigma_{\text{вх}}$ и $\sigma_{\text{вых}}$ — стандартные отклонения входного и выходного сигналов.

При этом величина Φ связана с $T'/\sigma_{\text{вх}}$ следующим образом:

$$T'/\sigma_{\text{вх}} = \sqrt{\Phi - 1}$$

Таким образом, размывание за счет электрического искажения сигнала детектора может быть записано в виде

$$\sigma_V^2 = S_k^2 \alpha^2 U^2 T'^2$$

С помощью этих выражений легко рассчитать величину $\sigma_{\text{вх}}/T'$, необходимую для получения заданной точности усилителя:

Φ	0.99	0.98	0.95	0.90	0.70	0.50
$\sigma_{\text{вх}}/T'$	6.9	4.88	3.01	2.57	0.98	0.58

Видно, что для достижения необходимой точности усилителя с уменьшением $\sigma_{\text{вх}}$ необходимо соответствующим образом уменьшать постоянную времени детектора T' (это замечание справедливо, когда значения $\sigma_{\text{вх}}$ и T' сопоставимы).

На рис. 1.7 показан вид выходной кривой, полученной на регистрирующем приборе с усилителями разного качества, т. е. характеризуемыми различными значениями отношения $T'/\sigma_{\text{вх}}$. Как видно из рисунка, при увеличении $T'/\sigma_{\text{вх}}$ пик хроматограммы размывается, а его максимум смещается в сторону больших удерживаемых объемов. Это смещение так же, как и время T' , может быть оценено с помощью Φ .

Рассмотренная концепция хроматографического размывания позволяет исследовать распределение вещества в хроматографической системе методом статистических моментов с учетом структурно-динамических параметров хроматографического слоя. Как известно [17, 20, 25], метод статистических моментов позволяет определить вид распределения вещества, время выхода его из хроматографической системы, дисперсию, асимметрию, эксцесс. С помощью гиддинговского подхода можно определить дисперсию распределения при детальном учете статистических процессов, происходящих при переносе вещества в сложном переплетении каналов хроматографического слоя в условиях массообмена между фазами системы.

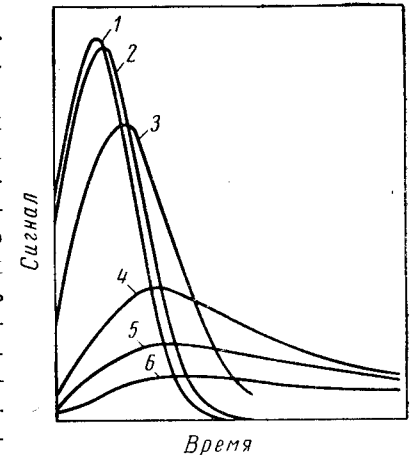


Рис. 1.7. Экстраколоночное размывание, связанное с инерционностью усилителя и регистрирующего устройства:

1 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 0$ (Гаусс); 2 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 0,2$; 3 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 1,0$; 4 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 5,0$; 5 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 10$; 6 — $T'/\sigma_{\text{вх}} = 20$.

Рассмотрение, проведенное в этой главе, дает принципиальную возможность получить все элементы хроматографического распределения с помощью статистических моментов. При этом в них входит информация о структурно-динамических характеристиках хроматографического слоя в соответствии с методом Гиддингса.

1.8. Оптимизация хроматографических процессов

В современном развитии жидкостной хроматографии легко проследить две тенденции. Первая из них связана с созданием новых технических средств (специальных сорбентов, высокочувствительных детекторов), увеличивающих круг объектов, доступных для хроматографического анализа. Вторая тенденция заключается в сокращении продолжительности анализа и увеличении его чувствительности путем уменьшения размывания хроматографических зон и улучшения хроматографических анализаторов. Обе эти тенденции взаимосвязаны, поскольку эффективность анализа зависит от селективности разделительных систем и гидродинамических качеств хроматографических колонок и экстраколочной части хроматографа, включая детектор. Однако для решения конкретной аналитической задачи повышение эффективности хроматографического анализа выступает как самостоятельная проблема и возникает задача оптимизации хроматографического процесса по скорости анализа и его чувствительности [26—37].

Полнота разделения двух веществ на хроматограмме может быть оценена с помощью коэффициента разделения K_R , учитывающего различную подвижность двух компонентов, приводящую к их относительному смещению Δx , и их размывания σ_1 и σ_2

$$K_R = \frac{\Delta x}{2(\sigma_1 + \sigma_2)} \approx \frac{\Delta x}{4\sigma} \quad (1.96)$$

При этом выбор K_R диктуется относительной величиной амплитуд хроматографических пиков, а Δx определяется следующим образом.

В колоночной хроматографии (КХ):

$$\Delta x = \Delta V / S_k = L \Delta R_f \alpha / \bar{R}_f^2 \quad (1.97)$$

В тонкослойной хроматографии (ТСХ):

$$\Delta x = L \Delta R_f \quad (1.98)$$

здесь σ_1 и σ_2 — стандартные отклонения, характеризующие размывание хроматографических зон 1 и 2, при этом $(\sigma_1 + \sigma_2)/2 = \sigma$; ΔR_f — разница в подвижности хроматографических зон со средней подвижностью $\bar{R}_f = (R_{f1} + R_{f2})/2$; α — доля, приходящаяся на подвижную фазу в сечении колонки; L — длина хроматографического слоя (колонки); S_k — площадь сечения колонки; ΔV — смещение удерживаемых объемов.

Подставляя значения Δx из уравнений (1.97) и (1.98) в (1.96), получаем выражение для K_R в случае КХ

$$K_R = \frac{S_k L \Delta R_f \alpha}{4\sigma \bar{R}_f^2} = \frac{1}{4} \left(\frac{L}{\bar{H}} \right)^{1/2} \frac{\Delta K d}{K d} (1 - \bar{R}_f) \quad (1.99)$$

и в случае ТСХ

$$K_R = \frac{L \Delta R_f}{4\sigma_L} = \frac{1}{4} \left(\frac{L}{\bar{H}} \right)^{1/2} \frac{\Delta K d}{K d} (1 - \bar{R}_f) \bar{R}_f^{1/2} \quad (1.100)$$

Величина \bar{H} включает среднюю ВЭТТ хроматографической системы (колонка, пластинка) — \bar{H}_c и ВЭТТ, связанную с дисперсией экстраколочного размывания — $\sigma_{V,E}^2$ (КХ) или дисперсией стартового пятна (ТСХ) — $\sigma_{L,0}^2$.

С учетом этого соответствующие выражения для \bar{H} в случае КХ

$$\bar{H} = \bar{H}_c + \frac{\sigma_{V,E}^2 R_f^2}{S_k^2 \alpha^2 L} \quad (1.101)$$

в случае ТСХ

$$\bar{H} = \bar{H}_c + \frac{\sigma_{L,0}^2}{L R_f} \quad (1.102)$$

Нахождение оптимальных параметров многофакторного процесса осуществляется двумя путями [38]: методом математического моделирования и методом математического планирования эксперимента. Метод математического планирования эксперимента удобен, когда неизвестны физические закономерности, связывающие оптимизируемый и управляющие параметры. Поскольку в хроматографии такие зависимости получены, можно использовать для оптимизации более быстрый и надежный метод математического моделирования на основе математической модели хроматографического процесса.

Подобные модели для КХ и ТСХ включают уравнения для K_R типа (1.99) и (1.100), уравнения для \bar{H} типа (1.101) и (1.102) и уравнения Козени — Кармана [39], описывающие скорость движения жидкости в гранулированном хроматографическом слое. Последние уравнения имеют вид:

в случае КХ

$$U = \xi \frac{d_p^2}{L} \Delta P \quad (1.103)$$

в случае ТСХ

$$U = \zeta \frac{d_p}{L} \Delta P \quad (1.104)$$

где $\xi = \alpha^3 / [180 (1 - \alpha)^2 \eta]$; η — динамическая вязкость жидкости; $\zeta = \alpha^3 \sigma \cos \theta / [15 (1 - \alpha)^2 \eta]$; σ — поверхностное натяжение; θ — краевой угол смачивания поверхности сорбента растворителем.

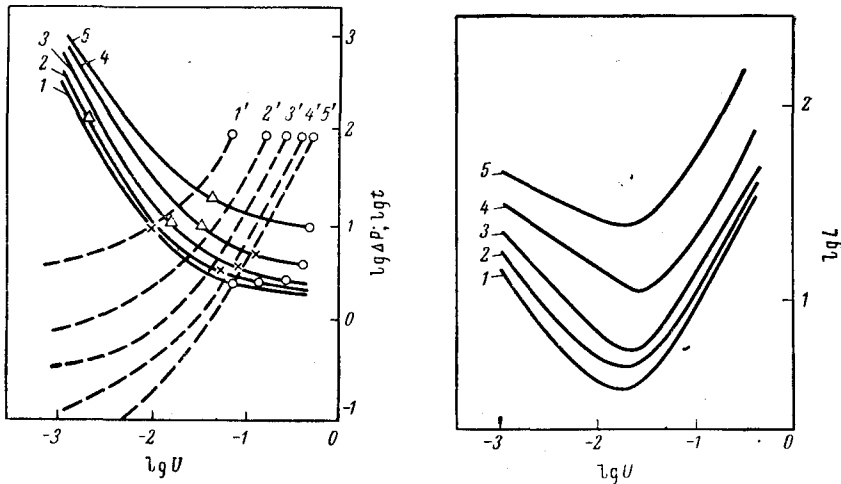


Рис. 1.8. Зависимость времени хроматографического анализа (t , в $\text{с} \cdot 10^{-3}$) легкоразделяемой смеси ($\Delta K/K = 0,1$) от скорости элюции (U , в см/с) (сплошные линии) и зависимость скорости элюции от давления (ΔP , $\text{Па} \cdot 10^5$) на входе в колонку (пунктирные линии) ($D = 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$; $R_f = 4 \cdot 10^{-2}$): 1, 1' - $d_p = 1$ мкм; 2, 2' - $d_p = 6$ мкм; 3, 3' - $d_p = 11$ мкм; 4, 4' - $d_p = 21$ мкм; 5, 5' - $d_p = 41$ мкм; $K = \beta K d / \alpha$.

Рис. 1.9. Зависимость длины колонки (L , в см) при хроматографировании легкоразделяемой смеси ($\Delta K/K = 0,1$) от скорости элюции (U , в см/с) ($D = 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$; $R_f = 4 \cdot 10^{-2}$): 1 - $d_p = 1$ мкм; 2 - $d_p = 6$ мкм; 3 - $d_p = 11$ мкм; 4 - $d_p = 21$ мкм; 5 - $d_p = 41$ мкм.

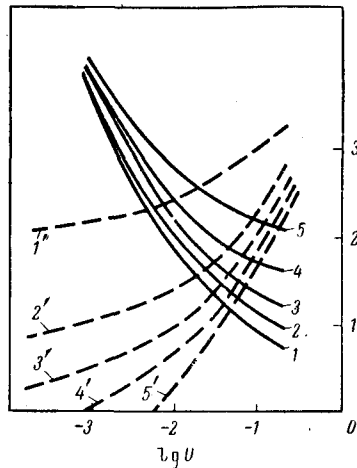


Рис. 1.10. Зависимость времени (t , в $\text{с} \cdot 10^{-3}$) хроматографического анализа трудноразделяемой смеси ($\Delta K/K = 0,03$) от скорости элюции (U , в см/с) (сплошные линии) и зависимость скорости элюции от давления (ΔP , в $\text{Па} \cdot 10^5$) на входе в колонку ($D = 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$; $R_f = 4 \cdot 10^{-2}$): 1, 1' - $d_p = 1$ мкм; 2, 2' - $d_p = 6$ мкм; 3, 3' - $d_p = 11$ мкм; 4, 4' - $d_p = 21$ мкм; 5, 5' - $d_p = 41$ мкм.

Совокупность указанных уравнений позволяет получить длину L_R хроматографического слоя, необходимого для разделения двух веществ с коэффициентом K_R , и в дальнейшем рассчитать время анализа t_R (рис. 1.8—1.11). Эта же совокупность уравнений позволяет рассчитать дисперсию σ^2 хроматографических зон при разделении компонентов с заданным K_R .

Определяя зависимость t_R и σ^2 от различных параметров, записанных в уравнениях (I.99—1.102) и (I.103), (I.104), можно найти условия получения минимальных t_R и σ^2 . Например, при оптимизации хроматографических процессов по времени анализа t_R выражения для t_R можно получить из уравнений (I.103) и (I.104).

Для КХ

$$t_R = \frac{180 L_R^2 (1-\alpha)^2 \eta}{\alpha^2 d_p^2 R_f \Delta P} \quad (\text{I.105})$$

Для ТСХ

$$t_R = \frac{15 (1-\alpha)^2 L_R \eta}{2 \alpha^3 \sigma \cos \theta d_p} \quad (\text{I.106})$$

Для определения L_R необходимо пользоваться математическими моделями хроматографического процесса, заданными с помощью соответствующих систем дифференциальных уравнений.

Оптимизация по чувствительности анализа осуществляется повышением эффективности системы, уменьшением размывания в ней вещества, выбором наиболее чувствительного детектора, а для флуориметра и рефрактометра также и сокращением размеров их кювет.

В колоночной хроматографии концентрация вещества в максимуме хроматографического пика задается соотношением

$$c_{\text{макс}} = \frac{q}{\sqrt{2\pi (\sigma_V^2 + \sigma_{V,E}^2)}} = \frac{q}{\sqrt{2\pi \left(\bar{H}L \frac{\pi^2 \alpha^2 r_c^4}{R_f} + \sigma_{V,E}^2 \right)}} \quad (\text{I.107})$$

Определяя чувствительность анализа δ как отношение сигнала прибора $S_{\text{пр}}$ к количеству анализируемого вещества q , т. е. $\delta = S_{\text{пр}}/q$, можно написать соответствующие выражения для δ

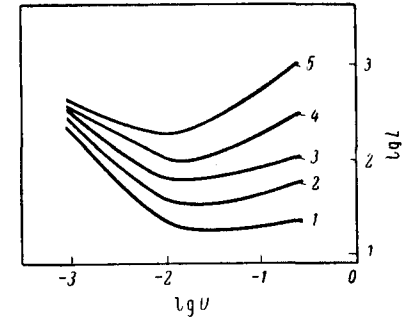


Рис. 1.11. Зависимость длины колонки (L , в см) при хроматографировании трудноразделяемой смеси ($\Delta K/K = 0,03$) от скорости элюции (U , в см/с):

1 - $d_p = 1$ мкм; 2 - $d_p = 6$ мкм; 3 - $d_p = 11$ мкм; 4 - $d_p = 21$ мкм; 5 - $d_p = 41$ мкм.

при использовании (спектро)фотометрического, флюориметрического и рефрактометрического детекторов.

Для фотометра (спектрофотометра)

$$\delta = \frac{k_3 \varepsilon_\lambda l_k}{\sqrt{2\pi \left[\overline{HL} \pi^2 \alpha^2 r_c^4 / (R_f^2 + \sigma_V^2, E) \right]}} = \frac{k_3 \varepsilon_\lambda l_k}{\Gamma} \quad (\text{I.108})$$

Для флюориметра

$$\delta = \frac{1}{\Gamma} J_{0, \lambda} \varphi_{\lambda, 1} \varepsilon_\lambda k'_{\lambda, 1} l_k \quad (\text{I.109})$$

Для рефрактометра

$$\delta = \frac{1}{\Gamma} k_3 k''_{\lambda} \left(\frac{\partial U}{\partial c} \right)_{\lambda} \quad (\text{I.110})$$

где ε_λ — молекулярная экстинкция; φ_λ — квантовый выход флюоресценции; $J_{0, \lambda}$ — интенсивность возбуждающего излучения; $(\partial U/\partial c)_\lambda$ — инкремент показателя преломления вещества в используемом растворителе; k_3 — коэффициент электрического усиления; $k'_{\lambda, 1}$ — чувствительность фотоприемника; k''_{λ} — коэффициент оптического усиления рефрактометра; l_k — толщина фотометрической (флюориметрической) кюветы; λ — длина волны света.

Из сравнения выражений (I.108), (I.109) и (I.110) видно, что наиболее чувствительным детектором является флюориметр вследствие возможности увеличения возбуждающего светового потока $J_{0, \lambda}$ и чувствительности фотоприемника $k'_{\lambda, 1}$. Благодаря этому можно уменьшать толщину кюветы флюориметра и тем самым снижать σ_V^2, E .

Литература

1. Шилов Н. А., Лепинь Л. К., Вознесенский С. А. ЖРФХО, 1929, т. 61, с. 1107.
2. Дубинин М. М. Физико-химические основы сорбционной техники. М.—Л., ОНТИ, 1935. 536 с.
3. Жуловский А. А., Забежинский Я. Л., Саминский Д. С. ЖФХ, 1939, т. 13, с. 303—310.
4. Wikke E. Koll. Z., 1939, Bd. 86, S. 167—186; 1940, Bd. 93, S. 129—137; 1941, Bd. 97, S. 135—142.
5. Wilson J. J. Am. Chem. Soc., 1940, v. 62, p. 1583—1591.
6. Радушкевич Л. В. ДАН СССР, 1947, т. 57, с. 471—474.
7. Туницкий Н. Н. ДАН СССР, 1954, т. 99, с. 577—579.
8. Giddings J. C. Dynamics of Chromatography. N. Y., Dekker, 1965. 323 p.
9. Аэров М. Э., Тодес О. М. Гидравлические и тепловые основы работы аппаратов со стационарным и кипящим зернистым слоем. Л., «Химия», 1968. 510 с.
10. Vilenchik L. Z., Belenky B. G. J. Chromat., 1971, v. 56, p. 13—22.
11. Nernst W. Z. J. Phys. Chem., 1904, Bd. 47, S. 55—59.
12. Бреслер С. Е., Уфлянд Я. С. ЖТФ, 1953, т. 23, с. 1443—1451.
13. Giddings J. C. J. Chem. Phys., 1959, v. 31, p. 1462—1467; J. Phys. Chem., 1964, v. 68, p. 184—188.
14. Виленич Л. З. Канд. дис., Л., ЛПИ им. М. И. Калинина, 1974.

15. Кендалл М., Стюарт А. Теория распределений. Пер. с англ. Под ред. А. Н. Колмогорова. М., «Наука», 1966. 587 с.
16. Виленич Л. З., Колегов В. И., Беленький Б. Г. ЖФХ, 1972, т. 46, с. 1109—1113; 1972, т. 46, с. 1114—1118.
17. Kucera E. J. Chromat., 1965, v. 19, p. 237—248.
18. Виленич Л. З., Беленький Б. Г. Высокомолекуляр. соед., 1971, т. А13, с. 1943—1949.
19. Stephen J., Hawkes J. J. Chromat., 1972, v. 68, p. 1—8.
20. Туницкий Н. Н. Диффузия и случайные процессы. Новосибирск, «Наука», Сиб. отдел., 1970. 116 с.
21. Taylor G. Proc. Roy. Soc., 1953, v. A219, p. 186—203; 1954, v. A223, p. 446—468.
22. Sternberg J. C. Adv. in Chromatography, 1967, v. 2, p. 205.
23. Halasz J., Walkling P. Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 1970, Bd. 74, S. 66—72.
24. Hrdina J. In: Proceedings of 6-th Colloquium in Amino Acid Analysis Technicon. Geneva, 1968, p. 60—79.
25. Туницкий Н. Н., Каминский В. А., Тимашев С. Ф. Методы физико-химической кинетики. М., «Химия», 1972. 197 с.
26. Hamilton P. B. e. a. Anal. Chem., 1960, v. 32, p. 1779—1781.
27. Hawkes S. J. J. Chromat. Sci., 1969, v. 7, p. 526—540.
28. Netzer V. G., Barford R. A., Rothbart H. L. Sep. Sci., 1973, v. 8, p. 146—160.
29. Gruchka E. J. Chromat. Sci., 1972, v. 10, p. 616—621.
30. Arpadjan S. e. a. Z. anal. Chem., 1974, Bd. 270 (4), S. 257—262.
31. Massart D. L. e. a. Anal. Chem., 1972, v. 44, p. 2390—2393.
32. Scott R. P. J. Chromat. Sci., 1971, v. 9, p. 449—457.
33. Halasz J., Naefe M. Anal. Chem., 1972, v. 44, p. 121—125.
34. Southern L. L. Tijdschr. Chem. Instrum., 1974, v. 7, p. 97—98, 100—101.
35. Knox J. H., Vasvari G. J. Chromat. Sci., 1974, v. 12 (8), p. 449—452.
36. Martin M. e. a. J. Chromat. Sci., 1974, v. 12 (8), p. 438—448.
37. MacLean W. Am. Lab., 1974, v. 6 (10), p. 1—12.
38. Кафаров В. В. Методы кибернетики в химии и химической технологии. М., «Химия», 1971. 496 с.
39. Carmar P. C. In: «Flow of Gases through Porous Media». V. 1. L., Butterworths, scientific publ., 1956, p. 11.

Современные представления об адсорбции полимеров из растворов

Первые пять десятилетий с момента открытия хроматография развивалась только в «адсорбционном варианте» и применялась для разделения смесей низкомолекулярных веществ, когда основной характеристикой фракционирования является величина адсорбционного взаимодействия компонентов смеси с поверхностью адсорбента. Во второй половине 50-х годов объектом хроматографического анализа стали также и высокомолекулярные соединения. При этом выяснилось, что разработка для них хроматографических методик требует специальных экспериментальных и теоретических исследований по адсорбции макромолекул из растворов.

II. 1. Способы описания адсорбции изолированной макромолекулы

При теоретическом изучении адсорбции макромолекулу обычно рассматривают как свободносочлененную линейную цепочку с сегментами, имеющими размеры молекул растворителя. Поверхность сорбента предполагается плоской с равномерным распределением на ней адсорбционных центров, каждый из которых может адсорбировать либо один сегмент полимера, либо одну молекулу растворителя. Адсорбционное взаимодействие считается короткодействующим, а возможные конформации макромолекулы описываются с помощью решеточной модели в условиях термодинамического равновесия [1, 2]. При этом распределение в пространстве сегментов адсорбированной макромолекулы можно представить в виде одного или двух «хвостов» и чередующихся «петель» и «шлейфов». Под «хвостом» понимают непрерывную последовательность статистических сегментов макромолекулы, находящихся в растворе и «прикрепленных» к адсорбционной поверхности (т. е. адсорбированных) одним из своих концов (одним сегментом). «Петли» — это такие же последовательности, но «прикрепленные» к поверхности обоими своими концами (у них адсор-

бированы два концевых сегмента). «Шлейфы» — это последовательности сегментов, целиком лежащих на адсорбционной поверхности (у них адсорбированы все сегменты) [3—10] (рис. II.1).

Чтобы найти статистическую сумму для адсорбированной макромолекулы, надо подсчитать полное число ее конформаций в адсорбированном состоянии. Это может быть сделано различными способами, наиболее известные из которых следующие: метод множителей Лагранжа [7, 11—12], метод обобщенных производящих функций [13—21], метод цепей Маркова [21, 22] и метод Монте-Карло [23—25].



Рис. II.1. Схематическое изображение макромолекулы, адсорбированной на плоской поверхности.

II. 1.1. Метод множителей Лагранжа

В этом методе набор Ω_a конформаций адсорбированной макромолекулы записывается как функция числа конформаций, имеющих $m_{i,i}$ «хвостов», m_i «петель» и \bar{m}_i «шлейфов» из i сегментов ($i = 1, 2, 3, \dots$) [7]:

$$\Omega_a(m_{i,i}, m_i, \bar{m}_i) = \left(\prod_i \frac{\bar{m}_i}{m_i!} \right) \left(\prod_i \frac{\omega_i^{m_i}}{m_i!} \right) \times \left(\prod_i \omega_{i,i}^{m_{i,i}} \right) \left(\sum_i \bar{m}_i \right)! \left(\sum_i m_i \right)! \quad (II.1)$$

где $\bar{\omega}_i$, ω_i и $\omega_{i,i}$ — числа возможных способов построения «шлейфов», «петель» и «хвостов» из i сегментов.

С использованием выражения (II.1) функция распределения для адсорбированной макромолекулы может быть записана в виде:

$$q_a(P, T) = \sum \Omega_a(m_{i,i}, m_i, \bar{m}_i) \exp \left(- \sum i m_i \frac{\varepsilon}{kT} \right) \exp \left(- \frac{\bar{U}}{kT} \right) \quad (II.2)$$

где \bar{U} — среднее значение внутренней энергии макромолекулы в растворе; ε — ее изменение при адсорбции в расчете на один сегмент; T — температура; P — давление.

Кроме того, для макромолекулы в растворе можно также записать следующее выражение для функции распределения:

$$q(P, T) = \sum_U \Omega(U, P) \exp \left(- \frac{U}{kT} \right) \approx \Omega \exp \left(- \frac{\bar{U}}{kT} \right) \quad (II.3)$$

где $\Omega(U, P)$ — набор конформаций макромолекулы в растворе.

Приближенное равенство (II.3) соответствует замене суммы ее максимальным членом, зависящим от значения \bar{U} [26]. С помощью функций (II.2) и (II.3) условие адсорбции макромолекулы может быть записано в виде

$$q_a(P, T) > q(P, T) \quad (\text{II.4})$$

или

$$\sum \frac{\Omega_a}{\Omega} \exp\left(-\sum_i \bar{m}_i \frac{E}{kT}\right) > 1 \quad (\text{II.4a})$$

Явный вид функций ω_i , ω и $\bar{\omega}$ определяется в зависимости от выбранной решеточной модели, и выражение для Ω_a затем упрощается заменой суммы (II.1) ее максимальным членом, отскакиваемым с помощью множителей Лагранжа [25] как максимум Ω_a по набору переменных $(m_{t,i}, m_i, \bar{m}_i)$ при условиях

$$\left. \begin{aligned} \sum_i \bar{m}_i + \sum_i m_i + \sum_i m_{t,i} = N \\ \sum_i \bar{m}_i - \sum_i m_i = 1 \\ \sum_i m_{t,i} = 0; 1; 2 \end{aligned} \right\} \quad (\text{II.5})$$

смысл которых в том, что суммарное число сегментов в шлейфах, петлях и хвостах должно равняться числу сегментов макромолекулы N , число шлейфов должно быть на единицу больше, чем число петель, а число хвостов может быть не больше двух.

Зная выражение для Ω_a , легко получить различные средние характеристики макромолекулы в адсорбированном состоянии.

II. 1.2. Метод обобщенных производящих функций

Здесь вероятность адсорбции полимерной цепочки, состоящей из заданного числа сегментов, записывается с помощью обобщенных производящих функций [13]. Как и в предыдущем методе, это позволяет получить аналитические выражения для различных средних характеристик адсорбированной макромолекулы, например таких, как средние числа шлейфов, петель, доли адсорбированных сегментов [14].

II. 1.3. Метод конечных цепей Маркова

В этом методе пространство над адсорбционной поверхностью разбивается на слои, расстояние между которыми определяется длиной статистического сегмента макромолекулы. Вероятности $P(k, N)$ попадания N -го сегмента в k -й слой рассматриваются как компоненты некоторого вектора $\vec{P}(N)$, который задает все

возможные способы расположения N -го сегмента; число компонентов определяется числом слоев. Вектор $\vec{P}(N)$ может быть связан с вектором $\vec{P}(N-1)$ следующим образом:

$$\vec{P}(\bar{N}) = W(\theta_1, \theta_m) \vec{P}(N-1) \quad (\text{II.6})$$

где $W(\theta_1, \theta_m)$ — матрица перехода от $\vec{P}(\bar{N})$ к $\vec{P}(\bar{N}-1)$, ее порядок определяется числом слоев над поверхностью; $\theta_1 = E_1/kT$; $\theta_m = E_m/kT$ (где E_1 и E_m — энергии взаимодействия с поверхностью полимерных сегментов, находящихся в слоях 1 и m).

Равенство (II.6) может быть переписано в виде

$$\vec{P}(N) = [W(\theta_1, \theta_m)]^N \vec{P}(0) \quad (\text{II.7})$$

где $\vec{P}(0)$ задает вероятность расположения крайнего сегмента полимерной цепочки и имеет вид вектора-столбца. Например, если рассматривать адсорбцию макромолекулы между двумя плоскостями, отстоящими друг от друга на m слоев, для $\vec{P}(0)$ можно записать

$$\vec{P}(0) = \begin{pmatrix} e^{\theta_1} \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \\ e^{\theta_m} \end{pmatrix} \quad (\text{II.8})$$

Для получения средних характеристик макромолекулы в адсорбированном состоянии следует диагонализировать матрицу W и отыскать ее максимальное собственное значение Λ . Тогда среднее число сегментов макромолекулы в i -том слое при $N \rightarrow \infty$ примет простой вид

$$\langle v \rangle_i = \frac{d}{d\theta_i} \ln \Lambda \quad (\text{II.9})$$

и для изменения свободной энергии макромолекулы в расчете на один сегмент (за счет взаимодействия с плоскостями) получим

$$\Delta F = -kT \ln \Lambda \quad (\text{II.10})$$

II. 1.4. Метод Монте-Карло

Этот метод можно рассматривать как своеобразный статистический эксперимент, выполняемый с помощью электронно-вычислительной машины. Здесь строится набор всех конформаций макромолекулы, возможных в условиях адсорбции. Их доля от общего числа конформаций дает вероятность данного адсорбированного состояния, а усреднение по всем разрешенным конформациям позволяет находить различные средние характеристики адсорбированной макромолекулы.

II. 2. Особенности адсорбции изолированной макромолекулы

Поведение макромолекулы при адсорбции можно без существенной потери информации проследить, рассматривая проекцию набора макромолекулярных конформаций в присутствии и в отсутствие адсорбционной поверхности на нормаль к этой поверхности [23] (рис. II.2).

Пусть адсорбционная поверхность является плоской. Если предположить, что она проницаема для сегментов макромолекулы, то вероятность W_F ее ν -кратного пересечения макромолекулярной цепочкой из N сегментов, крайний из которых прикреплен к плоскости, определяется следующей формулой, хорошо известной в теории вероятностей [27]:

$$W_F = 2^\nu C_{N-\nu}^{N/2} \quad (\text{II.11})$$

где $C_{N-\nu}^{N/2}$ — число сочетаний из $N - \nu$ по $N/2$ элементов.

Реальная адсорбционная поверхность, естественно, непроницаема для макромолекулярных сегментов и все возможные конформации макромолекулы лежат только по одну из ее сторон. При этом вероятность W ν -кратного соприкосновения их с такой плоской поверхностью имеет вид:

$$W = W_F / 2^\nu = C_{N-\nu}^{N/2} \quad (\text{II.12})$$

Проекцию всех конформаций макромолекулы, возможных в присутствии адсорбционной поверхности, на нормаль к ней удобно рассматривать как модель адсорбции некоторого гипотетического одномерного полимера. Обозначая через E энергию взаимодействия с поверхностью одного сегмента, для такого одномерного полимера с учетом равенства (II.12) легко написать статистическую сумму

$$Q = \sum_{\nu=0}^N \exp\left(-\frac{\nu E}{kT}\right) C_{N-\nu}^{N/2} \quad (\text{II.13})$$

Выражение (II.13) позволяет получить все средние (равновесные) значения макроскопических параметров «одномерного полимера». Так, среднее число $\langle \nu \rangle$ его сегментов, лежащих на адсорбционной поверхности, есть

$$\langle \nu \rangle = \frac{\sum_{\nu=0}^N \nu \exp\left(-\frac{\nu E}{kT}\right) C_{N-\nu}^{N/2}}{\sum_{\nu=0}^N \exp\left(-\frac{\nu E}{kT}\right) C_{N-\nu}^{N/2}} \quad (\text{II.14})$$

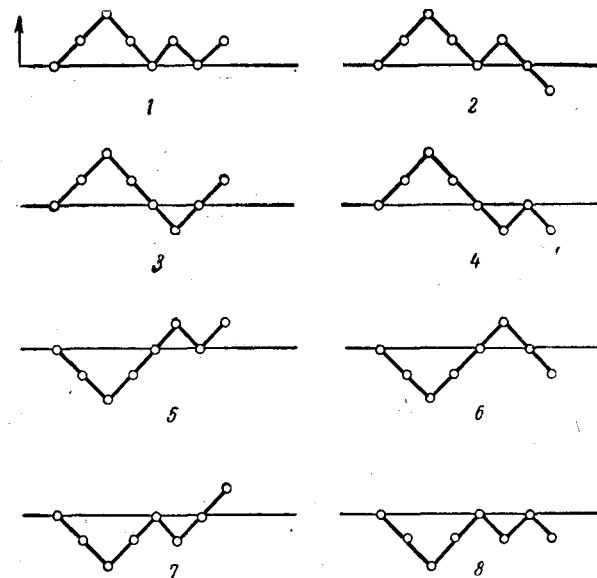


Рис. II.2. Схематическое изображение одной конформации одномерной полимерной цепочки из семи сегментов вблизи плоской поверхности адсорбента (1) и семи различных разрешенных конформаций в отсутствие поверхности (2—8).

Асимптотическая оценка числа $\langle \nu \rangle$ при $N \rightarrow \infty$ показывает, что оно ведет себя различным образом в зависимости от значений энергии взаимодействия E . При $|E| < kT \ln 2$ значение $\langle \nu \rangle$ не зависит от числа сегментов N макромолекулярной цепочки. При $|E| = kT \ln 2$ значение $\langle \nu \rangle$ увеличивается пропорционально \sqrt{N} , а при $|E| > kT \ln 2$ — пропорционально N . Таким образом, при $|E| = kT \ln 2$ происходит скачкообразное изменение адсорбируемости полимера: число его адсорбированных сегментов резко возрастает. Это позволило выделить значение энергии

$$|E| = kT \ln 2 \quad (\text{II.15})$$

и назвать его критическим [12, 23, 28].

То, что под знаком логарифма стоит 2, а не какое-либо другое число, объясняется выбором в качестве модели макромолекулы «одномерного полимера». Подставляя в равенство (II.13) вместо E значение критической энергии, получим

$$Q = \sum_{\nu=0}^N W_F = 2^N \quad (\text{II.16})$$

В соответствии с (II.11) это означает, что статистическая сумма нашего одномерного полимера одна и та же как при

отсутствии адсорбционной поверхности, так и в ее присутствии при условии, что энергия взаимодействия полимерных сегментов с поверхностью равна критической: $E = E_{кр}$. С точки зрения статистической физики это означает, что появление плоскости, взаимодействие которой с сегментами полимера характеризуется значением энергии $E = E_{кр}$, не меняет состояния полимера. В этом случае энергетическое (энтальпийное) взаимодействие макромолекулы с поверхностью компенсирует ограничение степеней свободы ее сегментов при их распределении в пространстве, вызванное присутствием поверхности.

При $|E| < |E_{кр}|$ и при $|E| > |E_{кр}|$ такая компенсация не имеет места. В первом случае макромолекула стремится «оттолкнуться» от адсорбционной поверхности и «уйти» в раствор, а во втором — адсорбироваться большим числом сегментов.

Аналогичные закономерности наблюдаются и для реальных (трехмерных) полимерных молекул [23]. Если при этом конформации макромолекул описываются в рамках какой-либо решеточной модели, то значение $E_{кр}$ зависит от выбора типа решетки и ее значение колеблется в пределах от 0,2 до 0,8kT.

Статистическая сумма Q для молекулы реального полимера есть функция его свободной энергии F [26]:

$$Q = \exp(-F/kT) \quad (II.17)$$

$$F = U - TS \quad (II.18)$$

где U — внутренняя энергия макромолекулы; S — энтропия; T — абсолютная температура.

Применение равенств (II.17), (II.18) для описания поведения макромолекулы предполагает возможность рассмотрения ее как канонического статистического ансамбля элементарных сегментов, распределенных в пространстве в соответствии с некоторым законом. Статистическая сумма (II.17) задает вероятность некоторого состояния макромолекулы в растворе. Присутствие адсорбционной поверхности изменяет величину каждого из слагаемых в (II.18). При этом значение свободной энергии, с одной стороны, уменьшается за счет адсорбционного взаимодействия сегментов с поверхностью, а с другой — возрастает вследствие уменьшения энтропии макромолекулы. Значение энергии взаимодействия $E = E_{кр}$ отвечает случаю, когда энергетические изменения, происходящие с макромолекулой в присутствии плоской адсорбционной поверхности, компенсируют ее энтропийные изменения. Для реальных макромолекул, как и в рассмотренном выше одномерном варианте, при $|E| < |E_{кр}|$ среднее число $\langle \nu \rangle$ адсорбированных сегментов не зависит от числа статистических сегментов макромолекулы N , а при $|E| = |E_{кр}|$ и $|E| > |E_{кр}|$ пропорционально соответственно \sqrt{N} и N . Скачкообразный характер зависимости $\langle \nu \rangle$ от N и E при переходе через точку $E = E_{кр}$ связан с фазовым переходом второго рода [23],

резко меняющим поведение макромолекул с изменением E . Отражая эту зависимость доли адсорбированных сегментов ν от энергии взаимодействия E при $N \rightarrow \infty$ показана на рис. II.3 [13] для различных решеточных моделей полимерного раствора. Каждая модель характеризуется параметром

$$a = (z - z_0)/z$$

где z и z_0 — соответственно координатные числа решетки в объеме и на плоскости.

При этом значение критической энергии $E_{кр}$ зависит от величины a следующим образом:

$$E_{кр} = kT \ln [2/(2-a)] \quad (II.19)$$

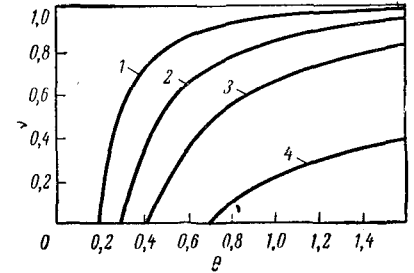


Рис. II.3. Зависимость доли сорбированных сегментов ν от энергии взаимодействия $\theta = -\epsilon/(kT)$ и типа решетки:

1 — простая кубическая ($a = 1/3$);
2 — гексагональная ($a = 1/2$); 3 — поверхностно-центрированная ($a = 2/3$);
4 — объемно-центрированная ($a = 1$).

Важной характеристикой гибкоцепных макромолекул является их жесткость, т. е. сопротивление изгибанию [29]. В рамках решеточных моделей она может быть задана с помощью фактора

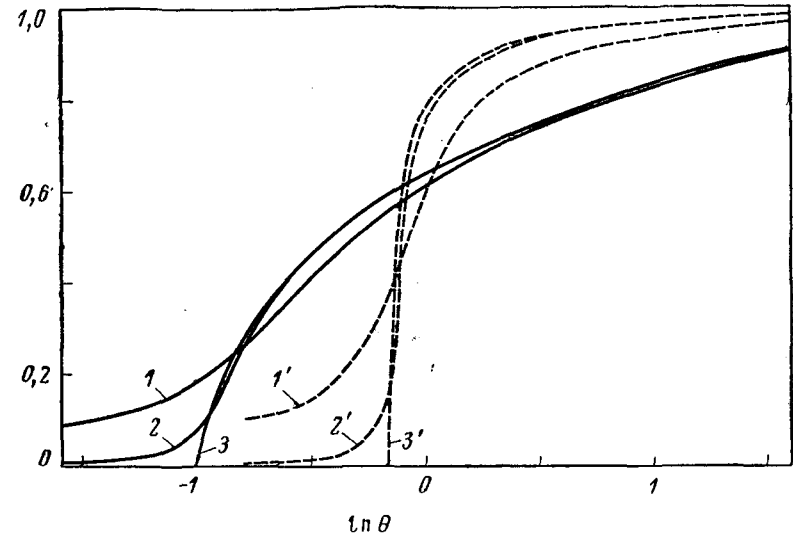


Рис. II.4. Зависимость доли сорбированных сегментов ν от $\ln \theta$ при различных факторах жесткости γ и различных длинах цепей N : сплошная линия — свободно сочлененная цепь, $\gamma = 1$; пунктирная линия — более жесткая цепь, $\gamma = 0,1$; 1, 1' — $N = 20$; 2, 2' — $N = 200$; 3, 3' — $N = \infty$.

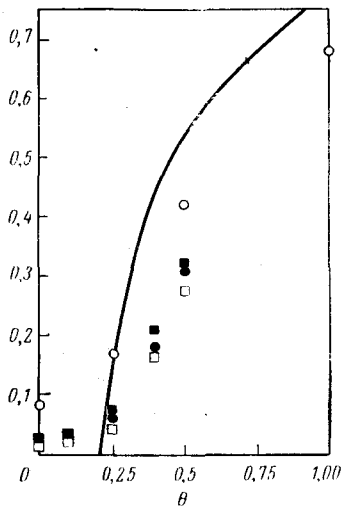


Рис. II.5. Зависимость доли сорбированных сегментов v от энергии θ , определенная методом Монте-Карло с учетом исключенного объема (дискретные точки) и аналитическим расчетом (сплошная линия) [24]:

○ — цепь из 50 сегментов; ■ — цепь из 150 сегментов; ● — цепь из 200 сегментов; □ — цепь из 300 сегментов.

И в этом смысле зависимости v от типа решетки на рис. II.3 и от фактора жесткости на рис. II.4 полностью эквивалентны. Но если рассматривать $\bar{\gamma}$ как характеристику макромолекул, то зависимость $E_{кр}$ от $\bar{\gamma}$ приобретает самостоятельный интерес [15]

$$E_{кр} = kT \ln [(1 + \bar{\gamma}) (z_0/z)] \quad (II.20)$$

На рис. II.5 представлена та же зависимость, но рассчитанная методом Монте-Карло (дискретные точки) [24]. Здесь конформации макромолекул моделировались на простой кубической решетке (для сравнения сплошной линией обозначена аналогичная зависимость из рис. II.4). Математическая программа, составленная для ЭВМ, позволяла располагать каждый следующий сегмент полимерной цепочки только под прямым углом к предыдущему, исключая возможность пересечения сегментов. Последнее эквивалентно учету эффекта исключенного объема [1] в реальной полимерной цепи. Характер полученной зависимости говорит о том, что эффект исключенного объема оказывает на адсорбцию такое же влияние, как и жесткость. Попытки учета эффекта исключенного объема, предпринятые в [7, 12, 19, 22], привели к результатам, качественно совпадающим с приведенными выше.

жесткости $\bar{\gamma}$, как функция координационных чисел решетки z и z_0

$$\bar{\gamma} = (z - z_0)/2z_0$$

и определяет относительную тенденцию макромолекулярной цепочки оборвать адсорбированную последовательность сегментов по сравнению с возможностью ее продолжить [19].

На рис. II.4 показаны зависимости величины v от $\ln(E/kT)$ при разных значениях фактора жесткости: $\bar{\gamma} = 1$ и $0,1$. Первая из этих зависимостей получена аналитическим путем для больших значений N и численным — для $N \leq 30$. Фазовый переход отчетливо просматривается при больших значениях N ($N \rightarrow \infty$), когда при переходе через критическое значение энергии взаимодействия происходит резкий скачок v . Для конечных значений N этот скачок сглаживается, и тем сильнее, чем меньше N .

Фактор $\bar{\gamma}$ в решеточных моделях характеризует не только жесткость макромолекул, но и тип решетки.

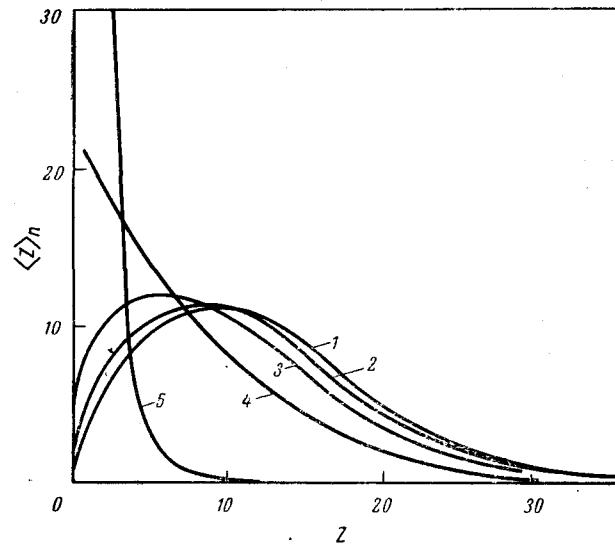


Рис. II.6. Распределение числа сегментов $\langle z \rangle_n$ на различных расстояниях z (в единицах длины сегментов) от поверхности при различных значениях энергии взаимодействия $\theta = -\epsilon/(kT)$ для цепи из 200 сегментов: 1 — $\theta = 0$; 2 — $\theta = 0,25$; 3 — $\theta = 0,50$; 4 — $\theta = 0,69$; 5 — $\theta = 1,0$.

На рис. II.6 и II.7 показано распределение числа сегментов $\langle z \rangle_n$ и доли сегментов $v_n = \langle z \rangle_n/N$ на различных расстояниях от адсорбционной поверхности в зависимости от значения E/kT . На кривых, соответствующих энергиям $0 \leq |E| \leq |E_{кр}|$, имеются максимумы, при $|E| \geq |E_{кр}|$ эти максимумы исчезают [15]. Как видно из рис. II.7, доля сегментов не зависит от полного числа сегментов макромолекулы N (при $|E| > |E_{кр}|$).

Зависимость среднеквадратичного расстояния между концами полимерной цепи, деленного на число сегментов, $\lim_{N \rightarrow \infty} (\bar{h}^2)_a^{1/2}/N$ от энергии взаимодействия показана на рис. II.8 [22]. Из этой зависимости следует, что параметр $(\bar{h}^2)_a^{1/2}$ (который представляет большой интерес в связи с возможностью его экспериментальной проверки) существенно зависит от взаимодействия макромолекулы с адсорбционной поверхностью, причем в области $0 \leq |E| \leq |E_{кр}|$ величина $(\bar{h}^2)_a^{1/2}$ адсорбированной макромолекулы больше, чем соответствующая величина $(\bar{h}^2)^{1/2}$ у свободной макромолекулы. С другой стороны, при $|E| > |E_{кр}|$ размеры макромолекулы резко уменьшаются. Интересно, что и в отсутствие энергетического взаимодействия ($E = 0$) макромолекула, оказываясь вблизи поверхности, становится «возбужденной»: ее энтропия уменьшается, а свободная энергия возрастает. Стремясь вернуться в свое «основное» состояние, макромолекула, как бы отталкиваясь от поверхности, удаляется от нее.

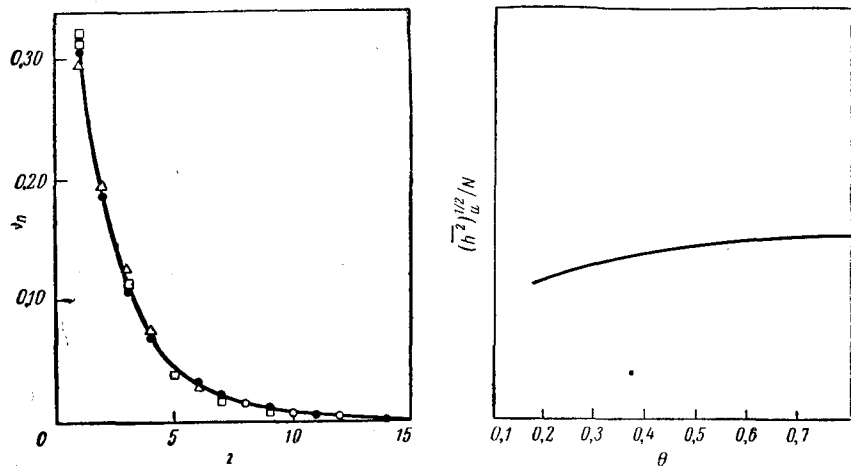


Рис. 11.7. Зависимость доли сегментов v_n от расстояния z от поверхности при энергии $-E/(kT) = 1$:

● — цепь из 50 сегментов; □ — цепь из 100 сегментов; △ — цепь из 200 сегментов.

Рис. 11.8. Зависимость среднев квадратичного расстояния между концами полимерной цепи, деленного на число сегментов, от энергии взаимодействия $\theta = -E/kT$.

На рис. 11.9 и 11.10 [15] представлены зависимости изменения свободной энергии макромолекулы в расчете на сегмент от энергии взаимодействия для различных значений N и фактора жесткости γ .

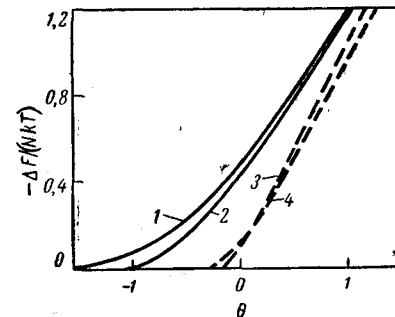
Особый интерес представляют результаты, полученные в работе [21], где рассматривалось поведение макромолекулы в плоской щели, ограниченной двумя параллельными бесконечными плоскостями. Такая модель является хорошим приближением при рассмотрении поведения макромолекул в пористом адсорбенте. На рис. 11.11 и 11.12 показаны зависимости числа ν и $\Delta S/kN$ от θ при разных расстояниях между плоскостями. На рис. 11.13 показана зависимость предельного значения химического потенциала (ΔF в расчете на сегмент $\lim_{N \rightarrow \infty} (\Delta F/NkT)$) от $\theta = -E/kT$.

Следует отметить, что при хроматографировании макромолекул в условиях $|E| < |E_{кр}|$ их поведение определяется, главным образом, спецификой гель-проникающей хроматографии, а при $|E| > |E_{кр}|$ — спецификой адсорбционной хроматографии. Видно (см. рис. 11.13), что область значений E , при которых можно хроматографировать макромолекулы, очень узкая, так как кривая резко уходит в область больших значений $\Delta F/(NkT)$.

Распределение сегментов внутри щели для различных энергий взаимодействия E и разных моделей решеток иллюстрируется на рис. 11.14. Силовое воздействие, которое испытывают при этом

Рис. 11.9. Изменение свободной энергии макромолекулы в расчете на сегмент от энергии взаимодействия с поверхностью для различных значений N и жесткости γ :

1 — $N = 20, \gamma = 1$; 2 — $N = \infty, \gamma = 1$; 3 — $N = 20, \gamma = 0,1$; 4 — $N = \infty, \gamma = 0,1$.



обе плоскости щели в результате их взаимодействия с сегментами макромолекулы, показано на рис. 11.15 (в расчете на один сегмент — f/kT) как функция энергии E и ширины щели z_n [21].

Таким образом, имеется большой теоретический материал по адсорбции изолированной гибкоцепной макромолекулы, который по разным причинам не подвергался экспериментальной проверке традиционными методами исследования адсорбции полимеров. Поэтому особый интерес представляло использование для этой цели хроматографии. Здесь можно работать с растворами предельно малых концентраций ($\sim 0,1-0,01\%$), что является весьма существенным. Результаты прямых хроматографических измерений позволяют определять непосредственно изменение свободной энергии макромолекул при их адсорбции на поверхности сорбента или внутри его пор. Такие работы были выполнены в последнее время в двух вариантах адсорбционной хроматографии: тонко-

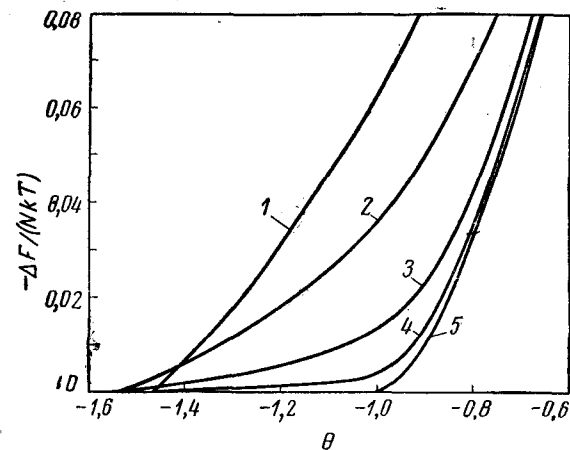


Рис. 11.10. Изменение свободной энергии макромолекулы в расчете на сегмент от энергии взаимодействия с поверхностью для различных значений N при $\gamma = 1$:

1 — $N = 20$; 2 — $N = 50$; 3 — $N = 200$; 4 — $N = 1000$; 5 — $N = \infty$.

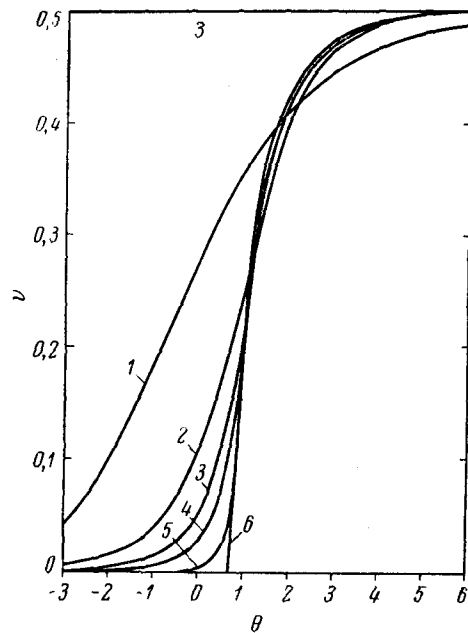


Рис. 11.11. Зависимость средней доли v контактов бесконечно длинных цепей ($N \rightarrow \infty$) с поверхностью от энергии адсорбционного взаимодействия при различных расстояниях M между адсорбционными плоскостями (в единицах длины сегмента) для объемно-центрированной кубической решетки ($v \leq 1/2$):

1 — $M = 4$; 2 — $M = 6$; 3 — $M = 8$;
4 — $M = 10$; 5 — $M = 20$; 6 — $M = \infty$.

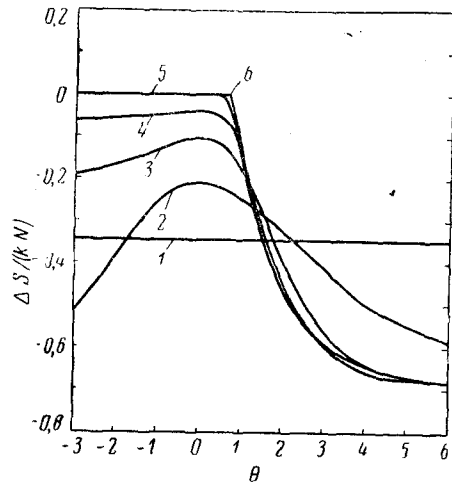


Рис. 11.12. Предельное значение энтропии в расчете на один сегмент как функция энергии θ при различных расстояниях M между адсорбционными плоскостями (в единицах длины сегмента) для объемно-центрированной кубической решетки ($v \leq 1/2$):

1 — $M = 3$; 2 — $M = 4$; 3 — $M = 6$; 4 — $M = 10$; 5 — $M = 20$; 6 — $M = \infty$.

Рис. 11.13. Зависимость химического потенциала макромолекулы, адсорбированной в щели (M — ширина щели в единицах длины сегмента) от энергии адсорбционного взаимодействия. График построен на основе данных рис. 11.11 и 11.12 при условии:

$\Delta F / (NkT) = v\theta - \Delta S / (Nk)$. 1 — $M = 4$; 2 — $M = 10$; 3 — $M = \infty$.

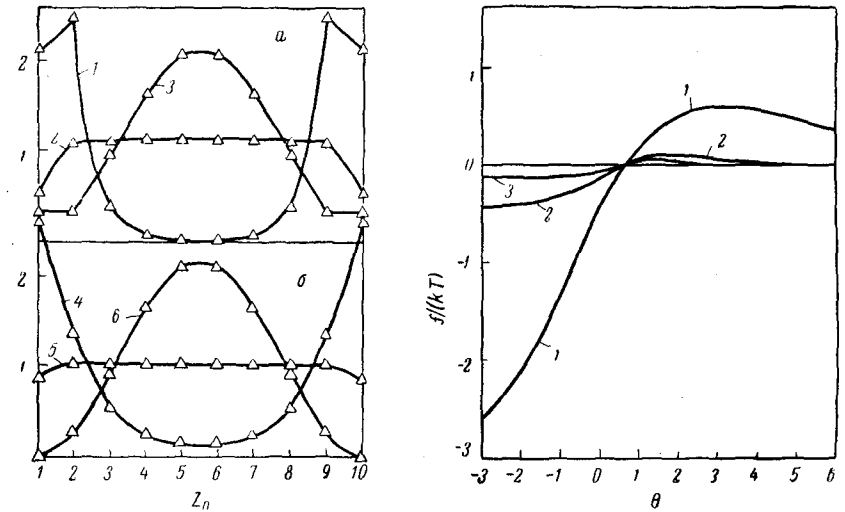
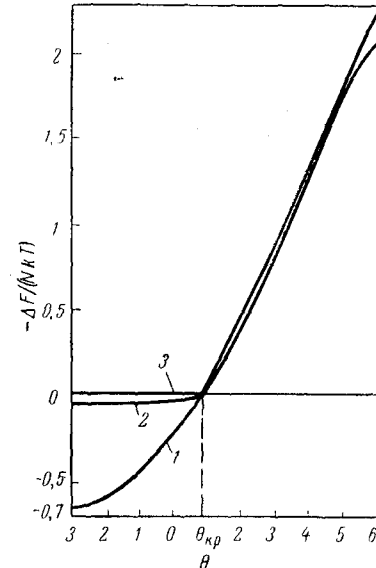


Рис. 11.14. Распределение доли сегментов v_n по высоте z_n от поверхности при различных значениях параметра $E/kT(\theta)$:

a — для объемно-центрированной кубической решетки ($A = 1,0$); b — для простой кубической решетки ($A = 1/3$); 1 — $\theta = 2,0131$; 2 — $\theta = 0,6841$; 3 — $\theta = -1,0419$; 4 — $\theta = 0,3019$; 5 — $\theta = 0,1823$; 6 — $\theta = -1,3287$.

Рис. 11.15. Зависимость эффективной силы натяжения между плоскостями от энергии $E/kT(\theta)$ при разных расстояниях M между плоскостями (в единицах длины сегмента):

1 — $M = 4$; 2 — $M = 6$; 3 — $M = 8$.

слойном и колоночном. Полученные при этом результаты приведены в гл. VIII. Они подтвердили все основные положения, вытекающие из вышеописанной теории адсорбции изолированной макромолекулы. Особенности структуры адсорбционного слоя макромолекул, полученные различными физическими (но нехроматографическими) методами, изложены в следующем разделе.

II. 3. Экспериментальное изучение структуры адсорбционного слоя

Ряд результатов, полученных в предыдущем разделе с помощью различных математических методов, находит экспериментальное подтверждение в работах по адсорбции полимеров. Методики, развитые в этих работах, можно разбить на два класса: оптические и гидродинамические. К первым относятся эллипсометрия, основанная на измерении отраженного поляризованного света от адсорбционной пленки и позволяющая определить среднеквадратичную толщину этой пленки и показатель преломления, связанный с концентрацией в ней полимерных сегментов [30, 31], и метод

нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в ультрафиолетовой области [32], также позволяющий определить толщину и концентрацию полимерной адсорбционной пленки и распределение в ней плотности сегментов. К методикам второго класса следует отнести прецизионную вискозиметрию [33—35], седиментацию и фильтрацию через пористые стеклянные фильтры [36], основанные на измерении размеров капилляров или частиц при адсорбции на них макромолекул. Большой интерес при изучении структуры адсорбционных слоев полимерных молекул представляет также определение доли θ адсорбированных звеньев с помощью ИК-спектроскопии.

Установлены [37—42] следующие закономерности структуры адсорбционного слоя.

1. Толщина адсорбционного слоя, плотность содержащихся в ней сегментов, а также доля адсорбированных сегментов зависят от длительности эксперимента, энергии взаимодействия сегментов с поверхностью, качества растворителя, концентрации полимерного раствора и связанными с ней степенью заполнения адсорбционной поверхности и скоростью диффузии макромолекул к поверхности сорбента.

2. Решающее влияние на структуру адсорбционного слоя оказывает значение энергии взаимодействия сегмента с адсорбционной поверхностью. При этом удается наблюдать два типа структуры адсорбционного слоя: при сильных и слабых взаимодействиях.

3. При сильных адсорбционных взаимодействиях, например в случае адсорбции полиэтилентерефталата на SiO_2 или полистирола на поверхности ртути из растворов, вторые компоненты которых слабо взаимодействуют с адсорбентом, адсорбционное равновесие устанавливается быстро, толщина адсорбционной пленки $(\bar{z}^2)^{1/2}$ относительно невелика $(\bar{z}^2)^{1/2} < (\bar{h}^2)^{1/2}$, не зависит от молекулярной массы и не изменяется с течением времени и увеличением концентрации. Доля адсорбированных сегментов ν не зависит ни от молекулярной массы, ни от энергии адсорбционного взаимодействия.

4. При относительно слабых взаимодействиях, например при адсорбции полистирола на окисной поверхности металлов, адсорбционное равновесие устанавливается достаточно медленно. В начальной стадии адсорбции, когда θ мала, макромолекулы адсорбируются в относительно плоской конформации, характеризующейся малым значением $(\bar{z}^2)^{1/2}$, значительной плотностью сегментов в адсорбционном слое и большим значением ν . По мере заполнения поверхности происходит изменение конформации адсорбированных макромолекул, $(\bar{z}^2)^{1/2}$ монотонно возрастает и достигает постоянного значения, которое превышает $(\bar{h}^2)^{1/2}$ и зависит от корня квадратного из молекулярной массы (M). При этом чем больше M , тем быстрее $(\bar{z}^2)^{1/2}$ достигает постоянного значения.

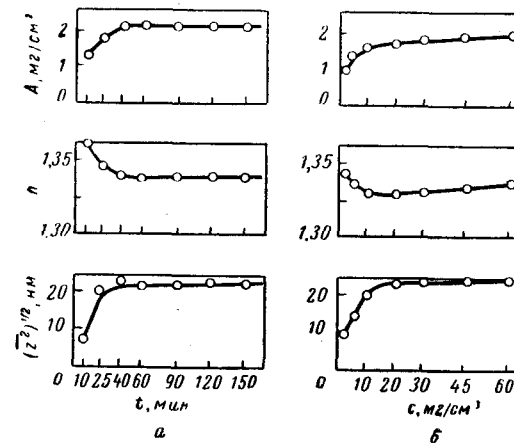


Рис. 11.16. Зависимость количества адсорбированного полиэтиленоксида A , показателя преломления n (пропорционального концентрации) и толщины адсорбционного слоя $(\bar{z}^2)^{1/2}$ от времени адсорбции (а) и концентрации раствора полиэтиленоксида (б).

Плотность сегментов в адсорбционном слое вначале падает, а затем при увеличении концентрации полимерного раствора начинает расти. Описанные изменения концентрации полимера в адсорбционном слое и его толщины с увеличением длительности опыта и изменением концентрации раствора иллюстрируются на примере адсорбции полиэтиленоксида из воды (рис. 11.16).

Изменение качества растворителя (его ухудшение) не сказывается на толщине адсорбционной пленки, однако поскольку при этом уменьшается растворимость полимера и увеличивается его адсорбция, то возрастает плотность сегментов в адсорбционном слое.

5. Весьма своеобразно протекает адсорбция статистических сополимеров, содержащих звенья с различной адсорбционной

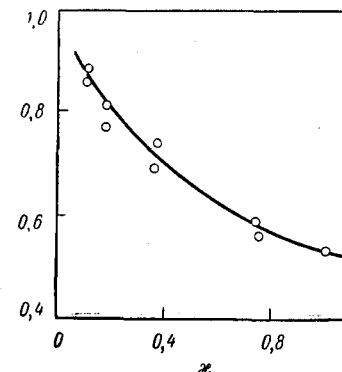


Рис. 11.17. Зависимость доли связанных карбонильных групп ν от степени покрытия поверхности x для сополимеров винилацетата с этиленом.

активностью, например сополимера этилена и винилацетата. При малых заполнениях поверхности винилацетатные звенья адсорбируются почти нацело: $\nu \approx 0,85$ (у ПВА $\nu_{\text{макс}} = 0,55$), следовательно, сополимер имеет почти плоскую конформацию с петлями малого размера. При увеличении степени покрытия поверхности доля адсорбированных сегментов резко уменьшается, как это видно из рис. П.17 [43]. Таким образом, наличие в составе сополимера неадсорбирующихся звеньев способствует большей адсорбционной доступности адсорбционно-активных звеньев макромолекулы.

II.4. Зависимость адсорбционного взаимодействия от химической природы сорбента, полимера и растворителя

Энергия взаимодействия макромолекулярных сегментов E с поверхностью сорбента зависит от химической природы всех трех компонентов системы полимер — сорбент — растворитель. При расчете следует учитывать ряд факторов, основными из которых являются соотношения между различными энергетическими взаимодействиями, регулируемыми образованием и разрывом четырех пар контактов: полимер — растворитель, полимер — сорбент, сорбент — растворитель и растворитель — растворитель.

Пусть $\omega_{1,1}$ — энергия контакта двух молекул растворителя, $\omega_{2,2}$ — энергия контакта двух сегментов полимера, $\omega_{1,3}$ — энергия контакта молекулы растворителя с адсорбционным центром сорбента, $\omega_{2,3}$ — энергия контакта сегмента полимера с адсорбционным центром, $\omega_{1,2}$ — энергия контакта молекулы растворителя с сегментом макромолекулы. Тогда при растворении полимера избыточная энергия его взаимодействия с растворителем в расчете на один сегмент выразится следующим образом:

$$\Delta\omega_{1,2} = 1/2 (\omega_{1,1} + \omega_{2,2}) - \omega_{1,2} \quad (\text{II.21})$$

Аналогично, при адсорбции полимера избыточная энергия его взаимодействия с адсорбентом в расчете на один сегмент определяется как [11]

$$\Delta\omega_{2,3} = \omega_{1,3} + \omega_{1,2} - \omega_{2,3} - \omega_{1,1} \quad (\text{II.22})$$

Энергия взаимодействия сегментов макромолекулы с адсорбционной поверхностью, фигурирующая в формулах (II.14—II.20), пропорциональна величине $\Delta\omega_{2,3}$, причем коэффициент пропорциональности z есть некоторое координационное число, характеризующее тип решетки, моделирующей структуру полимерного раствора

$$E = z \Delta\omega_{2,3} \quad (\text{II.23})$$

Следует отметить, что безразмерная величина

$$\chi \equiv z \Delta\omega_{2,3} / (kT) \quad (\text{II.24})$$

есть не что иное, как хорошо известный параметр Флори — Хаггинса, равный нулю для атермальных растворов и принимающий значение $1/2$ для тэта-растворителей, z — координационное число в отсутствие адсорбции.

Наиболее полно энергетические характеристики различных адсорбционных систем рассмотрены в молекулярной теории адсорбции А. В. Киселева [44—47] и корреляционной теории Л. Снайдера [48].

II.4.1. Молекулярная теория адсорбции

Развитая А. В. Киселевым молекулярная теория адсорбции устанавливает количественные характеристики системы адсорбент — раствор на основании анализа их химической структуры и геометрических параметров.

В зависимости от химической природы взаимодействующих молекул между ними действуют разные силы.

а) Неспецифические, ван-дер-ваальсовы, главным образом дисперсионные и индукционные, которые нелокализованы в пространстве, связаны с поляризуемостью молекул и их геометрической структурой и имеют энергию 4—12 кДж/моль.

б) Специфические, электростатические (диполь-дипольные взаимодействия, водородные связи), которые возникают при наличии локальных изменений электронной плотности у взаимодействующих молекул. При этом образуются парные контакты с энергией взаимодействия 15—40 кДж/моль и выше. В пределе к этому типу взаимодействий относятся ион-дипольные и кулоновские взаимодействия, которые характеризуются значительно большей энергией, хотя пространственная локализация этих сил играет меньшую роль, чем, например, в случае водородных связей. Еще более прочные химические связи, когда индивидуальность партнеров теряется, имеют место у комплексов с переносом зарядов, энергия образования которых составляет более 40 кДж/моль.

Специфическое взаимодействие молекул с адсорбентом оценивается в работах А. В. Киселева по смещению частоты валентных колебаний гидроксильных групп на поверхности адсорбента (ν_{OH}) и разнице дифференциальных теплот адсорбции (ΔQ_0) на гидроксильном и дегидроксильном силикагеле (в условиях 50%-ного заполнения поверхности адсорбента), поскольку в первом случае проявляются как специфические, так и неспецифические взаимодействия, а во втором — только неспецифические контакты

$$\Delta Q_0 = Q_{0, \text{гидр}} - Q_{0, \text{дегидр}} \quad (\text{II.25})$$

С целью выделения и систематизации типичных, качественно сходных видов взаимодействия А. В. Киселев разработал их классификацию, основанную им на электронной структуре взаимодействующих молекул. В соответствии с этим все адсорбирующиеся

молекулы были разделены на четыре группы: А — молекулы со сферически симметричными оболочками или σ -связями; В — молекулы с локальной электронной плотностью на периферии связей и звеньев (π -связь, свободные электронные пары эфиров, кетонов, третичных аминов, нитрилов, сложных эфиров); С — молекулы с положительным зарядом, локально сосредоточенным на периферии звеньев (металлоорганические соединения, галогенуглеводороды); D — молекулы с функциональными группами, где на периферии соседних звеньев сосредоточены как положительный заряд, так и отрицательная электронная плотность (спирты, фенолы, кислоты, амиды кислот, первичные, вторичные амины).

По-видимому, к молекулам групп В, С и D можно также соответственно отнести органические катионы, анионы и цвиттерионы. Очевидно, что электронная плотность молекул В, С, D может быть качественно оценена в рамках представлений об электронных смещениях в молекуле, связанных с взаимным влиянием атомов или используя некоторые экспериментальные методы, например ПМР [49]. Однако существенную роль играет и стерическая доступность функциональных групп при адсорбции, например кислород тетрагидрофурана, спиртов, карбонильных групп легче взаимодействует с силанольным гидроксильным, чем кислород эфирной связи [50]. Между молекулами групп А, В, С и D во всех случаях проявляется неспецифическое взаимодействие. Дополнительное к нему специфическое взаимодействие будет иметь место между молекулами, относящимися к группам В и С, В и D, С и D, D и D. Специфические дипольные взаимодействия будут также между молекулами групп В и В, С и С. Сопряжение связей приводит к выравниванию электронной плотности в молекулах и ослаблению вследствие этого их способности к специфическому взаимодействию. Например, энергия адсорбции пиридина и фурана, у которых соответственно атомы азота и кислорода сопряжены с $C=C$ -связями, соответственно ниже, чем для триэтиламина и тетрагидрофурана, где такого сопряжения нет и неподеленная пара электронов полностью локализована на атоме азота и кислорода.

Адсорбенты разделяются на три типа: I — неспецифический, который не несет ни ионов, ни активных групп (графитированная сажа, нитрид бора, поверхность с насыщенными группами, дегидроксилированный силикагель); II — специфический с сосредоточенными положительными зарядами на поверхности (гидроксилированные кремнеземы, пористые полимеры с карбоксильными группами, цеолиты с обменными катионами малого радиуса); III — специфический, с сосредоточенными отрицательными зарядами на поверхности (π -связь, электронодонорные группы у монослоев, нанесенные на пористые адсорбенты, обменные анионы малого радиуса).

Адсорбенты всех типов взаимодействуют с молекулами группы А неспецифически, однако энергия таких взаимодействий

у разных адсорбентов различна. Рассмотрим более подробно адсорбенты типа II. Эти специфические адсорбенты включают ионные кристаллы с большим комплексным анионом: цеолиты, сульфат бария и другие, а также кремнеземы, которые особенно широко используются в жидкостной хроматографии. К последним относятся природные кремнеземы — диатомные земли (цеолиты) и важнейшие для жидкостной хроматографии синтетические кремнеземы: силикагели и пористые стекла, несущие на поверхности гидроксильные группы — силанольные гидроксилы, у которых неподеленная пара электронов на кислороде распределена между вакантными d -орбиталями кремния и вследствие этого малоактивна при образовании водородных связей. В результате силикагель способен к образованию водородных связей только в качестве акцептора электронов и очень слабо проявляет себя как электронодонор.

Поверхностная концентрация гидроксильных групп у кремнеземов составляет около 5 OH-групп на 1 нм^2 ($8-9 \text{ мкмоль/м}^2$) [44]. В том случае, когда в состав силикагеля включено небольшое количество алюминия, последний образует координационно-ненасыщенный апротонный центр, способствующий протонизации соседнего гидроксила [45]. В результате на поверхности алюмосиликагеля соседствуют апротонный (льюисовский) и протонный (бренстендовский) кислотные центры, что существенно увеличивает специфическую адсорбционную активность силикагеля. Подобный же льюисовский адсорбционный центр находится на поверхности пористых стекол (за счет атомов бора, неположительно удаленных при выщелачивании стекла).

Существенное значение для адсорбции имеет распределение пор в силикагеле по размерам, поскольку в порах малого диаметра адсорбционный потенциал увеличивается и, кроме того, на адсорбцию может накладываться молекулярно-ситовый эффект. Важное значение имеет также регулярность геометрической структуры поверхности силикагеля, о которой можно судить по изменению $Q_{0, \text{гидр}}$ при заполнении поверхности [51]. Поверхность силикагеля неоднородна, однако степень энергетической неоднородности зависит и от природы адсорбируемых молекул. При адсорбции триэтиламина ($\Delta Q_0 = 35,70 \text{ кДж/моль}$) и тетрагидрофурана ($\Delta Q_0 = 28,14 \text{ кДж/моль}$) $Q_{0, \text{гидр}}$ со степенью заполнения изменяется мало; при адсорбции пиридина ($\Delta Q = 22,68 \text{ кДж/моль}$) и ацетонитрила ($\Delta Q_0 = 18,90 \text{ кДж/моль}$) $Q_{0, \text{гидр}}$ заметно уменьшается с увеличением числа адсорбированных молекул [51]. Неоднородность адсорбционной поверхности силикагеля особенно ярко проявляется при адсорбции молекул с двумя адсорбционно-активными группами, например молекул диоксана. При малых степенях заполнения поверхности, когда среди статистически разбросанных силанольных гидроксильных групп имеются пары гидроксильных, расстояния между которыми соответствуют расстоянию между атомами кислорода диоксана, наблюдается большая дифферен-

циальная теплота адсорбции, которая резко падает, когда не остается таких пар гидроксидов на поверхности силикагеля. Однако теплота адсорбции диоксана (два атома кислорода) при малых степенях заполнения не удваивается по сравнению с диэтиловым эфиром (один атом кислорода) вследствие креслоподобной конфигурации молекулы диоксана, препятствующей благоприятной ориентации обоих атомов кислорода диоксана при взаимодействии с силанольными гидроксидными [51].

Следует отметить, что особенно высокая степень энергетической неоднородности поверхности может наблюдаться при включении в кремнеземы таких элементов, как, например, Al. Так, на дегидроксилированном алюмосиликагеле с 0,36% Al наблюдаются три энергетических уровня взаимодействия с триэтиламином: 210 кДж/моль для хемосорбции на примесных центрах, 84 кДж/моль для адсорбции на силанольных гидроксидных и 42 кДж/моль для неспецифической адсорбции на силоксановых группах [52].

Следует также остановиться на классификации адсорбентов, предложенной Болджером и Майклсом [53]. Эти авторы оценивали адсорбционную активность окисных поверхностей металлов и алюмосиликатов (химические структуры которых подобны, так как состоят из поверхностных гидроксидов, окруженных молекулами воды) с помощью предложенного Парком [54] показателя изoeлектрической точки поверхности (IEPS), представляющего собой pH суспензии оксида, когда заряд его поверхности равен нулю. Парк установил, что показатель изoeлектрической точки поверхности (IEPS) связан с отношением валентности катиона оксида (z) и его эффективного радиуса ($R_{эфф}$):

$$IEPS = 18,6 - z/R_{эфф}$$

При этом IEPS имеет наибольшую величину у MgO, FeO, CoO, а наименьшую у SiO₂. По-видимому, чем ниже IEPS, тем в большей степени оксид соответствует адсорбентам типа II по А. В. Киселеву. Когда же IEPS велика, оксид приближается к адсорбентам типа III, однако энергия специфического взаимодействия у таких оксидов, например MgO, снижается [53].

II. 4.2. Корреляционная теория адсорбционной хроматографии Снайдера

Л. Снайдер в большой серии статей, обобщенных в монографии [47], разработал корреляционную теорию, связывающую элюционный объем вещества (индекс удерживания) со свойствами вещества, адсорбента и растворителя, которые характеризуются соответствующими корреляционными показателями (параметрами). Как и в любой корреляционной теории, эти параметры связаны с физической природой явления и определяются из экс-

периментальных наблюдений в рамках принятой автором модели адсорбционно-хроматографического процесса.

Теория Снайдера основывается на следующих положениях. Хроматографический коэффициент распределения Kd связан с термодинамическим фактором емкости K соотношением

$$Kd = KV_a \quad (II.26)$$

где V_a — объем адсорбированного растворителя на единицу массы адсорбента.

Для большинства используемых в хроматографии растворителей

$$V_a = (0,00035 \pm 0,00007) S_a \quad (II.27)$$

где S_a — поверхность адсорбента (м²/г).

Как известно, термодинамический фактор емкости K связан с изменением свободной энергии ($-\Delta F$) при межфазном распределении (адсорбции) вещества и растворителя:

$$\lg K = -\Delta F / (2,3RT) \equiv \Delta F \quad (II.28)$$

В свою очередь изменение свободной энергии при адсорбции представляет собой сумму свободных энергий компонентов, перешедших в каждую из фаз

$$\Delta F = E_{xa} + mE_{sl} - E_{xl} - mE_{sa} \equiv \Delta E \quad (II.29)$$

где m — отношение молекулярных площадок (площадей контакта молекулы с поверхностью адсорбента) вещества и растворителя

$$m = A_x / A_s$$

Индексы x и s относятся соответственно к веществу и растворителю, l и a — к раствору и адсорбированному состоянию.

Поскольку изменение свободной энергии при взаимодействии молекул вещества и растворителя много меньше, чем при адсорбции, выражение (II.29) упрощается

$$\Delta E \approx E_{xa} - mE_{sa} \quad (II.30)$$

Остается теперь связать E_{xa} и E_{sa} с адсорбционными корреляционными параметрами вещества $f(x)$, растворителя $f(s)$ и адсорбционного центра $f(A_i) \equiv \alpha_s$

$$\Delta E = \alpha_s [f(x) - mf(s)] = \alpha_s f(x, s) \quad (II.31)$$

Как установил Снайдер, величины V_a и α_s связаны с количеством воды, адсорбированной на поверхности адсорбента (см. табл. II.1).

Вернемся к выражению (II.3) и раскроем корреляционный член $f(x, s)$. Поскольку $m = \bar{A}_x / A_s$, обозначая $f(s) / A_s = \epsilon_0$, а $f(x) = x_0$, получаем

$$f(x, s) = X_0 - A_x \epsilon_0 \quad (II.32)$$

где X_0 — энергия адсорбции вещества; ϵ_0 — удельная энергия адсорбции растворителя (на единицу площади адсорбента 0,085 нм²).

Таблица II.1. Хроматографические характеристики типичных для ТСХ адсорбентов различной влажности [48]

Al ₂ O ₃ (100 м ² /г)			SiO ₂ (400 м ² /г)		
Содержание воды, %	lg V _a	α _s	содержание воды, %	lg V _a	α _s
—	—	—	2.0	—0.92	0.72
1.3	—1.66	0.74	2.7	—0.95	0.70
1.7	—1.75	0.71	3.8	—0.99	0.69
2.8	—2.10	0.63	6.7	—1.14	0.69
5.6	—2.30	0.59	11.8	—1.66	0.69
10.8	—2.80	0.59	30.0	—	—

В табл. II.2 представлены некоторые свойства используемых в хроматографии растворителей, которые расположены в порядке возрастания ε₀. Значения ε₀ определены для Al₂O₃ относительно пентана, адсорбционная энергия которого связана только с дисперсионными силами, пропорциональными величине A_s, и рассчитаны по формулам (II.37 и II.38). Значения параметра ε₀ для SiO₂, флоризила (силиката магния) и MgO соответственно составляют 0,77, 0,52 и 0,58 значений ε₀ для Al₂O₃.

Молекулярная площадка вещества A_x, необходимая для расчета величины f(x, s) по формуле (II.32), определяется как сумма площадок a_i в единицах площади 0,085 нм², относящихся к каждой функциональной группе вещества и рассчитанных из ковалентных и ван-дер-ваальсовых радиусов.

Теперь остается представить адсорбционную энергию вещества через корреляционные параметры молекулярных группировок, входящих в его состав. В первом приближении, когда адсорбционная поверхность однородна, все группировки полностью контактируют с адсорбционной поверхностью и электронная структура группировок не зависит от структуры остальной части молекулы, X₀ может быть получена в виде суммы адсорбционных взаимодействий атомов, связей и функциональных групп молекулы вещества — Q_{0,i}, которые могут быть определены из опытов с использованием гомологических рядов веществ

$$X_0 = \sum Q_{0,i} \quad (II.33)$$

В действительности первое приближение в определении X₀ (II.33) не является точным. Обычно только одна из группировок (k) молекулы вещества адсорбируется прочно, другие группировки в силу стерических факторов связываются с поверхностью адсорбента менее прочно. Это так называемый эффект делокализации. Относительная степень локализации k-той группы пропорциональна Q_{0,k} и для нее Q_{0,k} — константа. Остальные группы делокализованы. Потеря энергии делокализованной группы i пропорциональна Q_{0,i} и некоторой функции локализа-

Таблица II.2. Свойства используемых в хроматографии растворителей

Растворитель	ε ₀ , Al ₂ O ₃	Вязкость при 20 °С, кПа·с	Параметр растворимости δ, (Дж/см ³) ^{1/2}	Молекулярная площадка A _s в единицах 0,085 нм ²	Плотность при 20 °С, г/см ³	Показатель преломления	УФ-пропускание (слой 10 мм), нм
Фторуглероды	—0.25	—	5,5	—	—	1,25	—
n-Пентан	0,00	0,23	7,1	5,9	0,626	1,358	210
Циклогексан	0,04	1,00	8,2	6,0	0,778	1,427	210
Четыреххлористый углерод	0,18	0,97	8,6	5,0	1,59	1,466	265
Толуол	0,29	0,59	8,9	6,8	0,867	1,496	285
Хлорбензол	0,30	0,80	9,5	6,8	1,106	1,525	—
Бензол	0,32	0,65	9,2	6,0	0,879	1,501	280
Этиловый эфир	0,38	0,23	7,4	4,5	0,714	1,353	220
Хлороформ	0,40	0,57	9,3	5,0	1,48	1,443	245
Метиленхлорид	0,42	0,44	9,7	4,1	1,33	1,424	245
Тетрагидрофуран	0,45	0,51	9,1	5,0	0,889	1,408	220
Метилэтилкетон	0,51	3,65	9,3	4,6	0,805	1,381	330
Ацетон	0,56	0,32	9,9	4,2	0,790	1,359	330
Диоксан	0,56	1,54	10,0	6,0	1,034	1,422	220
Этилацетат	0,58	0,45	9,6	5,7	0,900	1,370	260
Диметилсульфоксид	0,62	2,24	12,8	4,3	1,101	—	265
Диэтиламин	0,63	0,38	—	7,5	0,71	1,387	275
Нитрометан	0,64	0,67	12,6	3,8	1,137	1,394	380
Ацетонитрил	0,65	0,37	11,7	10,0	0,777	1,344	210
Пиридин	0,71	0,94	10,7	5,8	0,982	1,510	305
n-Пропанол	0,82	2,3	11,5	8,0	0,804	1,38	210
Этанол	0,88	1,20	12,7	8,0	0,785	1,361	210
Метанол	0,95	0,60	14,4	8,0	1,791	1,329	210
Этиленгликоль	1,11	19,9	14,7	8,0	1,109	1,427	—
Уксусная кислота	>1	1,26	12,4	8,0	1,049	1,372	—

ции f(Q_{0,k}), которая зависит от Q_{0,k}. Отсюда потеря энергии адсорбции делокализованной группой составляет f(Q_{0,k}) Q_{0,i}. В соответствии с этим уравнение (II.33) должно быть переписано следующим образом:

$$X_0 = \sum_i Q_{0,i} - f(Q_{0,k}) \sum_{i \neq k} Q_{0,i} \quad (II.34)$$

Имеется еще один фактор, от которого зависит энергия адсорбции вещества и который не учитывается в уравнении (II.34). Это взаимное электронное влияние атомов, которое может быть учтено в виде добавочных членов q_{0,i,j}, а также дополнительных неучитываемых теорией членов Δ. В результате корреляционное уравнение для Kd имеет вид:

$$\lg Kd = \lg V_a + \alpha_s (Q_{0,k} + a_k E_0) + \alpha_s \sum_{i=k} \times \times \{ [1 - f(Q_{0,k})] Q_{0,i} - a_i E_0 \} + \sum_i \sum_j q_{0,i,j} + \Delta \quad (II.35)$$

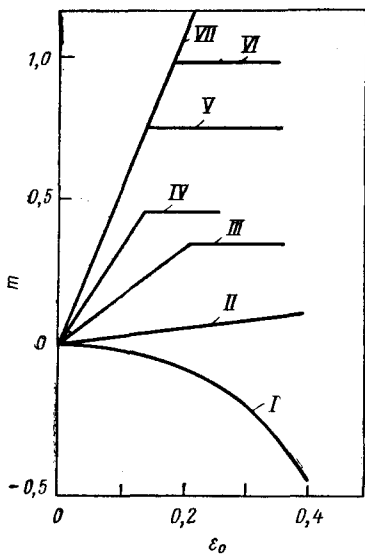


Рис. II.18. Зависимость m от ϵ_0 смеси активного компонента с пентаном (цифры в скобках — ϵ_0):

I — CCl_4 (0,18), толуол (0,29), бензол (0,32); II — перхлорэтилен (0,25), 2-хлорпропан (0,29), хлорбензол (0,30), броматан (0,35); III — диэтилсульфид (0,38), CHCl_3 (0,40), CH_2Cl_2 (0,42); дихлорэтилен (0,44); IV — этиловый эфир (0,38); V — триэтиламин (0,54); ТГФ (0,57), этилацетат (0,58); VI — ацетонитрил (0,65); VII — ацетон (0,58), нитрометан (0,64), пиридин (0,71), ДМСО (~0,75).

Удельная энергия адсорбции растворителя (активного компонента) в группах: I (0,18 ÷ 0,32); II (0,25 ÷ 0,35), III (0,38 ÷ 0,44), IV (0,38), V (0,54 ÷ 0,58), VI (0,65), VII (0,56 ÷ 0,75).

Аналогично выражению для колоночной хроматографии запишем выражение для тонкослойной хроматографии:

$$R_m = \lg(V_a W/V_0) + \alpha_s(Q_0, k + a_k \epsilon_0) + \alpha_s \sum_{i \neq k} [1 - f(Q_0, k)] Q_0, i - a_i \epsilon_0 + \sum_i \sum_j q_0, i, j + \Delta \quad (\text{II.36})$$

где $R_m = \lg(1/R_f - 1)$; W и V_0 — соответственно масса адсорбента и объем подвижной фазы в единице объема хроматографического слоя.

Несмотря на сложность, уравнения (II.35) и (II.36) представляют большой интерес, так как в них в форме корреляционных параметров записаны все факторы, которые влияют на хроматографическое поведение вещества. Однако при действии всей совокупности факторов величины Kd и R_m трудно предсказуемы. В слабо возмущенных системах, когда $f(Q_0, k)$, q_0, i, j и Δ стремятся к нулю, т. е. в случае неспецифических адсорбционных взаимодействий, расчет Kd и R_m дает вполне совпадающие с экспериментом результаты. В свою очередь эти простые соотношения

$$\lg Kd = \lg V_a + \alpha_s \sum_i (Q_0, i - a_i \epsilon_0) \quad (\text{II.37})$$

$$R_m = \lg(V_a W/V_0) + \alpha_s \sum_i (Q_i - a_i \epsilon_0) \quad (\text{II.38})$$

могут быть использованы для определения V_a , α_s , Q_i , ϵ_0 , когда часть этих параметров известна.

Интересные обобщения сделаны Снайдером [55] относительно хроматографических систем, предназначенных для эффективного разделения близких веществ. Селективность в разделии пары веществ K_1/K_2 связана с параметрами адсорбента, растворителя и веществ следующим образом:

$$\lg(K_1/K_2) = \alpha_s(X_{0,1} - X_{0,2}) + \alpha_s \epsilon_0(A_{x1} - A_{x2}) + (\Delta_1 - \Delta_2) \quad (\text{II.39})$$

Поиски оптимальной разделительной системы связаны с необходимостью иметь ϵ_0 , обеспечивающую наибольшую эффективность разделения. Тогда основная возможность увеличения соотношения Kd_1/Kd_2 связана с увеличением последнего члена уравнения (II.39). Снайдер представляет эту величину в виде произведений двух сомножителей: фактора растворителя m_s и фактора разделяемых веществ Δ_0 :

$$\Delta_1 - \Delta_2 = m_s(\Delta_{0,1} - \Delta_{0,2}) \quad (\text{II.40})$$

Зависимость m_s от ϵ_0 бинарной смеси растворителей, одним из компонентов которой является углеводород (пентан) изображена на рис. II.18. Видно, что высокие значения m_s при заданном значении ϵ_0 (например, $\epsilon_0 = 0,3$) будут иметь место при использовании малых концентраций компонентов группы VI.

Литература

1. Flory P. Principles of Polymer Chemistry. Ithaca, N. Y. Cornell Univ. press, 1953, 672 p.; J. Chem. Phys., 1942, v. 10, p. 51—57.
2. Huggins M. J. Phys. Chem., 1942, v. 46, p. 151—159.
3. Frisch H. L., Simha R., Eirich F. R. J. Chem. Phys., 1953, v. 21, p. 365—366.
4. Frisch H. L., Simha R. J. Phys. Chem., 1953, v. 57, p. 584—589; 1974, v. 58, p. 507—512; 1955, v. 59, p. 633—638; J. Chem. Phys., 1956, v. 24, p. 652—667; 1957, v. 27, p. 702—706.
5. Higuchi W. I. J. Phys. Chem., 1961, v. 65, p. 487—491.
6. Forsman W. E., Huges R. E. J. Chem. Phys., 1963, v. 38, p. 2118—2130.
7. Silberberg A. J. Phys. Chem. 1962, v. 66, p. 1872—1883, p. 1884—1907; J. Chem. Phys. 1967, v. 46, p. 1105—1114.
8. Forsman W. E., Huges R. E. J. Chem. Phys., 1963, v. 38, p. 2130—2135.
9. Gilliland E. R., Gutoff E. B. J. Phys. Chem., 1960, v. 64, p. 407—410.
10. Huggins M. L. Makromol. Chem., 1965, v. 87, p. 119—138.
11. Silberberg A. J. Chem. Phys., 1968, v. 48, p. 2835—2851; «Polymer Preprints», 1970, v. 11, p. 1201—1209.
12. Hoeve C. A. J., Di Marzio E. A., Peyser P. J. Chem. Phys., 1965, v. 42, p. 2558—2563; Hoeve C. A. J. J. Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 3007—3008; 1966, v. 44, p. 1505—1509; «Polymer Preprints», 1970, v. 11, p. 1232—1240.
13. Montroll E. W. Proc. Symp. Appl. Math., 1964, v. 16, p. 193—198.
14. Montroll E. W., Weiss G. J. Math. Phys., 1965, v. 6, p. 167—171.
15. Roe R. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1965, v. 53, p. 50—59; J. Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 1591—1598; 1966, v. 44, p. 4264—4272.
16. Motomura K., Matuura R. Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ., 1968, v. 6, p. 97—105; J. Chem. Phys., 1969, v. 50, p. 1281—1287.
17. Motomura K. J. Chem. Phys., 1969, v. 51, p. 4681—4682.
18. Motomura K., Moroi Y., Matuura R. Bull. Chem. Soc. Japan, 1971, v. 44, p. 1248—1252.

19. Motomura K., Sekita K., Matuura R. Bull. Chem. Soc. Japan, 1971, v. 44, p. 1243—1248.
20. Rubin R. J. J. Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 2392—2407.
21. Di Marzio E. A., Rubin R. J. J. Chem. Phys., 1971, v. 55, p. 4318—4336.
22. Rubin R. J. J. Res. Natl. Bur. Std., 1965, v. B 69, p. 301—307; 1966, v. B70, p. 237—245; J. Chem. Phys., 1969, v. 51, p. 4681.
23. Di Marzio E. A., McCrackin F. L. J. Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 539—547.
24. McCrackin F. L. J. Chem. Phys., 1967, v. 47, p. 1980—1986.
25. Mazur J., McCrackin F. L. J. Chem. Phys., 1968, v. 49, p. 648—665; McCrackin F. L. «Polymer Preprints», 1970, v. 11, p. 1246—1253.
26. Керзон Х. Статистическая механика. Пер. с англ. Под ред. Ю. А. Церковникова. М., «Мир», 1966. 520 с.
27. Чандрасекар С. Стохастические проблемы в физике и астрономии. Пер. с англ. Под ред. Н. Н. Боголюбова. М., Издательский центр, 1947. 168 с.
28. DiMarzio E. A. J. Chem. Phys., 1965, v. 42, p. 2101—2106.
29. Zimm B. H. J. Chem. Phys., 1960, v. 33, p. 1349—1356.
30. Killman E., Wiegand H. Makromol. Chem., 1970, v. 132, p. 239—258.
31. Русанов А. И., Левицкий С. А., Пшеницын В. И. В сб.: Поверхностные явления в жидкостях и жидких растворах. Вып. 1, Л., Изд. ЛГУ, 1972. См. с. 3.
32. Peysen P., Stromberg R. J. Phys. Chem., 1967, v. 71, p. 2066—2074.
33. Ohrn O. Ark. Kemi, 1958, v. 12, p. 297—300.
34. Hugue M., Fischman F., Coring D. J. Phys. Chem., 1959, v. 63, p. 766—773.
35. Priel Z., Silberberg A. Am. Chem. Soc. Pol. Prepr., 1970, v. 11, p. 1405—1411.
36. Rouland F., Eirich F. J. Pol. Sci., 1966, v. A-1, p. 2401—2405.
37. Fontana B., Thomas J. J. Phys. Chem., 1961, v. 65, p. 480—489.
38. Thies C. Am. Chem. Soc. Pol. Prepr., 1965, v. 6, p. 320—327; 1966, v. 7, p. 880—886.
39. Vulas E. Thesis. Polytech. Inst. Brooklyn, 1963.
40. Малинский Ю. М. Высокотемп. соед., 1966, т. 8, с. 1886—1889.
41. Peysen P., Tutas D., Stromberg S. J. Pol. Sci., 1967, A1, v. 5, p. 651—663.
42. Stromberg R. R., Smith L. J. Phys. Chem., 1967, v. 71, p. 2470—2474.
43. Липатов Ю. С., Сергеева Л. М. Адсорбция полимеров. Киев, «Наукова Думка», 1972. 195 с.
44. Киселев А. В. и др. Физико-химическое применение газовой хроматографии. М., «Химия», 1973. 255 с.
45. Kiselev A. V. J. Chromat., 1970, v. 49, p. 84—92.
46. Киселев А. В., Лыгин В. И. Инфракрасные спектры поверхностных соединений. М., «Наука», 1972. 459 с.
47. Киселев А. В. и др. ЖФХ, 1968, т. 42, с. 2546—2552.
48. Snyder L. R. Principles of Adsorption Chromatography. N. Y., Marcel, Dekker, 1968. 413 p.
49. Bortnikov G. N. e. a. «Chromatographia», 1971, v. 4, p. 14—21.
50. Киселев А. В., Лыгин В. И. В кн.: «Основные проблемы теории физической адсорбции». Под ред. М. М. Дубинина и В. В. Серпинского. М., «Наука», 1970, см. с. 140.
51. Давыдов В. Я., Киселев А. В., Кузнецов Б. В. ЖФХ, 1965, т. 39, с. 2058—2064.
52. Kiselev A. V. Disc. Farad. Soc., 1971, v. 52, p. 14—19.
53. Balger J. C., Michaels A. S. In: «Interface conversion for polymer coatings». Eds. P. Weiss, G. Dale Chesser, N. Y. — Am., Elsevier, 1968. 389 с.
54. Parks G. A. Chem. Rev., 1965, v. 65, p. 177—198.
55. Snyder L. R. J. Chromat., 1971, v. 63, p. 7—8.

Гель-проникающая хроматография полимеров (ГПХ)

III. 1. Определение метода ГПХ

Разновидность хроматографического метода, в котором роль неподвижной фазы играет макропористый сорбент, адсорбционно инертный по отношению к молекулам хроматографируемого вещества, называется гель-проникающей хроматографией, если размеры пор соизмеримы с размерами молекул. Название метода сложилось исторически и недостаточно полно отражает его сущность. Это объясняется тем, что на первых порах (60-е годы) в качестве сорбента использовали только набухающие гели — декстрановые для разделения белков и полистирольные для анализа полимеров [1, 2]. Они представляют собой трехмерные полимерные сетчатые структуры (рис. III.1), внутрь которых могут с определенной вероятностью проникать различные макромолекулы. Эта вероятность зависит от соотношения размеров макромолекул и ячеек сетки, а скорость проникновения в гель определяется диффузионной подвижностью макромолекул. Для малых макромолекул она выше, чем для больших. Очень большие молекулы не проникают внутрь геля, а очень малые попадают туда с вероятностью, близкой к единице.

Начиная с 70-х годов в ГПХ стали использовать жесткие макропористые сорбенты: пористые стекла, силикагели и сфероны, обладающие хорошо развитой пористой структурой. При этом термин ГПХ остался, хотя в ряде работ появилось другое название метода, в известном смысле отражающее его сущность и применимое ко всем используемым в нем сорбентам — молекулярно-ситовая хроматография [3]. Однако от этого названия, как и от других ранее бытовавших названий метода, таких как гель-фильтрация [4, 4], гель-хроматография [5, 6], гелевая хроматография [7], эксклюзионная хроматография [8], рекомендовалось отказаться в пользу термина гель-проникающая хроматография, предложенного в основополагающей работе Мура в 1964 г. [2]. Эта рекомендация, первоначально исходившая от авторов, интенсивно работающих в данной области [9], была принята в качестве стандартного термина во всех международных

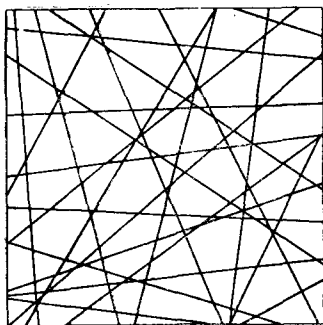


Рис. III.1. Схематическое изображение набухшего геля.

комплексов в белковой или полимерной смеси, а также соответствующие равновесные константы изомеризации, ассоциации и комплексообразования.

III. 2. Сорбенты для гель-проникающей хроматографии

Сорбенты для ГПХ должны обладать высокой стойкостью по отношению к химическим, температурным и механическим воздействиям, допускать возможность широкого варьирования своей проницаемости, иметь сравнительно однородную структуру и не вступать в адсорбционное взаимодействие с макромолекулами анализируемых веществ.

В общем случае сорбенты для ГПХ можно классифицировать по степени жесткости матрицы (жесткие, полужесткие и мягкие), по материалу (органические и силикатные), по характеру гранул (сферические и дробленные), по смачиваемости растворителем (гидрофильные, гидрофобные и универсальные).

Анализ гидрофильных полимеров и биополимеров осуществляют на мягких и жестких гидрофильных сорбентах, таких как сефадексы, полиакриламидные и агарозные гели, макропористые силикагели и макропористые стекла.

Для разделения гидрофобных полимеров применяют гели полистирола, сшитого дивинилбензолом, сшитые хлорбутилкаучуки [10] и сополимеры этиленгликольдиметакрилата с метилметакрилатом [11], метил- и бутилакрилатами [12, 13], метилметакрилатом [11, 14], сополимеры винилацетата и этиленоксидметакрилата с дивиниловым эфиром бутандиола [12, 13] и другие.

Универсальными для ГПХ полимеров являются силикатные сорбенты [15—17]: силикагели и макропористые стекла

полимерных и хроматографических журналов, в том числе и в СССР.

При гель-проникающей хроматографии сорбционная активность компонентов и связанный с ней межфазный массообмен определяются только диффузионной подвижностью макромолекул и соотношением их размеров с размерами пор. Это позволяет находить методом ГПХ размеры макромолекул, их молекулярные массы и некоторые структурные особенности, например степень разветвленности полимеров, зависимость размеров макромолекул сополимеров от их состава и молекулярных масс, число изомеров, ассоциатов и

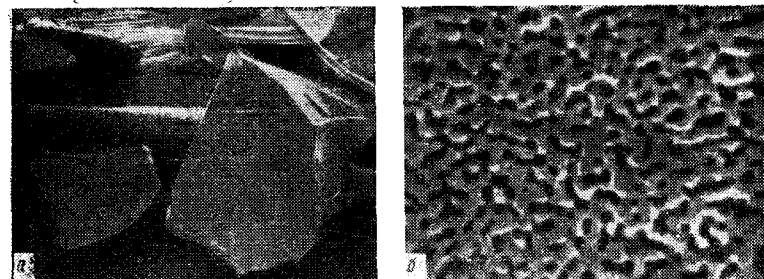


Рис. III.2. Микрофотографии макропористых стекол С. П. Жданова, полученные на электронном сканирующем микроскопе при увеличении: в 80 (а) и в 10 000 раз (б).

(рис. III.2). Недостатком этих сорбентов является высокая адсорбционная активность внутренней поверхности. Так, при хроматографии полистирола в тетрахлорметане он необратимо адсорбируется.

Для подавления адсорбционной активности силикатных сорбентов их силанизируют [18, 19] или добавляют к используемым неполярным или малополярным растворителям небольшие количества адсорбционноактивных растворителей, например тетрагидрофурана [20]. Это позволяет хроматографировать в режиме ГПХ полистирол в неполярных растворителях. На рис. III.3 показана идентичность результатов, получаемых в ГПХ на силанизированном силикагеле КСК при использовании тетрахлорметана и на несиланизированном (и силанизированном) силикагеле с использованием тетрагидрофурана. На рис. III.4 и III.5 показаны аналогичные результаты, полученные при добавлении

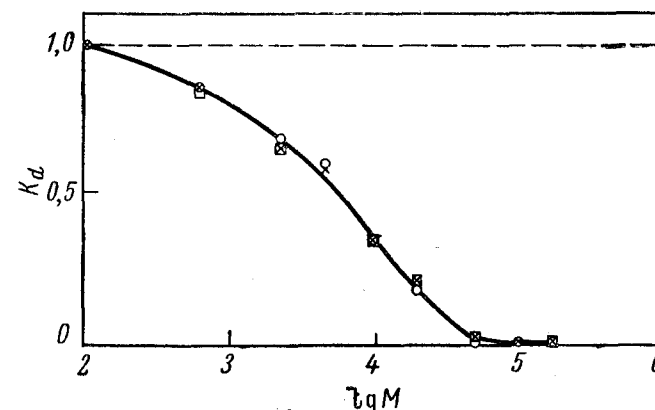


Рис. III.3. Подавление адсорбционной активности силикагеля КСК силанизированием его поверхности:

× — ПС на силикагеле КСК в ТГФ; □ — ПС на силанизированном силикагеле КСК в ТГФ; ○ — ПС на силанизированном силикагеле КСК в ТХМ.

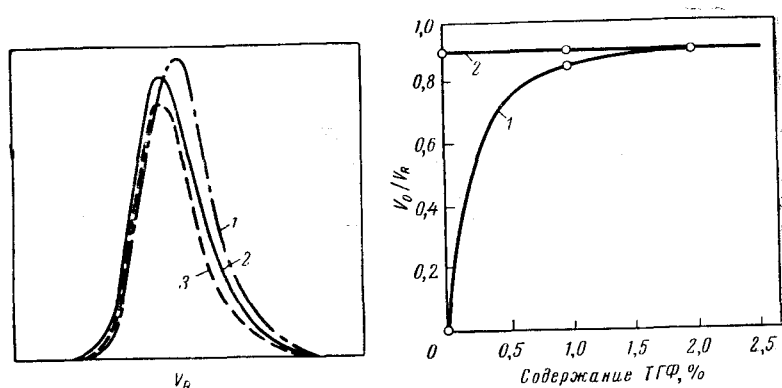


Рис. III.4. Подавление адсорбционной активности макропористого стекла добавлением в растворитель адсорбционноактивного компонента (для ПС с $M_w = 86 \cdot 10^4$):
1 — в смеси CCl_4 + 1% ТГФ; 2 — в смеси CCl_4 + 2% ТГФ; 3 — в смеси толуол + 1% ТГФ.

Рис. III.5. Зависимость отношения $V_0/V_R = R_f$ для полистирола с $M_w = 8,6 \cdot 10^5$ от содержания тетрагидрофурана в растворителе:
1 — толуол + ТГФ, 2 — CCl_4 + ТГФ.

в неполярный растворитель небольших добавок тетрагидрофурана. На силикатных сорбентах удается осуществлять ГПХ-анализ всех полимеров (за исключением моликатионов), не уступающий по эффективности ГПХ на стирогелях (рис. III.6).

Для разделения поликатионов пригодны только гидрофильные нейтральные органогели. Для хроматографии олигомеров используют сильнонабухающие сорбенты — сефадексы и стирогели. Для скоростной ГПХ нужны жесткие и полужесткие сорбенты.

Сорбенты для ГПХ характеризуются объемом пор V_p , качество их упаковки определяется отношением объема пор к объему между гранулами V_0 . Это отношение в значительной мере определяет

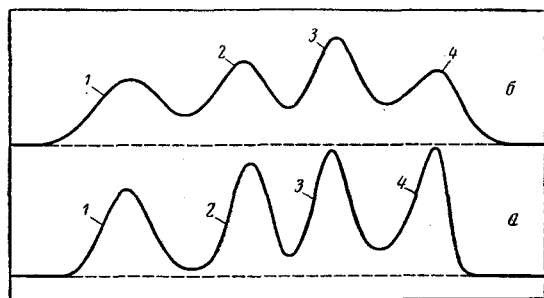


Рис. III.6. Разделение узкодисперсных полистиролов на макропористых стеклах (а) и стирогелях фирмы Waters (б):
1 — $M_w = 2 \cdot 10^4$; 2 — $M_w = 10^5$; 3 — $M_w = 4 \cdot 10^5$; 4 — $M_w = 2 \cdot 10^6$.

эффективность разделения макромолекул. Для мягких сорбентов $V_p/V_0 \approx 3$, а для полужестких и жестких сорбентов 0,8—1,3. Неудивительно, что для ГПХ высокого разрешения олигомеров, связанной с их разделением на гомологи, достаточной эффективностью обладают только мягкие сорбенты (слабосшитые стирогели — BiO-Beds S, декстрановые и полиакриламидные гели). Важной характеристикой хроматографического сорбента является коэффициент внутренней диффузии D , в значительной степени ответственный за хроматографическое размывание. Измерения показывают, что D у макропористых стекол примерно в 10 раз больше, чем у стирогелей.

Другой важной характеристикой сорбентов является распределение по размеру пор. Для макропористых стекол можно варьировать дисперсию этого распределения. Стекла, обладающие предельно узким распределением пор, наиболее эффективны для разделения макромолекул в соответствующем узком диапазоне молекулярных масс (M). Для фракционирования с помощью таких стекол макромолекул в широком интервале M необходимо использовать систему колонок, суммарный диапазон разделения которых перекрывает ММР фракционируемого полимера. Чтобы выбрать подобную систему колонок, нужно знать диапазоны эффективного разделения для каждой колонки, определяемые, например, с помощью калибровочных зависимостей. Нетрудно убедиться, что подбирая определенные количества сорбента разной пористости, можно получить линейную (квазилинейную) молекулярно-массовую зависимость удерживаемого объема V_R в необходимом диапазоне M . Перед набивкой колонок важно выбрать сорбент с нужным размером зерен. Как показано в разд. III.13, размер зерен сорбента однозначно определяется предельным (или выбранным) давлением в хроматографе и заданной эффективностью разделения.

III.3. Приготовление хроматографических колонок

Методы приготовления хроматографических колонок для ГПХ зависят от природы сорбента и размеров его частиц. Высокоэффективные колонки со стирогелем готовят по способу Мура [21]. Для этого частицы геля размером 37—75 мкм суспендируют в смеси тетрахлорэтилена и толуола с плотностью, равной плотности стирогеля. Суспензия сорбента переводится током растворителя в хроматографическую колонку и заполняет ее однородным слоем. После этого через колонку в течение нескольких часов пропускают растворитель со скоростью, обеспечивающей перепад давлений ΔP в несколько десятков атмосфер, причем для каждого типа геля подбирается оптимальный перепад ΔP .

Приготовление хроматографических колонок с мягкими сильнонабухающими гелями чаще всего осуществляют по следующей

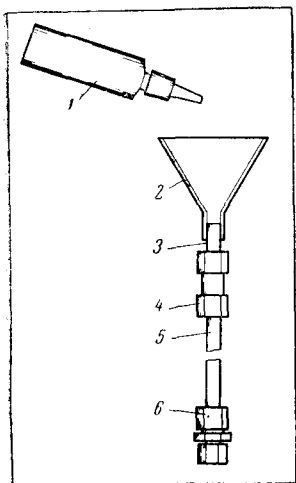


Рис. III.7. Установка для заполнения колонки сухим способом:

1 — сосуд с сорбентом; 2 — воронка; 3 — удлинитель колонки; 4 — соединительное устройство; 5 — колонка; 6 — верхний фитинг колонки.

методике. В колонку, частично заполненную растворителем, помещают набухший гель, где он оседает, пока не образует слой достаточной толщины. После этого открывают кран колонки и выпускают часть растворителя. Процедуру повторяют до полного заполнения колонки гелем.

Жесткие сорбенты в отличие от мягких и полужестких можно упаковывать в сухом виде. При этом колонку устанавливают на вибратор и заполняют, добавляя гель сверху небольшими порциями (рис. III.7). Заполненную колонку уплотняют, пропуская через нее растворитель под давлением на 4—8 МПа выше рабочего давления в колонке. Подобная упаковка эффективна для сорбента с диаметром частиц, большим 20 мкм. Частицы меньшего размера в сухом виде под влиянием поверхностных сил легко агрегируют, препятствуя плотной упаковке.

В связи с развитием скоростной жидкостной хроматографии высокого давления в последние годы интенсивно разрабатывали способы заполнения колонок сорбентом с частицами, диаметр которых меньше 20 мкм. Наиболее эффективными оказались следующие методы.

а) Засыпка сухого сорбента малыми порциями с постепенным уплотнением насадки с помощью стержня с тefлоновым наконечником [22], так называемый метод сухого тампонирувания.

б) Заполнение сорбентом из равноплотной суспензии (в смеси тетрабромэтилен — ТГФ, метиленхлорид — тетрачлорэтилен), приготовленной с помощью ультразвука, который обеспечивает дегазацию и стабилизацию суспензии. При этом 15—20% суспензии сорбента вводят под давлением 40 МПа в колонку, закрытую с противоположного конца пористым фильтром. Метод не эффективен для частиц с $d_p \geq 20$ мкм, но дает хорошие результаты с частицами $d_p < 10$ мкм [23].

в) Заполнение колонки по методике, аналогичной (б), но из стабилизированной водной суспензии сорбента в 0,001M водном NH_3 , полученной с помощью ультразвука. После заполнения через колонку пропускают метанол (для обезвоживания сорбента), а затем растворитель [24].

По-видимому, наиболее рационален метод (в). Колонки, заполненные по этому методу, не уступают по эффективности колонкам, приготовленным по способу (б), и в то же время при этом

не используют высокотоксичные растворители. Применение в качестве дисперсионной среды 0,001M водного NH_3 связано с тем, что в этом растворе частицы силикатного сорбента приобретают отрицательный заряд, что предотвращает образование агрегатов и стабилизирует суспензию. С помощью методов (б) и (в) удается приготовить колонки для ГПХ эффективностью $20 \cdot 10^3$ теоретических тарелок на 1 м (тг/м).

Разработаны также удобные методы приготовления высокоэффективных колонок с мягкими гелями для ГПХ низкомолекулярных веществ.

а) Суспензию геля заливают в колонку, удлиненную трубкой того же диаметра, при стоке жидкости снизу; последующее уплотнение осуществляют, пропуская растворитель со скоростью несколько большей, чем при эксплуатации колонки [25].

б) Колонка заполняется снизу путем прокачивания суспензии в равноплотном растворителе с последующей его заменой при уплотнении насадки колонки «хорошим» растворителем. Например, заполнение колонки стирогелем производится суспензией стирогеля в смеси ацетон — перхлорэтилен, которая в последующем заменяется на ТГФ.

в) Аналогичный метод, но колонка заполняется сверху через трубку, вплотную состыкованную с колонкой; в трубке происходит ламинаризация потока суспензии (рис. III.8).

Показано, что наибольшей эффективностью обладают колонки, полученные методом (в) [26].

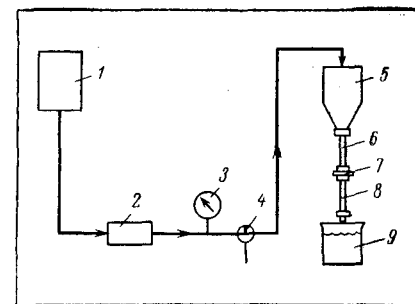


Рис. III.8. Установка для заполнения колонки суспензией сорбента:

1 — резервуар с растворителем; 2 — насос; 3 — манометр; 4 — трехходовой кран; 5 — резервуар с суспензией сорбента; 6 — удлинитель колонки; 7 — соединительное устройство; 8 — колонка; 9 — сосуд для слива.

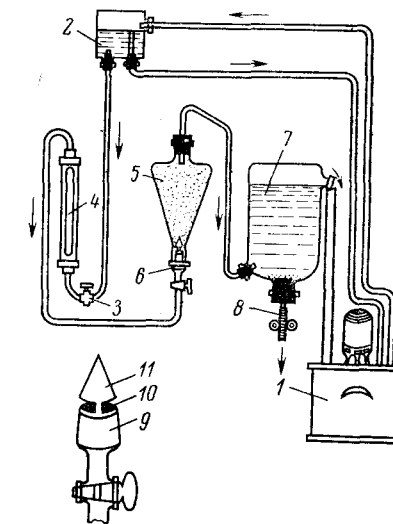


Рис. III.9. Установка для фракционирования сорбента гидравлическим методом:

1 — бак ультрагерметастата; 2 — напорный резервуар; 3 — игольчатый вентиль для регулирования скорости потока; 4 — ротаметр; 5 — фракционирующая воронка для фракционирования; 6 — распределитель; 7 — газометр с отстойником; 8 — сливная трубка для отбора сорбента; 9 — шлиф-кern распределителя; 10 — пластина с отверстиями диаметром ~1 мм; 11 — медный конус, покрытый эпоксидной смолой.

Наряду с тщательной упаковкой колонки большую роль в повышении эффективности играет фракционирование сорбента с получением однородных по размерам частиц фракций. Для фракционирования сорбента с размером зерна $d_p > 30$ мкм можно применять систему промываемых водой сит. Для фракционирования более мелких частиц целесообразно использовать гидравлический метод, основанный на создании ламинарного тока растворителя в конической воронке с градиентом линейной скорости растворителя по ее высоте. Если внести в подобную воронку смесь частиц разного размера, то они распределятся по высоте конической воронки в соответствии со стоксовыми скоростями оседания фракционируемых частиц. На рис. III.9 изображена установка гидравлического фракционирования [27], впервые предложенная Гамильтоном [28].

III. 4. Растворители для ГПХ

К растворителю в ГПХ предъявляют следующие требования: растворитель должен растворять образец, смачивать сорбент и не допускать адсорбции на нем полимера. Для аналитической ГПХ предпочтительны «хорошие» (в термодинамическом смысле) растворители, где разделение макромолекул более эффективно. Для препаративной ГПХ лучше пользоваться «плохими» (тэта-) растворителями, где в меньшей степени проявляются концентрационные эффекты. Желательно, чтобы растворитель был не очень вязким, обеспечивал пожарную безопасность, имел низкую токсичность и наилучшим образом удовлетворял условиям детектирования.

Используемые в ГПХ растворители и их краткие характеристики приведены в табл. III.1.

Универсальным растворителем для ГПХ полимеров можно считать тетрагидрофуран (ТГФ). Однако некоторые полимеры (ABS-пластики, полиамиды, пленкообразующие полиэферы, полиакрилонитрил, изопреновый и хлоропеновый каучуки, полиэтилен, полипропилен, полиэтиленоксид, силиконы) в нем нерастворимы и, следовательно, не могут быть проанализированы. Для анализа таких полимеров используют толуол (для полиизопрена, полихлоропрена и силиконов); диметилформамид (для ABS-пластиков, полиамидов, полиакриланитрила, полиэтиленоксида), гексафторпропанол-2 (для нейлона и полиэфиров). Полиэтилен и полипропилен анализируют с помощью высокотемпературной ГПХ в 1,2,4-трихлорбензоле или декане (на макропористых стеклах).

Приведенные в табл. III.1 растворители пригодны для ГПХ с использованием как стирогелей (порогелей), так и силикатных сорбентов (макропористых стекол, силикагелей). В последнем случае применение таких высокополярных растворителей как

Таблица III.1. Растворители для ГПХ

Растворитель	Температура кипения, °C	Плотность (при 20 °C), г/см ³	Вязкость (при 20 °C), кПа·с	Показатель преломления, n_D^{20}	Температура вспышки, °C	Рабочая температура, °C	Анализируемые полимеры
Вода	100	0,9999	1,0	1,3330	—	20—65	Биополимеры, полиэлектролиты, поливиниловый спирт, декстран
Декалин	187,3	0,890	2,60	1,46968	58	135	Полиолефины
Диметилформамид	153	0,9445 (при 25 °C)	0,90	1,4476	67,4	20—85	Полиакрилонитрил, полибензамиды, полиуретаны, производные целлюлозы
м-Крезол	202	1,034	16,9	1,5348	86	30—135	Полиэферы, полиамиды, полиуретаны
Тetraгидрофуран	66	0,8892	0,51 (при 25 °C)	1,4070	33,8	20—45	Поливинилхлорид, полистирол, полиакрилаты, ароматические полиэферы, эпоксидные смолы, производные целлюлозы
1,1,2,2-Тетрахлорэтан	146,5	1,5866	1,84	1,4942	Негорюч	20—100	Низкомолекулярные соединения, полисульфиды
Толуол	110,6	0,866	0,52 (при 25 °C)	1,4893 (при 24 °C)	8	20—70	Каучуки, эластомеры, поливиниловые сложные эфиры, полистирол
Трифторэтанол	74	1,384	—	<1,3	40,5	20—40	Полиамиды
1,2,4-Трихлорбензол	213	0,4634 (при 25 °C)	0,50 (при 135 °C)	1,5524 (при 25 °C)	110	130—160	Полиолефины
Хлороформ	61,2	1,489	0,57	1,4476	Негорюч	20—30	Силиконы, поливинилпирролидон, эпоксидные смолы, алифатические полиэферы, производные целлюлозы

ТГФ и ДМФ исключает адсорбцию полимеров. При использовании же в качестве растворителя толуола необходимо добавлять небольшое количество ТГФ для предотвращения адсорбции полимера.

III. 5. Детекторы для ГПХ полимеров

Детекторы для жидкостной хроматографии, в том числе и для ГПХ, описаны во многих обзорных статьях [29—31]. В ГПХ нашли применение следующие типы детекторов: рефрактометрический, фотометрический (спектрофотометрический) и, в меньшей степени, детекторы, основанные на измерении теплоты адсорбции и пламенно-ионизационный (ленточный) детектор.

Основой для сравнения различных типов детекторов служат следующие параметры: концентрационная чувствительность детектора, предельная концентрационная чувствительность, физическая чувствительность, объем измерительной кюветы, воспроизводимость, дрейф нулевой линии, короткопериодный шум, а также чувствительность к изменению состава растворителя, разрушающее действие на анализируемые вещества.

Концентрационная чувствительность детектора хроматографа S_c (в мВ \times см³/мг) характеризует отношение сигнала детектора (в мВ) к концентрации введенного в измерительную ячейку вещества (в мг/см³).

Для оценки чувствительности детектора Портер предложил формулу

$$S_c = \frac{QV}{B_1 B_2 q \cdot 60}$$

где Q — площадь пика на хроматограмме, см²; V — объемная скорость элюции, см³/мин; B_1 — чувствительность регистратора, см/мВ; B_2 — скорость движения диаграммной ленты регистратора, см/с; q — масса анализируемой пробы, мг.

Для того чтобы связать чувствительность с временным фактором, используют так называемую потоковую чувствительность — изменение массы вещества в единицу времени (г/с), вызывающее достоверное изменение сигнала детектора (например, в 2 раза превышающее короткопериодный шум). Потоковая чувствительность детектора существенна для скоростной жидкостной хроматографии.

Предельная концентрационная чувствительность — максимальная концентрация вещества, вызывающая достоверное изменение сигнала детектора.

Если вместо концентрации вещества учитывать изменение физического параметра, измеряемого детектором, например оптической плотности для фотометрического детектора или показателя преломления для рефрактометрического детектора, то для характеристики детектора можно использовать предельную «физи-

ческую» чувствительность. Такая характеристика детектора является более универсальной, так как не связана с конкретным анализируемым веществом.

Следует иметь в виду, что чувствительность хроматографического анализа определяется не только чувствительностью детектора, но и степенью размывания хроматографических зон в колонках и в магистралях прибора. Поэтому чувствительность собственно хроматографического прибора, если характеризовать ее количеством вещества в пробе или концентрацией вещества в определяемом объеме пробы, ниже концентрационной чувствительности детектора, поскольку зоны элюированных из колонки веществ поступают в детектор размытыми в той или иной степени.

Для количественного анализа необходимо, чтобы сигнал детектора составлял не менее 20—25% шкалы регистратора. Тогда концентрация анализируемого вещества может быть определена с 2%-ной точностью. Количество вводимого в хроматограф вещества (в единицах массы или мг-эквивалентах), обеспечивающее подобную величину сигнала регистрирующего прибора, характеризует аналитическую чувствительность хроматографа.

Чувствительность современных детекторов для жидкостных хроматографов весьма велика. Так, созданы фотометрические детекторы с физической чувствительностью 10^{-4} (единиц оптической плотности), и рефрактометрические детекторы с $\Delta n = 10^{-8}$ (единиц рефракции).

Важнейшим качеством детектора является диапазон его линейности, т. е. диапазон концентраций, где соблюдается линейная зависимость сигнала детектора от концентрации детектируемого вещества.

Хроматографический детектор должен обеспечивать хорошую воспроизводимость сигнала детектора (с относительным стандартным отклонением $\leq 0,5\%$).

Физические принципы детектирования, реализованные в разных детекторах, сказываются на форме пика детектируемого вещества (рис. III.10). При использовании фотометрического (спектрофотометрического) детектора, регистрирующего избыточное поглощение света веществом по сравнению с растворителем, пики всех веществ обращены в одну сторону. Записанная с по-

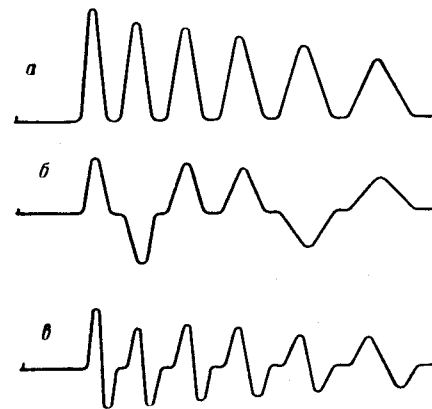


Рис. III.10. Форма хроматографических пиков, полученных с помощью фотометрического (а), рефрактометрического (б) и микроадсорбционного (в) детекторов.

Таблица III.2. Детекторы для жидкостной хроматографии

Характеристика	Фотометр	Рефрактометр	Микроадсорбционный детектор	Пламенно-ионизационный детектор
Физическая чувствительность (предельная)	$2 \cdot 10^{-4}$	10^{-7}	$5 \cdot 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}$	$2 \cdot 10^{-13}$
Минимальное детектируемое количество вещества, г/с	$2 \cdot 10^{-11}$	$3 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-9}$	—
Линейный диапазон	3000	3000	200	1700
Чувствительность к составу подвижной фазы	Нет	Есть	Есть	Нет
Чувствительность к скорости потока	Слабая	Средняя	Сильная	Средняя
Деструкция анализируемого вещества	Нет	Нет	Нет	Есть
Форма пика	Положит.	Положит. и отриц.	Дифференциальная	Положит.
Постоянная времени, с	1	1	1	1—2
Объем измерительной ячейки, мкл	$1,5 \div 8$	6	9	—

мощью рефрактометрического детектора хроматограмма, как правило, состоит из пиков, обращенных в разные стороны от нулевой линии (инкременты показателя преломления $\frac{dn}{dc}$ хроматографических веществ разной природы различаются по знаку + и —). Детектор по теплоте адсорбции формирует сигнал, связанный с температурным разбалансом системы при адсорбции (положительная ветвь сигнала) и десорбции (отрицательная ветвь).

Важными требованиями, предъявляемыми к детектору, являются его нечувствительность к изменению скорости потока, состава подвижной фазы и температуры, что важно при хроматографическом анализе с применением градиента растворителя, программировании температуры или скорости элюции.

Практически единственным детектором, обеспечивающим эти дополнительные условия, является фотометр (спектрофотометр).

Параметры различных типов детекторов для жидкостной хроматографии приведены в табл. III.2.

III. 5.1. Рефрактометрический детектор

Рефрактометрический детектор является универсальным детектором для жидкостной хроматографии, ибо всегда можно выбрать растворитель, где инкремент показателя преломления вещества будет достаточно велик ($\frac{dn}{dc} \geq 0,1$).

Принцип действия рефрактометрического детектора основан на измерении разницы показателей преломления (Δn) элюата, выходящего из колонки, и растворителя. Предложено много

способов измерения этой величины. Из них наибольшее применение в хроматографии получили рефрактометрические детекторы с поллой призмой и френелевский детектор. Принцип работы первого из них основан на измерении угла отклонения светового луча, проходящего через блок из двух полых призм, одна из которых заполнена растворителем, а другая раствором полимера — элюатом с колонки. Если за этим блоком полых призм расположить плоское зеркало, то система работает по автоколлимационной схеме и отклонение светового луча удваивается. Согласно закону Снелла, при прохождении света через границы раздела двух сред произведение синуса угла падения луча (α) на показатель преломления первой среды — стеклянной стенки поллой призмы (n') равно произведению синуса угла отклонения преломленного луча (β) на показатель преломления второй среды — жидкости (n''):

$$n' \sin \alpha = n'' \sin \beta$$

Таким образом, измерения $\Delta \sin \beta$ (а при малых изменениях угла — $\Delta \beta$) позволяет определить изменение Δn , которое пропорционально (в определенном диапазоне) изменению концентрации детектируемого вещества.

Для измерения $\Delta \beta$ существует несколько способов. Первый из них основан на разделении острием призмы светового луча, прошедшего через полую призму с раствором и растворителем и измерении разности сформированных таким образом световых потоков. Передвигая призму, можно добиться выравнивания световых потоков. При этом перемещение разделительной призмы будет пропорционально $\Delta n''$ и может быть соответственно зафиксировано регистрирующим прибором (эта схема используется в рефрактометрическом детекторе хроматографа ХЖ-1302). Сравнение световых потоков может производиться путем измерения электрического сигнала, соединенных навстречу друг другу фотодиодов, если освещать их соответственно разделенными призмой лучами (рефрактометр R-401 фирмы «Waters»). Это сравнение сигналов может производиться и путем последовательного отбрасывания обоих световых потоков на фотоумножитель (рефрактометрический детектор хроматографа ХЖ-1303). Для измерения отклонения луча используется также растровая техника, где падающий на призму световой луч проходит через растровую маску и затем после преломления попадает на фотодиоды, прикрытые растрами, смещенными на одну полосу друг относительно друга. В этих условиях свет, падающий на один фотодиод, будет усиливаться, а на второй, соответственно, ослабляться. Вполне понятно, что растровый метод удваивает чувствительность измерения отклонения светового луча, прошедшего через призму.

Рефрактометрический детектор с поллой призмой имеет порог чувствительности $5 \cdot 10^{-8}$ — $2 \cdot 10^{-7}$, объем кюветы — 10—25 мкл. В рефрактометрическом детекторе френелевского типа исполь-

зается стеклянная призма (90°), к основанию которой прилегают сравнительная и измерительная кюветы детектора. Эти кюветы устроены таким образом, что верхняя их стенка представляет собой основание призмы, а дно кюветы — параллельную ему зеркальную поверхность. Световые лучи, войдя в призму, проходят поверхности раздела стекло — раствор и стекло — растворитель, преломляются на них, отражаясь от зеркального дна кюветы, вновь попадают в призму и выходят из нее через другую грань. Разность показателя преломления жидкости определяется в подобном детекторе по изменению соотношения интенсивностей падающего I_0 и преломленного I световых лучей. Поскольку детектор сконструирован таким образом, что угол падения светового луча близок к критическому, выполняется закон Френеля:

$$\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2} \left[\frac{2 \sin \beta \cos \alpha}{\sin(\alpha + \beta)} \right]^2 + \left[\frac{2 \sin \beta \cos \alpha}{\sin(\alpha + \beta) \cos(\alpha - \beta)} \right]^2$$

Определяя фотометрическим путем соотношение интенсивностей света, прошедшего через сравнительную и измерительную кюветы детектора, можно получить величину Δn — изменение показателя преломления. Рефрактометрический детектор френелевского типа выпускается рядом зарубежных фирм: «Dupont», «Varian» и другими. Чувствительность этих детекторов $\sim 10^{-7}$, объем кюветы ~ 10 — 15 мкл.

Рефрактометрический детектор с полый призмой менее чувствителен к изменению состава растворителя и, следовательно, более пригоден для градиентной элюции, чем рефрактометрический детектор френелевского типа. Однако детектор Френеля имеет больший линейный диапазон измерения.

Рефрактометрический детектор является наиболее универсальным детектором для жидкостной хроматографии. При хроматографии высокополимеров чувствительность рефрактометрического детектора не зависит от молекулярной массы полимера, однако инкремент показателя преломления олигомеров $\partial n/\partial c$ связан с молекулярной массой зависимостью, пропорциональной $1/P$ (где P — степень полимеризации). Сигнал рефрактометрического детектора чувствителен к изменению температуры. Так, показатель преломления воды имеет температурный коэффициент 10^{-4} на 1°C . Для органических растворителей этот коэффициент равен 10^{-3} на 1°C . Поэтому колебания температуры между сравнительной и измерительной ячейками рефрактометрического детектора с порогом чувствительности $\Delta n \approx 10^{-7}$ не должны превышать 10^{-3} — 10^{-4}°C . Показатель преломления жидкости чувствителен также к изменению давления ($10^{-3}/10^5$ Па).

III. 5.2. Фотометрический (спектрофотометрический) детектор

Фотометрический (спектрофотометрический) детектор с поглощением в видимой и УФ-областях спектра широко используется в жидкостной хроматографии, в том числе и в ГПХ. Он обладает

большой чувствительностью, чем другие детекторы для жидкостной хроматографии, и является селективным, что позволяет детектировать анализируемые вещества в присутствии других веществ, в частности в присутствии растворителя. Поэтому фотометрический детектор может быть использован в градиентной хроматографии при изменении состава элюента.

Фотометрические детекторы для жидкостной хроматографии являются, как правило, двухлучевыми. С их помощью определяют разность поглощения света в измерительной и сравнительной кюветках, через которые, соответственно, пропускают элюат с колонки и растворитель. Может быть использован и принцип двухволновой фотометрии, когда детектор имеет только одну кювету, через которую движется элюат с колонки. Фотометрирование проводят на двух длинах волн. При этом на одной длине волны поглощает как хроматографируемое вещество, так и растворитель, а на другой — только хроматографируемое вещество. Таким образом, можно выделить поглощение света анализируемым веществом. Однако для этого необходимо знать соотношение молярных экстинкций растворителя на обеих длинах волн. Преимуществом метода двухволновой фотометрии является возможность более точного учета изменения оптической плотности растворителя при градиентной элюции и фотометрии оптически неоднородных объектов, например при сканировании хроматографических капиллярных колонок или сканировании пластинок в количественной тонкослойной хроматографии, где необходимо определить оптическую плотность фона и поглощения хроматографического вещества в одной точке пространства.

Концентрация вещества связана с поглощением им света соотношением, которое носит название закона Бугера — Ламберта — Бера:

$$\lg(I_0/I)_\lambda = \varepsilon_\lambda c l$$

где I_0 и I — интенсивности света, прошедшего через кюветы с растворителем и раствором*; ε_λ — молярная экстинкция (оптическая плотность 1 M раствора вещества в кювете с длиной оптического пути 1 см); l — длина оптического пути (см); c — концентрация вещества (моль/л); λ — индекс, указывающий на длину волны, выбранную для фотометрии.

В фотометрических измерениях приходится сталкиваться еще с двумя понятиями: коэффициентом пропускания

$$\tau = I/I_0$$

и оптической плотностью

$$D = \lg(1/\tau) = \varepsilon_\lambda c l$$

* Согласно классическому определению закона Бугера — Ламберта — Бера, I_0 и I — интенсивности падающего и прошедшего через раствор света. Для дифференциальной фотометрии справедливо указанное выше определение.

Любой фотометрический (спектрофотометрический) детектор включает монохроматор — устройство, выделяющее свет необходимой длины волны, кюветы и фотометрирующее устройство. Последнее состоит из фотоприемника, позволяющего измерять интенсивность света, прошедшего через сравнительную и измерительную кюветы усилителя, и блока сравнений сигналов I и I_0 . Этот блок может иметь градуированный оптический ослабитель света, например оптический клин. Тогда оптическая плотность раствора измеряется по перемещению оптического клина в световом потоке до выравнивания сигналов I и I_0 . Определение соотношения сигналов I и I_0 может производиться и электрическим методом путем аналогового сравнения или после предварительного преобразования аналогового сигнала в цифровой. В последнем случае можно определить оптическую плотность с точностью $\sim 0,1\%$.

Монохроматор фотометрического детектора может быть простейшим, с выделением одной или нескольких длин волн с помощью интерференционных светофильтров, или более сложным, на основе диспергирующих элементов — дифракционной решетки (реплики), призмы. Фотометрический детектор с подобным монохроматическим устройством может быть использован для записи хроматограммы на нескольких длинах волн или записи спектра поглощения хроматографируемого вещества при остановке потока элюента (метод стоп-флоу).

Обычно в спектрофотометрических детекторах производят последовательное (с определенной периодичностью) измерение световых потоков I и I_0 . Для этого один из элементов оптической схемы, обычно плоское зеркало, делают подвижным и с его помощью последовательно направляют свет с рабочей или сравнительной кюветы на фотоприемники. В спектрофотометрическом детекторе, разработанном С. В. Кузьминым [30], в качестве такого элемента используется выпуклое зеркало конденсатора, которое колеблется с частотой 60 Гц.

При усилении электрического сигнала детектора на переменном токе в схему фотометрического детектора вводят механический модулятор, прерывающий световой поток с определенной частотой, задающей режим работы усилителя.

Современные фотометрические (спектрофотометрические) детекторы позволяют измерять оптические плотности до 0,01 с воспроизводимостью 1% (или лучше), при этом короткопериодный шум составляет не более 0,0001. Кюветы дифференциального спектрофотометра имеют объем 10—15 мкл. Спектрофотометрический детектор жидкостного хроматографа ХЖ-1305, разработанный в СКБ АП АН СССР по схеме С. В. Кузьмина, имеет кювету объемом не более 1,5 мкл.

Выбор длины волны фотометрирования λ связан с наличием поглощения света (желательно максимального $\lambda_{\text{макс}}$) у хроматографируемых веществ и отсутствием поглощения или слабым

поглощением света в этой области спектра у используемого в хроматографии растворителя. Данные по поглощению УФ-излучения хромофорными группами, встречающимися в полимерах, и области пропускания света растворителями, обычно используемыми в жидкостной хроматографии, приведены в работе [32]. Большая часть простых фотометрических детекторов работает при $\lambda = 254$ нм (ртутные лампы низкого давления). Такие детекторы могут быть использованы при анализе большинства органических веществ, включая биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты).

Принципиальный интерес представляет фотометрическое детектирование при $\lambda = 195$ нм. В этой области спектра все молекулы с гетероатомами и ненасыщенными группами сильно поглощают УФ-излучение благодаря $n \rightarrow \sigma^*$ - и $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходам. Особенно сильно при $\lambda = 195$ нм поглощают ароматические соединения. УФ-детектор при $\lambda = 195$ нм можно считать универсальным детектором для жидкостной хроматографии, подобно рефрактометрическому, однако в отличие от него УФ-детектор позволяет работать в условиях градиента растворителя, кроме того, он быстрее выходит на рабочий режим и обладает большей чувствительностью, чем рефрактометрический детектор. Указанный детектор нашел применение при анализе сахаров, липидов, ненасыщенных углеводородов и полиэтиленгликолей.

III. 5.3. Другие детекторы для жидкостной хроматографии

Адсорбционный детектор [32]. Принцип работы этого детектора основан на определении разбаланса температуры в сравнительной и измерительной ячейках, заполненных адсорбентом, который используется для хроматографического разделения в колонке. Температура в ячейках измеряется чувствительными термистрами. Микроадсорбционный детектор (МАД), выпускаемый фирмой «Varian», имеет объем кювет 9 мкл. Особенностью МАД является своеобразная (дифференциальная) форма хроматографического пика, простирающегося по обе стороны нулевой линии, которая связана с детектированием теплот адсорбции и десорбции элюируемого с колонки вещества при его прохождении через измерительную ячейку детектора.

Пламенно-ионизационный (ленточный) детектор. В детекторе ленточного типа часть элюата с хроматографической колонки (1—3%) наносится на бесконечную металлическую ленту (проволоку), которая последовательно пропускается через две трубчатые печи, в одной из которых испаряется растворитель, а в другой проводится пиролиз хроматографируемого вещества при температуре 600—1000 °С. Продукты пиролиза (температура пиролиза подбирается так, чтобы их состав не зависел от M полимера) всасываются в пламенно-ионизационный детектор, сигнал которого пропорционален количеству углеродных атомов в детектируемом

веществе. Недостатком этого типа детекторов является худшая воспроизводимость результатов по сравнению с остальными детекторами и необходимость использования только летучих растворителей.

Наиболее эффективными детекторами для жидкостной хроматографии полимеров являются рефрактометрический и фотометрический (спектрофотометрический). Одновременно их применение может удовлетворить все потребности этого хроматографического метода, обеспечивая как универсальное, так и селективное детектирование.

Если снабдить ГПХ-хроматограф специальными детекторами, позволяющими определять молекулярные массы элюируемых полимерных фракций, — нефелометрическим и вискозиметрическим, то это облегчает последующую интерпретацию геле-хроматограмм и позволяет отказаться от калибровки хроматографа по молекулярной массе исследуемого полимера. Эти детекторы должны работать в паре с рефрактометрическим детектором, позволяющим определять концентрацию полимера в элюате. Сигналы обоих детекторов обрабатываются мини-ЭВМ в режиме «on line». Если вискозиметрический детектор работает по принципу дифференциального манометра со стабилизированной скоростью течения раствора, то повышение давления, фиксируемое чувствительным датчиком, пропорционально вязкости элюата η . Определяя одновременно с помощью рефрактометра концентрацию полимера c , удается получать соответствующие значения η/c , совпадающие при малых концентрациях полимера со значениями характеристической вязкости $[\eta]$. Подобный вискозиметр-рефрактометр позволяет, используя универсальную калибровку Бенуа, непосредственно в условиях ГПХ-эксперимента определять ММР любых полимеров (включая разветвленные) и сополимеров (однородных по составу внутри ГПХ-фракций). Если полимер известен, то, заложив в мини-ЭВМ значения констант Марка — Куна, можно получать ММР без предварительной калибровки хроматографа по молекулярной массе.

Аналогичными преимуществами обладает комбинированный детектор, состоящий из лазерного малоуглового нефелометра, рефрактометра и мини-ЭВМ [31].

III. 6. Жидкостные хроматографы для ГПХ

Для геле-проникающей хроматографии используют геле-хроматографы, состоящие из набора хроматографических колонок, заполненных соответствующим сорбентом (макропористыми стеклами, стирогелями и пр.), блока подготовки растворителя для элюции, насосов для прокачивания элюента и детектирующей системы, обеспечивающей запись концентрационного профиля хроматографической зоны. Кроме того, геле-хроматограф имеет

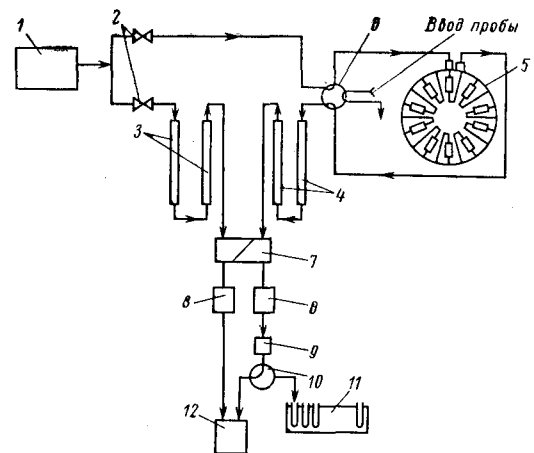


Рис. III.11. Гидравлическая схема жидкостного хроматографа ХЖ-1303: 1 — система подготовки элюента; 2 — регуляторы расхода; 3 — колонки сравнительные; 4 — колонки разделительные; 5 — дозатор; 6 — кран дозатора; 7 — кювета рефрактометрического детектора; 8 — кюветы фотометрического детектора; 9 — датчик расхода; 10 — переключатель слива; 11 — коллектор для сбора фракций (на 200 пробирок); 12 — бак для слива элюента.

автоматический узел ввода проб, рассчитанный на хранение и ввод 6—10 проб полимера, измеритель скорости элюции, который позволяет наносить на диаграммную ленту реперные точки, характеризующие количество растворителя, прошедшего через систему хроматографических колонок прибора, с точностью до 0,2—0,5%. Хроматографические колонки, кювета детектора и узел ввода проб термостатированы. Рабочий диапазон температур 30—140 °С, температура фиксируется с точностью до 1 °С (кювета детектора термостатируется с точностью до нескольких сотых °С).

Основным детектором в геле-хроматографе является дифференциальный рефрактометр с чувствительностью $10^{-6} \div 10^{-7}$. Через рабочую и сравнительную кюветы рефрактометра (объемом 10—25 мкл) пропускают соответственно анализируемый раствор полимера и растворитель. При этом с помощью дросселирующего устройства и балластных хроматографических колонок в сравнительной линии выравниваются давление и скорость потоков через рабочую и сравнительную кюветы рефрактометра. Гидравлическая схема хроматографа ХЖ-1303 показана на рис. III.11. В качестве второго детектора в геле-хроматографе используется фотометрический (спектрофотометрический) детектор. Он обеспечивает, например, непрерывный анализ состава сополимера, синхронный с определением молекулярной массы. Специальные устройства отключают хроматограф при повышении температуры и давления сверх заданных величин. Это обеспечивает автоматическую работу

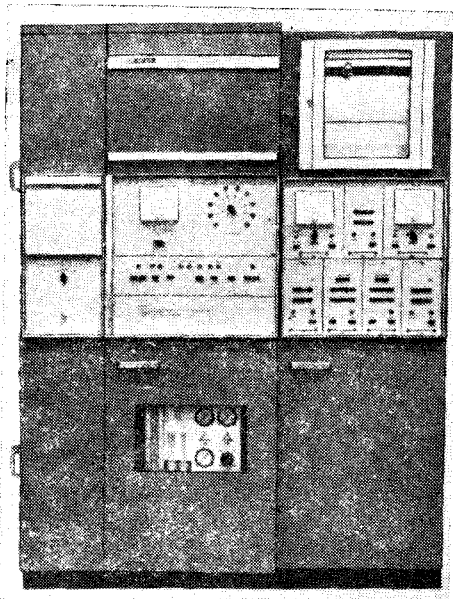


Рис. III.12. Универсальный жидкостный хроматограф ХЖ-1303 (СКБ аналитического приборостроения АН СССР):

интервал температур 30—150° С; детекторы: рефрактометрический ($\Delta n = 2 \cdot 10^{-7}$), фотометрический $\lambda = 254$ нм ($\Delta A = 4 \cdot 10^{-4}$); хроматографические колонки диаметром 4, 8, 16 и 25 мм; автоматический дозатор на 10 проб, коллектор фракций на 200 пробирок; давление до 5 МПа.

зу передается в соответствующий оперативный блок электронно-вычислительной машины.

На рис. III.12, III.13 показаны фотографии советских универсальных жидкостных хроматографов ХЖ-1303 и ХЖ-1304 (высокого давления), а на рис. III.14, III.15 — устройства обработки информации для этих приборов. Устройство преобразования, регистрации на перфоленте и печати «УПП-1» и интегратор-вычислитель «Вихрь» позволяют автоматически преобразовывать хроматограммы в ММР полимеров с одновременным вычислением их средних характеристик. Как «УПП-1», так и интегратор-вычислитель «Вихрь» могут стыковаться с хроматографом для работы в реальном масштабе времени «on line», при этом производится сглаживание экспериментальной кривой (элиминируется короткопериодный шум), причем «Вихрь» учитывает дрейф нулевой линии.

«Вихрь» можно использовать и для обработки гель-хроматограмм при вводе информации с телетайпа типа «Консул» (т. е. в режиме «off line»).

прибора в течение многих суток без необходимости непрерывного присутствия оператора.

Результаты ГПХ-анализа записываются на диаграммной ленте в виде хроматограммы, представляющей собой зависимость сигнала детектора от количества растворителя (удерживаемого объема — V_R), прошедшего через хроматографические колонки.

В комплекте с ГПХ-хроматографом может быть аналого-цифровой преобразователь, обеспечивающий сглаживание хроматограммы и преобразование ее в перфокод с записью на перфоленту для последующей обработки (интерпретации) на ЭВМ. Возможна также непосредственная стыковка хроматографа с ЭВМ в режиме «on line», когда вся информация с хроматографа сразу

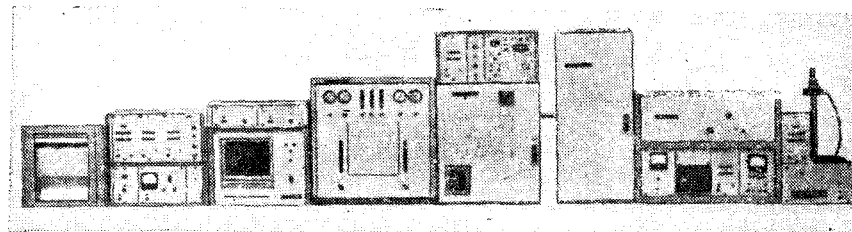


Рис. III.13. Аналитический жидкостный хроматограф ХЖ-1304 (СКБ аналитического приборостроения АН СССР):

интервал температур 30—150° С; детекторы: рефрактометрический ($\Delta n = 10^{-7}$), спектрофотометрический $\lambda = 200—600$ нм ($\Delta A = 4 \cdot 10^{-4}$); хроматографические колонки диаметром 2 и 4 мм; автоматический дозатор на 24 пробы; коллектор фракций на 200 пробирок. Давление до 20 МПа.

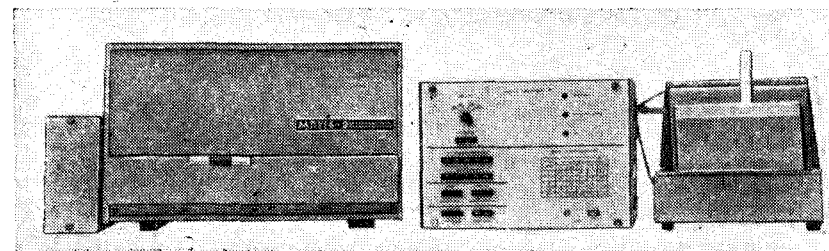


Рис. III.14. Устройство преобразования регистрации на перфоленте и печати УПП-1 (СКБ аналитического приборостроения АН СССР).

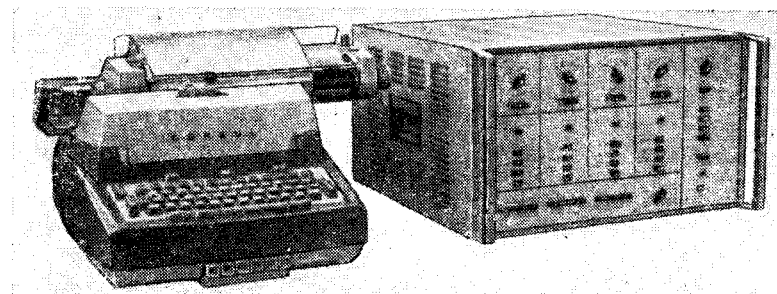


Рис. III.15. Вычислитель «Вихрь» для обработки результатов хроматографического анализа (СКБ аналитического приборостроения АН СССР).

III. 7. Развитие теоретических концепций в ГПХ

В гель-проникающей хроматографии помимо закономерностей общехроматографического характера, имеются свои специфические особенности, связанные прежде всего с особенностями свойств растворов полимеров, являющихся объектом исследования, с разнообразием этих объектов, сорбентов и условий проведения анализа. Все это, естественно, усложняет построение общей теоретической схемы. Поэтому исследователи, работающие в области ГПХ, вынуждены были на первых этапах развития метода разрабатывать частные теоретические концепции, в рамках которых находили объяснение отдельные закономерности, наблюдавшиеся в эксперименте. Это позволяло более грамотно ставить эксперимент, оптимизировать его режим и интерпретировать результаты. Основными предпосылками этих концепций были монотонные логарифмические зависимости удерживаемых объемов V_R от молекулярной массы M и гидродинамического размера макромолекулы

$$R_s^3 \approx M [\eta]$$

а также зависимости величины V_R от скорости элюции, концентрации раствора, его температуры, растворителя и особенностей структуры молекул анализируемого вещества.

В концепции, связанной с эффектом объемного исключения [8, 26, 34], предполагается, что ГПХ-разделение осуществляется за счет объемного исключения макромолекул из геля, зависящего от размеров макромолекул и их состава.

В геометрической концепции [35—38] учитывается соизмеримость размеров макромолекул и пор сорбента и на основании этого оценивается возможность проникновения макромолекул в поры определенной геометрической формы.

В диффузионной концепции [39—41] ГПХ-процесс рассматривается как существенно неравновесный, чем объясняется его зависимость от скорости элюции. Считается, что разделение макромолекул происходит из-за различия в скоростях их диффузии.

В термодинамической концепции [42—44] закономерности ГПХ-процесса выводятся в условиях равновесности, делается попытка учесть конформационные изменения макромолекул при переходе из одной фазы в другую.

В гидродинамической концепции [45] рассматриваются условия, при которых результаты ГПХ-эксперимента могут быть объяснены за счет гидродинамического разделения макромолекул в потоке.

Во всех концепциях, кроме диффузионной, предполагается, что эксперимент проводится в условиях термодинамического равновесия между фазами хроматографической системы.

Рассмотрим подробнее две наиболее апробированные опытом модели, развитые в рамках термодинамической концепции.

III. 7.1. Модель эквивалентных сфер

В модели «эквивалентных сфер» [46] используется эффективный «хроматографический размер» макромолекул. Здесь учитывается, что гибкоцепные макромолекулы являются статистическими ансамблями элементарных сегментов, распределенных в пространстве по некоторому закону. Для линейных макромолекул в равновесных условиях этот закон распределения близок к гауссовому. Модель постулирует, что с каждой макромолекулой можно сопоставить статистический ансамбль эквивалентных сфер с радиусами R :

$$W(R [\overline{R_a^2}]^{1/2}) = 4\pi \left(\frac{2}{3} \pi R_a^2 \right)^{-3/2} R^2 \exp \left(- \frac{3R^2}{2R_a^2} \right) \quad (\text{III.1})$$

где $\overline{R_a^2}$ — усредненный по ансамблю (III.1) квадрат радиуса эквивалентной сферы.

Ансамбль (III.1) нормирован

$$\int_0^{\infty} W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2}) dR = 1$$

По определению, принятому в модели, для каждой сферы из ансамбля (III.1) с достоверностью доступны по размерам все поры сорбента, радиусы которых не меньше радиуса данной сферы R . Суммарный объем таких пор есть

$$\int_R^{\infty} \psi(r) dr \quad (\text{III.2})$$

где $\psi(r)$ — плотность функции распределения пор по их размерам.

Следовательно, в равновесных условиях общий объем пор, доступных по размерам для макромолекулы, с которой сопоставляется ансамбль (III.1) эквивалентных сфер со среднеквадратичным радиусом $(\overline{R_a^2})^{1/2}$, есть

$$V_{acc}([\overline{R_a^2}]^{1/2}) = V_p \int_0^{\infty} dR W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2}) \int_R^{\infty} \psi(r) dr \quad (\text{III.3})$$

где V_p — полный объем пор сорбента.

Размер $(\overline{R_a^2})^{1/2}$ эквивалентных сфер можно подбирать эмпирически [46], добиваясь согласования расчетных данных для V_{acc} с экспериментальными. Это позволяет избавиться от моделирования геометрической структуры пор.

Коэффициент распределения макромолекул между фазами хроматографической системы легко определяется из равенства (III.3) по формуле

$$Kd = V_{acc} ([\overline{R_a^2}]^{1/2}) / V_p \quad (III.4)$$

Необходимость учета равновесного распределения макромолекул по размерам при отыскании доступного для них порового пространства сорбента V_{acc} вытекает из следующих соображений.

1. Если при рассмотрении конечного числа конформаций макромолекулы время τ_k [47, 48] пребывания макромолекулы в каждой конформации много больше среднего времени τ ее пребывания в зерне сорбента на протяжении одного акта сорбции-десорбции ($\tau_k \gg \tau$), то использование распределения (III.1) для отыскания V_{acc} не вызывает сомнений. В этом случае следует считать, что макромолекула пребывает в каждой конформации с вероятностью, определяемой распределением (III.1), и каждую из возможных конформаций следует рассматривать, как «замороженную» на протяжении одного акта сорбции-десорбции.

2. Если выполняется неравенство $\tau_k \ll \tau$, то и в этом случае использование распределения (III.1) для отыскания V_{acc} справедливо. Действительно, рассмотрим V_{acc} как некоторую функцию времени. Другими словами, пусть V_{acc} изменяется во времени вместе с соответствующим изменением конформации макромолекулы. Проведем усреднение по времени пребывания макромолекулы в зерне сорбента с помощью функции $W(t)$, описывающей распределение во времени конформаций макромолекулы:

$$\langle V_{acc} \rangle_t = \int_0^{\tau} W(t) V_{acc}(t) dt \quad (III.5)$$

Считая, что для такой статистической системы, какой является макромолекула, справедлива эргодическая теорема, т. е. среднее по времени совпадает со средним по ансамблю, приходим к заключению:

$$\langle V_{acc} \rangle_t = \langle V_{acc} \rangle_R = \int_0^{\infty} W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2}) V_{acc}(R) dR \quad (III.6)$$

что и требовалось доказать.

Механизм ГПХ-разделения макромолекул по размерам в модели «эквивалентных сфер» можно назвать молекулярно-ситовым. Здесь макропористый сорбент играет роль своеобразных молекулярных сит, «просеивание» через которые зависит от соотношения эффективных хроматографических размеров макромолекул и пор сорбента. Описание этого эффекта с помощью равенства (III.3) выглядит наиболее естественным, если в качестве сорбента используют пористые стекла или силикагели, для которых понятие поры более реально, чем для гелей.

Следует отметить, что функция $\psi(r)$, полученная по данным ртутной порометрии [49], не дает истинного распределения пор по размерам. Статистическая блокировка широких пор узкими при заполнении пористой среды ртутью приводит к тому, что $\psi(r)$ завышает объем узких пор за счет широких (рис. III.16). Естественно, что жесткие (недеформируемые) макромолекулы, попадая в пористую среду, распределяются лишь в тех ее областях, доступ к которым не перекрыт узкими, недоступными для них порами. Суммарный объем этих областей для молекул с эффективным размером $[\overline{R_a^2}]^{1/2}$ определяется выражением (III.3). Для гибкоцепных макромолекул доступны все поры сорбента, и при расчете величины V_{acc} ($[\overline{R_a^2}]^{1/2}$) следует использовать истинную функцию распределения $\phi(r)$. Сравнение распределений $\psi(r)$ и $\phi(r)$ в пористых стеклах, используемых в ГПХ, с равновесным распределением $W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2})$ макромолекулы по размерам, показывает, что $W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2})$ много шире. Этим объясняется разделение в ГПХ макромолекул, средние размеры $[\overline{R_a^2}]^{1/2}$ которых либо значительно больше, либо меньше размеров пор (рис. III.17). В равновесных условиях ГПХ величина V_{acc} связана исключительно с молекулярно-ситовым эффектом и может быть найдена по формуле

$$V_{acc}([\overline{R_a^2}]^{1/2}) = V_p \int_0^{\infty} dR W(R, [\overline{R_a^2}]^{1/2}) \int_R^{\infty} \Xi(r) dr \quad (III.7)$$

где в качестве распределения $\Xi(r)$ следует подставлять $\psi(r)$ для жестких макромолекул и $\phi(r)$ для гибкоцепных.

Расчеты, проведенные на ЭВМ в соответствии с уравнением (III.7) и представленные на рис. III.18, дают наилучшее совпадение с экспериментом при

$$[\overline{R_a^2}]^{1/2} = 2 [\overline{R^2}]^{1/2}$$

где $[\overline{R^2}]^{1/2}$ — среднеквадратичный радиус инерции макромолекул.

Таким образом, среднеквадратичный радиус эквивалентной сферы, которой можно моделировать макромолекулу в ГПХ-эксперименте, следует считать равным $2 [\overline{R^2}]^{1/2}$, т. е. близким к половине максимального расстояния \overline{H} между сегментами данной макромолекулы:

$$\overline{H}/2 = 1,7 [\overline{R^2}]^{1/2}$$

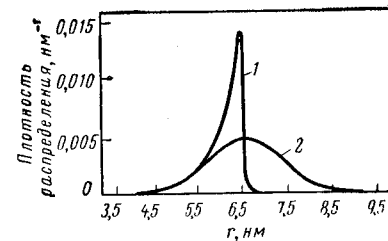


Рис. III.16. Распределение по размерам пор одного из сортов макропористых стекол:

1 — по данным ртутной порометрии $\psi(r)$; 2 — откорректированное на блокировку широких пор узкими $\phi(r)$.

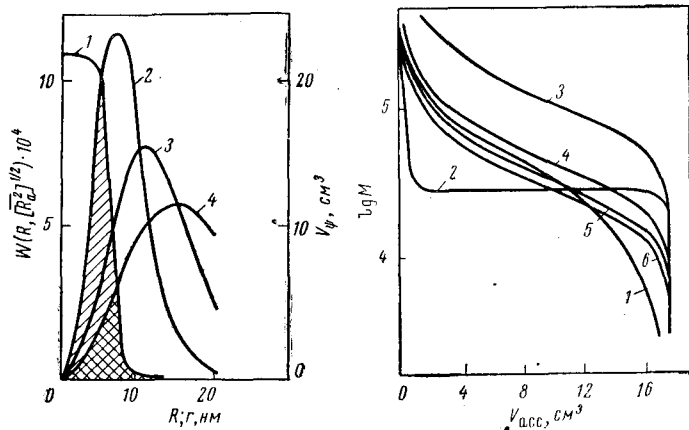


Рис. III.17. Сравнение равновесного распределения макромолекулярных конформаций по размерам с распределением пор в макропористом стекле со средним радиусом пор $r = 6.50$ нм (заштрихованные участки определяют объемы пор, доступные для линейных полистирольных стандартов разной молекулярной массы):

1 — интегральное распределение объема пор в сорбенте $V_\psi = V_p \int_0^r \psi(r') dr'$; 2—4 — распределения (III.4) для макромолекул с $M_w = 50 \cdot 10^3$; $97,2 \cdot 10^3$; $1,71 \cdot 10^5$.

Рис. III.18. Зависимость доступного объема пор ($V_{acc} = V_R - V_0$) от молекулярной массы:

1 — экспериментальная кривая; 2 — теоретическая кривая, рассчитанная по де Вризу [38] для $R = 2(\bar{R}^2)^{1/2}$; 3—6 — кривые, полученные в модели «эквивалентных сфер», для эффективных радиусов $\bar{R}_3 = (\bar{R}^2)^{1/2}$; $\bar{R}_4 = 1,7\bar{R}_3$; $\bar{R}_5 = 2\bar{R}_3$; $\bar{R}_6 = 2,2\bar{R}_3$.

Так как радиусы $[\bar{R}_a^2]^{1/2}$ могут быть непосредственно связаны с гидродинамическими

$$R_s \approx (M[\eta])^{1/3} \equiv f([\bar{R}_a^2]^{1/2})$$

модель эквивалентных сфер предсказывает также и калибровочную зависимость типа (III.7) удерживаемых объемов от размеров макромолекул R_s .

В рамках этой модели можно приближенно оценить диффузионную подвижность макромолекул в цилиндрических каналах пористого тела (порах). Для этого будем считать, что в каналах радиуса \bar{r} макромолекуле следует сопоставить ансамбль эквивалентных сфер

$$W_K(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2}, \bar{r}) = W(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2}) \int_0^{\bar{r}} W(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2}) dR$$

Пусть для каждой сферы из ансамбля W_K выполняется закон Эйнштейна

$$D(R) = \frac{\gamma kT}{6\pi\eta_0 R} \quad (III.8)$$

где D — коэффициент диффузии; T — температура; η_0 — вязкость растворителя; γ — учитывает извилистость каналов.

Тогда наблюдаемый коэффициент диффузии D_s является средней величиной по всем $D(R)$ из ансамбля W_K :

$$D_s = \int_0^{\bar{r}} D(R) W(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2}) dR \int_0^{\bar{r}} W(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2}) dR$$

Подставляя сюда выражение для $D(R)$ и $W(R, [\bar{R}_a^2]^{1/2})$ и интегрируя, получим

$$D_s = \gamma D \left[1 - \exp\left(-\frac{3\bar{r}^2}{2\bar{R}_a^2}\right) \right] / Kd \quad (III.9)$$

где использовано определение Kd в уравнении (III.4) с функцией $\psi(r)$, заданной в виде дельта-функции $\psi(r) = \delta(r - \bar{r})$, а для диффузии в растворе принято

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta_0} \cdot \frac{1}{[\bar{R}_a^2]^{1/2}}$$

С ростом молекулярной массы M коэффициент диффузии D_s , с одной стороны, уменьшается вместе с множителем

$$D \left[1 - \exp\left(-\frac{3\bar{r}^2}{2\bar{R}_a^2}\right) \right]$$

а с другой — растет по мере убывания Kd . Поэтому можно ожидать экстремального поведения D_s с изменением M . Полагая, что

$$V_{acc} = A - B \lg M \text{ и } D = K_D M^{-b} \quad (III.10)$$

найдем, что D_s имеет максимальное значение для макромолекул с молекулярной массой, близкой к следующей величине

$$M \approx \exp\left[\frac{A}{B} - \frac{\lg e}{3b}\right] \cdot \text{const} \quad (III.11)$$

где A , B , K_D и b — коэффициенты, определяемые из хроматографических и диффузионных экспериментов.

Этот результат получен приравниванием к нулю первой производной D_s по M , т. е. $\partial D_s / \partial M = 0$, и проверкой положительности второй производной $\partial^2 D_s / \partial^2 M > 0$ при значении M , удовлетворяющем уравнению (III.11). При этом размер $[\bar{R}_a^2]^{1/2}$ эквивалентной сферы связывали с коэффициентом диффузии D с помощью формул (III.8) и (III.10): $[\bar{R}_a^2]^{1/2} = \text{const } M^{-b}$. Экспоненту из равенства (III.9) разлагали в ряд, предполагая, что можно ограничиться первым членом этого разложения.

III. 7.2. Конформационная модель

В работах Касасса [43] сформулирована модель равновесного механизма разделения в ГПХ, основанная на учете конформационных изменений, которые происходят с макромолекулами при межфазных переходах.

Для отыскания вероятности W_s попадания макромолекулы в пору сорбента в рамках этой модели следует задаться геометрической структурой пористой среды, используемой в качестве сорбента в данном ГПХ-эксперименте, и рассмотреть случайные блуждания сегментов макромолекул в одной из пор сорбента при условии, что сегменты не соприкасаются с граничной поверхностью S . При этом каждый возможный путь случайного блуждания можно рассматривать как одну из возможных конформаций макромолекулы. Тогда множество всех таких путей будет однозначно соответствовать множеству макромолекулярных конформаций, разрешенных внутри данной поры. Обозначим $P(n, \vec{r}) d\vec{r}$ вероятность того, что n -ый шаг случайного блуждания (или, что то же, n -ый сегмент макромолекулярной цепочки) окажется внутри элемента объема, ограниченного векторами \vec{r} и $\vec{r} + d\vec{r}$. Пусть средний квадрат длины шага (или, что то же, квадрат длины сегмента) есть l^2 и для линейных макромолекул связан со среднеквадратичным радиусом инерции соотношением

$$\bar{R}^2 = l^2 N / 6 \quad (\text{III.12})$$

где N — число шагов случайного блуждания внутри поры, равное числу сегментов макромолекулы

тогда случайные блуждания сегментов можно описать диффузионным уравнением [43]

$$\frac{\partial P(n, \vec{r})}{\partial n} = \frac{l^2}{6} \nabla^2 P(n, \vec{r}) \quad 0 \leq n \leq N \quad (\text{III.13})$$

с следующими начальным, граничным и симметричным условиями:

$$P(0, \vec{r}) = \text{const} \quad P(p, \vec{r})|_S = 0 \quad \left. \frac{\partial P(n, \vec{r})}{\partial r} \right|_{n=0} = 0 \quad (\text{III.14})$$

Решение уравнения (III.13) с условиями (III.14) отыскивается следующим образом.

1. Предположим, что случайные блуждания, состоящие из N шагов, начинаются в точке \vec{r}' внутри поры, ограниченной поверхностью S . Причем в соответствии с условиями (III.14) $P(n, \vec{r})$ равно нулю для $n \leq N$, когда \vec{r} лежит на поверхности S или вне ее. Найденное при этих ограничениях решение $P(N, \vec{r}) =$

$= P(N, \vec{r}; \vec{r}', S)$ следует интерпретировать как плотность вероятности нахождения N -ного шага в точке с координатой \vec{r} при условии, что все предыдущие шаги лежат внутри области, ограниченной поверхностью S .

2. Чтобы получить долю конформаций макромолекул, «привязанных» в начальный момент к точке \vec{r}' и удовлетворяющих условиям, сформулированным в предыдущем пункте, проинтегрируем полученное решение $P(N, \vec{r})$ по всем значениям \vec{r} , лежащим внутри S .

3. Проинтегрировав затем по всем \vec{r}' и перенормировав решение, получим долю всех конформаций, возможных внутри области, ограниченной поверхностью S , от общего числа конформаций макромолекулы с числом сегментов N в каналах подвижной фазы радиуса r_k . Это и есть искомая вероятность W_s .

Использование различных моделей пористой среды приводит к следующим выражениям для вероятности изменения полного числа конформаций линейных гибкоцепных макромолекул при их попадании в поры сорбента из каналов подвижной фазы [43].

а) В случае сферических пор:

$$W_{s,1} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{1}{m^2} \exp \left\{ -m^2 \pi^2 \left[\frac{(\bar{R}^2)^{1/2}}{r} \right]^2 \right\} \quad (\text{III.15})$$

в) В случае цилиндрических пор:

$$W_{s,2} = 4 \sum_{m=1}^{\infty} \frac{1}{\beta_m^2} \exp \left\{ -\beta_m^2 \left[\frac{(\bar{R}^2)^{1/2}}{r} \right]^2 \right\} \quad (\text{III.16})$$

в) В случае щелеобразных пор:

$$W_{s,3} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{1}{(2m+1)^2} \exp \left\{ -\frac{(2m+1)^2 \pi^2}{4} \left[\frac{(\bar{R}^2)^{1/2}}{r} \right]^2 \right\} \quad (\text{III.17})$$

где \bar{r} — радиус поры; β_m — m -ый корень уравнения $J_0(\beta) = 0$ (J_0 — функция Бесселя 1-го рода нулевого порядка).

Зависимости (III.15—III.17) сравнивались с экспериментальными данными ГПХ на сферосиле [50] и на пористых стеклах [51] с узким распределением по размерам пор. Как видно из рис. III.19, наилучшее соответствие получается для щелевидной модели пор. Сравнивались также экспериментальные данные, полученные в ГПХ на макропористых стеклах, с результатами расчета по уравнению, предложенному Де Вризом [38]

$$Kd = \int_0^{\infty} dR \delta(R - R_s) \int_0^{\infty} \Xi(r) dr = \int_{R_s}^{\infty} \Xi(r) dr$$

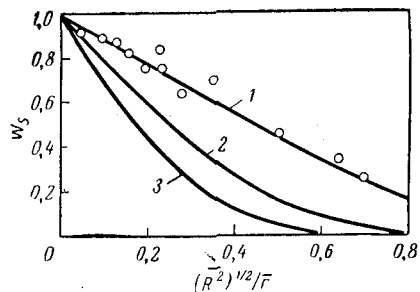


Рис. III.19. Вероятность попадания макромолекул в поры сорбента как функция отношения среднеквадратичного радиуса инерции и среднего радиуса пор:

1 — щелевидные поры; 2 — цилиндрические поры; 3 — сферические поры. Точками показаны экспериментальные данные, взятые из работ [30, 51].

два значения: 0 и 1. Как видно из рис. III.18, это противоречит экспериментальным данным.

III. 8. Универсальная калибровочная зависимость в гель-проникающей хроматографии

Из теоретических концепций, развитых в методе ГПХ, следует, что в равновесных условиях различие в хроматографическом поведении макромолекул связано только с различием их размеров. При этом многообразии форм макромолекул не мешает описывать единообразно их гидродинамическое поведение, если использовать в качестве характеристического размера радиус эквивалентной сферы. Он подбирается таким образом, чтобы значения характеристической вязкости $[\eta]$ (определяющей коэффициент вращательного трения) и коэффициента поступательного трения f , найденные для макромолекулы и эквивалентной сферы, совпадали [52]. Для сферических частиц эти величины находят из законов Эйнштейна

$$[\eta] = 10\pi N_A R_s^3 / 3M \quad (III.18)$$

и Стокса

$$f = 6\pi\eta_0 R_s \quad (III.19)$$

где M — масса частиц; η_0 — динамическая вязкость растворителя; N_A — число Авогадро.

Равенство (III.18) позволяет записать, что объем v эквивалентной сферы пропорционален произведению $M[\eta]$:

$$M[\eta] = 2,5N_A v \quad (III.20)$$

в котором с макромолекулой сопоставляется не ансамбль сфер, а одна эквивалентная сфера радиуса R_s . Это уравнение получается из (III.4) и (III.7), если ансамбль W заменить на дельта-функцию $\delta(R - R_s)$. Из него следует, что макромолекулы попадают в сорбент только тогда, когда их эквивалентный размер R_s меньше радиуса пор r . Для сорбентов с достаточно узким распределением по размерам пор это приводит к зависимости 2, изображенной на рис. III.18, в соответствии с которой коэффициент распределения макромолекулы может принимать только

Для глобулярных частиц эллипсоидальной формы, например белковых молекул, произведение $M[\eta]$ зависит не только от их объема v , но и от асимметрии их формы, которая учитывается введением в (III.20) инкремента вязкости ν , являющегося функцией отношения главных осей эллипса L_1 и L_0 :

$$M[\eta] = N_A \nu v (L_1/L_0) \quad (III.21)$$

При $L_1 = L_0$ $\nu = 2,5$, при $L_1 \neq L_0$ ν растет по мере отклонения отношения L_1/L_0 от единицы как в одну, так и в другую сторону.

Для гибкоцепных макромолекул, имеющих форму клубка, произведение $M[\eta]$ также может быть выражено через объем некоторой эквивалентной гидродинамической сферы. Если этот клубок является непротекаемым, т. е. вращается и движется поступательно вместе с находящимся внутри него растворителем, то объем соответствующей ему сферы v связан с $M[\eta]$ равенством (III.20). Для протекаемых (частично или полностью) клубков в равенство (III.20) вводят в качестве множителя так называемую экранирующую функцию $\phi = \phi(R_s/L_e)$:

$$M[\eta] = N_A \nu \phi (R_s/L_e) \quad (III.22)$$

где L_e — экранирующая длина, характеризующая гидродинамическое взаимодействие сегментов макромолекулы [52].

Известно, что сфера радиуса $(3/4\pi)^{1/3}(M[\eta]^{1/3})$ вращается и движется в растворе так же, как и соответствующая ей макромолекула с молекулярной массой M и характеристической вязкостью $[\eta]$. По аналогии с этим Бенуа с группой соавторов [53] выдвинули предположение, что такая же (или близкая по содержанию) ситуация имеет место и в порах сорбента. Это значит, что вероятность попадания в поры макромолекул и эквивалентных им гидродинамических сфер определяется одной и той же совокупностью вращательных и поступательных степеней свободы и что в качестве размера, характеризующего макромолекулу (независимо от их формы и внутренней структуры), в гель-проникающей хроматографии можно использовать произведение $M[\eta]$, т. е.

$$R_{ГПХ} = (3/4\pi)^{1/3} (M[\eta])^{1/3} \quad (III.23)$$

Это выражение хорошо согласуется с конформационной моделью в ГПХ.

Правомочность выбора произведения $M[\eta]$ в качестве размера для различных типов макромолекул в ГПХ обоснована в работах [53, 54], а также в экспериментах других авторов [55—63].

На рис. III.20 показаны результаты, полученные в работе [54], в которой была доказана справедливость универсальной калибровочной зависимости для различных линейных и разветвленных полимеров, а также привитых и статистических сополимеров.

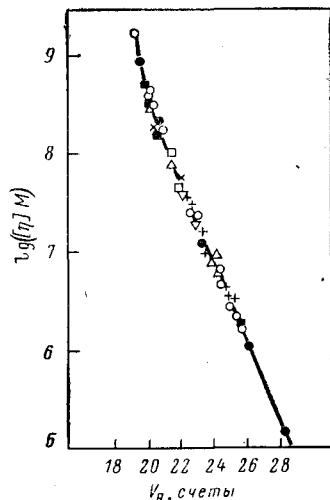


Рис. III.20. Зависимость удерживаемых объемов от произведения $M[\eta]$:

● — линейное ПС; + — разветвленные (звездчатые) ПС; ▽ — привитые сополимеры ПС и ПММА; ○ — статистические сополимеры ПС и ПММА; □ — ПВД; ■ — полифенилсилоксаны (разветвленные гребнеобразные полимеры); △ — ПВХ.

Однако следует отметить, что в ряде экспериментальных работ [67—69] наблюдались отклонения от этого принципа. Они имели место, когда опыты проводили в растворителях разного термодинамического качества, при разных температурных (и других) условиях, а также с полимерами, различающимися по термодинамической совместимости с сорбентом. В этих опытах так или иначе нарушалась основная заповедь ГПХ о том, что все эксперименты, как калибровочные, так и рабочие, следует проводить при одинаковых условиях, когда можно пренебречь либо энергетическим взаимодействием сорбента с макромолекулами, либо различием в этом взаимодействии для исследуемых веществ. Рекомендации для достижения подобных условий сформулированы в разделе IV.2.

Универсальная калибровка широко применяется в ГПХ при интерпретации хроматограмм всех классов полимеров. Она стандартизует метод, делает его более надежным и доступным.

* Для стержневидных молекул ПГБГ оказалась справедливой [60] зависимость $R_{ГПХ} = L/2$ (где L — длина молекулы), предсказанная в работе [64].

Аналогичная зависимость получена [60] для полистирола, поли-2-винилпиридина и поли- γ -бензил- L -глутамата (ПГБГ) в N,N -диметилацетамиде при 80°C . Это распространяет представление о величине $(M[\eta])^{1/2}$ как о размере $R_{ГПХ}$ и на жесткие стержневидные макромолекулы ПГБГ*.

В работе [65] было обнаружено одинаковое поведение в ГПХ-процессе клубкообразных гибкоцепных макромолекул (полистирол) и твердых дископодобных молекул (асфальт), если их гидродинамические объемы совпадали. Подобным же образом вели себя молекулы белков, вирусов и линейных полистиролов [66]. Следовательно, гипотеза Бенуа [53] нашла экспериментальное подтверждение и для глобулярных макромолекул.

В соответствии с этим можно говорить о принципе универсальной (т. е. общей для всех макромолекул) калибровки хроматографических систем в ГПХ, который постулирует единую зависимость коэффициентов распределения (и V_R) от гидродинамических объёмов макромолекул.

III. 9. Общее описание процесса ГПХ

При общем описании процесса гель-проникающей хроматографии следует исходить из модифицированных соответствующим образом теоретических концепций хроматографии и динамики сорбции с учетом специфики растворов полимеров. Хроматографическую систему удобно рассматривать как двухфазную, понимая под подвижной фазой совокупность каналов, образованных пустотами между частицами сорбента, а под неподвижной — поровое пространство сорбента. Можно считать, что движение макромолекул по каналам подвижной фазы происходит в условиях ламинарного потока и описывать его одним из уравнений баланса систем I.I—I.III. При этом обмен макромолекулами между внешней частью порового пространства и каналами подвижной фазы следует рассматривать как равновесный, а их диффузионный перенос во внутреннюю часть описывать уравнением Фика (предполагая, что частицы сорбента имеют сферическую форму):

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = D_s \left(\frac{\partial^2 c_s}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_s}{\partial r} \right) \quad (\text{III.24})$$

где c_s — концентрация раствора в зернах сорбента; D_s — коэффициент поступательной диффузии макромолекул в сорбенте.

Если скорость потока подвижной фазы такова, что время τ пребывания макромолекулы в частице сорбента на протяжении одного акта сорбции — десорбции сравнимо или меньше времени T прохождения мимо этой частицы зоны хроматографируемого раствора: $\tau \ll T$, то межфазный обмен макромолекулами, а следовательно, и весь процесс ГПХ близок к равновесному. В противном случае равновесие отсутствует, что может быть вызвано малой диффузионной подвижностью макромолекул в сорбенте, большим размером частиц сорбента или большой скоростью элюции.

Выбирая способ описания кинетики процесса ГПХ, следует помнить, что здесь на протяжении каждого акта сорбции — десорбции можно выделить следующие стадии.

1. Случайные блуждания макромолекул в каналах подвижной фазы, обусловленные тепловым движением и гидродинамическими условиями эксперимента.

2. Сорбция макромолекул, т. е. их переход из подвижной фазы во внешнюю часть неподвижной фазы (попадание в поры сорбента).

3. Диффузия из внешней части неподвижной фазы во внутреннюю и обратно, т. е. блуждания в зернах сорбента (в поровом пространстве).

4. Десорбция макромолекул, т. е. их переход из внешней части неподвижной фазы в каналы подвижной фазы.

Отличительной чертой гель-проникающей хроматографии является отсутствие приводящего к адсорбции взаимодействия

макромолекул с матрицей сорбента. Следствием этого оказывается кратковременность стадий 2 и 4 по сравнению со стадиями 1 и 3. Поэтому кинетика процесса ГПХ по существу связана только со случайными блужданиями макромолекул в подвижной фазе и их диффузией в зернах сорбента. Соизмеримость этих стадий по времени их длительности приводит к смешанной кинетике процесса ГПХ. Его специфика выражается в выборе соответствующих кинетических уравнений и учете особенностей растворов полимеров, отражающихся на величине коэффициента распределения макромолекул между фазами системы.

III. 10. Влияние конформационных изменений макромолекул при межфазных переходах на результаты ГПХ-анализа

Физико-химические свойства растворов высокомолекулярных соединений во многом отличны от свойств растворов низкомолекулярных веществ, и это предопределяет специфику хроматографии полимеров вообще и ГПХ в частности. Раствор полимера представляет собой как бы «двойной» статистический ансамбль. С одной стороны, это ансамбль макромолекул, которые являются его структурными единицами. С другой — каждая макромолекула представляет собой статистический ансамбль элементарных сегментов. Каждый из этих ансамблей подчиняется законам термодинамики и статистической физики со всеми вытекающими отсюда последствиями. Например, понятия термодинамических потенциалов, свободной энергии, энтропии и т. п. могут применяться в качестве характеристик состояния и всего раствора полимера, и отдельных его макромолекул. Изменения состояния макромолекул и раствора в целом взаимосвязаны. В хроматографии полимеров это приводит к закономерностям, не наблюдавшимся при хроматографическом анализе низкомолекулярных веществ [70—72].

Одной из таких закономерностей является зависимость коэффициента распределения, а следовательно, и величины удерживаемого объема, от конформационных изменений, происходящих с макромолекулами при их переходе из каналов подвижной фазы в поры сорбента. В условиях равновесного эксперимента * вероятность того, что гибкоцепная макромолекула окажется в одной из пор сорбента, определяется изменением ее свободной энергии

$$W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2}) = \exp \left[- \frac{\Delta F(r, [\bar{R}^2]^{1/2})}{kT} \right] \quad (\text{III.25})$$

* Не следует путать равновесную вероятность W_s с рассмотренной ранее кинетической вероятностью сорбции в единицу времени (λ).

которое является функцией размеров поры r и макромолекулы $[\bar{R}^2]^{1/2}$ (k — постоянная Больцмана). Так как в процессе ГПХ отсутствует адсорбционное или какое-либо другое взаимодействие макромолекул с сорбентом, все изменения ΔF имеют исключительно энтропийную природу

$$\Delta F = \Delta U - T \Delta S = -T \Delta S \quad \Delta U = 0$$

Это позволяет переписать выражение (III.25) в следующем виде:

$$W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2}) = \exp \left[\frac{\Delta S(r, [\bar{R}^2]^{1/2})}{k} \right] \quad (\text{III.26})$$

Если плотность распределения пор по размерам в данном сорбенте есть $\psi(r)$, то выражение для вероятности W_s , усредненное по всем порам сорбента, есть

$$\bar{W}_s([\bar{R}^2]^{1/2}) = \int_0^{\infty} W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2}) \psi(r) dr \quad (\text{III.27})$$

Условие термодинамического равновесия, которое наблюдается при этом, можно записать следующим образом:

$$\mu_0 + RT \ln \gamma c = \mu'_0 + RT \ln \gamma' c' \quad (\text{III.28})$$

где μ_0 и μ'_0 , γ и γ' , c и c' — соответственно средние значения стандартных химических потенциалов макромолекул, их коэффициентов активности и концентрации * в каналах подвижной фазы и в порах сорбента; R — универсальная газовая постоянная.

Из уравнения III.28 получаем выражение для равновесного коэффициента распределения

$$(c'/c)_{\text{равн}} = Kd_{\text{равн}} = \exp [-\Delta\mu_0/(RT)] \quad (\text{III.29})$$

Если стандартные значения химических потенциалов определены таким образом, что выполняется условие

$$\frac{\Delta\mu_0}{RT} = \frac{\Delta \bar{S} N_A}{R} = \frac{\Delta \bar{S}}{k}$$

а $\gamma = \gamma'$ благодаря отсутствию энергетических взаимодействий макромолекул с сорбентом, то равенства (III.27) и (III.29) становятся тождественными, т. е.

$$Kd_{\text{равн}} = \int_0^{\infty} W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2}) \psi(r) dr \quad (\text{III.30})$$

где вероятность $W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2})$ охарактеризована уравнением (III.25).

* Концентрации c и c' при таком подходе и соответствующей нормировке можно рассматривать как вероятности пребывания макромолекулы в единицах объема подвижной и неподвижной фаз сорбента.

Определенный таким образом коэффициент распределения задает вероятность, с которой макромолекулы могут оказаться в единице объема пор сорбента (при условии, что в каналах подвижной фазы эта вероятность равна единице)*. Поэтому величину $Kd_{\text{равн}}V_p$ можно условно рассматривать как часть объема пор сорбента, доступную для данных макромолекул в условиях равновесного эксперимента

$$Kd_{\text{равн}}V_p \equiv V_{\text{acc}} = V_p \int_0^{\infty} W_s(r, [\bar{R}^2]^{1/2}) \psi(r) dr \quad (\text{III.31})$$

В неравновесных условиях понятие доступного объема пор теряет свой смысл и коэффициент распределения должен определяться на основании соответствующего кинетического уравнения [например, уравнения (I.7)]. Его отличие от равновесного значения может быть задано некоторым множителем Kd_D

$$Kd = Kd_{\text{равн}}Kd_D \quad (\text{III.32})$$

При этом $Kd_{\text{равн}}$ может быть определен либо с помощью конформационной модели, либо с помощью модели эквивалентных сфер. Для нахождения Kd_D удобно воспользоваться диффузионной моделью.

Величина удерживаемого объема, соответствующего данному коэффициенту распределения, легко определяется из выражения для первого статистического момента:

$$M_1(x) = \frac{\lambda + \lambda'}{\lambda'} \frac{1}{U} \left(x + \frac{2D}{U} \right)$$

Отсюда

$$M_1(x)US \equiv V_R = \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right) xS_i + \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right) \frac{2DS}{U} \quad (\text{III.33})$$

Очевидно, что при достаточно больших x вторым слагаемым в уравнении (III.33) можно пренебречь (в обычных условиях ГПХ-эксперимента оно невелико и при малых x). Поэтому

$$V_R \approx \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right) xS_i = \left(1 + \frac{\lambda}{\lambda'} \right) V_0 \quad (\text{III.34})$$

где S — активное сечение подвижной фазы; V_0 — объем подвижной фазы.

Так как в равновесных условиях

$$Kd = (\lambda/\lambda') (V_0/V_p)$$

* Более точно коэффициент распределения есть отношение вероятностей пребывания макромолекул в единицах объема пор сорбента W_s и каналов подвижной фазы W_m :

$$Kd = W_s/W_m$$

то вместо уравнения (III.34) можно записать

$$V_R \approx V_0 \left(1 + Kd_{\text{равн}} \frac{V_p}{V_0} \right) = V_0 + KdV_p = V_0 + V_{\text{acc}} \quad (\text{III.35})$$

В ГПХ-экспериментах в условиях, близких к равновесным, значения $Kd_{\text{равн}}$ обычно относятся к максимумам хроматографических пиков (форма которых близка к гауссовой). При этом V_0 определяется как удерживаемый объем, соответствующий самым большим макромолекулам, вообще не попадающим в поры сорбента, а V_p — как удерживаемый объем малых молекул, попадающих во все поры.

Следует отметить, что конформационные изменения, оказывающие влияние на результаты ГПХ-эксперимента, наблюдаются не только при переходе макромолекул из одной фазы в другую. Они нередко происходят и в каналах подвижной фазы, где из-за вязкости раствора всегда появляется поперечный градиент скорости потока, а неоднородность в упаковке колонки, проявляющаяся особенно при ее «старении» (когда нижняя часть колонки оказывается упакованной более плотно, чем верхняя), порождает продольный градиент скорости. Находящиеся в таком потоке макромолекулы испытывают деформацию. Растягивание макромолекул в градиентном ламинарном потоке и ориентирование вдоль него приводят к уменьшению вероятности W_s попадания макромолекул в поры сорбента. Соответствующий расчет удобно проводить, используя, например, модель эквивалентных сфер.

Действительно, «эффективный хроматографический размер» макромолекул, определенный как некоторая функция радиуса инерции или расстояния между концами макромолекулярной цепочки: $[\bar{R}_a^2]^{1/2} = f([\bar{h}^2]^{1/2})$ растет вместе с $[\bar{h}^2]^{1/2}$. Это приводит к уменьшению величины $V_{\text{acc}}([\bar{R}_a^2]^{1/2})$. Обозначая $[\bar{R}_{a,0}^2]^{1/2}$ невозмущенный размер макромолекулы, равный

$$[\bar{R}_{a,0}^2]^{1/2} = f([\bar{h}_0^2]^{1/2})$$

получим на основании уравнения (III.7):

$$V_{\text{acc}}([\bar{R}_{a,0}^2]^{1/2}) - V_{\text{acc}}([\bar{R}_a^2]^{1/2}) \approx V_p \int_{[\bar{R}_{a,0}^2]^{1/2}}^{[\bar{R}_a^2]^{1/2}} \psi(r) dr \quad (\text{III.36})$$

Возрастание скорости элюции приводит к росту градиента скорости, увеличению размеров макромолекул и уменьшению вероятности их попадания в поры сорбента, что автоматически уменьшает коэффициент распределения и значение удерживаемого объема.

III. 11. Зависимость результатов ГПХ-анализа от концентрации раствора, его температуры и растворителя

Обычно растворы полимеров, используемые в гель-проникающей хроматографии, сильно разбавлены ($c = 0,1\%$). Поэтому в типовых ГПХ-анализах не наблюдается зависимости получаемых результатов от концентрации раствора. Однако при исследовании концентрированных растворов такую зависимость удается наблюдать [73—76]. Оказывается, что при достаточно больших концентрациях раствора ($c = 1\%$) с ростом концентрации уменьшается скорость элюирования макромолекул (т. е. им соответствуют большие удерживаемые объемы). Эта зависимость может быть объяснена следующим образом.

1) Размеры макромолекул в растворах определяются соотношением энергетических взаимодействий сегментов полимерной цепочки друг с другом и с молекулами растворителя, а также молекул растворителя между собой. Эти взаимодействия приводят к образованию трех пар контактов: полимер — полимер, полимер — растворитель и растворитель — растворитель, вероятности которых зависят от величин соответствующих энергетических взаимодействий.

Все три пары контактов равновероятны в тэта-растворителях (или, что то же, при тэта-условиях), где макромолекулы имеют так называемые невозмущенные размеры. С улучшением термодинамического качества растворителя его взаимодействие с полимерными сегментами становится более сильным, чем их взаимодействие между собой. Растворитель активно проникает внутрь макромолекулярного клубка, макромолекула при этом набухает. Размеры набухшей макромолекулы зависят от концентрации раствора. В частности, с ростом концентрации вследствие взаимодействия между сегментами соседних макромолекул, выражающегося в их взаимном отталкивании, размеры макромолекулы в конечном счете уменьшаются.

Количественно это выражается следующим образом [77]:

$$\alpha = \alpha_0 (1 - \kappa_1 c - \kappa_2 c^2 - \dots) \quad (\text{III.37})$$

где $\kappa_1 = A_2 M L_1(\alpha_0)$ и $\kappa_2 = A_3 M L_2(\alpha_0)$; c — концентрация полимера в растворе; α_0 — коэффициент набухания макромолекул в данном растворителе; α — его значение с учетом концентрационного эффекта; M — молекулярная масса полимера; A_2 и A_3 — второй и третий вириальные коэффициенты, которые, как и функции $L_1(\alpha_0)$ и $L_2(\alpha_0)$, рассчитаны в работе [77].

Поскольку $\alpha/\alpha_0 = ([\bar{h}^2]^{1/2}/[\bar{h}_0^2]^{1/2})^3$ (где $[\bar{h}_0^2]^{1/2}$ характеризует размеры макромолекул без учета концентрационного эффекта), имеем

$$[\bar{h}^2]^{1/2} = [\bar{h}_0^2]^{1/2} (1 - \kappa_1 c - \kappa_2 c^2 - \dots)^{1/3} \quad (\text{III.38})$$

Подставляя полученное таким образом значение $[\bar{h}^2]^{1/2}$ в выражения для W_s и V_{acc} , легко убедиться, что они увеличиваются, а вместе с ними Kd и V_R , с ростом концентрации.

С ухудшением термодинамического качества растворителя взаимодействие полимерных сегментов с его молекулами и между собой выравнивается, размеры макромолекул уменьшаются. Зависимость размеров макромолекул от концентрации раствора становится менее выраженной, а в случае тэта-растворителя исчезает совсем. В соответствии с этим изменяется зависимость удерживаемых объемов от концентрации (рис. III.21) [78]. Из рис. III.21 видно, что при малых концентрациях в тэта-растворителе (смесь бензол — метанол в соотношении 77,8 : 22,2 при комнатной температуре) макромолекулы полистирола (ПС) вымываются из колонки позже, чем в «хорошем» растворителе (бензол). С ростом концентрации раствора удерживаемые объемы V_R полистиролов в тэта-смеси и бензоле сначала выравниваются (за счет возрастания V_R в бензоле), а затем в «хорошем» растворителе (бензоле) становятся больше, чем в «плохом» (тэта-смеси).

2) Слабая зависимость V_R от концентрации в тэта-растворителе означает, что влияние концентрации раствора на ход хроматографического процесса не ограничивается эффектом, рассмотренным выше. Следует учитывать, что растворы полидисперсных полимеров являются многокомпонентными, поэтому между фазами в колонке даже в равновесных условиях существует разность осмотических давлений, зависящая от концентрации каждого компонента. В результате происходит перераспределение макромолекул. При этом внутри порового пространства сорбента концентрация низкомолекулярных компонентов оказывается более высокой, чем это вытекает из соотношения их размеров и размеров пор в соответствии с молекулярно-ситовым эффектом.

Рассмотрим описанную концентрационную зависимость на примере раствора, содержащего две узкие макромолекулярные фракции. В неподвижной фазе колонки условно выделим две части. В одну из них поместим поры, доступные по размерам для обеих фракций; в другую — доступные только для одной из них, меньшей по размерам макромолекул. Тогда коэффициенты распре-

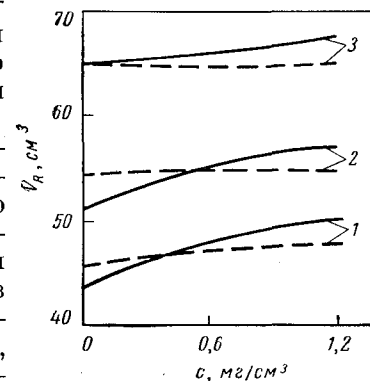


Рис. III.21. Зависимость удерживаемых объемов полистиролов от их концентрации в «хорошем» растворителе — бензоле (сплошные линии) и в тэта-смеси бензол — метанол (пунктирные линии): 1 — $M_w = 6,7 \cdot 10^5$; 2 — $M_w = 3,2 \cdot 10^5$; 3 — $M_w = 0,97 \cdot 10^5$.

деления для каждой фракции можно выразить следующим образом:

$$Kd_i = \frac{c'_i}{c_i} = \frac{1}{V_p} \sum_{i, k=1}^2 c_{i, k} V_{k/c_i} \quad (\text{III.39})$$

где $c_{i, k}$ — концентрация i -той фракции в k -той части неподвижной фазы, объем которой при $k=1$ равен объему, доступному для фракции 2 (более высокомолекулярной), а при $k=2$ — разности объемов, доступных для фракций 1 и 2, т. е.

$$V_1 = V_{acc, 2}; \quad V_2 = V_{acc, 1} - V_{acc, 2}$$

c_i и c'_i — средние концентрации фракции в подвижной и неподвижной фазах.

Для получения зависимости коэффициентов распределения от концентрации полимера в подвижной фазе запишем условия термодинамического равновесия процесса в области математического ожидания хроматографического пика:

$$\left. \begin{aligned} \mu_{0, i} + RT \ln(\gamma_i c_i) &= \mu_{0, i, k} + RT \ln(\gamma_{i, k} c_{i, k}) \\ \pi_{i, k} &= RT(c_i - c_{i, k}) [A_{1, i} + A_{2, i}(c_i - c_{i, k})] \\ \pi_{i(1, 2)} &= RT(c_{i, 1} - c_{i, 2}) [A_{1, i} + A_{2, i}(c_{i, 1} - c_{i, 2})] \end{aligned} \right\} \quad (\text{III.40})$$

$i, k=1, 2$

где $\mu_{0, i}$ и $\mu_{0, i, k}$ — стандартные значения химических потенциалов i -той фракции в подвижной фазе и в k -той части неподвижной фазы; γ_i и $\gamma_{i, k}$ — соответствующие коэффициенты активности; $\pi_{i, k}$ и $\pi_{i(1, 2)}$ — осмотические давления на границах раздела подвижная фаза — k -тая часть неподвижной фазы и между обеими частями неподвижной фазы; $A_{1, i}$ и $A_{2, i}$ — первый и второй вириальные коэффициенты i -той фракции.

Вводя обозначения $a_{ik} = \gamma_i/\gamma_{i, k}$, $k_i = V_{acc, i}/V_p$ из системы уравнений (III.34), можно получить следующие выражения для коэффициентов распределения каждой фракции [70]:

$$Kd_1 \approx k_1 a_{1,2} (1 + \bar{v} a_{2,1} c_2 A_{1,2}) + k_2 \{ (a_{1,1} - a_{1,2}) + \bar{v} [a_{1,1} - a_{2,1} \times \\ \times (a_{1,1} - a_{1,2})] A_{1,2} c_2 \} + (k_1 - k_2) a_{1,2} \bar{v} c_1 A_{1,1} (1 - a_{1,1}) \quad (\text{III.41})$$

$$Kd_2 \approx k_2 a_{2,1} [1 + c_1 \bar{v} A_{1,1} (1 - a_{1,1})] \quad (\text{III.42})$$

где \bar{v} — парциальный мольный объем.

Для несжимаемых молекул, примером которых могут служить молекулы белков, найденные выражения существенно упрощаются, так как в этом случае $a_{ik} = 1$:

$$Kd_1 = \frac{V_{acc, 1}}{V_p} + \bar{v} A_{1,2} c_2 \frac{V_{acc, 1} + V_{acc, 2}}{V_p} \quad (\text{III.43})$$

$$Kd_2 \approx V_{acc, 2}/V_p \quad (\text{III.44})$$

Следовательно, на основании уравнения (III.43) можно сделать вывод, что с ростом концентрации в растворе второго компонента коэффициент распределения первого компонента увеличивается.

3) Специфической особенностью растворов полимеров является существенное увеличение их динамической вязкости η с ростом концентрации c . Оно может быть описано уравнением [79]

$$\eta = \eta_0 \{ 1 + c [\eta] + k' c^2 [\eta]^2 + \dots \} \quad (\text{III.45})$$

где η_0 — вязкость растворителя; $[\eta]$ — характеристическая вязкость раствора; k' — коэффициент, характеризующий взаимодействие макромолекул в данной системе полимер — растворитель. Он практически не зависит от молекулярной массы и может служить характеристикой «сродства» полимера и растворителя. В тэта-растворителях $k' \approx 0,5$ (или выше), а в «хороших» растворителях $k' = 0,2-0,3$ [80].

Увеличение вязкости раствора приводит к возрастанию гидродинамического взаимодействия растворенных макромолекул и тем самым увеличивает коэффициент поступательного трения f и уменьшает диффузионную подвижность макромолекул в растворе.

С возрастанием концентрации раствора полимера возрастает и осмотическое давление π , и его градиент $d\pi/dx$ (при заданном dc/dx). Это приводит к увеличению диффузионной подвижности макромолекул

$$D = \frac{kT}{f} (1 + 2A_2 M c + 3A_3 M c^2 + \dots) \quad (\text{III.46})$$

Совместное действие обоих рассмотренных факторов обуславливает сложную концентрационную зависимость коэффициента диффузии [72]

$$D = D_0 (1 + K_D c) \quad (\text{III.47})$$

где коэффициент K_D при разных значениях вириальных коэффициентов, молекулярной массы и величины взаимодействия макромолекул в данной системе полимер — растворитель может быть как положительным, так и отрицательным. В низкомолекулярной области коэффициенты диффузии с ростом концентрации уменьшаются, а в высокомолекулярной — растут [81, 82]. В ГПХ при высоких концентрациях раствора это должно привести к увеличению неравновесности процесса для малых молекул и, следовательно, к некоторому расширению хроматографических пиков и увеличению их асимметрии.

Зависимость размеров макромолекул от температуры раствора [83] (рис. III.22) также сказывается на величине удерживаемого объема: V_R возрастает при уменьшении размеров макромолекул и уменьшается при их увеличении (рис. III.23).

Немаловажную роль в ГПХ играет выбор растворителя. При использовании УФ-фотометра необходимо, чтобы растворитель был прозрачен для УФ-излучения, а при употреблении рефрактометра растворитель должен иметь низкий показатель преломления. Растворитель не должен допускать адсорбционного взаимодействия элюируемых макромолекул с матрицей сорбента. Кроме того, от его термодинамического качества зависит эффективность фракционирования, так как оно предопределяет размеры макро-

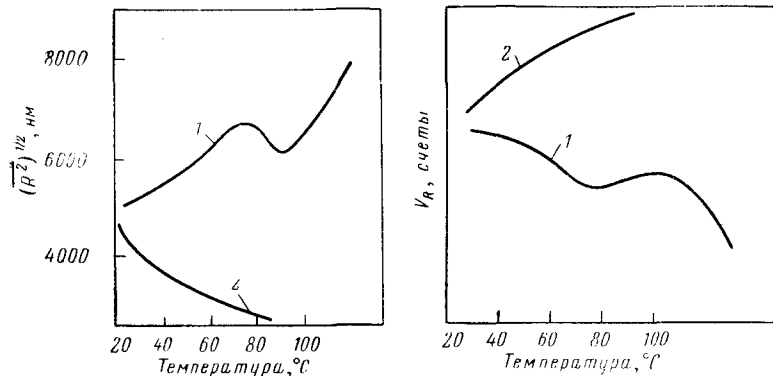


Рис. III.22. Зависимость размеров макромолекул от температуры раствора: 1 — полистирол в декалине; 2 — полистирол в толуоле.

Рис. III.23. Зависимость удерживаемых объемов от температуры раствора: 1 — полистирол в декалине; 2 — полистирол в толуоле.

молекул, а в случае набухающих сорбентов и размеры пор. В «хороших» растворителях наблюдается более сильная зависимость удерживаемых объемов от молекулярных масс. В плохих растворителях меньше выражены концентрационные эффекты. При выборе растворителя надо считаться с возможностью образования его ассоциатов с макромолекулами исследуемого раствора, что искажает интерпретацию получаемых результатов. И, наконец, следует учитывать вязкость растворителя, от которой зависит диффузионная подвижность макромолекул на стадиях и внешней, и внутридиффузионной кинетики, а следовательно, и форма хроматографических пиков, и соответствующие им удерживаемые объемы.

III. 12. Особенности гель-проникающей хроматографии линейных гибкоцепных полимеров на набухающих макропористых сорбентах

Как показано выше, разделение макромолекулярных компонентов в ГПХ обусловлено несколькими механизмами. Основными среди них являются молекулярно-ситовой [38, 73], диффузионный [39—41] и эксклюзионный [34]. Молекулярно-ситовой механизм основан на соизмеримости размеров макромолекул и пор сорбента. Диффузионный механизм определяется подвижностью макромолекул в стационарной фазе хроматографической системы. С ним связана степень неравновесности ГПХ-процесса. Эксклюзионный механизм основан на эффекте объемного исключения макромолекулярных сегментов из областей, занятых матрицей набухшего полимерного геля.

Обычно эксперимент в ГПХ проводится в условиях, близких к равновесным, когда действие диффузионного механизма на разделение макромолекул становится несущественным. Если к тому же в качестве сорбента используют пористые стекла, силикагели или стирогели, то отпадает и эксклюзионный механизм. В этих условиях ответственным за разделение макромолекул становится только молекулярно-ситовой механизм, и интерпретация хроматограмм в молекулярно-массовые распределения полимеров может успешно осуществляться в соответствии с принципом универсальной калибровки Бенуа [54].

При хроматографировании гибкоцепных макромолекул на набухающих сорбентах (гелях) процесс их разделения усложняется. Понятие «поры» становится условным. Сегменты макромолекул перемешиваются с сегментами геля и проникают в глубь его гранул не только в зависимости от размеров макромолекул, но и от степени их термодинамической совместимости с гелем*.

Для расчета коэффициента распределения в этих условиях удобно воспользоваться следующей моделью. Предположим, что набухший гель неоднороден по плотности распределения в нем полимерных сегментов. Его неплотные области можно рассматривать как поры, а плотные — как стенки этих пор. Вероятность попадания макромолекул в такие поры определяется в соответствии с молекулярно-ситовым эффектом как функция их гидродинамического размера, а исключение из плотных областей — в соответствии с эксклюзионным эффектом, как функция термодинамической совместимости макромолекул с гелем.

Пусть в соответствии с молекулярно-ситовым эффектом объем геля, доступный для данных макромолекул, есть V_{acc} . Макромолекулярные сегменты, проникая в плотные области геля, увеличивают этот объем на величину ΔV_{acc} , зависящую от термодинамической совместимости макромолекул с гелем (рис. III.24). При полной несовместимости стенки «пор» непроницаемы для сегментов макромолекул, плотные области геля для них «закрыты». При этом выполняется равенство $\Delta V_{acc} = 0$. В остальных случаях $\Delta V_{acc} > 0$.

Для отыскания этой величины надо рассчитать изменение свободной энергии раствора при смешении сегментов макромолекулы и геля. С этой целью будем рассматривать каждую плотную область геля как сферу с радиусом R_0 , равномерно заполненную сегментами полимера (образующими гель); размеры этой сферы больше размеров макромолекулы.

Свободная энергия смешения сегментов макромолекулы с растворителем в объеме δV имеет вид:

$$\delta(\Delta F_c) = kT [\delta n_1 \ln(1 - v_2) + \chi_{1,2} \delta n_1 \cdot v_2] \quad (III.48)$$

* Под несовместимостью следует понимать разделение фаз при смешивании растворов различных полимеров в одном и том же растворителе, обусловленное возрастанием свободной энергии системы при перемешивании.

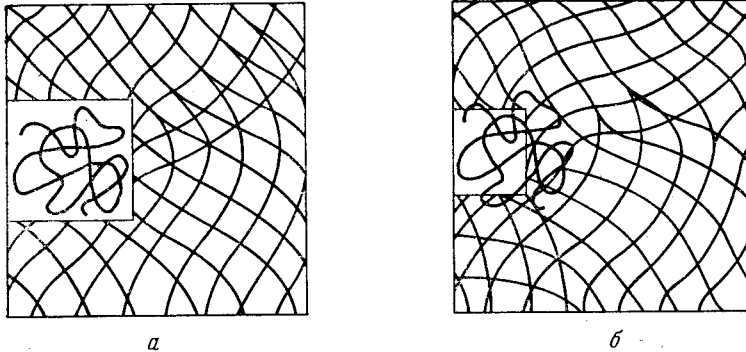


Рис. III.24. Схематическое расположение макромолекулы в поре набухшего сорбента:

a — макромолекула несовместима с сорбентом; *b* — макромолекула совместима с сорбентом.

где k — постоянная Больцмана; T — абсолютная температура; δn_1 — количество молекул растворителя в объеме δV ; v_2 — объемная доля полимера в объеме δV ; $\chi_{1,2}$ — безразмерная величина, характеризующая избыточную энергию взаимодействия макромолекул с растворителем

$$\chi_{1,2} = \frac{z \Delta w_{1,2}}{kT}; \quad \Delta w_{1,2} = \frac{1}{2} (w_{1,1} + w_{2,2}) - w_{1,2} \quad (\text{III.49})$$

где z — координационное число; $w_{1,1}$ — энергия взаимодействия двух молекул растворителя; $w_{2,2}$ — энергия взаимодействия двух макромолекулярных сегментов; $w_{1,2}$ — энергия одного контакта полимер — растворитель.

Выражение для свободной энергии $\delta (\Delta F_c)_{1,3}$ смещения сегментов геля с растворителем в объеме δV имеет вид, аналогичный (III.48). Предполагая, что упругости геля и макромолекулы при их взаимодействии не меняются, найдем, что полное изменение свободной энергии системы гель — макромолекула — растворитель при сближении центров инерции макромолекулы и плотной области геля до расстояния a равно:

$$\Delta F_a = \sum_{\delta V} \delta (\Delta F_a) = \sum_{\delta V} \{ \delta (\Delta F_c)_{2,3} - [\delta (\Delta F_c)_3 + \delta (\Delta F_c)_2] \} = kT \frac{v_3 v_2}{v_1} \times \\ \times \left[1 - (\chi_{1,3} + \chi_{1,2}) + \chi_{2,3} \frac{v_1}{v_3} \right] \int \rho_2 \rho_3 dv \quad (\text{III.50})$$

где $\delta (\Delta F_c)_{2,3}$ — свободная энергия смещения сегментов геля и макромолекулы; ρ_3 и ρ_2 — плотности их сегментов, а v_3 и v_2 — их объемы; v_1 — объем молекулы растворителя; $\chi_{2,3} = z \Delta w_{2,3} / kT$; $\Delta w_{2,3}$ — изменение энергии при образовании одного контакта гель — макромолекула, $\Delta w_{2,3} = (w_{1,3} + w_{1,2}) - (w_{2,3} + w_{1,1})$.

Для вычисления $\int \rho_2 \rho_3 dv$ будем считать, что ρ_3 постоянна в плотной области геля радиуса R_0 и равна нулю вне этой области

$$\rho_3 = \rho_3 \text{ при } 0 \leq r \leq R_0 \\ \rho_3 = 0 \text{ при } r > R_0$$

где r — переменная интегрирования: $dv = 4\pi r^2 dr$.

Рассматривая макромолекулу как гауссовый клубок, получим для макромолекулы, попавшей в плотную область геля:

$$\rho_3 N = \int \rho_2 \rho_3 dv$$

где $N = M/M_0$ — число сегментов в макромолекуле; M_0 — масса одного сегмента; M — молекулярная масса.

Изменение свободной энергии ΔF задает вероятность $\exp[-\Delta F/(kT)]$ того, что макромолекула находится внутри плотной области геля.

Произведение $\exp[-\Delta F_a/(kT)] 4\pi a^2 da$ представляет собой доступную для макромолекулы часть объема сферического слоя геля $4\pi a^2 da$. Распространяя интегрирование по a на всю гранулу геля и учитывая долю плотных областей в каждой грануле $(V_g - V_{acc, н/с})/V_g$, найдем

$$\Delta V_{acc} = \frac{V_g - V_{acc, н/с}}{V_g} \int_0^{R_0} 4\pi a^2 \exp[-\Delta F_a/(kT)] da = \\ = (V_g - V_{acc, н/с}) \exp[-\Delta F/(kT)] \quad (\text{III.51})$$

где $V_{acc, н/с}$ — объем макропор, доступных для макромолекул, полностью несовместимых с данным гелем, радиус гранул которого есть R_g ; V_g — объем набухшего геля.

Таким образом, для полимера, совместимого с гелем, имеем:

$$V_{acc, с} = V_{acc, н/с} + \Delta V_{acc} \quad (\text{III.52})$$

В соответствии с рассмотренной моделью принцип универсальной калибровки в ГПХ может нарушаться, если в качестве сорбентов используют набухающие гели [67, 68, 69, 84, 85]. Например, изучена [67] зависимость удерживаемых объемов от гидродинамических размеров макромолекул, крайне различающихся по степени термодинамической совместимости с сорбентом, в качестве которого использовались декстрановые гели — сефадексы марок G-100 и G-75. В этом эксперименте макромолекулы поливинилового спирта (ПВС) и полиэтиленгликоля (ПЭГ) были практически полностью несовместимы с сефадексом, а макромолекулы поливинилпирролидона (ПВП) и декстрана (Д) полностью совместимы с ним. Результаты представлены на рис. III.25, из которого видно, что удерживаемые объемы декстранов и ПВП больше удерживаемых объемов ПВС и ПЭГ.

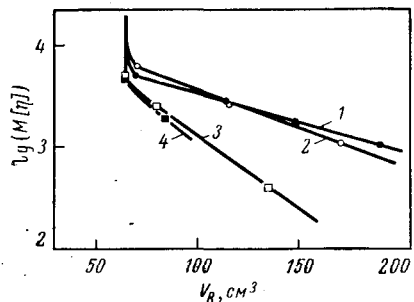


Рис. III.25. Зависимости удерживаемых объемов от логарифма произведения молекулярной массы на характеристическую вязкость полимера (колонка с сефадексом G-100):

1 — декстран; 2 — поливинилпирролидон; 3 — полиэтиленгликоль; 4 — поливинило-вый спирт.

$= 0$, можно записать уравнение, связывающее удерживаемые объемы совместимых и несовместимых с сефадексом полимеров:

$$V_{R,c} = V_{R,n/c} + (V_g - V_{R,n/c}) \exp(-K_c M_c) \quad (III.53)$$

где

$$K_c = (1/M_c) [\Delta F_a / (kT)] \quad \text{при } a < R \quad (III.54)$$

характеризует систему сефадекс — декстран — водный раствор NaCl и определяет величину ΔV_{acc} для ПВП и декстранов, полностью совместимых с сефадексом. При этом из уравнения (III.50) получаем для константы χ^* следующее выражение

$$\chi^* = \frac{1}{2} \left[1 - K_c \frac{M_0 v_1}{v_2 v_3 \rho_3} \right] \frac{v_2 v_3}{v_1} \quad (III.55)$$

На основании экспериментальных данных, полученных при использовании хроматографических колонок с сефадексом G-100, по формулам (III.54, III.55) рассчитаны параметры K_c и χ^* , а затем по формуле (III.53) найдены удерживаемые объемы декстрана [69, 86] на основании экспериментальных данных для ПЭГ, полученных на сефадексе G-75. Зависимость, рассчитанная таким образом (рис. III.26), хорошо коррелировала с экспериментальной, отклоняясь от нее не более чем на 15%. В работах [69, 86] была также получена представленная на рис. III.27 линейная зависимость логарифма разности удерживаемых объемов от молекулярной массы полимера, совместимого с сорбентом. Как видно из уравнения (III.53), модель ГПХ, рассмотренная в данном разделе, согласуется с этим результатом:

$$\ln \frac{V_{R,c} - V_{R,n/c}}{V_g - V_{R,n/c}} = -K_c M_c \quad (III.56)$$

Такое поведение следует и из рассмотренной нами модели ГПХ на набухающих сорбентах. Более того, уравнения (III.51—III.52) этой модели позволяют рассчитать зависимости для ПВП и декстранов по зависимостям для ПВС и ПЭГ, если известны константы Флори — Хаггинса $\chi_{1,2}$, $\chi_{1,3}$, $\chi_{2,3}$. Можно провести и обратную процедуру и определить эти константы, используя найденные в эксперименте значения удерживаемых объемов ПВП и декстранов, совместимых с сефадексом, и ПВС и ПЭГ, несовместимых с ним. Учтявая, что в данном случае $\chi_{1,3} = \chi_{1,2} = \chi^*$, а $\chi_{2,3} =$

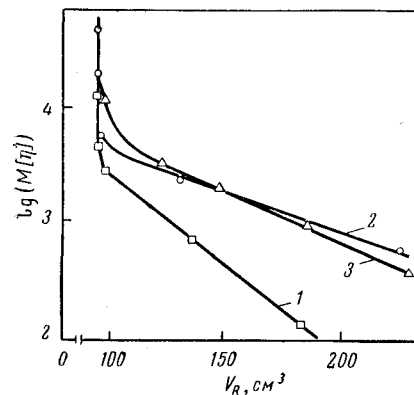


Рис. III.26. Зависимости удерживаемых объемов от логарифма произведения молекулярной массы на характеристическую вязкость полимера (колонка с сефадексом G-75):

1 — полиэтиленгликоль; 2 — декстран; 3 — декстран рассчитан по зависимости (III.53) и значениям K_c и χ^* для декстрана на сефадексе G-100.

Рис. III.27. Логарифм разности удерживаемых объемов декстрана и полиэтиленгликоля как функция молекулярной массы декстрана [колонки с сефадексами G-100 (1) и G-75 (2)].

Несовместимость полимера с гелем можно трактовать как взаимное отталкивание их сегментов. Противоположное явление — притяжение этих сегментов — может привести к адсорбции полимера на матрице геля. Из выражения (III.50) для изменения свободной энергии системы растворитель — полимер — гель видно, что обе эти тенденции в поведении макромолекул определяются соотношением между величинами констант Флори — Хаггинса $\chi_{1,2}$, $\chi_{1,3}$, $\chi_{2,3}$, которые характеризуют взаимодействие растворителя с сегментами макромолекул и геля, а также этих сегментов друг с другом. С величинами указанных взаимодействий тесно связаны вероятность попадания макромолекул в плотные области геля W_s и значения их удерживаемых объемов в ГПХ. Константы $\chi_{1,2}$ и $\chi_{1,3}$ зависят от термодинамического качества растворителя. С его улучшением их абсолютные значения растут, а с ухудшением уменьшаются. Константа $\chi_{2,3}$ характеризует взаимодействие геля с макромолекулой. Ее отрицательные значения могут (в зависимости от величин $\chi_{1,2}$ и $\chi_{1,3}$) привести к адсорбции макромолекулы на геле, а положительные к вытеснению ее сегментов из его плотных областей.

В связи с этим большой интерес представляет зависимость отношения вероятностей попадания макромолекулы в плотную область геля W_s и ее пребывания в «свободном» растворе W_m от величин $\chi_{1,2}$, $\chi_{1,3}$ и $\chi_{2,3}$. Как показано в разделе III.10,

в равновесных условиях W_s однозначно определяется изменением свободной энергии ΔF

$$W_s = e^{-\Delta F/(kT)} \quad (III.57)$$

где ΔF определена равенством (III.50), а W_m считается равной единице. Входящие в ΔF величины $\chi_{1,3}$ и $\chi_{1,2}$ в «хороших» для геля и макромолекулы растворителях имеют отрицательные значения. Поэтому разность

$$\chi \equiv 1 - (\chi_{1,3} + \chi_{1,2}) \quad (III.58)$$

положительна и несколько больше единицы.

Перепишем (III.50) в виде

$$\Delta F/(kT) = \nu_2 \rho_3 (\chi \nu_3 / \nu_1 + \chi_{2,3}) N \quad (III.59)$$

и введем обозначения

$$\nu_2 \rho_3 \equiv \kappa \text{ и } \chi \nu_3 / \nu_1 \equiv \chi_{кр} \quad (III.60)$$

Тогда

$$\Delta F/(kT) = \kappa (\chi_{кр} + \chi_{2,3}) N \quad (III.61)$$

Величина $\chi_{кр}$ по определению положительна, а $\chi_{2,3}$ может быть как положительной, так и отрицательной. При положительных $\chi_{2,3}$ значение $\Delta F/(kT)$ увеличивается с ростом $|\chi_{2,3}|$ и молекулярной массы полимера $M = NM_0$ (где M_0 — масса одного сегмента макромолекулы). Одновременно уменьшается вероятность попадания макромолекулы в плотную область геля, а вместе с ней и величина W :

$$W = \exp[-\kappa (\chi_{кр} + \chi_{2,3}) N] \quad (III.62)$$

При отрицательных значениях $\chi_{2,3}$ величина $\Delta F/(kT)$ уменьшается с ростом $|\chi_{2,3}|$, обращаясь в нуль при некотором критическом значении $\chi_{2,3} = \chi_{кр}$. Этому соответствует значение $W = 1$. Дальнейшее возрастание $|\chi_{2,3}|$ приводит к отрицательным значениям $\Delta F/(kT)$ и неограниченному росту W :

$$W = \exp[\kappa (\chi_{2,3} - \chi_{кр}) N] \quad (III.63)$$

Зависимости W от N для разных фиксированных значений $\chi_{2,3}$ и $\Delta F/(kT)$ от $\chi_{2,3}$ и N показаны на рис. III.28 и III.29.

Очевидно, что эти закономерности подобны тем, которые наблюдаются при адсорбционном взаимодействии макромолекул с ненабухающими сорбентами.

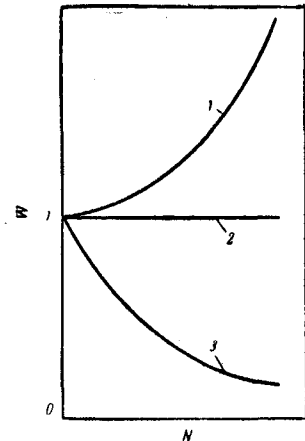


Рис. III.28. Вероятность попадания макромолекул в плотную область геля при разных значениях параметра Флори — Хаггинса $\chi_{2,3}$ как функция числа статистических сегментов:

1 — ($\chi_{2,3} < -\chi_{кр}$); 2 — ($\chi_{2,3} = -\chi_{кр}$); 3 — ($\chi_{2,3} > -\chi_{кр}$).

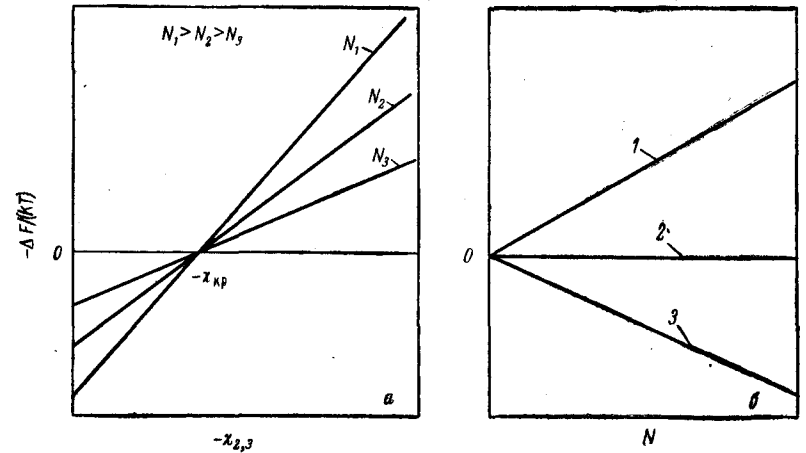


Рис. III.29. Изменение свободной энергии при попадании макромолекулы в плотную область геля как функция параметра Флори — Хаггинса $\chi_{2,3}$ для разных значений N (а) и числа статистических сегментов N для разных значений параметра $\chi_{2,3}$ (б): 1 — ($\chi_{2,3} < -\chi_{кр}$); 2 — ($\chi_{2,3} = -\chi_{кр}$); 3 — ($\chi_{2,3} > -\chi_{кр}$).

Таким образом, при проведении хроматографических экспериментов с макромолекулами на набухающих гелях следует учитывать весь комплекс сопутствующих явлений. Сюда входят степень совместимости полимера с гелем, возможность адсорбционного воздействия между ними, набухаемость как геля, так и макромолекул в условиях проведения опыта (характеризуемая константами $\chi_{1,3}$ и $\chi_{1,2}$) и ряд менее общих, но существенных явлений, например таких, как гидратация геля в водных растворах или ассоциация макромолекул друг с другом и с молекулами растворителя. Поэтому интерпретацию данных хроматографического эксперимента следует проводить только при тщательном учете всех перечисленных факторов, влияющих на его результат. В частности, только при соблюдении условий «истинной ГПХ» можно пользоваться универсальной калибровкой хроматографа. В противном случае она будет разной для различных полимеров, растворителей и условий опыта. В качестве примера можно привести результаты, полученные [68] на полиакриломорфолиновых гелях (энзакрил К1 и К2) (рис. III.30, III.31). Как видно, олигосахариды более активно проникают в гель, чем ПЭГ с той же молекулярной массой, а различная набухаемость геля в воде и хлороформе является одной из причин нарушения универсальной калибровки (см. также [87]).

Другим примером может служить ГПХ на стирогелях в растворителях разного термодинамического качества. В работе [61] такими растворителями были хлороформ и циклогексан. Первый является хорошим растворителем для полистирола (ПС) и поли-

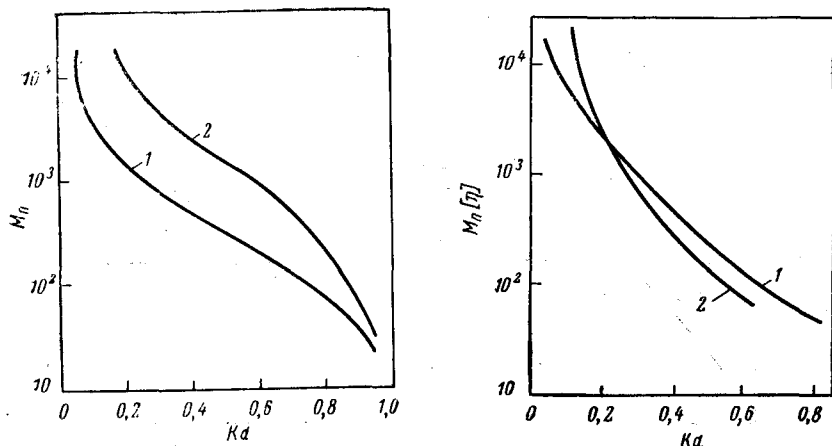


Рис. III.30. Зависимость коэффициента распределения от среднечисленной молекулярной массы M_n :

1 — олигосахарид; 2 — полиэтиленгликоль.

Рис. III.31. Зависимость коэффициента распределения от гидродинамических размеров макромолекул (на полиакриломорфолиновых гелях):

1 — в воде; 2 — в хлороформе.

диметилсилоксана (ПДМС), второй несколько хуже для ПДМС и близок к тэта-растворителю для ПС. Константы $\chi_{1,2}$ и $\chi_{1,3}$ для ПДМС и ПС в циклогексане меньше по абсолютной величине, чем в хлороформе. В соответствии с этим по формуле (III.57) вероятность попадания макромолекул ПДМС и ПС в плотные области геля возрастает при замене хлороформа на циклогексан, а вместе с ней растут и удерживаемые объемы (рис. III.32), причем это возрастание более существенно для макромолекул с меньшей молекулярной массой, т. е. здесь имеет место дополнительный механизм разделения макромолекул, действующий в том же направлении, что и молекулярно-ситовой. В результате эффектив-

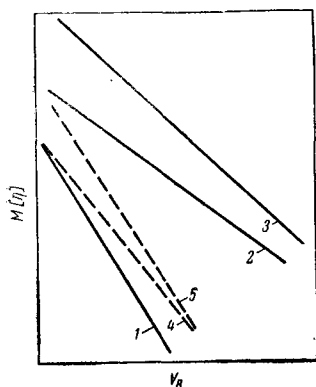


Рис. III.32. Зависимость гидродинамических объемов макромолекул $M[\eta]$ от их удерживаемых объемов V_R в ГПХ на стирогеле:

1 — полистирол ПС и полидиметилсилоксан (ПДМС) в «хорошем» растворителе — хлороформе при 35 °С; 2 — ПС в растворителе, промежуточном по «качеству» между хлороформом и циклогексаном; 3 — ПС в тэта-растворителе — циклогексане; 4 — ПДМС в циклогексане при отсутствии адсорбции (добавлено 1—2% тетрагидрофурана); 5 — ПДМС в циклогексане при наличии «небольшой» адсорбции на стирогеле [$(\chi_{кр} - \chi_2, \epsilon) > 0$; $\chi_3, \epsilon < 0$].

ность разделения при переходе от хлороформа к циклогексану возрастает. Эксперимент [61] наглядно подтверждает это для ПС. Несколько иное изменение удерживаемых объемов для ПДМС можно объяснить появлением частичной адсорбируемости ПДМС на стирогеле при переходе от хлороформа к циклогексану. Поскольку в хроматографии механизм адсорбции приводит к результату, обратному по сравнению с молекулярно-ситовым механизмом, совокупное их действие должно уменьшить эффективность разделения (при одновременном увеличении удерживаемых объемов для всех молекулярных масс). В эксперименте [61] можно было бы получить кривую для ПДМС, свободную от влияния адсорбции, добавив в растворитель 1—2% тетрагидрофурана, который бы, не изменяя термодинамического качества растворителя, блокировал адсорбционные центры на матрице геля и снял адсорбцию на ней молекул ПДМС. Из уравнения (III.57) также следует, что в растворителе, промежуточном по качеству (для ПС) между хлороформом и циклогексаном, зависимость V_R для ПС от $M[\eta]$ была бы более чувствительной к изменению величины $M[\eta]$ (на рис. III.31 она была бы более пологой и имела вид кривой 2).

III. 13. Оптимизация хроматографического режима в гель-проникающей хроматографии

Для улучшения качества полимерных материалов, производимых химической промышленностью, исключительно важно знание их молекулярно-массового распределения. Наиболее подходящим методом его массового определения является гель-проникающая хроматография. Однако с ее помощью быстрое получение сведений о молекулярно-массовых характеристиках полимеров, синтезируемых в результате некоторого непрерывного серийного процесса, возможно лишь при оптимальном хроматографическом режиме. Поиск этого режима следует начинать с выбора критерия достаточной эффективности хроматографической системы. В основе такого критерия может лежать требование различимости хроматограмм полимерных образцов, отличающихся друг от друга по ММР.

Поскольку основной причиной, сглаживающей это различие, является размывание вещества в хроматографе, об эффективности хроматографической системы в ГПХ можно судить по степени искажения молекулярно-массовых характеристик полимера, отскакиваемых без учета приборного уширения. Показано [88], что критерием этого искажения может служить отношение коэффициента C_2 линейной калибровочной зависимости

$$V_R = C_1 - C_2 \lg M$$

к корню квадратному из дисперсии $\sqrt{\sigma^2}$. При $C_2/\sqrt{\sigma^2} \geq 7$ искажение средних молекулярных масс полимеров M_w и M_n , найденных

по хроматограммам без учета приборного уширения, не превышает 5% по сравнению с данными таких независимых методов, как осмометрия и светорассеяние. Исходя из этого, можно считать хроматографическую систему достаточно эффективной, если характерное для нее число теоретических тарелок

$$N = V_R^2 / \sigma^2$$

измеряется величиной не меньшей $49V_R^2/C_2^2$, т. е.

$$N \geq 49V_R^2/\bar{C}_2^2$$

где V_R — средний удерживаемый объем, с которым гомополимер молекулярной массы M выходит из хроматографической системы; σ^2 — дисперсия в значении V_R , обусловленная размыванием гомополимера в процессе хроматографирования.

Величину удерживаемого объема V_R можно записать как

$$V_R = S_{\Pi} L (1 + KdV_p/V_0) \quad (III.64)$$

где S_{Π} — сечение подвижной фазы колонки; L — ее длина; V_p — объем всех пор сорбента; V_0 — объем подвижной фазы; Kd — коэффициент распределения, определяемый как отношение концентрации полимера в неподвижной и подвижной фазах системы в области максимума хроматографического пика, $Kd = c'/c$.

Для дисперсии σ^2 удобно пользоваться выражением, найденным Гиддингсом [89], в котором член, связанный с неравновесным массообменом, модифицирован [90], и, кроме того, учтено экстраколочное размывание, т. е. размывание в капиллярных коммуникациях хроматографа [91]:

$$\sigma^2 = \left(1 + Kd \frac{V_p}{V_0}\right) LS_{\Pi}^2 \left[\frac{2\gamma D}{U} + \left(\frac{1}{2\lambda d_p} + \frac{D}{\omega d_p^2 U} \right)^{-1} + \frac{(1 - \Phi R_k)^2 d_p^2 U}{30(1 - \Phi) D_s} \right] + \left[2D \frac{V}{US_{\Pi}} + \frac{USr^2 V}{24Da^2} \right] a^2 \quad (III.65)$$

где γ — параметр, характеризующий извилистость каналов подвижной фазы; d_p — диаметр зерен сорбента (предполагая, что они имеют сферическую форму); λ и ω — численные коэффициенты, от которых зависит распределение макромолекул по скорости при движении вдоль каналов подвижной фазы; D и D_s — коэффициенты диффузии макромолекул в подвижной и неподвижной фазах; R_k — радиус хроматографической колонки; Φ — соотношение фаз; a — площадь сечения капилляров с радиусом r и объемом V , входящих в блоки ввода пробы и выводящие коммуникации; U — средняя линейная скорость потока в колонке.

При $N = \text{const}$ время анализа определится равенством:

$$t = \left(\frac{L}{d_p} \right)^2 \frac{\eta (1 + KdV_p/V_0)}{\beta P} \quad (III.66)$$

где η — вязкость, P — давление, β — коэффициент уравнения Дарси [91]

Входящая в уравнение (III.66) длина колонки L является решением алгебраического уравнения

$$M_0 + M_1 L + M_2 L^2 + M_3 L^3 + M_4 L^4 = 0$$

где

$$\left. \begin{aligned} M_0 &= -NGCd_p^3 & M_1 &= -N(BCFd_p^4 + GE) \\ M_2 &= -NB(1 + HC + FE d_p^2 + CT/d_p^2 B) \\ M_3 &= AC - N(BCH + TE/d_p^4) & M_4 &= E(A - \\ & - NBH)/d_p^2 \\ A &= (1 + KdV_p/V_0)^2 S_{\Pi}^2 & B &= S_{\Pi} V A & C &= 1/(2\lambda d_p) \\ E &= D\eta/(\omega^2 \beta P) & F &= (1 - \Phi R)^2 \beta P / [30\rho D\eta(1 - \Phi)] \\ G &= \beta P S_{\Pi}^2 V / (24D\eta) & H &= 2\gamma D\eta/(\beta P) & T &= \\ & & & & & = 2DV d_p^2 \eta / (S_{\Pi} \beta P) \end{aligned} \right\} \quad (III.67)$$

Рассматривая величины η , β , Kd , V_p , V_0 , входящие в уравнение (III.66), как постоянные параметры, и варьируя значения P , d_p , L и связанную с ними скорость элюции U , можно найти такую их комбинацию, которая приведет либо к минимальному времени анализа, либо к минимальной длине хроматографических колонок.

Поискам оптимального режима в ГПХ посвящено большое количество работ [92—98]. Установленные в них закономерности могут быть сформулированы следующим образом.

1. При заданном числе теоретических тарелок N длина хроматографической колонки L и время t , необходимое для анализа, являются различными функциями скорости элюции в зависимости от того, меняется ли она вследствие вариации давления P на входе в колонку (рис. III.33—III.36) или размера зерен сорбента d_p .

2. И время анализа, и длина колонки уменьшаются с уменьшением размера зерен, если скорость элюции при этом поддерживается постоянной за счет увеличения давления.

3. Во всех случаях с ростом скорости элюции длина колонки возрастает, а время анализа сокращается.

4. Имеются такие области скоростей элюции, в которых зависимости, отмеченные в предыдущих трех пунктах, становятся менее выраженными, т. е. в этих областях существенные изменения U приводят лишь к незначительным изменениям L и t .

5. При каждом заданном давлении существует размер зерен, при котором время, необходимое для анализа, минимально (рис. III.34, III.37).

Область скоростей $U \leq 10^{-3}$ см/с характерна для проточной тонкослойной хроматографии, которая позволяет использовать для фракционирования хроматографические слои малой длины (10 см). Этот вид хроматографии выгодно отличается от обычной колоночной хроматографии ($U \approx 3 \div 8 \cdot 10^{-2}$ см/с) и качеством упаковки слоя.

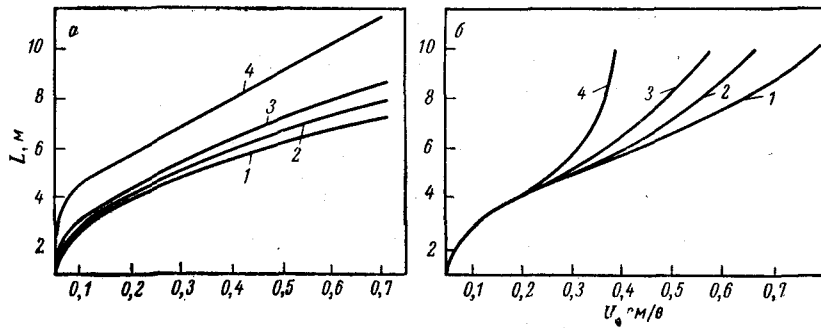


Рис. III.33. Зависимость длины колонки от скорости элюции (диаметр колонки — 0,8 см, эффективность — 2500 теоретических тарелок): а — при изменении давления и постоянном размере зерен сорбента: 1 — $d_p = 5$ мкм; 2 — $d_p = 10$ мкм; 3 — $d_p = 13$ мкм; 4 — $d_p = 20$ мкм; б — при изменении размера зерен сорбента и постоянном давлении в колонке: 1 — $P = 10^7$ Па; 2 — $P = 2 \cdot 10^7$ Па; 3 — $P = 3 \cdot 10^7$ Па; 4 — $P = 5 \cdot 10^7$ Па.

Рассмотренные закономерности объясняются изменением соотношения между отдельными слагаемыми, входящими в выражение для дисперсии. При размерах зерен сорбента $50 \div 100$ мкм и давлениях порядка нескольких атмосфер основной вклад в дисперсию вносит член, ответственный за массообмен. С ростом давления особенно сильно повышается вклад членов, ответственных за профиль скорости. С уменьшением давления все члены, кроме диффузионных, существенно сокращают свой вклад в размывание. При скоростях $U < 10^{-5}$ см/с основной вклад в размывание дают диффузионные члены.

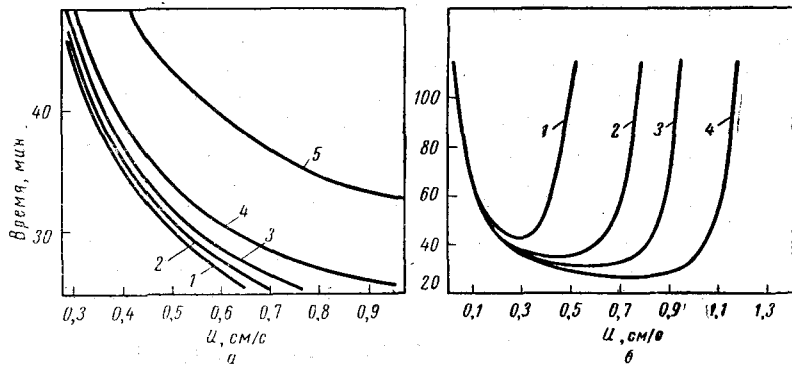


Рис. III.34. Зависимость времени анализа от скорости элюции (диаметр колонки — 0,8 см, эффективность — 2500 теоретических тарелок): а — при изменении давления и постоянном размере зерен сорбента: 1 — $d_p = 5$ мкм; 2 — $d_p = 8$ мкм; 3 — $d_p = 10$ мкм; 4 — $d_p = 13$ мкм; 5 — $d_p = 20$ мкм; б — при изменении размера зерен сорбента и постоянном давлении в колонке: 1 — $P = 10$ МПа; 2 — $P = 20$ МПа; 3 — $P = 30$ МПа; 4 — $P = 50$ МПа.

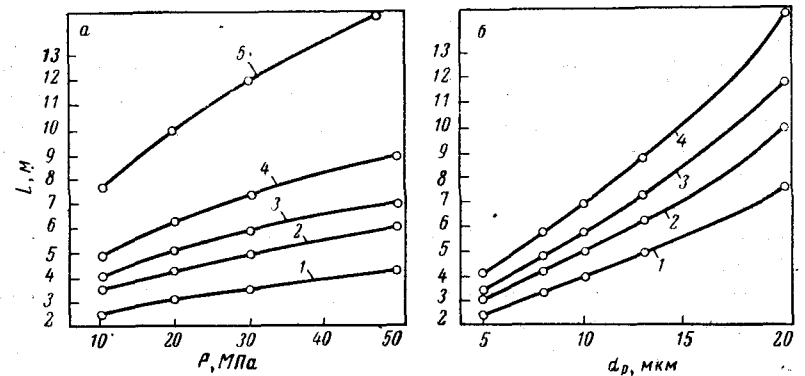


Рис. III.35. Зависимость длины колонки (диаметр колонки — 0,8 см, эффективность — 2500 теоретических тарелок):

а) от давления при постоянном размере зерен сорбента: 1 — $d_p = 5$ мкм; 2 — $d_p = 8$ мкм; 3 — $d_p = 10$ мкм; 4 — $d_p = 13$ мкм; 5 — $d_p = 20$ мкм; б) от размера зерен сорбента при постоянном давлении: 1 — $P = 10$ МПа; 2 — $P = 20$ МПа; 3 — $P = 30$ МПа; 4 — $P = 50$ МПа.

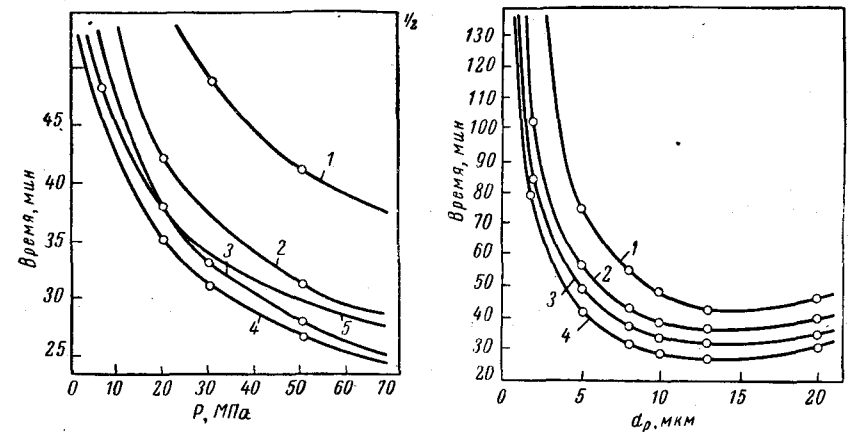


Рис. III.36. Зависимость времени анализа от давления в колонке при различных фиксированных значениях размеров зерен сорбента (диаметр колонки — 0,8 см, эффективность — 2500 теоретических тарелок): 1 — $d_p = 5$ мкм; 2 — $d_p = 8$ мкм; 3 — $d_p = 10$ мкм; 4 — $d_p = 13$ мкм; 5 — $d_p = 20$ мкм.

Рис. III.37. Зависимость времени анализа от диаметра зерен сорбента при различных фиксированных значениях давления в колонке (диаметр колонки — 0,8 см, эффективность — 2500 теоретических тарелок): 1 — $P = 10$ МПа; 2 — $P = 20$ МПа; 3 — $P = 30$ МПа; 4 — $P = 50$ МПа.

Увеличение размеров зерен сорбента при заданном давлении на входе в колонку инициирует одновременно два эффекта: рост скорости элюции и рост неравновесности процесса, что приводит к дополнительному размыванию вещества. В определенной области изменения d_p влияние этого размывания на время анализа менее значительно, чем влияние роста скорости элюции. Это приводит к сокращению времени анализа. Начиная с некоторого размера зерен, увеличивающееся размывание вещества полностью компенсирует влияние роста скорости элюции на время анализа, а затем начинает и превышать это влияние. При этом наблюдается увеличение времени анализа вместе с увеличением размеров зерен сорбента.

Таким образом, всегда имеется возможность выбора подходящего хроматографического режима и формулирования требований, которым должны удовлетворять работающие в этом режиме хроматографы.

Диаметр зерен сорбента в колонках, работающих в режиме высокого давления (10—20 МПа), должен быть близок к 13 мкм, с уменьшением давления диаметр зерен сорбента должен возрастать и при давлениях порядка $10^5 \div 10^6$ Па он достигает 30 мкм.

В заключение следует отметить, что оптимизация в гелепроникающей хроматографии может вестись не только в направлении сокращения времени анализа (с нескольких часов до нескольких минут), но и по пути сокращения длины колонок. Второй путь приводит к созданию малогабаритных приборов и резкому сокращению затрат сорбента и растворителя. Что касается первого направления, то при условии состыковки хроматографа с ЭВМ в режиме «on line» оно открывает возможность эффективного контроля технологического процесса производства полимерных материалов. Интересным представляется также промежуточный путь одновременной оптимизации по длине колонки и времени анализа.

Для ГПХ на набухающих сорбентах теоретические расчеты усложняются, в частности, из-за сжимаемости гранул геля под воздействием давления.

Литература

1. Porath J., Flodin P. Nature, 1959, v. 183, p. 1657—1659.
2. Moore J. C. J. Pol. Sci., 1964, A, v. 2, p. 835—843.
3. Hjerten S., Mosbach R. Anal. Biochem., 1962, v. 3, p. 109—118.
4. Tiselius A., Porath J., Albertson P. Science, 1963, v. 141, p. 13—20.
5. Determan H. Angew. Chem., 1964, Bd. 76, S. 635—644.
6. Детерман Г. Гель-хроматография. Пер. с нем. Под ред. А. С. Хохлова. М., «Мир», 1970. 252 с.
7. Белецкий Б. Г., Виленчик Л. З., Новиков Д. Д. В сб.: Новое в методах исследования полимеров. Под ред. З. А. Роговина и В. П. Зубова. М., «Мир», 1968. См. с. 81—118.
8. Pederson K. O. Arch. Biochem. Biophys. Suppl., 1962, v. 1, p. 157—168.
9. Bly D. D. e. a. J. Pol. Sci., 1971, v. B9(6), p. 401—411.
10. Brewer P. I. «Polymer», 1965, v. 6, p. 605—611.
11. Determan H., Luben G., Wieland T. Makromol. Chem., 1964, Bd. 73, S. 168—176.
12. Heitz W. e. a. Makromol. Chem., 1967, v. 102, p. 63—72.
13. Heitz W., Ullner H., Höcker H. Makromol. Chem., 1966, Bd. 98, S. 42—57.
14. Heufer G., Braun D. J. Pol. Sci., 1965, v. B3, p. 495—497.
15. Porath J., Bennich H. Arch. Biochem. Biophys. Suppl., 1962, v. 1, p. 152—157.
16. Haller W. Nature, 1965, v. 206, p. 693—696.
17. Zhdanov S. P. e. a. J. Chromat., 1970, v. 53, p. 77—83.
18. Cooper A. R., Johnson J. F. J. Appl. Pol. Sci., 1969, v. 13, p. 1487—1492.
19. Белецкий Б. Г. и др. Высокомолекулярное соед., 1975, т. 17А, с. 2811—2812.
20. Zhdanov S. P. e. a. J. Chromat., 1973, v. 77, p. 149—159.
21. Современное состояние жидкостной хроматографии. Под ред. Дж. Киркланда. Пер. с англ. Под ред. Д. Д. Новикова. М., «Мир», 1974. 325 с.
22. Hubber J. F. K. «Chimia», 1970, Suppl., p. 24—35.
23. Kirkland J. J. J. Chromat. Sci., 1971, v. 9, p. 206—210.
24. Kirkland J. J. J. Chromat. Sci., 1972, v. 10, p. 593—599.
25. Dellweg H., John M., Trenel G. J. Chromat., 1971, v. 57, p. 89—97.
26. Flodin P. J. Chromat., 1961, v. 5, p. 103—115.
27. Белецкий Б. Г. В кн.: Физико-химические методы изучения, анализа и фракционирования биополимеров. Под ред. Г. В. Самсонова. М.—Л., «Наука», 1966. 341 с.
28. Hamilton P. B. Anal. Chem., 1958, v. 30, p. 914—919.
29. Основы жидкостной хроматографии. Пер. с англ. Под ред. А. А. Жуховицкого. М., «Мир», 1973. 264 с.
30. Кузьмин С. В. В сб.: «Ультрамикрoанализ нуклеиновых кислот». М., «Наука», 1973. 164 с.
31. Ouano A. C. J. Chromat., 1976, v. 118, p. 303—312.
32. Hupe K. P., Bayer E. J. Gas Chromat., 1967, v. 5, p. 197—201.
33. Maggs R. J. «Chromatographia», 1968, v. 1, p. 43—44.
34. Lathé G., Ruthven C. Biochem. J., 1956, v. 62, p. 665—674.
35. Porath J. Pure Appl. Chem., 1963, v. 6, p. 233—244.
36. Lourent T., Killander J. J. Chromat., 1964, v. 14, p. 317—330.
37. Squire P. Arch. Biochem. Biophys., 1964, v. 107, p. 471—478.
38. De Vries A. I. IUPAC Int. Symp. Macromol. Chem. Prague, 1965. Reprint, p. 139—151.
39. Ackers G. «Biochemistry», 1964, v. 3, p. 723—730.
40. Yau W. e. a. J. Pol. Sci., B, 1967, v. 5, p. 663—669; A-2, 1968, v. 6, p. 1349—1355.
41. Germans J. J. Pol. Sci., A-2, 1968, v. 6, p. 1217—1226.
42. Ginzburg B., Cohen D. Trans. Farad. Soc., 1964, v. 60, p. 185—189.
43. Casassa E. e. a. J. Pol. Sci., B, 1967, v. 5, p. 773—778; «Macromolecules», 1969, v. 2, p. 14—26; Sep. Sci., 1971, v. 6, p. 305—319.
44. Hjerten S. J. Chromat., 1970, v. 50, p. 189—208.
45. DiMarzio E., Guttman C. J. Pol. Sci., B, 1969, v. 7, p. 267—272; «Macromolecules», 1970, v. 3, p. 131—146; 681—691.
46. Виленчик Л. З. и др. Высокомолекулярное соед., т. А14, с. 1227—1229.
47. Rouse P. J. Chem. Phys., 1953, v. 21, p. 1272—1280.
48. Zimm B. J. Chem. Phys., 1956, v. 24, p. 269—278.
49. Ritter H., Drake L. Ind. Eng. Chem. Analyt. Ed., 1945, v. 17, p. 782—786, 787—791; 1949, v. 41, p. 780—489.
50. Moore J., Arrington M. 3-th Int. Seminar on GPC. Geneva, 1966.
51. Yau W., Malone C., Suchan H. Sep. Sci., 1970, v. 5, p. 259—271.
52. Debye P., Bueche A. J. Chem. Phys., 1948, v. 16, p. 573—582.
53. Benoit H. e. a. J. Chim. Phys., 1966, v. 63, p. 1507—1514.
54. Grubisic Z. e. a. J. Pol. Sci., B, 1967, v. 5, p. 753—759.
55. Donkai N. e. a. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 1970, v. 48, p. 7987.
56. Coll H., Gilding D. K. J. Pol. Sci., A-2, 1970, v. 8, p. 89—103.

Применение гель-проникающей хроматографии для анализа олигомеров и высокомолекулярных веществ

IV.1. Гель-проникающая хроматография олигомеров

Гель-проникающая хроматография — один из наиболее простых и надежных методов фракционирования олигомеров [1—11]. Если система, используемая в ГПХ, достаточно эффективна, смесь олигомеров, по крайней мере до степени поляризации $P = 15—20$, всегда удается разделить на составляющие гомологи. В качестве критерия достаточной эффективности можно использовать необходимое условие наблюдения двух максимумов, принадлежащих соседним (по времени выхода из хроматографической колонки) компонентам фракционируемой смеси [7]:

$$K_R/A > 1 \quad (IV.1)$$

где

$$K_R = \frac{V_{R,1} - V_{R,2}}{\sqrt{\sigma_1^2} + \sqrt{\sigma_2^2}} \quad A = \frac{\sqrt{\sigma_2^2}}{\sqrt{\sigma_1^2}} \frac{A_1}{A_2} \quad (IV.2)$$

при $V_{R,1} > V_{R,2}$; $\sqrt{\sigma_1} > \sqrt{\sigma_2}$; $V_{R,1}$ и $V_{R,2}$ — удерживаемые объемы соседних компонентов; $\sqrt{\sigma_1^2}$, $\sqrt{\sigma_2^2}$ — стандартные отклонения их хроматограмм; A_1 и A_2 — амплитуды этих хроматограмм.

Предполагается, что размывание происходит по закону Гаусса. Легко видеть, что для равных стандартных отклонений и амплитуд условие (IV.1) упрощается:

$$1 < K_R = \frac{V_{R,1} - V_{R,2}}{2\sqrt{\sigma^2}} = V_p \frac{Kd_1 - Kd_2}{2\sqrt{\sigma^2}} = V_p \frac{\Delta Kd}{2\sqrt{\sigma^2}} \quad (IV.3)$$

где V_p — объем пор сорбента.

Из (IV.3) видно, что для повышения эффективности разделения необходимо увеличивать ΔKd и V_p и соответственно уменьшать $\sqrt{\sigma^2}$. Эта задача, стандартная для хроматографических разделений, приобретает новый смысл в ГПХ, поскольку сорбенты для ГПХ значительно различаются по значению V_p : для мягких сорбентов,

57. Funt B. L., Hornof V. J. Appl. Pol. Sci., 1971, v. 15, p. 2439—2445.
58. Rudin A., Hoegy H. L. W. J. Pol. Sci., A-1, 1972, v. 10, p. 217—235.
59. Ambler M. R. J. Pol. Sci. Pol. Chem. Ed., 1973, v. 11, p. 191—201.
60. Dawkins J. V., Malcolm H. «Polymer», 1975, v. 16, p. 554—560; Makromol. Chem., 1975, Bd. 176, S. 1777—1793; 1795—1813; 1815—1828.
61. Janca J. e. a. J. Pol. Sci., 1975, v. 13, p. 1471—1473.
62. Chow C. D. J. Appl. Pol. Sci., 1976, v. 20, p. 1619—1626.
63. Atkinson C. M. L., Dietz R. Makromol. Chem., 1976, Bd. 177, S. 213—231.
64. Giddings J. C. e. a. J. Phys. Chem., 1968, v. 72, p. 4397—4407.
65. Reerink A., Lijzenga J. Anal. Chem., 1976, v. 47, p. 2160—2167.
66. Коликов В. М. Докт. дис., ЛПИ им. М. И. Калинина, Л., 1977.
67. Бельский Б. Г. и др. Высокомол. соед., 1973, т. А14, с. 2614—2615.
68. Epton R., Holloway C., McLaren J. V. J. Chromat., 1974, v. 90, p. 249—258.
69. Виленчик Л. З. и др. Высокомол. соед., 1975, т. 17, с. 726—730.
70. Виленчик Л. З., Бельский Б. Г. Высокомол. соед., 1972, т. А14, с. 1874—1879.
71. Григорьева Л. А., Рябина Т. И., Эльтеков Ю. А. Высокомол. соед., 1973, т. 15, с. 238—241.
72. Bruessan R. J. Makromol. Chem., 1974, Bd. 175 (2), S. 691—694.
73. Cantow M., Porter R., Johnson J. J. Pol. Sci., 1966, v. B4, p. 707—711.
74. Ouano A. C. J. Pol. Sci., 1971, v. 9 (8), p. 2179—2192.
75. Nichol L. W. e. a. Biochem. J., 1973, v. 133 (1), p. 15—22.
76. Kato Y., Hashimoto T. J. Pol. Sci., Polym. Phys. Ed., 1974, v. 12 (4), p. 813—814.
77. Эйзнер Ю. Е. Высокомол. соед., 1961, т. 3, с. 748—755.
78. Berek D. e. a. J. Pol. Sci., B, 1974, v. 12, p. 277—280.
79. Huggins M. J. Am. Chem. Soc., 1942, v. 64, p. 2716—2718.
80. Zimm B. H., Kilb R. F. J. Pol. Sci., 1959, v. 37, p. 19—43.
81. Meyerhoff G., Schulz G. Makromol. Chem., 1952, Bd. 7, S. 294—319.
82. Цветков В. Н., Клеин С. И. ЖТФ, 1959, т. 29, с. 1393—1399.
83. Reiss C., Benoit H. C. r., 1961, v. 253, p. 268—270.
84. De Lange J. Chem. Tech. (Amsterdam), 1971, v. 26 (18), p. 501—503.
85. Bakos D., Berek D. Sb. Prednasek, «Makrotest 1973», 1973, sv. 1, s. 167—177.
86. Belenky B. G. e. a. J. Chromat., 1975, v. 109, p. 233—238.
87. Lecourtier J. e. a. J. Chromat., 1976, v. 121, p. 173—183.
88. Нефедов П. П. Канд. дис., ИВС АН СССР, Л., 1973.
89. Giddings J. C., Malik K. L. Anal. Chem., 1966, v. 38, p. 997—1000.
90. Stephen J., Hawkes J. J. Chromat., 1972, v. 68, p. 1—8.
91. Taylor G. Proc. Roy. Soc., 1953, v. A219, p. 186—203; 1954, v. A223, p. 446—468.
92. Coupec I., Heitz W. Makromol. Chem., 1968, Bd. 112, S. 286—292.
93. Huber J. J. Chromat. Sci., 1969, v. 7, p. 85—91.
94. Cooper A., Johnson J. J. Appl. Pol. Sci., 1971, v. 15 (9), p. 2299—2301.
95. DeCler K., Buys T. S. Sep. Sci., 1972, v. 7 (6), p. 653—658.
96. Otsuka E. P. J. Chromat., 1973, v. 76 (1), p. 149—157.
97. Виленчик Л. З. Канд. дис., ЛПИ им. М. И. Калинина, Л., 1974.
98. Cooper A. R. J. Pol. Sci., Polym. Phys. Ed., 1974, v. 12 (10), p. 1969—1977.

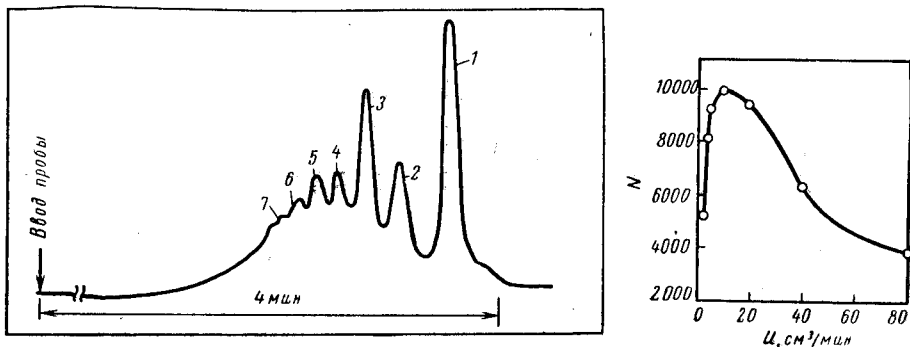


Рис. IV.1. ГПХ эпоксидной смолы на колонках с SEC-сорбентом SE-60 фирмы Dupont (микросферический силикагель размером 10 мк, диаметр пор — 6,0 нм; элюент ТГФ):

1 — $n = 0$; 2 — $n = 1$; 3 — $n = 2$; 4 — $n = 3$; 5 — $n = 4$; 6 — $n = 5$; 7 — $n = 8$.

Рис. IV.2. Зависимость эффективности колонки (числа теоретических тарелок N) с μ -стирогелем ($300 \times 1,6$ мм, $d_p = 0,01$ мм) от скорости элюции.

применяемых для ГПХ олигомеров [1], V_p (на единицу массы) примерно в 3 раза больше, чем для жестких или полужестких. Существенные возможности увеличения эффективности ГПХ олигомеров лежат и в повышении селективности сорбентов, т. е. в повышении ΔKd . По-видимому, набухающие поперечношитые сорбенты обладают и большей селективностью для олигомеров, чем жесткие и полужесткие сорбенты с открытыми порами. Резерв увеличения эффективности ГПХ олигомеров связан также с уменьшением $\sqrt{\sigma^2}$, т. е. с уменьшением упаковки колонок и уменьшением размеров частиц. В этом случае даже использование малоэффективного для ГПХ сорбента — микросферического силикагеля с диаметром пор 6 нм, но упакованного в колонки высокой эффективности (20 000 т. т./м), позволяет разделять олигомергомологи за 10—15 мин (рис. IV.1).

Для высокоэффективной ГПХ низкомолекулярных веществ, а также олигомеров обычно используют набухающие спитые гели: декстрановые гели — сефадексы, полиакриламидные гели — биогели Р для ГПХ в воде или водных растворах, поливинилацетатные гели (меркогели) и стирогели (порогели) для неводных гидрофобных систем. Оксипропилированный сефадекс LH-20 может быть использован как в водных, так и в неводных растворах.

К числу наиболее эффективных сорбентов для ГПХ гидрофобных олигомеров и других низкомолекулярных соединений относятся микросферические сополимеры стирола и дивинилбензола — μ -стирогели 100, 500 и 1000*.

* Цифрами обозначены марки стирогелей фирмы «Waters», определяемые длиной макромолекул (в Å), полностью исключаемых из пор сорбента при ГПХ.

При высоком качестве набивки колонки с мягкими гелями имеют большую эффективность, достигающую 10 000 теоретических тарелок (т. т.) на 1 м. Эффективность колонок повышается при использовании гелей с малым размером зерна. Например, уменьшение диаметра зерна сорбента с 90 до 20 мкм повышает эффективность колонок с 1600 до 10 500 т.т./м для оптимальной скорости элюции [12]. Эффективность колонки зависит также от скорости растворителя (рис. IV.2). К сожалению, колонки, заполненные мягкими гелями с небольшим диаметром зерна, обладают большим гидродинамическим сопротивлением, что не позволяет достигать значительных скоростей элюции. Однако при этом можно достичь весьма эффективного разделения олигомеров на отдельные гомологи, до 14—20-мера (рис. IV.3).

Олигомеры, как правило, полифункциональны, поэтому при их ГПХ-разделении возникают специфические требования к адсорбционной инертности сорбента как по отношению к основной цепи олигомера, так и к его конечным функциональным группам. Так, при исследовании [13] зависимости коэффициента распределения полиэтиленоксидов (ПЭО) на колонках с сефадексом LH-20 от природы элюента показано, что Kd существенно меняется при переходе от ДМФА к ТГФ (рис. IV.4). При использовании ТГФ из-за взаимодействия конечных гидроксильных групп полиэтиленоксидов с матрицей сорбента Kd увеличивается. При этом молекулярно-ситовой и адсорбционные эффекты действуют в одном направлении, повышая эффективность разделения олигомеров по молекулярной массе. Дополнительные адсорбционные взаимодействия могут играть главную роль в разделении молекул на сефадексе LH-20. Например, при разделении алифатических спиртов в воде вследствие гидрофобного взаимодействия углеводородной части спиртовой молекулы с матрицей сорбента Kd увеличивается с повышением молекулярной массы спирта.

Растворители, применяемые для ГПХ олигомеров, должны хорошо смачивать матрицу геля и, следовательно, обеспечивать высокую степень набухания, что приводит к большим значениям V_p/V_0 .

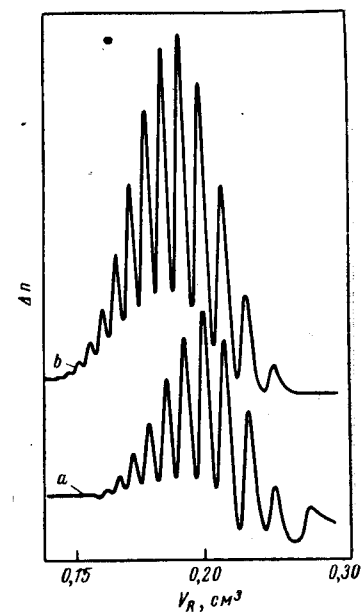


Рис. IV.3. ГПХ полиэтиленоксида на колонках со стирогелем (5 колонок, длина колонки 200 см):

a — $M_n = 429$; б — $M_n = 300$.

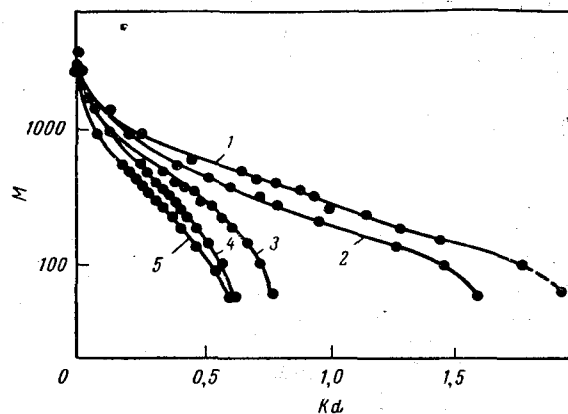


Рис. IV.4. Зависимость коэффициента распределения полиэтиленоксида от молекулярной массы в различных растворителях:

1 — ТГФ; 2 — ацетон; 3 — вода; 4 — метанол; 5 — ДМФ.

Гель-проникающая хроматография позволяет не только фракционировать смеси олигомеров, но и определять их средние молекулярные массы и молекулярно-массовые распределения. К ГПХ олигомеров применима универсальная калибровка Бенуа [8, 14]. Этот факт не должен вызывать удивления, так как теории вязкости «червеобразной» цепи [15], наиболее точно моделирующие гидродинамическое поведение олигомера, предусматривают возможное поведение молекулы олигомера, как непротекаемого клубка, что подтверждается экспериментальными работами по вискозиметрии олигомеров [16]. При этом численные значения констант уравнения Марка — Куна мало отличаются от коэффициентов для гауссова клубка в тэта-растворителе.

При исследовании [8] методом ГПХ полистиролов (ПС), полипропиленоксидов (ППО), полиэтиленоксидов, сложных полиэфи́ров, полученных из адипиновой кислоты и 1,3-пропиленгликоля (линейный олигомер) и глицерина (разветвленный олигомер), на полиуретановом геле в ацетоне показано, что зависимость V_R от $\lg M$ имеет линейный характер (рис. IV.5) и различна для олигомеров разного типа. Как видно из рис. IV.5, при этом отсутствуют различия в поведении линейных и разветвленных полиэфи́ров одинаковой химической природы при ГПХ. Последнее коррелирует с одинаковыми гидродинамическими характеристиками линейных и разветвленных олигоэфи́ров [17].

Как видно из рис. IV.6, все исследованные олигомеры подчиняются универсальной калибровочной зависимости Бенуа в диапазоне $M = 500-5000$.

Для низкомолекулярных веществ пока не найдено универсального соотношения между V_R и молекулярными характеристиками — мольным объемом молекул [18], длиной цепей, числом

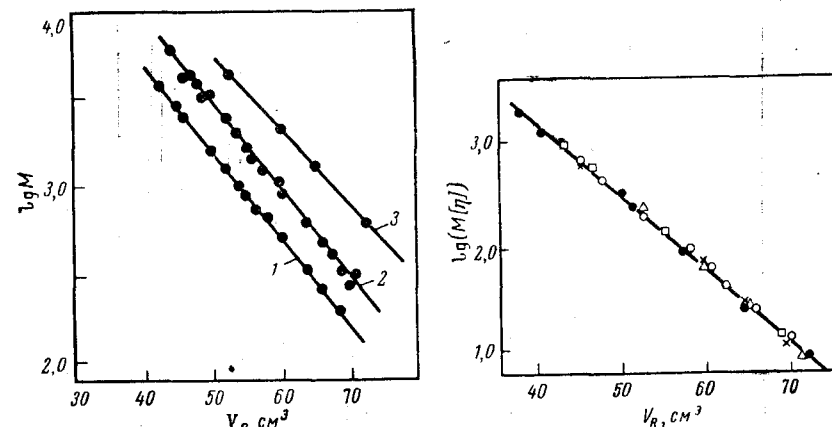


Рис. IV.5. Зависимость V_R от $\lg M$ для олигомеров разных типов на полиуретановом геле в ацетоне при 20 °С:

1 — полипропиленоксиды; 2 — полиэтиленоксиды и полиэфи́ры; 3 — полистиролы.

Рис. IV.6. Универсальная калибровочная зависимость Бенуа для олигомеров на полиуретановом геле [8]:

● — полипропиленоксиды; □ — полиэтиленоксиды; × — полиэфи́ры адипиновой кислоты и глицерина (разветвленные); ○ — полиэфи́ры адипиновой кислоты и 1,3-пропиленгликоля (линейные); △ — полистиролы.

атомов углерода (для *n*-алканов) [19]. Показано [20—24], что надежная корреляция между размерами молекул низкомолекулярных веществ и V_R имеет место только в группах близких по химической природе соединений и увеличивается при росте молекулярных масс последних.

Высокоэффективная ГПХ с успехом используется в анализе олигомеров стирола (до $P = 18$) [25, 26], продуктов конденсации формальдегида с фенолом [27], *o*- и *n*-крезолом [28], резорцином [29], метилоламино [30], а также олигомеров формальдегида [19], полиамидов [31], полиэпокси [32], полиэфи́ров на основе оксидов этилена, 1,2-бутилена, *n*-пропилглицидилового эфи́ра и его сополимера с тетрагидрофураном [33], полиэтиленоксидов, и аддуктов оксидов этилена и пропи́лена с гидроксилсодержащими соединениями [34]. Высокоэффективная ГПХ нашла также применение для анализа олигомерных сложных эфи́ров триолов и дикарбоновых кислот [35], олигомерных и мономерных пластификаторов [36, 37], производных фталевой кислоты [38], *n*-парафинов (до $C_{40}H_{82}$), восков [39], высокотемпературных фракций нефти [40, 41], асфальтов [42], а также различных олигомеров, используемых как основа для лаковых покрытий [20].

В последнее время высокоэффективная ГПХ находит применение для анализа и фракционирования биоолигомеров. Представляет интерес использование гель-хроматографии для

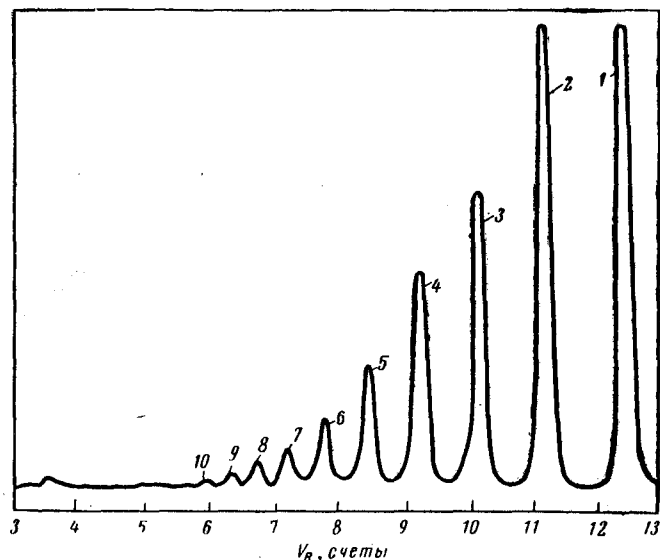


Рис. IV.7. Разделение глюкозы (1) и мальтодекстринов (2—10) с помощью ГПХ на колонке (1,5 × 200 см) с биогелем Р-2 ($\bar{d}_p < 30$ мкм) в воде (скорость элюции 25 см³/ч).

фракционирования продуктов частичного гидролиза полисахаридов (рис. IV.7).

Высокоэффективную ГПХ используют также для анализа низкомолекулярных веществ, содержащихся в полимерах, — пластификаторов, антиоксидантов и стабилизаторов [43, 44]. Однако в анализе низкомолекулярных веществ более эффективна распределительная жидкостная и

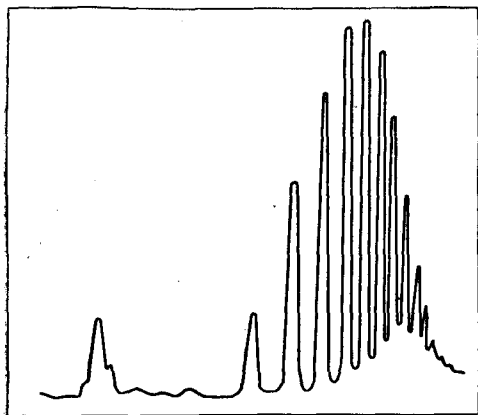


Рис. IV.8. Хроматограмма образца полистирола с $M_n=600$.

газо-жидкостная хроматография и тонкослойная адсорбционная хроматография.

В последнее время в анализе олигомеров с успехом применяется обратнофазная высокоскоростная жидкостная хроматография. На рис. IV.8 представлена хроматограмма ПС ($M_n = 600$), полученная на колонке (0,3 × 120 см) с поверхностно-пористым сорбентом с подшитой углеводородной (C_{18}) фазой; в качестве

элюента использован раствор ТГФ в воде с увеличивающимся содержанием ТГФ (от 35 до 100%). В подобных условиях разделены смеси и других олигомеров (эпоксиды, полифенолы, полиэферы с числом полимергомологов до 25). В анализе олигомеров давно и успешно используется газо-жидкостная хроматография [45]. Однако ее эффективность ограничена низшими полимергомологами (до $P = 4-5$) за исключением полиолефинов, где удается разделять олигомеры с $P = 15-20$. Обратофазная жидкостная хроматография является, по-видимому, наиболее перспективным методом высокоэффективной хроматографии олигомеров, хотя следует отметить, что использование μ -стирогелей (100—1000) в режиме скоростной ГПХ (скорость элюента 1,0—2,0 см³/мин, колонка 0,8 × 120 см), а также микросферических микропористых силикагелей, по-видимому, обеспечит сравнимые скорости анализа.

Гель-хроматограмма олигомеров дает возможность определения их ММР и средних молекулярных масс, если на ней идентифицировать первый пик полимергомолога. Последнее не представляет серьезных трудностей, поскольку низшие полимергомологи (димеры, тетрамеры) могут быть легко синтезированы в виде индивидуальных веществ. При соответствующей обработке хроматограммы с учетом зависимости размывания и чувствительности детектирования (инкремент показателя преломления dn/dc , например, зависит от степени полимеризации: $dn/dc = 1/P$, а хроматографическое размывание — от удерживаемого объема пика полимергомолога) легко находят ММР олигомеров.

IV.2. Гель-проникающая хроматография высокомолекулярных соединений

В отличие от олигомеров высокомолекулярные соединения нельзя фракционировать на отдельные компоненты методом ГПХ. Для них удается получить лишь сравнительно узкие фракции со степенью полидисперсности $M_w/M_n \geq 1,1$. На рис. III.5 представлены примеры хроматографического разделения полистиролов с $M = 5 \cdot 10^3, 2 \cdot 10^4, 10^5, 5 \cdot 10^5, 1,5 \cdot 10^6$. При этом в качестве сорбента могут использоваться с одинаковой эффективностью как макропористые стекла, так и стирогели фирмы «Waters». Однако основной задачей ГПХ высокополимеров является определение средних молекулярных масс, молекулярно-массовых распределений, степени полидисперсности, параметров длинноцепной разветвленности. Для массового анализа, проводимого на химических предприятиях в целях контроля за качеством выпускаемой продукции, высокая эффективность хроматографических систем не является особенно важной. Достаточно добиться воспроизводимости хроматограмм в пределах допустимой погрешности и необходимого разрешения (селективности), а затем использовать

корректную математическую схему для их интерпретации в ММР, средние M и параметры длинноцепной разветвленности. Здесь можно несколько поступиться эффективностью хроматографической системы, восполняя это более совершенной математической обработкой хроматограмм. В условиях массового анализа это обычно удобно, так как сокращает время хроматографического эксперимента, почти не увеличивая времени его математической обработки, осуществляемой с помощью ЭВМ.

Ускорение анализа по этой схеме может производиться двумя путями. С одной стороны, можно сокращать число хроматографических колонок и их размеры, а с другой — увеличивать скорость промывания колонок растворителем. В обоих случаях эффективность хроматографической системы снизится, но время анализа сократится*.

Для высокополимеров применим принцип универсальной калибровки хроматографа. В соответствии с ним, откалибровав систему хроматографических колонок по каким-либо полимерным стандартам, можно использовать полученную зависимость удерживаемых объемов от логарифма произведения молекулярной массы на характеристическую вязкость для любых типов полимеров. Однако при этом надо добиться полного исключения взаимодействия макромолекул с поверхностью (матрицей) сорбента. Об отсутствии сильной адсорбции полимера в колонке позволяет судить равенство его количеств на входе в хроматографическую систему и на выходе из нее. Если при этом не наблюдается характерной для адсорбции полимеров концентрационной зависимости и хроматографические пики узких фракций не очень асимметричны (т. е. нет длинных «хвостов»), можно говорить и об отсутствии слабой адсорбции. В противном случае адсорбцию следует подавить либо предварительной обработкой сорбента, либо добавлением в раствор небольшого количества хорошо сорбирующегося на данном сорбенте низкомолекулярного вещества, либо варьированием температуры опыта. При использовании полимерных, в частности стирогелевых, сорбентов для исключения взаимодействия с матрицей рекомендуется использовать растворители, где константа Марка — Куна $a \geq 0,65$ и параметр растворимости полимера меньше параметра растворимости элюента.

Убедившись в отсутствии адсорбционного взаимодействия, можно пользоваться полученной ранее на этой системе колонок универсальной калибровочной зависимостью при условии, что температурный, концентрационный и скоростной режимы эксперимента тождественны с режимами, при которых проводились калибровочные опыты. Эти режимы выбирают из следующих соображений.

* Имеется в виду, что хроматографическая система уже предварительно оптимизирована по скорости анализа и его эффективности. В этих условиях рассматриваются дополнительные возможности ускорения хроматографического эксперимента.

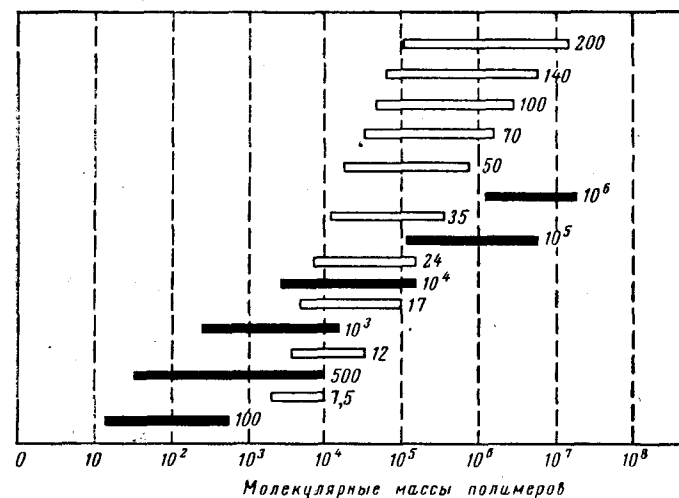


Рис. IV.9. Пределы проницаемости (область эффективного разделения по молекулярным массам) стирогелей фирмы Waters (темные прямоугольники; цифрами обозначены марки стирогелей) и макропористых стекол (светлые прямоугольники; цифры означают диаметр пор в нм).

1. Опыты проводят в той области значений концентрации раствора $c_1 \leq c \leq c_2$, где нет концентрационной зависимости V_R .
2. В пределах выбранной скорости элюции $U_1 \leq U < U_2$ отсутствует характерная для ГПХ полимеров зависимость V_R от скорости элюции.
3. Изменение температуры в пределах погрешности термостатирования хроматографа $t_0 \pm \Delta t_0$ не приводит к изменению удерживаемых объемов.

Выполнение перечисленных условий сначала при калибровке хроматографа, а затем при анализе исследуемых полимерных образцов позволяет использовать универсальную или молекулярно-массовую калибровку хроматографа и проводить корректную интерпретацию хроматограмм для получения ММР, средних M и параметров длинноцепной разветвленности полимеров.

Для ГПХ-анализа полимеров необходимо располагать набором хроматографических колонок, заполненных сорбентами с различной проницаемостью (рис. IV.9). Целесообразно использовать два набора колонок: для анализа высокополимеров (5 колонок со стирогелями 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 и 500 или макропористыми стеклами с $d_n = 25, 70, 200$ нм) и для низкомолекулярных веществ (олигомеров, аддитивов и др.; 5 колонок со стирогелями 10^3 , 500, 500, 100, 100). При использовании колонок длиной 30 см с μ -стирогелем время анализа на каждой колонке составляет 12, 6, 4 и 3 мин при скорости растворителя соответственно 1, 2, 3 и 4 см³/мин. Однако для некоторых растворителей, например для ДМФ, не рекомендуется



Рис. IV.10. Хроматограмма полидисперсного полимера: 1 — фракция, выходящая с исключенным объемом V_0 ; 2 — фракция, выходящая с полным объемом V_t ; 3 — фракция, разрешаемая при ГПХ.

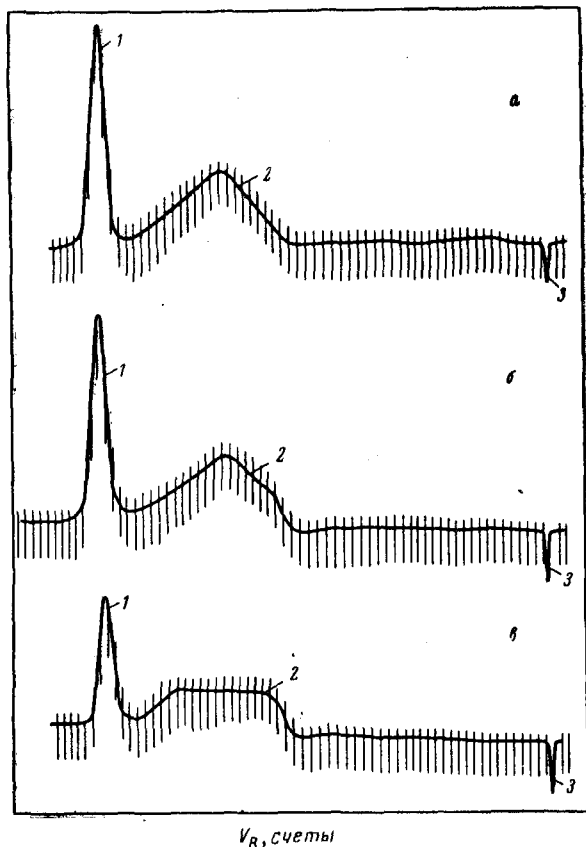


Рис. IV.11. Хроматограммы полиэтилена высокой плотности с характеристическими вязкостями 1,14 (а), 1,15 (б) и 1,16 (в) в декане [гель-хроматограф ХЖ-1303; колонки с макропористыми стеклами (4 колонки с $d_p = 25, 25, 160$ и 600 нм); вертикальные штрихи — счеты, фиксируемые прибором: 1 — стабилизатор; 2 — полиэтилен; 3 — ввод пробы.

проводить анализ со скоростью выше $2,5 \text{ см}^3/\text{мин}$. Отметим также, что этот растворитель нельзя применять при работе с μ -стирогелями 100 и 500, так как он портит эти слабосшитые гели.

После выбора растворителя и колонок проводят пробный анализ при максимальной скорости элюции. Получаемая при этом хроматограмма (рис. IV.10) позволяет осуществить оптимальный выбор системы колонок. Если часть хроматограммы находится в области 1 (область исключенного объема V_0), в систему необходимо добавить колонку с сорбентом с бóльшим размером пор; если часть хроматограммы находится в области 3 (область полного объема V_p), следует добавить колонку с сорбентом с меньшим размером пор; если вся хроматограмма укладывается в область 2, можно ограничиться используемой системой колонок, а если необходимо улучшить разрешение, следует увеличить число колонок с сорбентом того же размера пор.

Выбрав систему разделительных колонок, можно повысить разрешение, уменьшая скорость элюции (см. рис. IV.2), а также подобрать чувствительность детектирования так, чтобы максимальная высота пика составляла 50—70% шкалы регистрирующего прибора. При скоростной хроматографии с использованием μ -стирогеля или микросферических силикагелей время ГПХ-анализа полимера, включая пробный анализ, оптимизацию и окончательный анализ, занимает не более 1,5 ч. Очевидно, что для быстрого проведения анализа необходимо располагать калибровочными зависимостями для всех используемых в анализе хроматографических колонок и систем колонок.

В качестве примера ГПХ-анализа полимеров на рис. IV.11 приведены хроматограммы полиэтиленов (ПЭ) высокой плотности, полученные на высокотемпературном хроматографе ХЖ-1303. Видно, что образцы ПЭ с близкими значениями характеристической вязкости $[\eta]$ имеют хроматограммы с сильно различающимися по форме пиками полимера, т. е. обладают совершенно различными ММР.

Надежность определения молекулярно-массового распределения полимеров с помощью ГПХ иллюстрируется рис. IV.12 и IV.13, где демонстрируется хорошее совпадение молекулярно-массовых распределений образцов полиэтилена низкой плотности, полученных с помощью ГПХ и другими методами.

Наряду со стирогелями для ГПХ-анализа полимеров используют колонки с макропористыми стеклами и силикагелями. Для подавления адсорбции в этом случае необходимо введение в растворитель адсорбиционно-активных добавок (тетрагидрофурана, диметилформамида) или использование наиболее полярного из растворителей (см. табл. III.1). Положительные результаты получены для полиэтилена, полипропилена, полистирола, поли- α -метилстирола, полиизопрена, полибутадиена, полиметилметакрилата, полиамидокислот, полисахаридов и полиэтиленоксида.

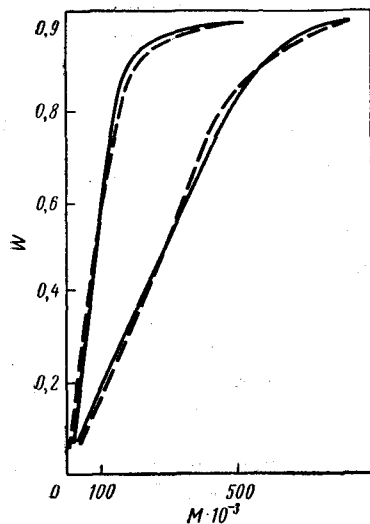


Рис. IV.12. Сравнение интегральных молекулярно-массовых распределений полиэтилена низкой плотности, полученных по данным ГПХ (сплошная линия) и фракционирования, вискозиметрии и седиментации (пунктирная линия).

В заключение этого раздела следует отметить, что методом гель-проникающей хроматографии к настоящему времени изучен широкий круг полимеров [46—56]. При этом определяли самые различные их характеристики, начиная с ММР и кончая составом продуктов деструкции полимеров.

IV.3. Скоростная ГПХ полимеров

Современное развитие ГПХ полимеров связано с ее переводом в режим скоростного анализа. Пионером в этой области был Отока [57], который пришел к выводу, что увеличение скорости ГПХ-анализа связано с уменьшением зерна сорбента. Последнее прямо следует из рассмотрения уравнения для ВЭТТ (H) в ГПХ, предложенного Кели и Билмайером

$$H = 2 \left(\varphi \frac{D_m}{U} + \lambda d_p \right) + \frac{h \delta^2 d_p^2}{2(\varphi D_m/U) + \lambda d_p} + CU \quad (IV.4)$$

где φ — фактор извилистости; λ — константа «вихревой» диффузии; $h \delta^2$ — дисперсионный параметр, связанный с соотношением диаметров колонки и зерна сорбента (d_p); C — коэффициент массопередачи ($C \approx d_p^2/D_s$); D_m и D_s — коэффициенты диффузии в подвижной фазе и сорбенте.

Свой вывод Отока реализовал, используя хроматографические колонки размером $0,4 \times 50$ см, упакованные макропористыми

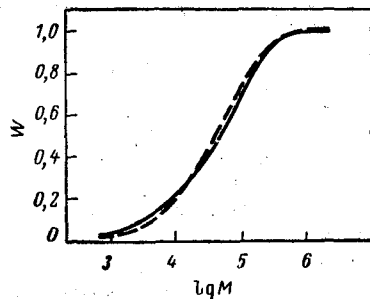


Рис. IV.13. Сравнение интегральных молекулярно-массовых распределений ($W - \lg M$) стандартных образцов полиэтилена низкой плотности, полученных при ГПХ на хроматографе ХЖ-1303 (пунктирная линия) и в Национальном Бюро стандартов США (сплошная линия).

стеклами и силикагелем с размером зерна 36—44 мкм, которые позволили определить с помощью ГПХ ММР широкодисперсного образца полистирола за 36 мин.

Рассмотрим основные закономерности скоростной жидкостной хроматографии [58, 59]. Здесь для оценки эффективности хроматографа используют упрощенные подходы, иные, чем изложенные в гл. I. Эффективность хроматографической системы оценивается числом эффективных теоретических тарелок $N_{эфф}$

$$N_{эфф} = N \frac{k'}{1+k'} = 16 \left(\frac{V_R - V_0}{w_V} \right)^2 = \left(\frac{V_R - V_0}{\sqrt{\sigma_V^2}} \right)^2 \quad (IV.5)$$

где $k' = V_p K d / V_0$ — фактор емкости; V_R — удерживаемый объем компонента; V_0 — свободный объем колонки; w_V и $\sqrt{\sigma_V^2}$ — ширина и стандартное отклонение хроматографической зоны в единицах объема.

Число эффективных теоретических тарелок характеризует разделяющую способность колонки в отношении конкретных веществ с определенным значением k' . С помощью $N_{эфф}$ можно определить коэффициент разделения K_{R_s} в удобном виде:

$$K_{R_s} = \frac{1}{4} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \sqrt{N_{эфф}} \quad (IV.6)$$

Следовательно, при заданном K_R величина $N_{эфф}$ прямо зависит от $\alpha = k'_1/k'_2$. Эффективность (производительность) хроматографа оценивается с помощью величины $N_{эфф}/t$, т. е. отрезком хроматограммы (определяемым числом эффективных теоретических тарелок $N_{эфф}$), выходящим из хроматографа за 1 с. Эта величина позволяет сравнивать эффективность различных видов хроматографии (табл. IV.1).

Таблица IV.1. Сравнение эффективности различных видов колоночной хроматографии

Вид хроматографии	Тип колонок и сорбента	d_p , мкм	$(N_{эфф}/t)_{макс}$
Газовая	Классическая упаковка	130	10
	Открытые капиллярные	250	25
	Капиллярные колонки с насадкой	10	40
Жидкостная	Классическая упаковка	150	0,02
	Силикагель (дробленый)	20	2
	Поверхностно-пористый сорбент («зипакс»)	27	10
	Поверхностно-пористый сорбент, колонка «бесконечного» диаметра	27	16
	Силикагель (дробленый)	5—10	11
	Сферический силикагель	5—6	23

Таблица IV.2. Сравнительная эффективность колонок с обычными стирогелями и μ -стирогелем

Сорбенты	Длина колонки, м	Скорость элюции, см ³ /мин	Время анализа, мин	M_w	M_n
Стирогели (10 ⁶ , 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 500)	6	2	100	301 600	122 600
μ -Стирогели (10 ⁶ , 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 500)	1,5	4	16	308 000	122 800

Из этой таблицы видно, что по скорости анализа современная жидкостная хроматография вплотную приблизилась к газовой.

Для скоростной ГПХ полимеров широко используют хроматографические колонки с μ -стирогелями [60], что позволяет определить ММР полимера за 12—25 мин со скоростью анализа 13—15 эффективных теоретических тарелок/с. Данные по сравнительной эффективности колонок с обычным стирогелем и μ -стирогелем приведены в табл. IV.2.

Как видно из табл. IV.2, результаты определения M_w и M_n на колонках с обычным и μ -стирогелем хорошо совпадают. Эти результаты соответствуют и характеристикам анализируемого полимера, полученным классическими методами: $M_w = 288 100$, $M_n = 136 500$.

В проспектах фирмы «Waters» описаны методики скоростного определения молекулярно-массового распределения многих полимеров с использованием колонок с μ -стирогелем: полистирола (в ТГФ), нейлона (в трифторэтаноле), поливинилацетата (в ТГФ), поливинилхлорида (в ТГФ), поликарбоната (в ТГФ), полиметилметакрилата (в ТГФ), эпоксидных смол и других олигомеров.

Таким образом, в настоящее время для скоростного определения ММР полимеров используют два типа сорбентов: микросферические силикагели и μ -стирогели (табл. IV.3).

Таблица IV.3. Сравнение характеристик микросферических силикагелей (SEC — фирмы «Dupont») и μ -стирогелей (фирмы «Waters»)

Характеристика	μ -Стирогели	SEC-сорбенты
Эффективность (число теоретических тарелок на 1 м)	10 000	16 000—22 000
Набухание	+	—
Снижение эффективности при попадании пузырьков воздуха	+	—
Ограничение давления	+	—
Использование полярных растворителей (спирт, вода)	—	+
Разделение олигомеров	+	+

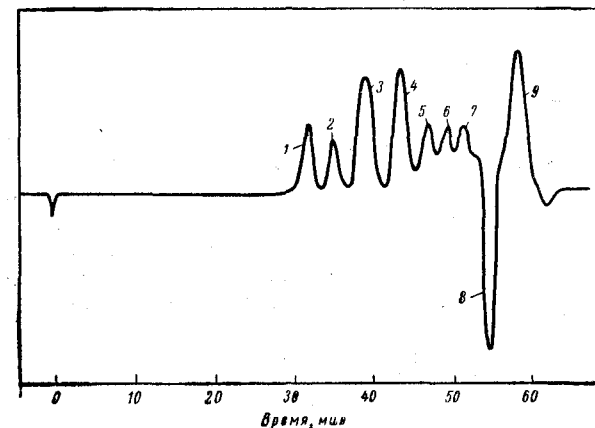


Рис. IV.14. ГПХ узкодисперсных полистирольных стандартов на колонках (5 колонок; 300 × 7,8 мм) с μ -стирогелями (10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³ и 500); скорость элюции 1 см³/мин:

1 — $M = 3,7 \cdot 10^5$; 2 — $M = 4,98 \cdot 10^5$; 3 — $M = 1,1 \cdot 10^5$; 4 — $M = 3,3 \cdot 10^4$; 5 — $M = 10^4$; 6 — $M = 4 \cdot 10^3$; 7 — $M = 2 \cdot 10^3$; 8 — $M = 200$; 9 — $M = 92$.

Как видно из табл. IV.3, микросферические силикагели имеют преимущества перед μ -стирогелями как по скорости анализа (давление, эффективность) и универсальности (использование полярных растворителей), так и по удобству работы (попадание пузырьков воздуха в колонку не вызывает помех в ее работе).

По-видимому, единственное преимущество μ -стирогелей — это лучшее разрешение в области низких молекулярных масс. Поэтому при анализе полимеров, содержащих низкомолекулярные фракции, целесообразно использовать систему колонок с микросферическими силикагелями с добавлением в качестве последней (где давление невелико) колонки с μ -стирогелем 500. Разделение узкодисперсных полистирольных стандартов на системах колонок с μ -стирогелем и микросферическим силикагелем показано на рис. IV.14, IV.15.

Для оценки качества хроматографической колонки существенна ее проницаемость K_0 , определяемая по уравнению Козени — Кармана

$$K_0 = \frac{d_p^2}{180} \frac{\varepsilon^3}{(1-\varepsilon)^2} \quad (IV.7)$$

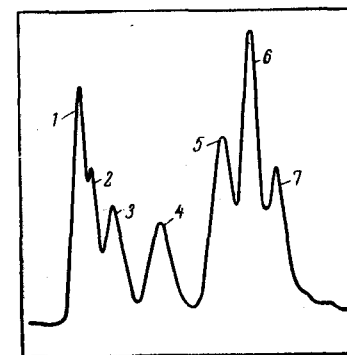


Рис. IV.15. ГПХ узкодисперсных полистирольных стандартов на колонках (5 колонок) с микросферическими силикагелями SEC фирмы Dupont (диаметры пор 100, 50, 50, 10 и 10 нм); скорость элюции 2,5 см³/мин:

1 — $M = 8,6 \cdot 10^4$; 2 — $M = 4,11 \times 10^4$; 3 — $M = 2 \cdot 10^3$; 4 — $M = 5,1 \cdot 10^4$; 5 — $M = 2 \cdot 10^4$; 6 — $M = 10^4$; 7 — $M = 4 \cdot 10^3$.

где d_p — диаметр зерна сорбента; ε — пористость (межчастичный объем).

Для регулярно упакованных колонок $\varepsilon = 0,42$, а $K_0 \approx d_p^2/1000$. Очевидно, что параметр K_0/d_p^2 не зависит от диаметра зерна сорбента и характеризует только однородность упаковки колонки. Поэтому он может использоваться для сравнения хроматографических колонок, упакованных различными сорбентами разными способами (табл. IV.4).

Из данных, приведенных в табл. IV.4, видно, что проницаемость колонки, заполненной микросферическим силикагелем, в 1,5 раза выше, чем у колонки с силикагелем неправильной формы (дробленого).

Время анализа t_R определяется как

$$t_R = N(1+k')H/U \quad (IV.8)$$

где H — ВЭТТ; U — линейная скорость элюции; $NH = L$ — длина колонки.

Отсюда легко получить:

$$\frac{N_{эфф}}{t_R} = \frac{U}{H} \frac{k'^2}{(1+k')^3} \quad (IV.9)$$

Видно, что с увеличением U отношение $N_{эфф}/t_R$ растет. Однако от U зависит и высота, эквивалентная теоретической тарелке, H . Для скоростной хроматографии эта зависимость достаточно хорошо выражается в виде

$$H = DU^n \quad (IV.10)$$

где D и n — параметры, связанные со структурой колонки ($D = 0,2-0,7$, $n = 0,3-0,6$).

Таблица IV.4. Характеристики хроматографических колонок для скоростного анализа

Сорбент	d_p , мкм	k'	$\frac{N_{эфф}}{t}$	Фактор Снай-дера	D	n	$\frac{K_0}{d_p^2}$
Поверхностно-пористый силикагель $d_k = 2,4$ мм $d_k = 7,9$ мм (колонка «бесконечного» диаметра)	37	2,3	10	37	0,050	0,33	0,0018
	37	3,3	16	82	0,016	0,47	0,0016
Силикагель	5-10	10	11	28	0,020	0,31	0,0016
Кизельгур	5-15	3,5	—	16	0,050	0,49	0,0020
Микросферический силикагель	8-9	10	14	126	0,076	0,62	0,0022
	5-6	11	23	170	0,035	0,44	0,0025

С учетом этой зависимости $N_{эфф}/t_R$ от U Киркланд записал следующим образом

$$N_{эфф}/t_R = (10,5 \pm 0,3) \cdot U^{(0,37 \pm 0,02)} \quad (IV.11)$$

Это выражение хорошо коррелирует с зависимостью, предложенной Снайдером:

$$N_{эфф}/t_R \approx t_R^{-(0,25 \div 0,35)}$$

(поскольку $U \sim 1/t_R$). Общее качество хроматографической колонки, учитывающее как ее эффективность, так и проницаемость, может быть оценено с помощью фактора разрешения Снайдера

$$(K_0\eta/0,5)^{(1-n)/2}/D$$

где D и n — уже упоминающиеся параметры колонки; η — вязкость растворителя.

Фактор Снайдера удобен тем, что включает в себя и проницаемость колонки K_0 , и ее эффективность $1/D$. Очевидно, что чем больше проницаемость K_0 и меньше параметр D , тем с большей эффективностью можно использовать колонку для скоростной хроматографии.

Использование относительно широких колонок определенной длины позволяет избежать при вводе пробы в центр колонки так называемых стеночных эффектов размывания, связанных с размыванием зоны вблизи стенки колонки, где насадка особенно неоднородна. Теория этого явления показывает, что длина колонки «бесконечного диаметра» зависит от ее ширины и размера зерна сорбента. Так, например, у колонки $d_k = 2,1$ мм с зерном $d_p = 5$ мкм при введении вещества в центр колонки зона не достигает ее стенок, если длина колонки ≤ 35 см. С этим же сорбентом колонка «бесконечного диаметра» шириной 3,2 мм будет иметь длину ≤ 85 см.

На рис. IV.16 показана зависимость высоты, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ), от диаметра зерна сорбента для сорбентов разного типа при различных способах упаковки. Характерно, что при экстраполяции линия, соединяющая точки для поверхностно-пористого сорбента $d_p < 37$ мкм в колонке «бесконечного диаметра», [61] стремится к нулю. Таким образом, эту упаковку можно считать идеальной. Если сравнить теперь ВЭТТ для микросферических частиц с экстраполированными величинами для поверхностно-пористого сорбента, то видно, что эффективность насадки из микросферического силикагеля вдвое меньше идеальной. По-видимому, это резерв увеличения эффективности хроматографических колонок. Дальнейшее повышение эффективности колонок за счет применения микросферического сорбента с $d_p = 1-2$ мкм встретит большие трудности вследствие необходимости повышения давления $> 10^2$ МПа.

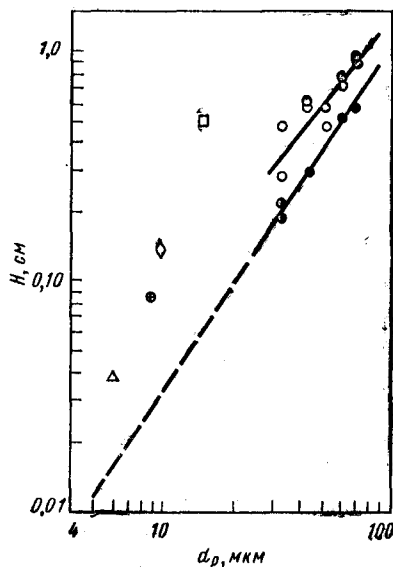


Рис. IV.16. Зависимость высоты, эквивалентной теоретической тарелке, от диаметра зерен сорбента для сорбентов разного типа при различных способах упаковки:

○ — поверхностно-пористый сорбент; $d_k = 2,1$ мм, ручная упаковка; ● — поверхностно-пористый сорбент, $d_k = 7,9$ мм, машинная упаковка; ● — поверхностно-пористый сорбент, $d_k = 7,9$ мм, ручная упаковка; ◊ — силикагель, уравновешенная суспензия; ⊕ — микросферический силикагель; стабилизированная суспензия; □ — низельгур, тампонная упаковка; △ — микросферический силикагель, стабилизированная суспензия.

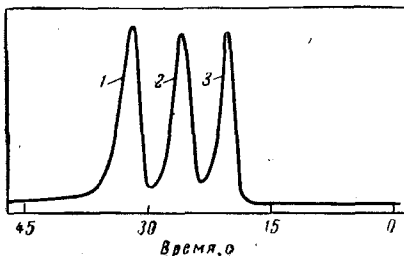


Рис. IV.17. ГПХ узкодисперсных полистирольных стандартов на колонке ($250 \times 0,20$ мм) с силикагелем ($\Phi_n = 0,20$ мм, $d_p = 5-6$ мкм): 1 — $M_w = 2 \cdot 10^3$; 2 — $M_w = 5,1 \cdot 10^4$; 3 — $M_w = 4,1 \cdot 10^6$.

Указанные оценки эффективности получены для смеси только двух веществ. В случае большего числа компонентов Гиддингс ввел понятие пиковой емкости Φ , которая определяется числом пиков с разрешением, равным единице, которые визуальнo разделяются на хроматограмме. Если предположить, что разделение равно $4\sqrt{\sigma^2}$, то пиковую емкость можно определить с помощью выражения

$$\Phi = 1 + 0,6N^{1/2} \lg(1 + k'_n) \quad (\text{IV.12})$$

где k'_n — фактор емкости последнего пика.

Поскольку в гель-проникающей хроматографии k'_n мало, Φ этого хроматографического метода меньше, чем при адсорбционной хроматографии. Пиковую емкость можно существенно повысить, если использовать градиентную элюцию, так как при этом ширина всех пиков одинакова и, следовательно, с увеличением k'_n существенно растет число теоретических тарелок N .

Важнейшую роль в развитии скоростной жидкостной хроматографии, в том числе и хроматографии полимеров, сыграла разработка эффективных способов упаковки колонки сорбентом. По-видимому, наиболее эффективным является способ упаковки под большим давлением (35—45 МПа) [59] 15—20%-ной стабилизированной суспензии частиц силикагеля в водном 0,001 М NH_3 , приготовленной с помощью ультразвука.

Приготовленная таким образом хроматографическая колонка ($250 \times 2,1$ мм) с микросферическим силикагелем с диаметром пор 5—6 мкм позволяла полностью разделить ПС-стандарты с $M = 2 \cdot 10^3$, $5,1 \cdot 10^4$ и $4,1 \cdot 10^6$ за 45 с при давлении 10 МПа и скорости элюции $1 \text{ см}^3/\text{мин}$ (рис. IV.17).

Работа с подобными высокоэффективными колонками требует оптимизации многих условий: уменьшения объема кюветы детектора (0,1 объема пика), системы ввода пробы (наилучшие результаты получаются при вводе шприцем в центр металлической сетки с размером ячеек 5 мкм и толщиной < 150 мкм, прикрывающей насадку колонки).

IV. 4. Препаративная ГПХ

Препаративная ГПХ не получила столь широкого распространения как аналитический вариант этого метода. Однако легкость и быстрота препаративного фракционирования полимеров с помощью ГПХ привлекают внимание [62—64].

В большинстве работ по препаративной ГПХ достигнутая эффективность фракционирования ниже, чем в аналитической ГПХ полимеров. Специфические особенности препаративной ГПХ полимеров, связанные с размыванием пробы в широких хроматографических колонках и перегрузкой хроматографа из-за введения большой пробы рассматриваются в работах, посвященных оптимизации препаративного разделения [65—67], усовершенствованию препаративных хроматографов [66, 67], использованию для препаративных целей рециркуляционной хроматографии и рефракционирования [65, 66, 68, 69]. Эти работы, направленные на улучшение эффективности разделения, позволили с помощью ГПХ получать фракции полимеров со степенью полидисперсности $M_w/M_n = 1,15-1,2$.

Основные проблемы препаративной ГПХ полимеров связаны с повышением эффективности хроматографического разделения фракций (за счет повышения селективности сорбента и уменьшения хроматографического размывания путем улучшения упаковки колонок) и уменьшением концентрационных эффектов, влияющих на удерживаемый объем и размывание в хроматографе. Концентрационные эффекты ГПХ могут быть уменьшены как за счет большего разбавления пробы (в определенных пределах, не влияющих существенным образом на экстраколоночное размывание зон), так и путем использования в качестве элюента тэта-растворителя.

В препаративной хроматографии, в отличие от аналитической, размывание вещества в колонках может играть положительную роль. С ростом размывания концентрация вещества в зоне уменьшается. Это приводит к снижению нежелательных концентрационных эффектов и создает возможность повышения предельного

количества вещества q , вводимого в колонку в определенном объеме пробы. Так как размывание зоны зависит от большого числа параметров хроматографической системы, варьируя их, можно добиться более высокого значения q при минимально допустимых количествах необходимого сорбента и растворителя, а также времени разделения.

Например, на основании выражения для объемной дисперсии σ_V^2 , характеризующей хроматографическое размывание (в единицах объема)

$$\sigma_V^2 = S^2 L H (S' + S'' K d)^2 \quad (\text{IV.13})$$

можно получить выражение, учитывающее основной вклад внутренней массопередачи в величину, эквивалентную теоретической тарелке ($H \approx \gamma d_p^2$)

$$\sigma_V^2 = \gamma S^2 L (S' + S'' K d)^2 (d_p^2 / L) \quad (\text{VI.14})$$

где S — площадь сечения колонки; L — длина колонки; S'' и S' — доли площади сечения, приходящиеся на неподвижную и подвижную фазы; Kd — коэффициент распределения; d_p — диаметр зерна сорбента; γ — константа.

Последний множитель в (IV.14) с одной стороны характеризует гидродинамическое сопротивление колонки, а с другой — определяет ее эффективность $H/L = 1/N$. Оставляя эти величины постоянными, необходимыми для разделения компонентов при заданном давлении и скорости элюции, можно изменять длину колонки L в соответствии с изменением d_p^2 .

Нетрудно заключить, что возрастание σ_V^2 , а следовательно, и q может быть достигнуто увеличением S , Kd , S' , S'' и L при сохранении отношения d_p^2/L , т. е. одновременно с соответствующим увеличением d_p . Гидродинамическое сопротивление колонки при этом не изменяется, однако расход сорбента и растворителя увеличивается. К этим же результатам приводит увеличение S , а увеличение Kd , S' и S'' повышает расход только элюента. Рост величины S' снижает селективность колонки. Поэтому оптимизация препаративной хроматографии должна проводиться с учетом относительной ценности сорбента, растворителя и времени эксперимента. Перегрузка колонки при препаративной хроматографии может быть получена не только при введении избыточной массы вещества, но и при большом объеме пробы.

Показано [70], что при увеличении объема пробы увеличивается ширина хроматографического пика, однако V_R переднего фронта пика при этом не изменяется. При значительном увеличении объема пробы зоны вещества не разделяются. При перегрузке колонки из-за большой массы пробы наблюдаются концентрационные эффекты, связанные с влиянием нелинейной изотермы сорбции: выпуклой при больших Kd и вогнутой при малых Kd (при ГПХ). При этом хроматографические зоны расширяются,

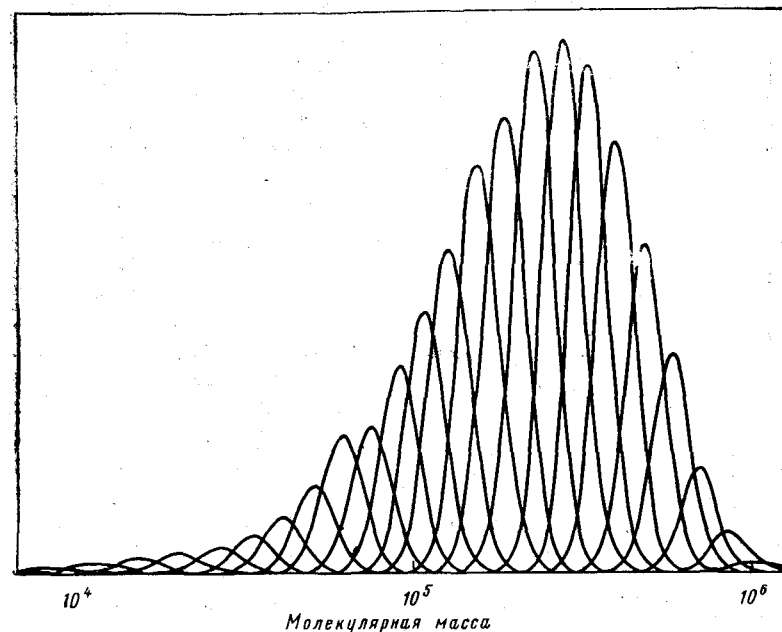


Рис. IV.18. ММР фракций полистирола NBS-706, полученных при препаративной ГПХ на колонках (8 колонок; 600 × 21 мм) со смесью μ -стирогелей 10^6 , 10^4 и 10^3 (61 : 18 : 21).

скорость движений фронтов пика уменьшается (при вогнутой изотерме, ГПХ) или увеличивается (при выпуклой изотерме, адсорбционная хроматография), соответствующим образом искажается форма хроматографического пика.

Влияние большой пробы может проявляться и в инактивации адсорбента растворителем, вводимым с пробой, а также адсорбционно-активными компонентами пробы. Инактивация адсорбента будет проявляться в кажущемся уменьшении полярности компонентов пробы с соответствующим уменьшением V_R .

Следует отметить, что при препаративной ГПХ олигомеров вследствие небольших концентрационных эффектов можно допустить большую перегрузку колонок, чем при хроматографическом разделении высокополимеров.

Если работать с препаративной ГПХ без концентрационной перегрузки колонок, т. е. в линейной области изотермы сорбции, то целесообразно применять высокоэффективную хроматографию, обеспечивающую минимальную длину колонок L с соответствующим уменьшением расхода сорбента (правда, с заменой дешевого сорбента на более дорогой), растворителя и времени эксперимента.

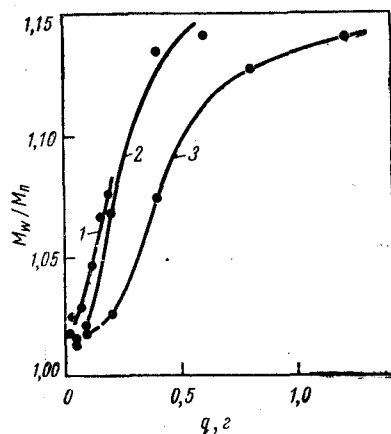


Рис. IV.19. Зависимость полидисперсности фракций полистирола, полученных при препаративной ГПХ, от массы исходного полимера (q) при различном объеме вводимых проб:

1 — $V_0 = 2 \text{ см}^3$; 2 — $V_0 = 10 \text{ см}^3$; 3 — $V_0 = 20 \text{ см}^3$.

нии 5 МПа. В этих условиях цикл фракционирования продолжается 1,5 ч. При фракционировании на указанной хроматографической системе 0,13 г полидисперсного образца NBS-706 ($M_w = 2,578 \cdot 10^5$, $M_n = 1,36 \cdot 10^5$) получено 30 фракций с полидисперсностью $M_w/M_n = 1,02-1,03$ в диапазоне $M = 10^4-10^6$ (рис. IV.18). Эффективность препаративной ГПХ увеличивается с уменьшением концентрации пробы. Если вводить в гель-хроматограф определенное количество полимера (рис. IV.19), то с увеличением объема пробы (уменьшением концентрации полимера) степень полидисперсности полученных фракций уменьшается. Используя препаративную систему колонок с μ -стирогелем, можно фракционировать несколько грамм полимера в день, получая фракции с $M_w/M_n \leq 1,02$. Если снизить требования к полидисперсности фракций до $M_w/M_n = 1,1-1,15$, то можно ежедневно фракционировать 15 г полимера. Дополнительное увеличение производительности препаративного хроматографа без существенного уменьшения эффективности фракционирования может быть достигнуто увеличением объема пробы до 50–100 см^3 .

Для препаративной ГПХ вследствие большого расхода сорбентов и растворителя целесообразно применять рециркуляционную хроматографию. Это особенно актуально для ГПХ олигомеров, так как обычно используемые в этом случае мягкие гели не позволяют развивать высокое давление.

Влияние всех этих факторов повышения эффективности препаративной ГПХ рассматривается в работах [64–68]. Для препаративной ГПХ была использована [68] система из 8 хроматографических колонок ($60 \times 2,1 \text{ см}$), заполненных μ -стирогелем ($d_p = 10 \text{ мкм}$) с проницаемостью 10^5 , 10^3 и 10^2 нм в соотношении 61 : 18 : 21 соответственно. Эффективность этой системы составляет 27 300 т. т./м (по ацетону), что позволяет определять полидисперсность узкофракционированных ПС-стандартов с $M_w/M_n \leq 1,03$. С целью уменьшения концентрационных эффектов для фракционирования полистирола используют тэта-растворитель, представляющий собой смесь метилэтилкетона и метанола (88,7 : 11,3). Скорость элюции составляет 8,5 $\text{см}^3/\text{мин}$ при давлении 5 МПа.

IV. 5. Использование рецикла для повышения эффективности хроматографической системы

При оптимальном подборе параметров (сорбента и скорости элюции) дальнейшее повышение эффективности хроматографической системы может быть достигнуто двумя путями. Один из них связан с увеличением длины хроматографических колонок или их числа, а другой — с многократным использованием одних и тех же колонок в режиме рецикла. Рециркуляционная хроматография основана на многократном хроматографировании разделяемой смеси веществ на одной колонке. При этом элюат с колонки проходит через детектор, а затем вновь подается насосом на вход колонки (рис. IV.20). В качестве насоса может быть использован обычный плунжерный насос с камерой небольшого объема. Переход с однократной хроматографии на рециркуляционную осуществляется переключением крана 4 с дозатора непосредственно в колонку и крана 8 со слива на насос. При этом кран 1 закрывается. Для того чтобы произвести отбор разделившихся компонентов, кран 8 следует переключить на коллектор фракций 9 и открыть кран 1. В принципе кран 1 можно не закрывать во время рецикла. Тогда в систему будет непрерывно поступать растворитель, что поможет избежать попадания в нее пузырьков воздуха.

На рис. IV.21 показана рециркуляционная хроматограмма олигостирола ($P = 3-12$) [71] на двух колонках ($2 \times 120 \text{ см}$) со стиросгелем (96% стирила, 4% дивинилбензола; $d_p = 45-75 \text{ мкм}$; эффективность 5000 теоретических тарелок). На хроматограмме видно постепенное разделение олигомергомологов стирила при рециркуляционной хроматографии. Отбор фракций (заштрихованные пики) производился по мере их разделения. Вследствие относительно малых различий k' у олигомеров с $P = 9-12$ (пики 7–10) при ГПХ циклы V и VI проводили без отбора фракций.

Процесс рециркуляционной хроматографии можно автоматизировать, заложив в него алгоритм узнавания разделившихся хроматографических зон.

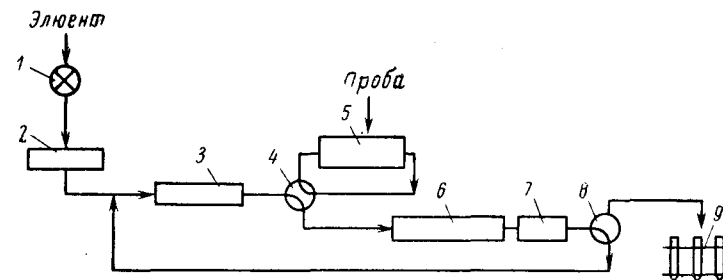


Рис. IV.20. Схема рециркуляционного хроматографа:

1 — двухходовой кран; 2 — фильтр; 3 — насос; 4 — четырехходовой кран; 5 — дозатор; 6 — колонка; 7 — детектор; 8 — трехходовой кран; 9 — коллектор фракции.

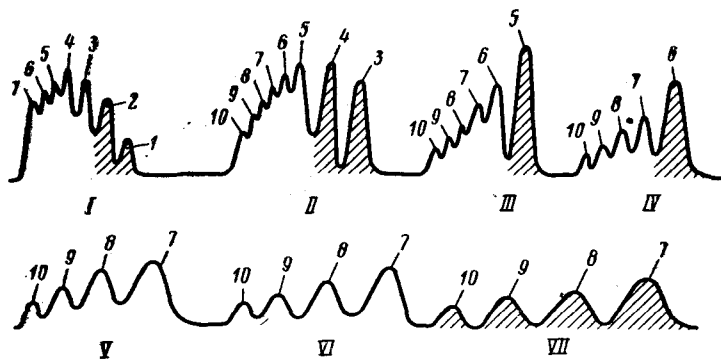


Рис. IV.21. Рециркуляционная хроматограмма олигостирола ($M_n = 660$): I—VII — циклы; 7—10 — пик олигомергомологов. Штриховкой выделены пики, отбираемые в каждом цикле.

Понятно, что суммарное размывание (дисперсия, σ^2) при рециркуляционной хроматографии выше, чем при однократной хроматографии на колонке соответствующей длины $L = nl$ (где l — длина колонки рециркуляционной хроматографии, n — число рециклов). Эти различия связаны с увеличением экстраколлоного размывания $\sigma_{эк}^2$ при рециркуляционной хроматографии по сравнению с однократной хроматографией:

$$\sigma_{эк, p}^2 = n\sigma_d^2 + (n-1)\sigma_n^2 + (n-1)\sigma_{к, p}^2 \quad (IV.15)$$

$$\sigma_{эк, 1}^2 = \sigma_d^2 + \sigma_{к, 1}^2 \quad (IV.16)$$

Индексы д, к, n указывают на детектор, коммуникации и насос; индексы 1 и p — на однократную и рециркуляционную хроматографию; $\sigma_{к, 1}^2 < \sigma_{к, p}^2$.

Понятно, что чем больше относительный вклад экстраколлоного размывания (последний увеличивается при уменьшении диаметра колонки и фактора емкости k'), тем существеннее уменьшение эффективности системы при рециркуляционной хроматографии, и для достижения необходимой для разделения компонентов эффективности N следует увеличивать число циклов разделения. С целью уменьшения влияния экстраколлоного размывания при рецикле предлагается [72] промежуточное концентрирование элюата путем упаривания.

Таким образом, использование рециркуляционной хроматографии тем более оправдано, чем больше соотношение объемов элюата и экстраколлоного пути. С этой точки зрения ее применение наиболее целесообразно в препаративной хроматографии, основной на адсорбционном разделении (большие значения k').

Недостатком рециркуляционной хроматографии является возможность (вследствие замкнутого объема циркуляции) перекрытия пиков компонентов на определенном цикле разделения.

Поэтому, если не производить отбор разделившихся компонентов, то число эффективных циклов (без перекрытия пиков) невелико.

Несмотря на эти ограничения рециркуляционная хроматография имеет ряд преимуществ по сравнению с однократным хроматографированием на системе колонок: 1) уменьшение необходимого количества сорбента и растворителя, т. е. снижение стоимости хроматографического разделения; 2) возможность увеличения эффективности хроматографической системы (путем увеличения числа рециклов) во время эксперимента; 3) уменьшение давления в системе при сохранении скорости элюента; 4) возможность отбора разделившихся компонентов во время опыта с разделением остальных компонентов в последующих циклах. Все эти преимущества проявляются с особой наглядностью при препаративной хроматографии с использованием мягких сорбентов (высокоэффективной ГПХ низкомолекулярных веществ).

Описано [73] интересное применение рециркуляционной ГПХ для определения степени полидисперсности и хроматографического размывания — σ_a^2 узкодисперсных образцов полимеров ($M_w/M_n \leq 1.2$). Согласно Тангу [74], дисперсия хроматограммы σ_{xp}^2 , полученная с помощью ГПХ, может быть записана следующим образом:

$$\sigma_{xp}^2 = \sigma_a^2 + B^2\gamma^2 \quad (IV.17)$$

где B — тангенс угла наклона калибровочной зависимости $V_R = A - B \ln M$; $\gamma^2 = \ln(M_w/M_n)$.

При рециркуляционной хроматографии

$$\sigma_{xp}^2 = n\sigma_a^2 + n^2B^2\gamma^2 \quad (IV.18)$$

и, следовательно

$$\sigma_{xp}^2/n = \sigma_a^2 + nB^2\gamma^2 \quad (IV.19)$$

Последнее уравнение позволяет, построив зависимость σ_{xp}^2/n от n , получить из графика (рис. IV.22) значения σ_a^2 и $B^2\gamma^2$, а из последней, используя значение B , найти $M_w/M_n = \exp(\gamma^2)$.

Полученные таким образом значения M_w/M_n для ПС-стандартов с $M = 10^3 - 8,67 \cdot 10^5$ достаточно хорошо соответствовали результатам абсолютных измерений M_w и M_n ; однако σ_a^2 не обнаруживала экстремальной зависимости от молекулярной массы, отмеченной в работе [75]. По-видимому, это является следствием большого вклада в σ_a^2 экстраколлоного размывания при рециркуляционной ГПХ.

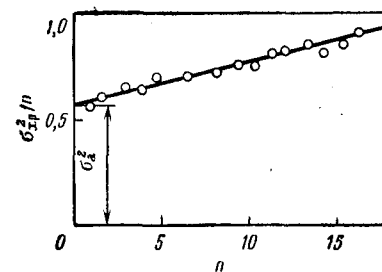


Рис. IV.22. Зависимость σ_{xp}^2/n от числа циклов разделения n .

IV.6. Гель-проникающая хроматография полиэлектролитов

Исследование методом ГПХ полиэлектролитов имеет специфические особенности по сравнению с хроматографией олигомеров или полимеров. В процессе ГПХ поведение макромолекул определяется главным образом их гидродинамическими размерами, а характерной особенностью полиэлектролитов является зависимость размеров макромолекул от рН и ионной силы раствора. Чем меньше значение рН и ионной силы раствора, тем выгоднее становятся более развернутые конформации макромолекул полиэлектролитов (так называемое полиэлектролитное набухание). Их среднестатистические размеры растут и это приводит к уменьшению удерживаемых объемов в ГПХ. При отсутствии других

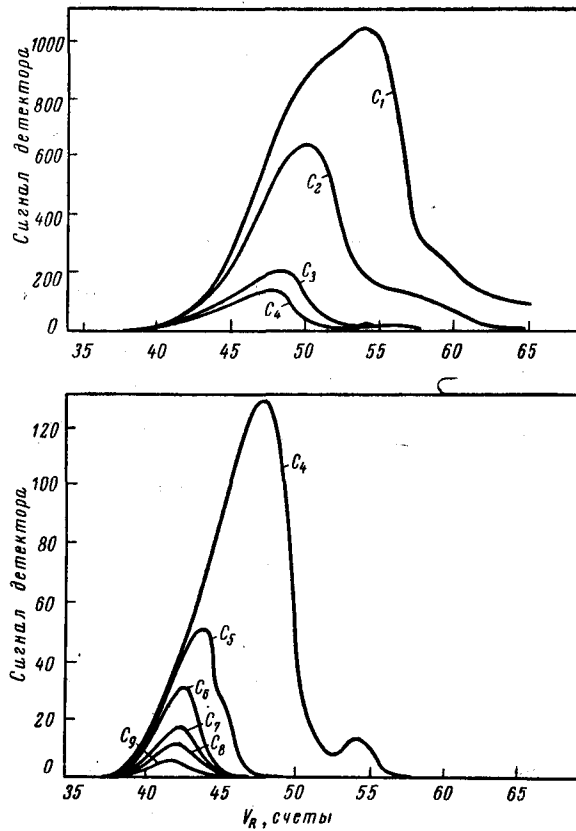


Рис. IV.23. Хроматограммы образца полиамидокислоты ПМ в ДМФА на колонках со стирогелями (10^6 , 10^5 , $3 \cdot 10^4$, 10^4 и 10^3), полученные при различных концентрациях полимера в пробе (от $c_1 = 0,2$ мг/см³ до $c_9 = 0,3$ мг/см³).

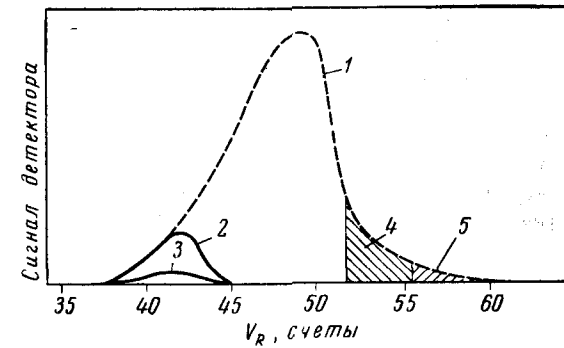


Рис. IV.24. Совмещенные хроматограммы образца полиамидокислоты ПМ и его фракций, полученных с помощью ГПХ в ДМФА:
1 — полиамидокислота; 2 и 3 — фракции полиамидокислоты; 4 и 5 — отбор фракций 2 и 3.

электролитов важнейшей особенностью хроматографического поведения полиэлектролитов является сильная концентрационная зависимость удерживаемых объемов, характерная для вогнутой изотермы сорбции (рис. IV.23). Как показывают эксперименты, в гель-проникающей хроматографии влияние этой зависимости на распределение молекул полиэлектролита вдоль хроматографической колонки и на выходе из нее более весомо, чем влияние их молекулярных масс. Это отчетливо проявляется при повторном хроматографировании узких фракций полидисперсного образца полиэлектролита, полученных после его однократного пропускания через хроматографическую колонку. Эти фракции при повторном хроматографировании выходят с одним и тем же удерживаемым объемом, равным наименьшему значению V_R нефракционированного образца (рис. IV.24).

Это объясняется тем, что макромолекулы полиэлектролита, продвигаясь вдоль хроматографической колонки, испытывают на себе действие двух факторов. В соответствии с молекулярно-ситовым эффектом, молекулы с большей молекулярной массой занимают положение в передней части хроматографической зоны, а с меньшей молекулярной массой — в задней ее части. В каждой из этих частей концентрация раствора, естественно, меньше, чем в центре зоны. При этом начинает действовать эффект, связанный с зависимостью размеров молекул полиэлектролита от их концентрации в растворе. Молекулы большой молекулярной массы, попавшие в переднюю часть зоны, где концентрация раствора меньше, чем в центре, дополнительно «разворачиваются», увеличиваясь в размерах. Это приводит к еще более быстрому их продвижению вместе с током растворителя. Молекулы малой молекулярной массы, смещаясь в заднюю часть зоны и испытывая там действие концентрационного эффекта, также дополнительно «разворачиваются» и, увеличиваясь в размерах, «догоняют» молекулы,

движущиеся в центральной части хроматографической зоны. В результате зона приобретает сильно вытянутый передний фронт и резко обрывающийся задний. Такой же вид имеет и хроматограмма, получаемая на выходе из хроматографической колонки, и по ее виду можно дать первое качественное заключение о полиэлектролитной природе анализируемого вещества.

Естественно, что при интерпретации такой хроматограммы для определения молекулярно-массового распределения следует учитывать не только калибровочную зависимость, установленную для данной системы, но и описанный концентрационный эффект, связанный с полиэлектролитным набуханием исследуемого полимера. Концентрационную зависимость удерживаемого объема можно получить следующим образом. Пусть для данной системы колонок справедлива калибровка:

$$V_R = D_1 - D_2 \ln(M[\eta]) \quad (IV.20)$$

Известно, что характеристическая вязкость $[\eta]_\infty$ растворов полиэлектролитов при бесконечном разбавлении связана с их удельной приведенной вязкостью $\eta_{уд}/c$ и концентрацией уравнением Фуоса — Страуса

$$\eta_{уд}/c = [\eta]_\infty / (1 + B\sqrt{c}) \quad (IV.21)$$

где B — константа.

Подставляя $\eta_{уд}/c$ вместо $[\eta]$ в выражение (IV.20), получим:

$$V_R = D_1 - D_2 \ln(M[\eta]_\infty) + D_2 \ln(1 + B\sqrt{c}) \quad (IV.22)$$

Из выражения (IV.22) видно, что с уменьшением концентрации полиэлектролита его удерживаемый объем уменьшается. Размывание вещества при хроматографировании приводит к разбавлению раствора полиэлектролита в хроматографической зоне. Поэтому его движение по колонке является ускоренным, определяемый из хроматографического эксперимента коэффициент распределения полиэлектролита

$$Kd = (V_R - V_0)/V_p$$

является функцией длины колонки.

Понятно, что интерпретация хроматограмм для определения молекулярно-массовых распределений полидисперсных полиэлектролитов, полученных в условиях сильной концентрационной зависимости удерживаемых объемов, задача очень сложная. Гораздо проще попытаться подавить эффект полиэлектролитного набухания и, избавившись таким образом от концентрационной зависимости, провести интерпретацию хроматограмм по стандартной методике на основании калибровочной зависимости (IV.20).

Избежать полиэлектролитного набухания можно двумя способами: добавлением в раствор нейтрального электролита, экранирующего ионные группы, и подавлением их диссоциации изменением

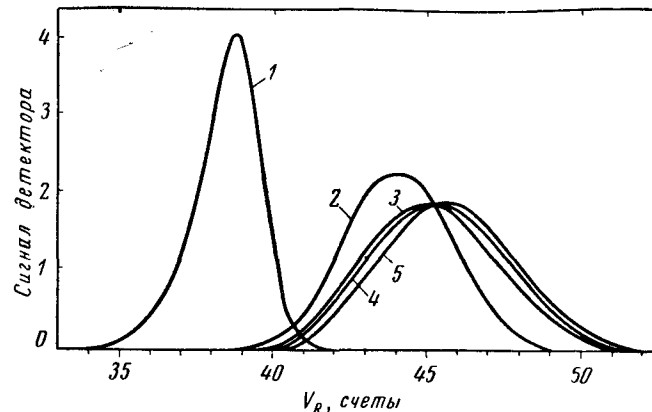


Рис. IV.25. Изменение вида хроматограммы полиамидокислоты ПМ при введении в растворитель (ДМФА) небольших добавок соляной кислоты (хроматографическая система из 4-х колонок с макропористыми стеклами с диаметром пор 320 и 50 нм; скорость элюции 70 см³/ч): 1 — чистый ДМФА; 2 — ДМФА + HCl (0,002 моль/л); 3 — ДМФА + HCl (0,005 моль/л); 4 — ДМФА + HCl (0,01 моль/л); 5 — ДМФА + HCl (0,02 моль/л).

pH раствора. Это было продемонстрировано [76] на примере полиамидокислот (ПАК) в диметилформамиде (ДМФА): для подавления полиэлектролитного набухания в ДМФА добавлялась соляная кислота (рис. IV.25). По мере добавления HCl хроматограммы становились все более симметричными, а соответствующие им удерживаемые объемы увеличивались, пока не происходило полное подавление диссоциации полиэлектролита (при концентрации

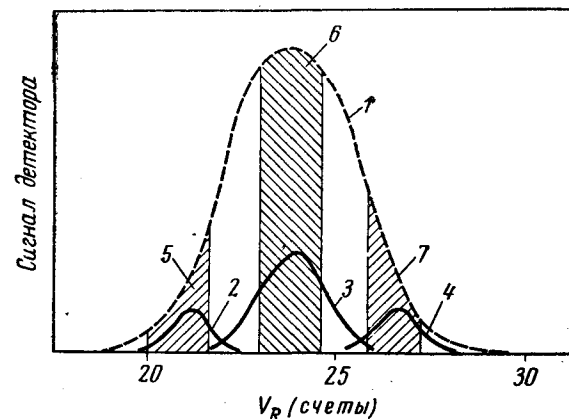


Рис. IV.26. Совмещенные хроматограммы образца полиамидокислоты ПМ и его фракций, полученных при подавлении полиэлектролитных эффектов (концентрация исходного образца в пробе 0,025 мг/см³): 1 — полиамидокислота; 2, 3 и 4 — фракции полиамидокислоты; 5, 6 и 7 — отбор фракций 2, 3 и 4.

$\text{HCl} \approx 0,01$ моль/л). В этих условиях хроматограммы образцов ПАК соответствовали их молекулярно-массовым распределениям и могли быть интерпретированы в соответствии с зависимостью (IV.20). Это было подтверждено повторным хроматографированием узких фракций ПАК (рис. IV.26); каждая из этих фракций выходила с соответствующим именно ей удерживаемым объемом.

Подобная процедура проверки концентрационной зависимости и рефракционирование должны быть проведены при анализе методом ГПХ полиэлектролитов.

Так, было показано, что при ГПХ декстрана, полистирол-сульфоната натрия, натриевой соли полиакриловой кислоты на макропористых стеклах в $0,2 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ V_R этих водорастворимых полимеров и полиэлектролитов не зависит от их концентрации, т. е. имеет место ГПХ в отсутствие полиэлектролитного набухания. Эти полимеры имеют общую универсальную калибровочную зависимость $V_R - \lg [\eta] M$ в воде. На использованной системе колонок имеет место и общая универсальная зависимость коэффициента распределения

$$Kd = (V_R - V_0)/V_p$$

от $M [\eta]$ для водорастворимых полимеров и полистирола в тетрагидрофуране, хлороформе и бензоле.

Возможности использования макропористых стекол для ГПХ полиэлектролитов ограничиваются поликислотами, поскольку полиамфолиты (белки) и поликатионы на них необратимо адсорбируются.

IV.7. Использование гель-проникающей хроматографии для изучения изомеризации, ассоциации и комплексообразования белков и определения их молекулярной массы

При определении молекулярной массы биополимеров (белков, нуклеиновых кислот и др.) необходимо учитывать взаимодействие их макромолекул между собой и связанное с ним образование ассоциатов, изомеров и комплексов. Для этой цели удобно использовать такие методы анализа, как седиментация, электрофорез и хроматография. С их помощью можно добиться некоторого разделения компонентов белкового раствора и распределения их в соответствии с определенным законом, который может быть строго описан математически. Сравнивая затем экспериментальное и теоретическое распределения, можно определить параметры, характеризующие взаимодействие макромолекул, восстановить распределение каждого компонента и, наконец, найти по ним молекулярную массу неассоциированных молекул, т. е. мономеров белка.

Первое сообщение о таких работах было сделано Джильбертом [77] в 1955 г. В нем говорилось о возможности электрофоретического и седиментационного изучения обратимых взаимодействий белков, нелинейности дифференциальных уравнений, описывающих эти взаимодействия, асимптотическом поведении решений для некоторых частных случаев. В работах Джильберта [78—80], а также других исследователей [81—88] была развита теория электрофореза и седиментаций для случаев некоторых кинетически контролируемых взаимодействий. Для описания протекающих при этом процессов был разработан численный компьютерный метод, в котором транспортная система (например, кювета центрифуги) разбивалась на слои. Предполагалось, что внутри каждого такого слоя существует равновесие между компонентами, изменяющееся скачкообразно при переходе от одного слоя к другому.

С появлением гель-проникающей хроматографии стало возможным хроматографическое изучение взаимодействующих белковых систем [89—98]. При этом также пришлось столкнуться с нелинейностью дифференциальных уравнений, описывающих ГПХ-процесс белков, и сложностью интерпретации экспериментальных данных.

IV.7.1. Гель-проникающая хроматография изомеризующихся систем

Наиболее простой случай представляет хроматография изомеризующихся белков. Рассмотрим ее на примере ГПХ белковых молекул, находящихся в двух изомерных состояниях A_1 и A_2 , обратимо переходящих друг в друга:



В равновесных условиях при этом справедливо следующее уравнение:

$$\bar{k}_1 c_1 = \bar{k}_2 c_2 \quad (\text{IV.24})$$

где \bar{k}_1 и \bar{k}_2 — константы скорости перехода белковых молекул из одного изомерного состояния в другое; c_1 и c_2 — массовые концентрации белка в каждом из этих состояний.

Одной из таких систем является смесь однотипных белковых молекул в клубкообразном и глобулярном состояниях, когда переход глобула — клубок является настолько резким, что можно говорить о двух состояниях с различными свойствами.

ГПХ-процесс двухкомпонентной белковой смеси может быть описан следующей системой дифференциальных уравнений:

$$\left. \begin{aligned} \alpha \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \alpha D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - \alpha U_0 \frac{\partial c_i}{\partial x} + (-1)^i \alpha (\bar{k}_1 c_1 - \bar{k}_2 c_2) - \\ &\quad - \alpha \lambda_i c_i + \beta \lambda'_i c'_i \\ \beta \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \alpha \lambda_i c_i - \beta \lambda'_i c'_i + (-1)^i \beta (\bar{k}_1 c'_1 - \bar{k}_2 c'_2) \end{aligned} \right\} \quad (IV.25)$$

где c_i и c'_i — массовые концентрации белка в двух его изомерных состояниях ($i = 1, 2$) в подвижной и неподвижной фазах хроматографической системы в расчете на единицу объема каждой из фаз; α и β — объемные доли подвижной и неподвижной фаз; U_0 — линейная скорость растворителя; D_i — дисперсионный коэффициент, характеризующий хроматографическое размытие компонентов белковой смеси; λ_i и λ'_i — средние частоты перехода молекул из подвижной фазы в неподвижную и обратно.

В обычных условиях ГПХ-эксперимента обмен молекулами между фазами происходит настолько быстро, что его можно считать равновесным, т. е. полагать, что разность потоков из одной фазы в другую близка к нулю

$$\alpha \lambda_i c_i - \beta \lambda'_i c'_i \approx 0 \quad (IV.26)$$

Тогда отношение концентраций в фазах системы можно записать следующим образом:

$$\frac{c'_i}{c_i} = \frac{\alpha}{\beta} \frac{\lambda_i}{\lambda'_i} \equiv K d_i \quad (IV.27)$$

Если ввести объемную долю ξ_i части хроматографической системы, доступной (по размерам пор сорбента) для молекул i -того типа

$$\xi_i = \alpha + \beta K d_i \quad (IV.28)$$

то для концентрации c_i этих молекул в колонке будет справедливо следующее выражение:

$$\bar{c}_i = \alpha c_i + \beta c'_i = \xi_i c_i \quad (IV.29)$$

Учитывая это, систему уравнений (IV.25) можно свести к более удобному виду, складывая входящие в нее уравнения:

$$\frac{\partial \bar{c}_i}{\partial t} = L_i \frac{\partial^2 \bar{c}_i}{\partial x^2} - U_i \frac{\partial \bar{c}_i}{\partial x} + (-1)^i (\bar{k}_1 \bar{c}_1 - \bar{k}_2 \bar{c}_2) \quad (IV.30)$$

где

$$L_i = \alpha D_i / \xi_i \quad U_i = \alpha U_0 / \xi_i \quad (IV.31)$$

Равенством (IV.30) обозначена система из двух уравнений ($i = 1, 2$), которую надо решать при следующих начальных

$$\left. \begin{aligned} \bar{c}_1(x, 0) + \bar{c}_2(x, 0) &= B \delta(x) \\ \bar{k}_1 \bar{c}_1(x, 0) &= \bar{k}_2 \bar{c}_2(x, 0) \end{aligned} \right\} \quad (IV.32)$$

и граничных условиях:

$$\bar{c}_i(x, t) \rightarrow 0 \quad \frac{\partial \bar{c}_i(x, t)}{\partial x} \rightarrow 0 \quad \text{при } x \rightarrow \pm \infty \quad (IV.33)$$

Константа B может быть найдена из условий нормировки

$$\int_{-\infty}^{+\infty} (\bar{c}_1 + \bar{c}_2) dx = Q_1 + Q_2 = Q$$

где Q_1 и Q_2 — количества каждого компонента, введенные в хроматографическую систему.

Следовательно, $B = Q/a$ [где a — площадь доступного для белка сечения колонки, равная ξS (S — площадь сечения колонки)]. Таким образом, начальные условия (IV.32) могут быть переписаны в виде

$$\left. \begin{aligned} \bar{c}_1(x, 0) &= \bar{k}_2 \tau (Q/a) \delta(x) \\ \bar{c}_2(x, 0) &= \bar{k}_1 \tau (Q/a) \delta(x) \end{aligned} \right\} \quad (IV.34)$$

где величина τ характеризует время установления равновесия между двумя изомерными состояниями

$$\tau = 1/(\bar{k}_1 + \bar{k}_2) \quad (IV.35)$$

Следует отметить, что распределение компонентов между фазами хроматографической системы (при одновременном движении вдоль нее) нарушает равновесие, существующее между изомерными состояниями в начальный момент времени. Это равновесие сохраняется только при условии, что скорость реакции (IV.23) является бесконечно большой, т. е. при $\bar{k}_1 \rightarrow \infty$, $\bar{k}_2 \rightarrow \infty$, $\tau \rightarrow 0$. В этом случае оба компонента движутся с одной, средней между U_1 и U_2 , скоростью U , а их размытие определяется одним и тем же дисперсионным коэффициентом \bar{L} . При этом система уравнений (IV.30), описывающая движение компонентов вдоль хроматографической колонки, вырождается в одно однородное дифференциальное уравнение параболического типа:

$$\frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = \bar{L} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} - \bar{U} \frac{\partial \bar{c}}{\partial x} \quad (IV.36)$$

Аналитические решения системы уравнений (IV.30) с условиями (IV.32—IV.33) могут быть найдены только в асимптотических пределах. При очень больших временах опыта ($t \rightarrow \infty$), например, для концентрации раствора на выходе из хроматографической системы можно получить [94]:

$$c = (2\bar{\xi} a \sqrt{\pi L_V \bar{V}})^{-1} \exp \{ -[(x - V)/\bar{\xi} a]^2 / 4 L_V \bar{V} \} \quad (IV.37)$$

где

$$c = c_1 + c_2; \quad \bar{\xi} = (\bar{\xi}_1 + \bar{k}_2 \bar{\xi}_2) / (1 + \bar{k}); \quad \bar{k} = \bar{k}_1 / \bar{k}_2; \quad L_V = \bar{L} + L_K \quad (IV.38)$$

Коэффициент L_V состоит из двух слагаемых

$$\bar{L} = (\xi_1 L_1 + \bar{k} \xi_2 \bar{L}_2) / (\xi_1 + \bar{k} \xi_2)$$

а величина L_k связана с дополнительным размытием хроматографической зоны, вызванным переходом белковых молекул из одного изомерного состояния в другое:

$$L_k = \frac{\xi_2^2 \bar{k} U}{(1 + \bar{k})^3 \bar{\xi} \bar{k}_2} \quad \bar{\xi} \equiv \xi_1 - \xi_2 \quad (IV.39)$$

Определяя экспериментально дисперсионный коэффициент L_V и сравнивая его значение, а также концентрацию раствора на выходе из хроматографа с теоретическими значениями L_V и c , полученными по формулам (IV.37—IV.39), нетрудно определить константы скорости изомеризации \bar{k}_1 и \bar{k}_2 [94].

Однако такой подход не дает полной картины хроматографического процесса изомеризующихся систем и требует проведения длительных экспериментов с малыми скоростями элюции и достаточно длинными хроматографическими колонками. В то же время, как было показано в гл. I, исчерпывающие сведения о хроматографическом поведении элюируемых молекул могут быть получены в результате анализа выражений для статистических моментов, найденных для системы дифференциальных уравнений, описывающих хроматографический процесс. В частности, для системы уравнений (IV.30) с условиями (IV.33, IV.34) можно получить точные аналитические выражения для статистических моментов, характеризующие распределение вещества вдоль хроматографической колонки в любой фиксированный момент времени независимо от длительности эксперимента. Они получаются применением к уравнениям системы (IV.30) интегральных преобразований [95]:

$$S_1 = \bar{k}_2 \tau Q / a \quad (IV.40)$$

$$\bar{x}_1 = \tau^2 \bar{k}_1 (U_1 - U_2) (1 - e^{-t/\tau}) + (\bar{k}_2 U_1 + \bar{k}_1 U_2) \tau t \quad (IV.41)$$

$$\sigma_1^2 = 2\bar{L}t + 2\bar{k}_1 \tau^2 (L_1 - L_2) (1 - e^{-t/\tau}) +$$

$$+ \tau^3 \bar{k}_1 (U_1 - U_2)^2 \{ \tau (1 - e^{-t/\tau}) [2\bar{k}_1 - 4\bar{k}_2 - \bar{k}_1 (1 - e^{-t/\tau}) + 2t (\bar{k}_2 + (\bar{k}_2 - \bar{k}_1) e^{-t/\tau})] \} \quad (IV.42)$$

где

$$\bar{L} = (L_1 \bar{k}_2 + L_2 \bar{k}_1) \tau.$$

При этом нулевые моменты S_i определяют количество каждого компонента, введенного в колонку. Первые моменты $M_{1,i}$ задают положения \bar{x}_i — центров масс компонентов: $\bar{x}_i = M_{1,i} / S_i$. Вторые центральные моменты задают дисперсию компонентов σ_i^2 ($i=1,2$). Выражения для S_2 , \bar{x}_2 , σ_2^2 отличаются от (IV.40—IV.42) порядком следования индексов «1» и «2». Впервые подобные расчеты были проведены в работе [95].

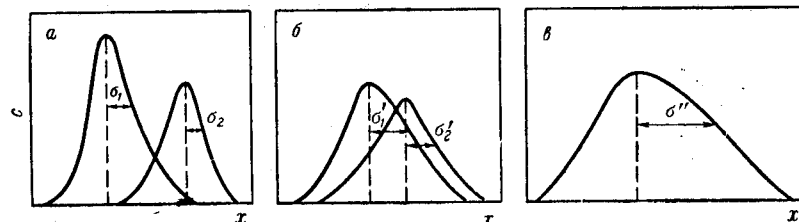


Рис. IV.27. Особенности разделения двухкомпонентной изомерной смеси в ГПХ:

a — очень медленный переход $A_1 \rightleftharpoons A_2$ ($t/\tau \ll 1$); *б* — более быстрый переход ($t/\tau > 1$); *в* — скорость перехода очень велика ($t/\tau \gg 1$), компоненты не разделяются.

Наряду с моментами для отдельных компонентов (IV.40—IV.42) надо также знать моменты распределения суммарной концентрации c

$$c = c_1 + c_2 = \frac{\bar{c}_1}{\xi_1} + \frac{\bar{c}_2}{\xi_2} \quad (IV.43)$$

так как именно значение концентрации белка в подвижной фазе регистрируется хроматограммой, снимаемой на выходе из хроматографической системы. Моменты для концентрации c определяются следующим образом:

$$\bar{x} = \int_{-\infty}^{+\infty} x \left(\frac{\bar{c}_1}{\xi_1} + \frac{\bar{c}_2}{\xi_2} \right) dx \left| \int_{-\infty}^{+\infty} \left(\frac{\bar{c}_1}{\xi_1} + \frac{\bar{c}_2}{\xi_2} \right) dx \right. \quad (IV.44)$$

$$\sigma^2 = \int_{-\infty}^{+\infty} (x - \bar{x})^2 \left(\frac{\bar{c}_1}{\xi_1} + \frac{\bar{c}_2}{\xi_2} \right) dx \left| \int_{-\infty}^{+\infty} \left(\frac{\bar{c}_1}{\xi_1} + \frac{\bar{c}_2}{\xi_2} \right) dx \right. \quad (IV.45)$$

Подстановкой в уравнения (IV.44—IV.45) соотношений (IV.40—IV.42) для моментов функции $c(x)$ получают выражения:

$$\bar{x} = \frac{\bar{x}_1 \xi_2 \bar{k}_2 + \bar{x}_2 \xi_1 \bar{k}_1}{\xi_2 \bar{k}_2 + \xi_1 \bar{k}_1} \quad (IV.46)$$

$$\sigma^2 = \frac{\sigma_1^2 \xi_2 \bar{k}_2 + \sigma_2^2 \xi_1 \bar{k}_1}{\xi_2 \bar{k}_2 + \xi_1 \bar{k}_1} + \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{(\xi_2 \bar{k}_2 + \xi_1 \bar{k}_1)^2} \xi_1 \xi_2 \bar{k}_1 \bar{k}_2 \quad (IV.47)$$

Анализ выражений (IV.40—IV.42) и (IV.46, IV.47) позволяет установить следующие закономерности хроматографического поведения двухкомпонентной смеси изомеров, удовлетворяющей условиям (IV.23, IV.24) и (IV.33, IV.34) [95] (рис. IV.27).

1. При очень медленной реакции изомеризации (IV.23) и (или) не слишком большой продолжительности эксперимента, когда

$t/\tau \ll 1$, смесь изомеров ведет себя так, как если бы реакция отсутствовала

$$\left. \begin{aligned} \bar{x}_1 &= U_1 t; \quad \bar{x}_2 = U_2 t; \quad \sigma_1^2 = 2L_1 t; \quad \sigma_2^2 = 2L_2 t \\ \bar{x}_1 - \bar{x}_2 &= (U_1 - U_2) t \equiv \Delta \bar{x}_{1,2} \end{aligned} \right\} \quad (IV.48)$$

т. е. каждый компонент движется и размывается с характерными для него скоростью U_i и дисперсией σ_i^2 .

2. В случае более быстрых реакций (или при более длительных экспериментах), когда $t/\tau \geq 1$, различие в скоростях движения компонентов уменьшается. При этом компонент «1», имеющий меньшие размеры и, следовательно, меньшую скорость ($U_1 < U_2$), начинает перемещаться быстрее, чем в случае отсутствия реакции (IV.23), а компонент «2» — медленнее:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \bar{x}_1}{\partial t} &= (\bar{k}_2 U_1 + \bar{k}_1 U_2) \tau - \tau \bar{k}_1 (U_2 - U_1) e^{-t/\tau} \\ \frac{\partial \bar{x}_2}{\partial t} &= (\bar{k}_2 U_1 + \bar{k}_1 U_2) \tau + \tau \bar{k}_2 (U_2 - U_1) e^{-t/\tau} \\ \frac{\partial \bar{x}_1}{\partial t} - \frac{\partial \bar{x}_2}{\partial t} &= -(U_2 - U_1) e^{-t/\tau} \end{aligned} \right\} \quad (IV.49)$$

В результате расстояние $\Delta \bar{x}_{1,2}(t)$ между компонентами сокращается до тех пор, пока при достаточно большой длительности эксперимента $t \gg \tau$ не достигнет своего предельного значения $\Delta \bar{x}$. В этих условиях справедливы следующие соотношения:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \bar{x}_1}{\partial t} = \frac{\partial \bar{x}_2}{\partial t} = \frac{\partial \bar{x}}{\partial t} &\equiv \bar{U} = (U_1 \bar{k}_2 + U_2 \bar{k}_1) \tau \\ \bar{x}_1 &= \bar{U} t - (U_2 - U_1) \bar{k}_1 \tau^2 \\ \bar{x}_2 &= \bar{U} t + (U_2 - U_1) \bar{k}_2 \tau^2 \\ \Delta \bar{x} &= (U_2 - U_1) \tau \end{aligned} \right\} \quad (IV.50)$$

При $t/\tau \geq 1$ у каждого компонента появляется дополнительное, по сравнению со случаем $t/\tau \ll 1$, размывание $2L_{\kappa} t$, связанное с дисперсией распределения молекул по изомерным состояниям «1» и «2»:

$$\left. \begin{aligned} \sigma_1^2 &= 2L_1 t + 2L_{\kappa} t \\ \sigma_2^2 &= 2L_2 t + 2L_{\kappa} t \end{aligned} \right\} \quad (IV.51)$$

где

$$L_{\kappa} = \tau^3 \bar{k}_1 \bar{k}_2 (U_1 - U_2)^2$$

3. При очень больших скоростях реакции (IV.23), когда $\bar{k}_1 \rightarrow \infty$, $\bar{k}_2 \rightarrow \infty$, $\tau \rightarrow 0$ и $t/\tau \gg 1$, изомерные компоненты не разделяются. Они движутся с одинаковой скоростью \bar{U} , равной

$$\bar{U} = (U_1 \bar{k}_2 + U_2 \bar{k}_1) \tau \quad (IV.52)$$

размываясь так, как если бы отсутствовало распределение по изомерным состояниям и имелось бы лишь одно состояние с дисперсией σ^2 , равной

$$\sigma^2 = \frac{\sigma_1^2 \bar{k}_2 \bar{k}_2 + \sigma_2^2 \bar{k}_1 \bar{k}_1}{\bar{k}_2 \bar{k}_2 + \bar{k}_1 \bar{k}_1} \quad (IV.53)$$

Выражения (IV.46, IV.47) для статистических моментов позволяют определять константы, характеризующие скорость реакции изомеризации белков. С этой целью в формулы (IV.46, IV.47) следует подставить значения моментов, найденные с помощью стандартной процедуры по хроматограммам $c(x, t)$, а также определить из независимых хроматографических экспериментов параметры ξ_i , L_i , U_i и разрешить получившиеся таким образом уравнения относительно \bar{k}_1 и \bar{k}_2 . Эксперименты, в которых определяют параметры ξ_i , L_i , U_i , следует проводить в условиях, когда равновесие смещено в сторону одного из компонентов. При этом изомерная смесь вырождается в однокомпонентный раствор, состоящий из изомеров только одного типа. В случае, когда параметры каждого из изомеров изменяются под действием внешних условий (например, рН), необходимо провести экстраполяцию значений этих параметров к условиям эксперимента. Хроматограммы $\bar{c}(x, t)$ удобно получать сканированием хроматографической колонки в фиксированный момент времени с помощью УФ-спектрофотометра [89]. При отсутствии такой возможности можно использовать для расчетов элюционные кривые $c(x, t)$, полученные при детектировании раствора на выходе из колонки и дающие распределение вещества во времени в подвижной фазе хроматографической системы при фиксированном значении x , равном длине колонки L . Однако такая постановка эксперимента дает возможность получить только временные статистические моменты распределения $c(x, t)$ при $x = L$. Строгие аналитические выражения для них получить трудно, но можно использовать простые соотношения, достаточно точно связывающие временные моменты \bar{t} и $\bar{\sigma}^2$ с пространственным \bar{x} и σ^2 :

$$\bar{x}(\bar{t}) = L \quad (IV.54)$$

$$\sigma^2(\bar{t}) = U_0 \bar{\sigma}^2 \quad (IV.55)$$

где $U_0 = \bar{\partial x} / \partial t|_{t=\bar{t}}$ — средняя скорость движения максимума хроматографического распределения в момент времени $t = \bar{t}$.

Временные моменты \bar{t} и $\bar{\sigma}^2$ определяются следующим образом:

$$\bar{t} = \int_0^{\infty} t c(L, t) dt \int_0^{\infty} c(L, t) dt \quad (IV.56)$$

$$\bar{\sigma}^2 = \int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 c(L, t) dt \int_0^{\infty} c(L, t) dt \quad (IV.57)$$

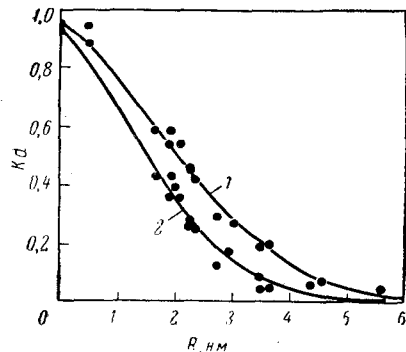


Рис. IV.28. Зависимость коэффициента распределения от стоксовых радиусов белковых молекул при ГПХ на сефадексах G-100 (1) и G-75 (2) [89].

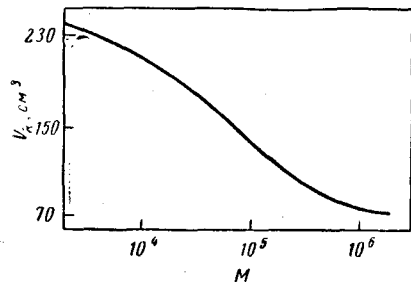


Рис. IV.29. Зависимость удерживаемого объема от молекулярной массы белков, полученная на сефадексе G-200 [89].

ровочную зависимость Бенуа, а для глобулярного изомера — специальную калибровку по стоксовым радиусам белковых молекул [89] или по их молекулярным массам (рис. IV.28, IV.29).

IV. 7.2. Гель-проникающая хроматография ассоциирующихся систем

Это более сложный случай по сравнению с предыдущим. Для его описания надо использовать нелинейные дифференциальные уравнения. Для системы неассоциированная молекула (мономер) — димер эти уравнения выглядят следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} \alpha \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \alpha D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - \alpha U_0 \frac{\partial c_i}{\partial x} + (-1)^i \alpha (\bar{k}_1 c_1^2 - \bar{k}_2 c_2) - \\ &- \alpha \lambda_i c_i + \beta \lambda_i c_i \\ \beta \frac{\partial c_i}{\partial t} &= \alpha \lambda_i c_i - \beta \lambda_i c_i - (-1)^i \beta (\bar{k}'_1 c_1^2 - \bar{k}'_2 c_2) \end{aligned} \right\} \quad (IV.58)$$

Смысл соотношения (IV.54) заключается в том, что математическое ожидание концентрации по пространственной координате в средний момент времени выхода пика приходится на конец колонки. Это должно строго выполняться для очень узкого (дельтаобразного) распределения. Оба соотношения (IV.54) и (IV.55) были бы точными и в том случае, когда за время перемещения максимума распределения на расстояние, равное его полуширине, скорость движения оставалась постоянной, равной U_0 , или, иными словами, если бы распределение $\bar{c}(x, t)$ перемещалось целиком со скоростью U_0 как «замороженное».

Определив константы изомеризации, нетрудно затем восстановить распределение каждого компонента $c_i(x, t)$ на выходе из хроматографической системы и, воспользовавшись ее калибровкой, найти молекулярную массу белка. При этом для изомера в клубкообразном состоянии можно применять универсальную калиб-

где \bar{k}_1 и \bar{k}_2 — константы ассоциации.

$$\bar{k}_1 \bar{c}_1^2 = \bar{k}_2 \bar{c}_2 \quad \bar{k}'_1 = \bar{k}_1 \frac{\xi_1^2 \beta}{\alpha \beta + (\xi_1 - \alpha)^2} \quad \bar{k}'_2 = \bar{k}_2 \quad (IV.59)$$

Константы \bar{k}'_1 и \bar{k}'_2 выбирают таким образом, чтобы в начальный момент выполнялось условие равновесия (IV.59). Как и в случае с изомеризацией, при условии (IV.26) система (IV.58) упрощается и принимает вид:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = L_i \frac{\partial^2 \bar{c}_i}{\partial x^2} - U_i \frac{\partial \bar{c}_i}{\partial x} + (-1)^i (\bar{k}'_1 c_1^2 - \bar{k}'_2 c_2) \quad (IV.60)$$

Очевидно, если белок вводить в хроматографическую колонку в виде узкой зоны, она будет со временем размываться, концентрация внутри нее уменьшаться и вследствие нелинейности уравнений (IV.60) доля неассоциированных молекул белка в зоне будет расти, а скорость движения зоны падать, т. е. узкая зона с ассоциирующимися белковыми молекулами при хроматографировании движется с переменной, постепенно понижающейся скоростью [89]. Это создает дополнительные трудности при интерпретации получающихся результатов. Поэтому в хроматографических экспериментах с ассоциирующимися белковыми молекулами предпочтительнее работать с широкими ступенчатыми зонами, размывание которых не оказывает влияния на концентрацию в них белка и сказывается главным образом лишь на форме переднего и заднего фронтов зоны. При этом за движением зоны удобно следить, наблюдая перемещение ее переднего и заднего центроидов (центров масс) [89]. На рис. IV.30 и IV.31 показаны подобные хроматограммы ассоциирующихся белков и дифференциальные преобразования, которые используют для их интерпретации.

Для интерпретации получаемых результатов, в частности для отыскания констант ассоциации, также можно воспользоваться аналитическими выражениями статистических моментов. Однако теперь их удобнее находить для произвольных от концентраций компонентов, и они могут быть получены лишь при определенных

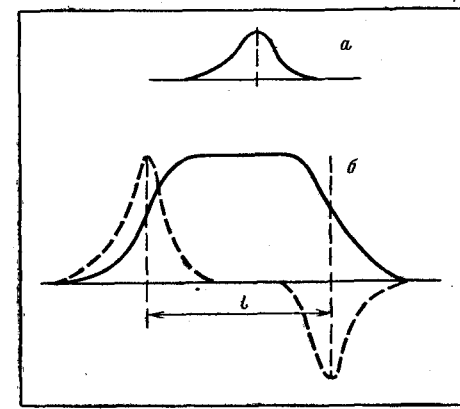


Рис. IV.30. Хроматограммы белков с узкой (а) и широкой (б) начальными зонами:

пунктирные кривые — производные по продольной координате от концентрации зоны на ее передней и задней границах; расстояние l между вертикальными пунктирными линиями, проведенными через центроиды переднего и заднего фронтов, равно первоначальной ширине зоны.

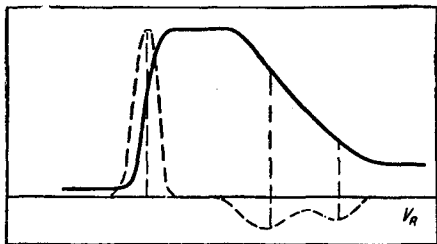


Рис. IV.31. Хроматограмма трехкомпонентной смеси, полученная при ГПХ с широкой начальной зоной (сплошная линия) и ее производная по удерживаемому объему (пунктирная линия).

Это соответствует либо большим длительностям эксперимента, либо большим значениям констант \bar{k}_i , характеризующим скорость реакции (IV.59). В-третьих, при больших значениях t можно предполагать, что равновесные концентрации компонентов в подвижной фазе хроматографической колонки смещены друг относительно друга на некоторое постоянное расстояние Δx . В-четвертых, проведение экспериментов с широкой зоной позволяет рассматривать произведение $\bar{k}_1 \bar{c}_1$ в уравнении (IV.60) как константу: $\bar{k}_1 \bar{c}_1 \equiv k_1 = \text{const}$. Это линейризует данную задачу и сводит ее к предыдущей (см. раздел IV.7.1), но с другими начальными условиями.

Пусть для уравнения (IV.60) в качестве начальных приняты следующие условия

$$\bar{c}_i = \bar{c}_{0,i} [1 - \chi(x)] \quad (\text{IV.61})$$

$$\bar{k}_1 \bar{c}_1^2 = \bar{k}_2 \bar{c}_2 \quad (\text{IV.62})$$

где $\chi(x)$, равная нулю при $x < 0$ и равная единице при $x \geq 0$, есть функция Хевисайда.

В этом случае при сделанных допущениях получают выражения для двух первых моментов от производных концентраций \bar{c}_1 и \bar{c}_2 , совпадающие с выражениями (IV.41, IV.42) при условии, что величины τ , \bar{L} и \bar{k} , входящие в (IV.41, IV.42), заменены на τ' , \bar{L}' и \bar{k}' соответственно:

$$\left. \begin{aligned} \tau' &= (\bar{k}_1 \bar{c}_{0,1} + \bar{k}_2)^{-1} \\ \bar{L}' &= (L_1 \bar{k}_2 + L_2 \bar{k}_1 \bar{c}_{0,1}) \tau' \\ \bar{k}' &= \bar{k}_1 \bar{c}_{0,1} / \bar{k}_2 \end{aligned} \right\} \quad (\text{IV.63})$$

С помощью методики, аналогичной той, которая применялась в разделе IV.7.1 при изучении изомеризующихся систем, на основании выражений (IV.63) можно определять константы \bar{k}_1 и \bar{k}_2 , характеризующие скорости реакций ассоциации и диссоциации.

допущениях, несколько упрощающих описание процесса ГПХ. Во-первых, рассмотрение можно проводить по истечении короткого времени после начала эксперимента, когда $t \ll \tau$. Это эквивалентно изучению процесса при больших временах эксперимента t , но с очень малой скоростью образования и распада ассоциатов. Во-вторых, можно рассматривать случай, когда $t \gg \tau$.

Следует отметить, что случай реакции ассоциации мономер — n -мер (при отсутствии промежуточных ассоциативных состояний) ничем практически не отличается от разобранный. При больших временах анализа ($t \gg \tau$), когда справедливо предположение относительно сдвига равновесных концентраций компонентов относительно друг друга на расстояние Δx :

$$\bar{k}_1 \bar{c}_1^2(x, t) \approx \bar{k}_2 \bar{c}_2(x + \Delta x, t) \approx \bar{k}_2 \bar{c}_2(x, t) + \bar{k}_2 \frac{\partial \bar{c}_2}{\partial x} \Delta x \quad (\text{IV.64})$$

система уравнений (IV.60) принимает вид:

$$\frac{\partial \bar{c}_i}{\partial t} = L_i \frac{\partial^2 \bar{c}_i}{\partial x^2} - U_i \frac{\partial \bar{c}_i}{\partial x} + (-1)^i \bar{k}_2 \frac{\partial \bar{c}_2}{\partial x} \Delta x \quad (\text{IV.65})$$

$$i = 1, 2$$

При сделанных выше допущениях для случая широкой начальной зоны получаются следующие выражения для величин Δx и скорости движения зоны U :

$$\Delta x = \tau' (U_2 - U_1) \quad (\text{IV.66})$$

$$U = (U_1 + U_2 \bar{k}') / (1 + \bar{k}') \quad (\text{IV.67})$$

Для определения степени ассоциации в системе мономер — n -мер предложена [89] следующая приближенная процедура. Хроматографический процесс описывают дифференциальным уравнением, получающимся из уравнения (IV.60) заменой переменной t на V_R и пренебрежением аксиальной дисперсией

$$\frac{\partial c_1}{\partial x} \sum_j j k_j c_1^{j-1} + \frac{\partial c_1}{\partial V_R} \sum_j j k_j \xi_j c_1^{j-1} = 0 \quad (\text{IV.68})$$

где константы ассоциации k_j выражены через концентрации мономера c_1 и j -мера c_j следующим образом*:

$$k_j = c_j / c_1^j \quad (\text{IV.69})$$

При использовании широкой зоны, когда для задней ее границы выполняется условие

$$V_R + S = 0 \quad \text{при } c = 0, x < 0 \text{ и } c = c_0, x > 0 \quad (\text{IV.70})$$

где S — ширина зоны

решение уравнения (IV.68) имеет вид:

$$\frac{V_R - S}{x} = \frac{\sum_j j k_j \xi_j c_1^{j-1}}{\sum_j j k_j c_1^{j-1}} = \alpha + \beta \Phi(c_1) \quad (\text{IV.71})$$

* Условие (IV.69) эквивалентно требованию «быстрого» протекания реакции ассоциации — диссоциации, когда равновесные кинетические константы k_1 и k_2 велики, т. е. $\tau \ll t_R$ (где t_R — время проведения хроматографического эксперимента).

где

$$\Phi(c_1) \equiv \frac{\sum_j j k_j K d_j c_1^{j-1}}{\sum_j j k_j c_1^{j-1}} \quad \xi_j = \alpha + \beta' K d_j \quad (IV.72)$$

Уравнение (IV.71) описывает профиль зоны мономерного компонента раствора как трехмерную поверхность в координатах V_R , x и c_1 . Подобная же поверхность задается уравнением (IV.71) и для общей концентрации раствора

$$c_T = \sum_{j=1}^n c_j = \sum_{j=1}^n k_j c_1^j \quad (IV.73)$$

В хроматографических экспериментах, где концентрационный профиль измеряется при фиксированной координате $x = L$ (L — длина колонки), профиль зоны имеет вид кривой, по которой поверхность, определяемая уравнением (IV.71), пересекается с плоскостью $x = L$. При этом

$$V_R = V_0 + \Phi(c_1) V_p + S \quad (IV.74)$$

Уравнение (IV.74) можно рассматривать как связь концентрации мономера c_1 с удерживаемым объемом V_R .

Для дальнейшего удобно ввести некоторые безразмерные координаты v и v' . Для передней границы зоны:

$$v = \frac{V_R - V_0}{V_p} \quad V_R > V_0 \quad (IV.75)$$

Для задней границы:

$$v' = \frac{V_R - V_0 - S}{V_p} \quad V_R > V_0 + S \quad (IV.76)$$

В этих координатах уравнение (IV.74), например, выглядит для всей колонки совсем просто:

$$v' = \Phi(c_1) \quad (IV.77)$$

С его помощью удобно предсказать профиль задней границы зоны в простейшем случае двухкомпонентной ассоциирующей системы мономер — n -мер. Для этого случая уравнение (IV.77) имеет точное решение. Отыскивая его и подставляя в уравнение (IV.74), получим:

$$c_T(v') = \left[1 + \frac{1}{n} \frac{K d_1 - v'}{v' - K d_n} \right] \left[\frac{1}{n K} \frac{K d_1 - v'}{v' - K d_n} \right] \quad (IV.78)$$

где $K d_1$ и $K d_n$ — коэффициенты распределения для мономера и n -мера соответственно; K — константа равновесия, определяемая отношением констант k_i из уравнения (IV.68), аналогичного уравнению Джилберта [77] для скорости ультрацентрифугирования x/t полимеризующихся систем. Безразмерная координата v' связана с коэффициентом распределения $K d$ точно так же, как скорость x/t с константой седиментации.

Градиент $\partial c_T / \partial v'$ общей концентрации раствора по координате v' при $n > 2$ имеет минимум, положение которого (так же, как в электрофорезе и седиментации) зависит только от степени ассоциации n . Следовательно, верно и обратное: величину $\partial c_T / \partial v'$ можно определить как функцию положения минимума $\partial c_T / \partial v'$ [89]

$$n = \frac{3v'_{\text{мин}} - K d_1 - 2K d_n}{3v'_{\text{мин}} - 2K d_1 - K d_n} \quad (IV.79)$$

Для системы мономер — димер, когда $n = 2$, градиент $\partial c_T / \partial v'$ этого минимума не имеет [89] (рис. IV.32).

Возможен также другой подход к данной проблеме. Он базируется на решении системы уравнений (IV.60) численным методом с помощью электронно-вычислительных машин [96—98]. Здесь, перебирая возможные значения констант ассоциации k_i , можно находить соответствующие им численные решения системы (IV.60) при разных начальных условиях.

Это, с одной стороны, позволяет выяснить закономерности процесса, а с другой, сравнивая полученные таким образом решения системы (IV.60) с экспериментальными хроматограммами, — определять константы ассоциации k_i .

Следует также отметить возможность постановки стационарного эксперимента, когда хроматографическая система не проточна, а формируется потоком растворителя. В этом случае происходит равновесное распределение компонентов между двумя фазами системы (сорбентом и свободным раствором) в условиях равновесного протекания реакции (условие IV.59). Такая ситуация хорошо описывается следующей системой алгебраических уравнений:

$$\left. \begin{aligned} \alpha \lambda_1 c_{1,n} - \beta \lambda_1 c'_{1,n} + \alpha k_1 c_{1,n}^2 - \alpha k_2 c_{2,n} &= 0 & (1) \\ \alpha \lambda_2 c_{2,n} - \beta \lambda_2 c'_{2,n} - \alpha k_1 c_{1,n}^2 + \alpha k_2 c_{2,n} &= 0 & (2) \\ \alpha k_1 c_{1,n}^2 - \alpha k_2 c_{2,n} &= \beta k_2 c'_{2,n} - \beta K d_2 k_1 c_{1,n}^2 & (3) \\ (c_{1,n} + c_{2,n}) \alpha + (c'_{1,n} + c'_{2,n}) \beta &= c_{T,n} & (4) \\ c_{1,n} + c_{2,n} = c_n & \quad n = 1, 2, 3, 4, 5, 6 & (5) \end{aligned} \right\} \quad (IV.80)$$

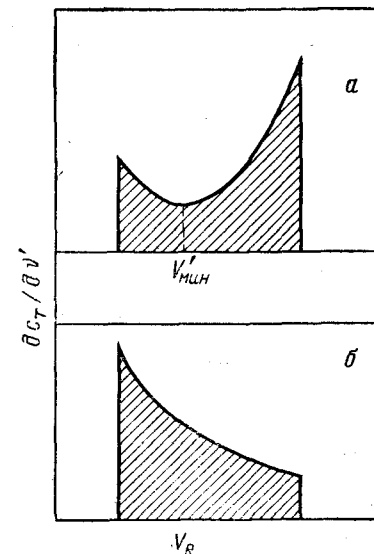


Рис. IV.32. Зависимость $\partial c_T / \partial v'$ от удерживаемого объема для двухкомпонентной смеси мономер — n -мер при $n > 2$ (а) и $n = 2$ (б):

$V'_{\text{мин}}$ — удерживаемый объем, соответствующий минимуму величины $\partial c_T / \partial v'$.

Здесь предполагается, что в растворе присутствуют только мономеры и димеры данного белка. Первые два уравнения системы (IV.80) описывают баланс мономера и димера соответственно в фазе свободного раствора. Третье уравнение отражает этот баланс в фазе сорбента. Для его получения надо сложить уравнения

$$\left. \begin{aligned} \alpha\lambda_1c_1 - \beta\lambda'_1c'_1 - Kd_2\beta k_1c_1'^2 + \beta k_2c_2' &= 0 \\ \alpha\lambda_2c_2 - \beta\lambda'_2c'_2 + Kd_2\beta k_1c_1'^2 - \beta k_2c_2' &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (\text{IV.81})$$

и полученный результат

$$\alpha\lambda_1c_1 - \beta\lambda'_1c'_1 + \alpha\lambda_2c_2 - \beta\lambda'_2c'_2 = 0$$

переписать, используя уравнения (IV.81) и первые два уравнения из системы уравнений (IV.80). Четвертое уравнение выражает полную концентрацию раствора $c_{т, n}$ через концентрацию компонентов в каждой из фаз. И, наконец, пятое уравнение выражает концентрацию белка c_n в фазе свободного раствора через концентрацию в ней мономеров и димеров. Индекс n при концентрациях $c_{1, n}$ и $c_{2, n}$ означает номер опыта. Система уравнений (IV.80) для каждого значения n содержит 10 неизвестных величин: вероятности $\lambda_1, \lambda_2, \lambda'_1, \lambda'_2$; концентрации $c_{1, n}, c_{1, n}, c_{2, n}, c'_{2, n}$ и константы ассоциации k_1 и k_2 . Концентрации c_n и $c_{т, n}$ в каждом опыте могут быть измерены. Изменение концентрации $c_{т, n}$ белкового раствора, помещаемого в данную двухфазную систему, приведет к различным значениям концентраций $c_{т, n}$, измеряемых затем в фазе свободного раствора. В каждом опыте будут получаться разные значения концентраций $c_{1, n}, c'_{1, n}, c_{2, n}, c'_{2, n}$ при одном и том же наборе шести параметров $\lambda_1, \lambda_2, \lambda'_1, \lambda'_2, k_1$ и k_2 . Казалось бы, что для их определения достаточно провести шесть таких опытов. При этом система (IV.80) будет содержать тридцать уравнений с тридцатью неизвестными, так как каждый опыт добавляет в эту систему пять новых уравнений с четырьмя новыми неизвестными величинами. Однако единственного решения эта система иметь не будет, так как относительно констант k_1 и k_2 она сводится к системе однородных уравнений. Поэтому определить из нее удастся только отношение $k_1/k_2 = k$, для чего достаточно пяти опытов ($n = 5$).

Система (IV.80) допускает обобщение на случай образования любых ассоциатов до m -мера включительно. Для полноты описания при наличии тримера она содержит 63 уравнения, полученных в 9 опытах ($n = 9$), при наличии тетрамера — 126 уравнений ($n = 14$); при наличии пентамера — 209 уравнений ($n = 19$). При этом в описание входят все промежуточные ассоциативные состояния и возможные переходы между ними. Число опытов, а следовательно, и уравнений системы (IV.80) будет возрастать с увеличением степени ассоциации значительно медленнее, если не рассматривать такие маловероятные варианты, как, например,

образование m -мера из m мономеров или $m/2$ димеров и т. п., а считать, что m -мер образуется только из $m/2$ -меров и $(m - 1)$ -меров и мономеров.

С помощью стационарного эксперимента можно определить и число ассоциатов в белковом растворе. Для этого надо последовательно апробировать систему (IV.80) в предположении, что в растворе имеются только мономеры и димеры; мономеры, димеры и тримеры и т. д. Идентичность констант, найденных из этих систем для различных групп опытов, позволит выбрать правильный вариант.

Помимо стационарного случая система (IV.80) справедлива также в области плато хроматографической зоны при ГПХ с начальными условиями (IV.61, IV.62), когда вещество вводится в колонку в виде длинной ступеньки. При этом следует только заменить четвертое уравнение системы (IV.80) на уравнение

$$\bar{K}d = (c'_1 + c'_2)/(c_1 + c_2) \quad (\text{IV.82})$$

в котором среднемассовый коэффициент распределения определяется как

$$\bar{K}d = (V_R - V_0)/V_p \quad (\text{IV.83})$$

где V_R — положение центроида передней границы зоны на выходе из хроматографической колонки:

$$V_R = (1/c_0) \int_0^{c_0} V(c) dc \quad (\text{IV.84})$$

Следует отметить, что система уравнений (IV.58), как и уравнение (IV.83), обобщается на случай присутствия в растворе любого конечного числа m ассоциатов. При этом можно получить аналитические выражения для статистических моментов хроматографических распределений и с их помощью рассчитать кинетические константы k_i ($i = 1, 2, \dots, m$).

Таким образом, из системы, подобной (IV.80), можно определить число компонентов в растворе, а затем из системы, подобной (IV.58), величины k_i .

Зная константы ассоциации и количественный состав белковой смеси из хроматографического эксперимента нетрудно найти молекулярную массу белка, используя одну из ранее упоминавшихся калибровочных зависимостей.

IV.7.3. Гель-проникающая хроматография комплексообразующих систем

Этот случай еще более сложен, чем предыдущий. Дифференциальные уравнения, описывающие хроматографический процесс, по-прежнему нелинейны, но их становится больше. В простейшем случае комплексообразования



они выглядят следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \bar{c}_1}{\partial t} &= L_1 \frac{\partial^2 \bar{c}_1}{\partial x^2} - U_1 \frac{\partial \bar{c}_1}{\partial x} - (k\bar{c}_1\bar{c}_2 - k_{1,2}\bar{c}_{1,2}) \delta_1 \\ \frac{\partial \bar{c}_2}{\partial t} &= L_2 \frac{\partial^2 \bar{c}_2}{\partial x^2} - U_2 \frac{\partial \bar{c}_2}{\partial x} - (k\bar{c}_1\bar{c}_2 - k_{1,2}\bar{c}_{1,2}) \delta_2 \\ \frac{\partial \bar{c}_{1,2}}{\partial t} &= L_{1,2} \frac{\partial^2 \bar{c}_{1,2}}{\partial x^2} - U_{1,2} \frac{\partial \bar{c}_{1,2}}{\partial x} - k_{1,2}\bar{c}_{1,2} + k\bar{c}_1\bar{c}_2 \end{aligned} \right\} \quad (IV.86)$$

где $\delta_1 = m_1/(m_1 + m_2)$; $\delta = m_2/(m_1 + m_2)$; $\delta_1 + \delta_2 = 1$;
 m_1 и m_2 — молекулярные массы первого и второго компонентов соответственно; $m_1 + m_2$ — молекулярная масса комплекса.

В равновесных условиях справедливо равенство

$$k\bar{c}_1\bar{c}_2 = k_{1,2}\bar{c}_{1,2} \quad (IV.87)$$

которое вместе с двумя следующими равенствами

$$\left. \begin{aligned} \bar{c}_1 + \delta_1\bar{c}_{1,2} &= c_{1,0} \\ \bar{c}_2 + \delta_2\bar{c}_{1,2} &= c_{2,0} \end{aligned} \right\} \quad (IV.88)$$

входит в набор начальных условий для системы (IV.86) ($\bar{c}_{1,0}$ и $c_{2,0}$ — начальные концентрации каждого из компонентов). Как и в предыдущем случае, хроматографический эксперимент следует проводить с широкой зоной, однако теперь появляется возможность различного формирования зоны. Во-первых, можно вводить широкую зону из первоначально приготовленной смеси компонентов. Во-вторых, один из компонентов можно ввести коротким импульсом, а другой подавать непрерывно на протяжении длительного времени. Результаты, полученные в экспериментах каждого из этих типов, должны совпадать.

При тех же допущениях, что и в случае ГПХ ассоциирующихся систем, можно для уравнений (IV.86) рассчитать статистические моменты и, сравнивая их с экспериментальными, получить значения констант комплексообразования.

IV. 8. Использование ГПХ для определения размеров пор сорбента

Наряду с традиционными порометрическими методами, гелепроникающая хроматография может с успехом использоваться для характеристики поровой структуры сорбента. Так, например, для сорбентов с узким распределением по размерам пор, средний радиус пор может быть определен с помощью зависимости коэффициента распределения линейных гибкоцепных макромолекул Kd от отношения их среднеквадратичного радиуса инерции $[\bar{R}^2]^{1/2}$ к среднему радиусу пор \bar{r} (рис. IV.33). Найдя из ГПХ-эксперимента коэффициент распределения Kd какого-либо

надежно охарактеризованного полимерного стандарта, по этой зависимости можно определить соответствующее значение $[\bar{R}^2]^{1/2}/\bar{r}$ и по известной величине $[\bar{R}^2]^{1/2}$ установить величину \bar{r} . Такой метод дает хорошие результаты для сорбентов с узким распределением по размерам пор.

В случае широкого распределения следует предварительно задаться видом функции $f(r)$, описывающей данное распределение, и уже затем по этому виду и значениям Kd найти параметры распределения.

Пусть $f(r)$ — искомая функция, описывающая плотность распределения пор по размерам. Тогда коэффициент распределения, полученный на данном сорбенте для макромолекул с радиусом инерции $[\bar{R}^2]^{1/2}$, есть

$$\bar{Kd}([\bar{R}^2]^{1/2}, f) = \int_0^{\infty} Kd([\bar{R}^2]^{1/2}, r) f(r) dr \quad (IV.89)$$

где $Kd([\bar{R}^2]^{1/2}, r)$ задается зависимостью, изображенной на рис. IV.33, с учетом замены \bar{r} на r .

Предполагая, например, что распределение $f(r)$ — гауссово, получим

$$\bar{Kd}([\bar{R}^2]^{1/2}, \bar{r}, \sigma^2) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \int_0^{\infty} Kd([\bar{R}^2]^{1/2}, r) \exp\left(-\frac{(r-\bar{r})^2}{2\sigma^2}\right) dr \quad (IV.90)$$

Определяя из ГПХ-эксперимента значения Kd для полимерных стандартов разной молекулярной массы M_j , можно с помощью уравнения (IV.90) найти параметры распределения: его математическое ожидание (средний размер пор) \bar{r} и дисперсию σ^2 . С этой целью надо составить разность

$$\Delta_j(\bar{r}, \sigma) = (\bar{Kd}_j - J_j)^2 \quad (IV.91)$$

где через J обозначена правая часть уравнения (IV.90), а j — номерует опыты, проведенные с разными стандартами.

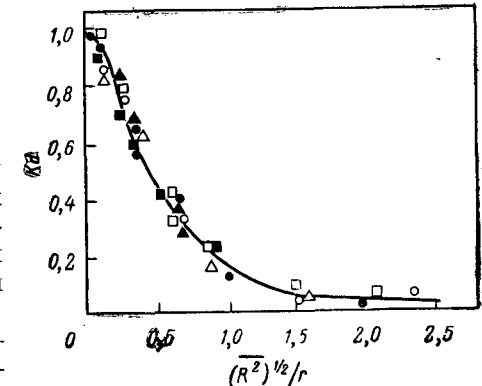


Рис. IV.33. Зависимость коэффициента распределения от отношения радиуса инерции линейных гибкоцепных макромолекул к среднему радиусу пор сорбента с узким распределением по размеру пор, построенная по экспериментальным данным [76, 99, 100].

Проводя суммирование по j и минимизируя эту сумму по переменным \bar{r} и σ^2 , получим их значения, характерные для данного распределения:

$$\frac{\partial}{\partial \bar{r}} \sum_{j=1}^n \Delta_j(\bar{r}, \sigma^2) = 0 \quad (\text{IV.92})$$

$$\frac{\partial}{\partial \sigma^2} \sum_{j=1}^n \Delta_j(\bar{r}, \sigma^2) = 0 \quad (\text{IV.93})$$

Величины \bar{r} и σ^2 , найденные из уравнений (IV.92, IV.93), есть параметры искомого распределения $f(r)$.

Эта процедура позволяет определить порометрические характеристики сорбентов и в тех случаях, когда традиционные порометрические методы не могут быть использованы, например в случае набухающих сорбентов: гелей, смол и т. п.

Литература

1. Heitz W. 6-th International Seminar Gel Permeation Chromatography. Reprints. Miami Beach, Florida, 1968, p. 130—146.
2. Novac L., Matejkova V., Berek D. Chemie, Physikalische Chemie und Anwendungstechnik Grenzflächenaktiven Stoffe Berichte Int. Kongr., 6-th, September, 1972 (Pub. 1973), Bd. 1, p. 451—464, Zürich.
3. Heusch R. Ibid., p. 473—491.
4. Pokorny S. Chem. Listy, 1974, v. 68 (10), p. 1027—1047.
5. Patel G. N., Stejny J. J. Appl. Pol. Sci., 1974, v. 18 (7), p. 2069—2073, 3537—3545.
6. Кузаев А. И., Колесникова С. Д., Брикентштейн А. А. Высокомолекул. соед., 1975, т. А17, с. 1327—1331.
7. Куренбин О. И. и др. Биофизика, 1977, т. 22, вып. 4, с. 589—593.
8. Белецкий Б. Г., Вахтина И. А., Тараканов О. Г. Высокомолекул. соед., 1974, сер. В, т. 16 (7), с. 507—509.
9. Gages J., Gaskill D. R. Sep. Sci., 1969, v. 4, p. 15—24.
10. Киселев А. В. В сб.: «Успехи хроматографии». М., «Наука», 1972, с. 33—64.
11. Кузаев А. И., Суслова Е. Н., Энтелис С. Г. ЖФХ, 1974, т. 48 (6), с. 1493—1495.
12. Heitz W., Coupek J. Makromol. Chem., 1967, Bd. 104, S. 280—285.
13. Berek P., Bakos P. J. Chromat., 1974, v. 91, p. 237—245.
14. Donkai N., Nakagawa A., Ikagaki H. Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., 1970, v. 48, p. 79—87.
15. Hearst J. E. J. Chem. Phys., 1964, v. 40, p. 1506—1509.
16. Bianchi U., Peterlin A. J. Polym. Sci., 1965, v. A7, p. 1959—1963.
17. Кленин С. И. и др. Высокомолекул. соед., 1966, т. 8, с. 882—887.
18. Smith W., Kollmansberger A. J. Phys. Chem., 1965, v. 69, p. 4157—4161.
19. Hendrickson J., Moore J. J. Pol. Sci., 1965, v. C8, p. 233—239; 1966, v. A14, p. 167—173.
20. Котов Л. В. и др. «Лакокрасочные материалы», 1972, т. 6, с. 52—55.
21. Anderson D. M. W., Stoddard J. F. Anal. Chim. Acta, 1966, v. 34, p. 401—409.
22. Feist W. C., Southerland C. F., Tarkow H. J. Appl. Pol. Sci., 1967, v. 11, p. 149—151.
23. Harmon D. J. J. Pol. Sci., 1965, v. C8, p. 243—251.

24. Nakajima N. J. Pol. Sci., A-2, 1966, v. 4, p. 101—111; 1968, v. C21, p. 153—158.
25. Smith W., Feldman G. J. Pol. Sci., A-2, 1969, v. 7, p. 163—170.
26. Jentoft R. E., Gouw T. H. J. Pol. Sci., 1969, v. B7, p. 811—813.
27. Alderslay J. W., Hope P. Angew. Makromol. Chem., 1972, Bd. 24, S. 137—153.
28. Braun P. e. a. Angew. Makromol. Chem., 1972, Bd. 26, S. 181—185.
29. Hope P. e. a. Brit. Polym. J., 1973, v. 5, p. 67—78.
30. Braun P., Legradic V. Angew. Makromol. Chem., 1973, Bd. 34, S. 35—43.
31. Mori S., Takeuchi T. J. Chromat., 1970, v. 50, p. 419—428; 1970, v. 49, p. 230—238.
32. Biesenberger J. A. e. a. J. Appl. Pol. Sci., 1971, v. 15, p. 1549—1552.
33. Hammond J. M. e. a. J. Pol. Sci., A-1, 1971, v. 9, p. 281—294.
34. Berk P., Novak L. Chem. Prum., 1973, v. 23, p. 91—97.
35. Вахтина И. А. и др. Пластические массы, 1970, № 10, p. 58—59.
36. Gladen R. «Chromatographia», 1972, v. 5, p. 396—401.
37. Hallwasch M. R. e. a. J. Chromat., 1971, v. 55, p. 7—13.
38. Абрамов И. Н., Киселев А. В. Коллоид. химия, 1972, т. 34, с. 599—603.
39. Hillman D. E. Anal. Chem., 1971, v. 43, p. 1007—1013.
40. Coleman H. J. e. a. Anal. Chem., 1969, v. 41, p. 800—806.
41. Weber J. H., Oelert H. H. Sep. Sci., 1970, v. 5, p. 669—675.
42. Dugan E. U. S. Gort Res. Develop. Rep., 1970, v. 70, p. 112—115.
43. Zikmund L. e. a. Europ. Pol. J., 1972, v. 8, p. 83—90.
44. Coupek L. e. a. J. Chromat., 1972, v. 65, p. 279—286.
45. Березкин В. Г., Амишоев В. П., Немировская И. Б. Газовая хроматография в химии полимеров. М., «Наука», 1972. 287 с.
46. Anderson J. N. J. Appl. Pol. Sci., 1974, v. 18, p. 2819—2828.
47. Kantola P. Kem. Kemi, 1975, v. 2, p. 100—105.
48. Chew C. D. J. Appl. Pol. Sci., 1976, v. 20, p. 1619—1626.
49. Reerink H., Lijzenga J. Anal. Chem., 1976, v. 47, p. 2160—2167.
50. Atkinson C. M. L., Dietz R. Makrom. Chem., 1976, Bd. 177, S. 213—231.
51. Kusama Y. e. a. J. Appl. Pol. Sci., 1976, v. 20, p. 1679—1688.
52. Dondos A. e. a. Makromol. Chem., 1974, Bd. 175, S. 1659—1631.
53. Kenyon A. S., Mottus E. H. J. Appl. Pol. Sci. Pol. Symp., 1974, v. 24, p. 57—67.
54. Ishizu K. e. a. Pol. J., 1975, v. 7, p. 570—576.
55. Lechermeier G. e. a. J. Appl. Pol. Sci., 1975, v. 19, p. 1979—1987, 1989—1998.
56. Anderson J. N. e. a. J. Appl. Pol. Sci., 1975, v. 19, p. 2255—2267; 2269—2277.
57. Otocka E. P. J. Chromat., 1973, v. 76, p. 149—157.
58. Kirkland J. J. Chrom. Sci., 1972, v. 10, p. 593—599.
59. Kirkland J. J. Chrom. Sci., 1971, v. 9, p. 206—211.
60. Park W. A. e. a. Pol. Eng. Sci., 1975, v. 15, p. 831—833.
61. Knox J. H., Parcher J. F. Anal. Chem., 1969, v. 41, p. 1599—1606.
62. Barlow A., Wild L., Roberts T. J. Chromat., 1971, v. 55, p. 155—164.
63. Waters J. L. J. Chromat. Sci., 1971, v. 9, p. 428—431.
64. Hertzog D. Chim. actual, 1973, № 1519, p. 44—48.
65. Saeda S. Кобунси Ронбунсу, 1974, v. 31 (6), p. 367—372.
66. Bombaygh K. J., Levangie R. F. J. Chromat. Sci., 1970, v. 8, 560—572.
67. Montague P. G., Peaker F. W. J. Pol. Sci., 1973, v. C43, p. 277—289.
68. Kato Y., Kametani K., Hashimoto T. J. Pol. Sci., 1975, v. 13, p. 1695—1703.
69. Heitz W., Ullner H. Makromol. Chem., 1968, Bd. 120, S. 58—67.
70. Scott R., Hucera P. J. Chromat., 1976, v. 119, p. 467—482.
71. Nakamura S. e. a. J. Chromat., 1973, v. 83, p. 279—288.
72. Heitz W. Preprint 5-th International Seminar on GPC. London, 1968. 380 p.
73. Grubisic Z. e. a. J. Pol. Sci. Pol. Phys. Ed., 1976, v. 14, p. 959—961.
74. Tung L. H. J. Appl. Pol. Sci., 1966, v. 10, p. 375—384.

Интерпретация данных гель-хроматографического анализа полимеров

V.1. Задачи интерпретации

Элюционные кривые, полученные в гель-проникающей хроматографии, содержат информацию о размерах молекул и полидисперсности исследуемых полимерных образцов. Наряду с этим простая связь, существующая внутри каждого гомологического ряда, между среднеквадратичным размером макромолекул $(\bar{R}^2)^{1/2}$ и их молекулярной массой M

$$(\bar{R}^2)^{1/2} = (K_{\eta}/\Phi)^{1/3} M^{(a+1)/3} \quad (V.1)$$

где K_{η} и a — константы Марка — Куна — Хаувинка; Φ — константа Флори

распространяет эту информацию также и на молекулярно-массовые характеристики полимеров — их ММР и средние молекулярные массы (СММ). Определение этих характеристик является одной из основных задач метода.

Проведению хроматографических экспериментов и последующей интерпретации их данных обычно предшествует ряд вспомогательных процедур, цель которых — определить эффективность хроматографической системы, воспроизводимость получаемых с ее помощью результатов, характер размывания в ней полимеров и присущую ей молекулярно-массовую зависимость

$$V_R = f_1(M) \quad (V.2)$$

связывающую значения удерживаемых объемов V_R полимергомологов с их молекулярной массой. Описанные процедуры называют калибровочными [1—3]. Они завершают подготовку хроматографа к аналитическим экспериментам. По их окончании можно хроматографировать исследуемые полимерные образцы и проводить интерпретацию получаемых результатов для определения соответствующих молекулярно-массовых распределений. Сложность интерпретаций заключается в том, что хроматограммы отражают не истинные распределения по молекулярным массам, а искаженные. Это связано с размыванием зон полимергомологов

75. Tung L. H., Runyon J. R. J. Appl. Pol. Sci., 1969, v. 13, p. 2397—2409.
76. Нефедов П. П. Канд. дис., Л., ИВС АН СССР, 1973.
77. Gilbert G. A. Discuss. Far. Soc., 1955, v. 20, p. 68—70.
78. Gilbert G. A., Jenkins P. C. L. Nature (London), 1956, v. 177, p. 853—854.
79. Gilbert G. A. Proc. Roy. Soc., 1959, v. A250, p. 377—388.
80. Gilbert G. A., Jenkins R. C. L. Proc. Roy. Soc., 1959, v. A253, p. 420—437.
81. Bethune J. L., Kegeles G. J. Phys. Chem., 1961, v. 65, p. 433—438.
82. Belford G. G., Belford R. L. J. Chem. Phys. 1962, v. 37, p. 1926—1932.
83. Brumbaugh E. E., Ackers G. K. J. Biol. Chem., 1968, v. 243, p. 6315—6324.
84. Cann J. R., Goad W. B. J. Biol. Chem., 1965, v. 240, p. 148—155.
85. Cann J. R., Goad W. B. Interacting Molecules. The theory and Practice of Their Electrophoresis, Ultracentrifugation and Chromatography. N. Y. — London, Acad. Press, 1970. 249 p.
86. Cann J. R. Arch. Biochem. Biophys., 1972, v. 153, p. 603—615.
87. Cann J. R. and Oates D. C. Biochemistry, 1973, v. 12, p. 1112—1119.
88. Cox D. J. Arch. Biochem. Biophys., 1965, v. 112, p. 249—258, 259—267; 1967, v. 119, p. 230—239; 1969, v. 129, p. 106—113; 1971, v. 142, p. 514—525.
89. Ackers G. K. Adv. in Protein Chemistry, 1970, v. 24, p. 343—443.
90. Zimmerman J. K., Ackers G. K. J. Biol. Chem., 1971, v. 246, p. 1078—1087.
91. Ackers G. K. Methods in Enzymol., 1973, P. D, v. 27, p. 441—455.
92. Glueckauf E., Patterson L. Biochim. Biophys. Acta, 1974, v. 351 (1), p. 57—76.
93. Shechter J. Anal. Biochem., 1974, v. 58 (1), p. 30—38.
94. Halvorson H. R., Ackers G. K. J. Biol. Chem., 1974, v. 249, p. 967—973.
95. Виленчик Л. З. и др. Биофизика, т. 22, вып. 4, с. 582—588.
96. Zimmerman J. K. «Biochemistry», 1974, v. 13 (2), p. 384—389.
97. Zimmerman J. K., Ackers G. K. Anal. Biochem., 1974, v. 57 (2), p. 578—588.
98. Zimmerman J. K. Biophys. Chem., 1975, v. 3, p. 339—344.
99. Casassa E. F. J. Pol. Sci., B, 1967, v. 5, p. 773—778.
100. Yay W. W. e. a. Sep. Sci., 1970, v. 5, p. 259—271.

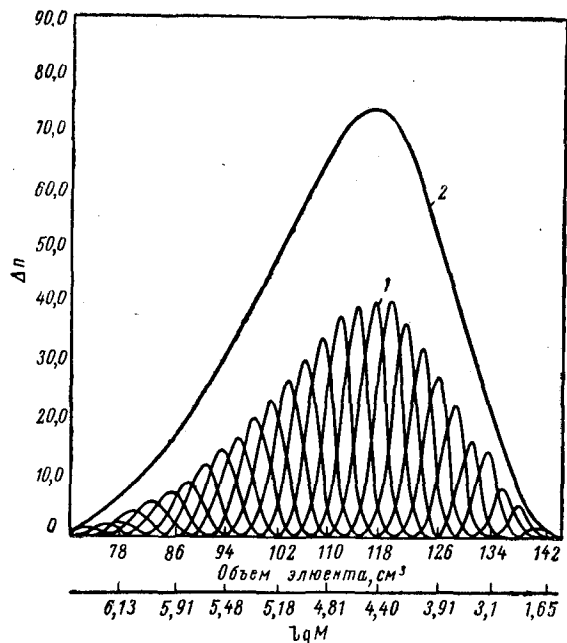


Рис. V.1. Хроматографический пик (2) полимерного образца как суперпозиция пиков (1), входящих в него полимергомологов.

в хроматографической системе, которое наряду с их непрерывным распределением по молекулярной массе не позволяет разделять образцы на отдельные компоненты при фракционировании (рис. V.4).

Для определения ММР прежде всего желательно ликвидировать это искажение или, как говорят, скорректировать хроматограмму на «приборное уширение», используя для этого его параметры, найденные при калибровочных процедурах. Полученная в результате такой коррекции хроматограмма в соответствии с калибровочной зависимостью (V.2) преобразуется затем в ММР заменой удерживаемых объемов на молекулярные массы. Из ММР, в свою очередь, по стандартной методике легко находят средние молекулярные массы и характеристики полидисперсности анализируемого полимерного образца.

V. 2. Уровни интерпретации

В зависимости от задач, стоящих перед исследователями, интерпретацию хроматографических данных проводят на различных уровнях точности (и сложности). Так, для промышленных целей чаще всего важно знать область средних молекулярных масс и полидисперсности полимера. При этом можно не корректировать

хроматограммы на «приборное уширение» и определять искомые характеристики полимера непосредственно из экспериментальных данных. Это самый грубый, но в то же время и самый простой уровень интерпретации. Он может быть легко и быстро осуществлен без привлечения электронно-вычислительной техники. Допускаемая при этом погрешность на 5—15% (в зависимости от полидисперсности полимера) превышает погрешность в определении этих характеристик с учетом «приборного уширения».

При установлении корреляции между некоторыми физико-химическими свойствами полимера и его молекулярно-массовыми характеристиками необходима более точная интерпретация хроматографических данных. В этом случае коррекция хроматограмм на «приборное уширение» становится обязательной. Проведение интерпретации существенно усложняется и требует привлечения ЭВМ. Однако и здесь различают два уровня точности (и сложности) коррекции. Дело в том, что при ее проведении приходится решать интегральное уравнение Фредгольма первого рода, ядро которого (его часто называют «функцией приборного уширения») описывает размывание зон полимергомологов в хроматографической системе. Аналитический вид этой функции *a priori* неизвестен, а асимптотические решения систем дифференциальных уравнений, описывающих хроматографический процесс, настолько громоздки, что использовать их для целей интерпретации экспериментальных данных неразумно. Поэтому, проводя коррекцию приборного уширения на «низшем уровне», в качестве ядра уравнения Фредгольма обычно используют функцию Гаусса, которая с точки зрения математики «очень удобна» в обращении, а с точки зрения хроматографии «достаточно близка» к истинной.

Интерпретация хроматограмм с учетом среднего приборного уширения при использовании функции Гаусса является вторым уровнем интерпретации, более высоким, чем первый, когда молекулярно-массовые характеристики определяются по нескорректированным хроматограммам. На втором уровне значения этих характеристик определяются на 5—10% точнее по сравнению с первым.

В прецизионных случаях, когда требуются предельно точные определения ММР и СММ полимеров, практикуется третий, самый высокий уровень интерпретации. На этом уровне учитывают степень несоответствия функции Гаусса истинной «функции уширения» и зависимость ее параметров от удерживаемого объема. Причиной этого несоответствия является главным образом асимметричность «приборного уширения» (или, как говорят, его скошенность — *skewing*). Учет скошенности и связанная с ней дополнительная коррекция средних молекулярных масс приводят к повышению точности в их определении еще на 3—5% по сравнению со вторым уровнем интерпретации. При этом следует подчеркнуть, что коррекция хроматограмм на асимметрию, проводимая на третьем уровне интерпретации, обычно не касается

молекулярно-массовых распределений, затрагивая только средние молекулярные массы.

В связи с этим известную привлекательность представляют попытки описать приборное уширение с помощью асимметричных функций, достаточно близких к истинной функции приборного уширения и в то же время имеющих несложный и удобный для расчетов аналитический вид. Поиск таких функций еще не завершен, но в случае его успеха можно будет говорить о четвертом, более точном, чем третий, уровне интерпретации данных хроматографического анализа.

В.3. Калибровочные зависимости в ГПХ

Из теории ГПХ известно, что коэффициент распределения гибкоцепных макромолекул определяется изменением их свободной энергии ΔF при попадании в поры сорбента:

$$Kd = \exp[-\Delta F/kT] \quad (V.3)$$

причем величину ΔF можно считать пропорциональной квадрату отношения среднеквадратичного радиуса инерции макромолекул $(\bar{R}^2)^{1/2}$ и радиуса пор данного сорбента r . Поскольку в ГПХ коэффициенты распределения малы ($Kd \leq 1$), от равенства (V.3) нетрудно перейти к выражению, связывающему удерживаемые объемы с размерами макромолекул, соизмеримыми с размерами пор сорбента:

$$V_R = \bar{C}_1 - \bar{C}_2 \lg(\bar{R}^2)^{1/2} \quad (V.4)$$

где \bar{C}_1 и \bar{C}_2 — калибровочные коэффициенты, характеризующие данную хроматографическую систему.

Соотношения (V.1) и (V.4) позволяют установить связь между удерживаемым объемом V_R и молекулярной массой M :

$$V_R = C_1 - C_2 \lg M \quad (V.5)$$

где $C_1 \equiv \bar{C}_1 - (\bar{C}_2/3) \lg(K_{\eta}/\Phi)$; $C_2 \equiv \bar{C}_2(a+1)/3$

Если ввести обозначения $D_1 \equiv 10^{C_1/C_2}$, $D_2 \equiv (\ln 10)/C_2$, то уравнение (V.5) можно переписать в виде

$$M = D_1 \exp(-D_2 V_R) \quad (V.5a)$$

Так как размеры макромолекул в растворе удобно задавать с помощью произведения молекулярной массы на характеристическую вязкость $(M[\eta])$, вместо выражения (V.4) можно записать

$$V_R = \bar{C}_1 - \bar{C}_2 \lg(M[\eta]) \quad (V.6)$$

где

$$\bar{C}_1 = \bar{C}_1 + (\bar{C}_2/3) \lg \Phi; \quad \bar{C}_2 = \bar{C}_2/3$$

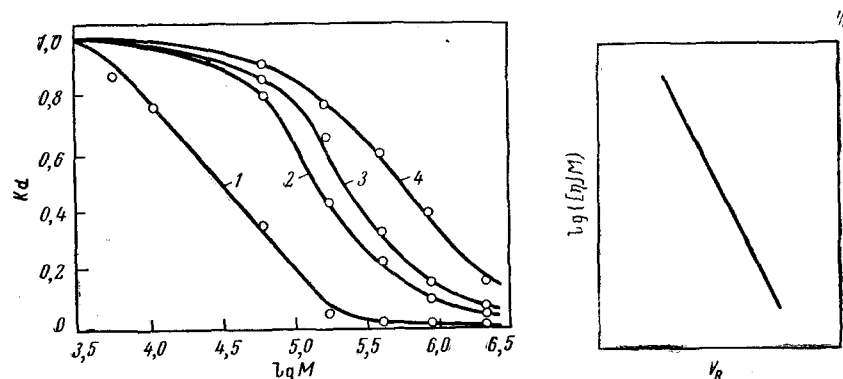


Рис. V.2. Экспериментальные зависимости коэффициента распределения от логарифма молекулярной массы полимера, полученные на колонках с макропористыми стеклами:

1 — $r = 12,5$ нм; 2 — $r = 35$ нм; 3 — $r = 50$ нм; 4 — $r = 80$ нм.

Рис. V.3. Универсальная линейная калибровочная зависимость Бенуа удерживаемых объемов от логарифма произведения $(M[\eta])$.

Вводя обозначения $\bar{B}_1 = 10^{\bar{C}_1/\bar{C}_2}$, $\bar{B}_2 = (\ln 10)/\bar{C}_2$, можно переписать уравнение (V.6) в виде

$$M[\eta] = \bar{B}_1 \exp(-\bar{B}_2 V_R) \quad (V.6a)$$

Линейная зависимость удерживаемых объемов от $\lg(R^2)^{1/2}$, $\lg M$ и $\lg(M[\eta])$, выражаемая зависимостями (V.4—V.6), перестает выполняться для макромолекул, средние размеры которых существенно отличаются от размеров пор сорбента. В частности, для молекул с $(\bar{R}_a^2)^{1/2} > r$ удерживаемые объемы предпочтительней связывать с молекулярной массой зависимостью

$$V_R = \bar{C}_1 M^{-\bar{C}_2} \quad (V.7)$$

которая в области $\bar{R}^2/r^2 > 1$ хорошо аппроксимирует экспоненту из (V.3). Соотношения (V.4—V.7) являются различными приближениями зависимости (V.3). О том как они выполняются в реальном эксперименте, можно судить по экспериментальным данным, на основании которых построены графики рис. V.2. При этом надо принять во внимание, что коэффициент распределения Kd связан с удерживаемым объемом V_R следующим образом:

$$Kd = (V_R - V_0)/V_p$$

где V_0 — объем подвижной фазы колонки; V_p — объем пор сорбента.

Зависимости (V.4—V.7) — калибровочные. Они градуируют хроматографическую систему, сопоставляя удерживаемые объемы

полимерных образцов с молекулярной массой или размером макромолекул. Калибровка (V.6) называется универсальной (рис. V.3). Ее коэффициенты \bar{C}_1 , \bar{C}_2 , являясь функциями размеров макромолекул и параметров хроматографической системы, одинаковы для всех пар полимер — растворитель. В отличие от них коэффициенты зависимостей (V.4—V.5a) и (V.7) меняются при переходе от одного полимера к другому, а также при смене растворителя. Это понятно, поскольку эти выражения связывают V_R с M , а соотношение между молекулярной массой и размером макромолекул разное для разных пар полимер — растворитель. Оно зависит от таких параметров опыта, как, например, температура и концентрация. Поэтому при смене условий опыта, переходе к другому растворителю или другому полимеру, нужно вновь отыскивать константы зависимостей (V.4, V.5 и V.7). Это можно сделать с помощью дополнительных калибровочных экспериментов или путем перерасчета зависимости (V.5). Например, если известна универсальная калибровка (V.6), ее можно трансформировать в (V.5). Это осуществляется следующим образом. С помощью уравнения Марка — Куна — Хаувинка [4] от выражения (V.6) легко перейти к зависимости (V.5), если известны параметры a и K_η этого уравнения.

Для линейных гибкоцепных полимеров

$$M[\eta] = K_\eta M^{a+1} \quad (V.8)$$

$$V_R = \bar{C}_1 - \bar{C}_2 \lg(K_\eta M^{a+1}) = C_1 - C_2 \lg M$$

где

$$C_1 = \bar{C}_1 - \bar{C}_2 \lg K_\eta \quad C_2 = \bar{C}_2(a+1) \quad (V.9a)$$

В свою очередь, константы \bar{C}_1 и \bar{C}_2 универсальной калибровки (V.6) выражаются через коэффициенты C_1 и C_2 следующим образом:

$$\bar{C}_1 = C_1 + C_2 \lg K_\eta / (a+1) \quad \bar{C}_2 = C_2 / (a+1) \quad (V.9b)$$

Поэтому если на данной хроматографической колонке для какого-либо линейного гибкоцепного полимера была найдена зависимость (V.5), то для любого другого аналогичного полимера можно рассчитать зависимость этого типа, используя равенства (V.9a) и (V.9b):

$$\left. \begin{aligned} C'_1 &= \bar{C}_1 - \bar{C}_2 \lg K'_\eta = C_1 + C_2 \lg K_\eta / (a+1) - C_2 \lg K'_\eta / (a+1) \\ C'_1 &= C_1 + C_2 \lg (K_\eta / K'_\eta) / (a+1) \\ C'_2 &= \bar{C}_2 (a'+1) = C_2 (a'+1) / (a+1) \end{aligned} \right\} \quad (V.9c)$$

здесь штрихом помечены константы уравнения Марка — Куна — Хаувинка и коэффициенты калибровочной зависимости (V.5) для нового полимера (новой пары полимер — растворитель).

Таким образом, соотношения (V.9a) позволяют перейти от универсальной калибровки (V.6) к калибровке по молекулярной массе (V.5). Равенства (V.9b) осуществляют обратный переход от (V.5) к (V.6). И, наконец, уравнения (V.9c) дают возможность рассчитать калибровочную зависимость (V.5) на данной хроматографической колонке для любой из возможных пар полимер — растворитель, если эта зависимость известна для какой-либо одной из них*.

Следует отметить, что область молекулярных масс, в которой для данной хроматографической колонки справедлива формулы (V.5) или (V.6), является привилегированной. Здесь ГПХ-анализ особенно эффективен, а корректность формул (V.5) и (V.6) может служить критерием выбора колонки для исследования данного полимера.

V. 4. Калибровка хроматографа

Хроматограмма полимерного образца формируется под воздействием его молекулярно-массового распределения и размывания, связанного с хроматографическим процессом и экстраколочными эффектами. Поэтому при калибровке хроматографа возникает естественный вопрос о том, какие значения молекулярных масс и удерживаемых объемов соответствуют друг другу. Оказывается, что ответ на него различен для образцов с разными молекулярными массами и является наиболее простым при использовании узкодисперсных полимерных стандартов с ММР, близким к логарифмически нормальному (рис. V.4):

$$W(M) = \frac{1}{V \sqrt{2\pi} \sigma_M M} \exp \left[-\frac{(\ln M - \tilde{\mu})^2}{2\sigma_M^2} \right] \quad (V.10)$$

Параметры $\tilde{\mu} = \overline{\ln M}$ и σ_M^2 распределения (V.10) легко выражаются через среднемассовую и среднечисленную молекулярные массы полимера:

$$M_w = \int_0^\infty MW(M) dM = \exp \left[\tilde{\mu} + \sigma_M^2 / 2 \right] \quad (V.11)$$

$$M_n = \left[\int_0^\infty M^{-1} W(M) dM \right]^{-1} = \exp \left(\tilde{\mu} - \sigma_M^2 / 2 \right) \quad (V.12)$$

Перемножая почленно выражения (V.11) и (V.12) и затем логарифмируя, получим

$$\tilde{\mu} = \frac{1}{2} \ln (M_w \cdot M_n) \quad (V.13)$$

* Аналогичными рассмотренным зависимостям (V.5—V.7) являются калибровочные соотношения, связывающие удерживаемые объемы с длиной транс-цепи L или степенью полимеризации P полимерного образца.

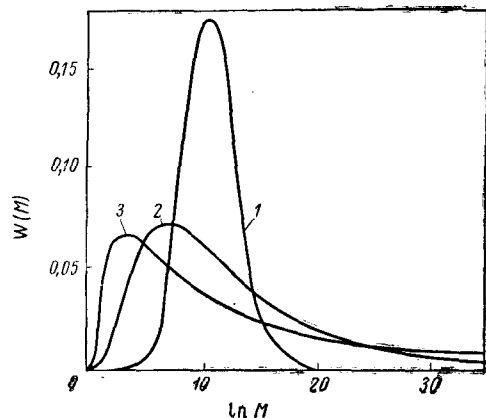


Рис. V.4. Логарифмически нормальное молекулярно-массовое распределение:
1 — $\sigma = 0,1$; 2 — $\sigma = 0,3$; 3 — $\sigma = 0,5$.

а подставляя (V.13) в (V.11) или (V.12), найдем

$$\sigma_M^2 = \ln(M_w/M_n) \quad (V.14)$$

С помощью калибровки (V.5) легко получить связь удерживаемого объема V_R , соответствующего первому моменту хроматограммы $F(V)$ с M_w и M_n :

$$V_R = \int_{V_1}^{V_2} VF(V) dV = \int_{M_1}^{M_2} (C_1 - C_2 \lg M) W(M) dM = C_1 - C_2 \mu \quad (V.15)$$

где переменная интегрирования V в первом интеграле — удерживаемый объем, изменяющийся (в пределах хроматограммы F) от V_1 до V_2 .

Отсюда, для образцов с ММР вида (V.10) находим, учитывая (V.13):

$$V_R = C_1 - C_2 \ln \sqrt{M_w \cdot M_n}$$

Узкодисперсные полимерные стандарты, обычно используемые в калибровочных экспериментах, при линейной калибровке дают хроматографические пики, близкие к гауссовым. Поэтому их ММР можно приближенно рассматривать как логарифмически нормальные и связывать удерживаемые объемы, соответствующие максимумам их хроматограмм, с молекулярными массами, равными $\sqrt{M_w \cdot M_n}$ [5]. На этом основании Мур в 1961 г. впервые построил зависимость (V.5) [1], Мейергоф в 1965 г. — зависимость (V.7) [3], а Бенуа в 1966 г. — зависимость (V.6) [2]. Следует еще раз подчеркнуть, что эти зависимости являются приближенными и вытекают из точного соотношения (V.3) или подобного ему

$$Kd = \exp(-kM) \quad (V.16)$$

где k — коэффициент пропорциональности.

V.4.1. Калибровка по узким стандартам

При наличии узких стандартов (с полидисперсностью $d = M_w/M_n \ll 1,1$) калибровку хроматографа осуществляют следующим образом. Прежде всего выбирают набор стандартов, перекрывающий всю область молекулярных масс, которые можно измерить на данной колонке. При работе с системой колонок этот набор соответственно расширяется. Для повышения точности калибровки желательно каждый стандарт пропустить через колонки несколько раз (2—3 раза) и обработать полученные результаты одним из аппроксимационных методов, например методом наименьших квадратов, отыскивая зависимость удерживаемых объемов (соответствующих максимумам пиков) от логарифма молекулярной массы $V_R = f(\lg M)$. Для одной рационально выбранной колонки эта зависимость должна быть линейной. В случае нескольких колонок, различающихся по размерам пор наполняющего их сорбента, она является суперпозицией зависимостей (V.5) и (V.7) для отдельных колонок и поэтому может оказаться нелинейной. Тогда ее удобно аппроксимировать многочленами вида

$$V_R = \sum_{i=0}^n C_i (\lg M)^i \quad (V.17)$$

или

$$\lg M = \sum_{k=0}^n B_k V_R^k \quad (V.18)$$

где C_i и B_k — калибровочные коэффициенты.

Для определения характера этой нелинейности последовательно перебирают степени аппроксимирующих многочленов (от первой до третьей, четвертой или пятой и т. д.), останавливаясь на той, которая обеспечивает наилучшую аппроксимацию. Удобнее всего эту процедуру проводить с помощью ЭВМ. Измерив в данном растворителе для каждого стандарта характеристические вязкости $[\eta]$ (при тех же температурных условиях, при которых проводилась калибровка по молекулярной массе), легко построить универсальную зависимость удерживаемых объемов от логарифма произведения $M[\eta]$. Эта зависимость, как и молекулярно-массовая, может оказаться и линейной, и нелинейной. В зависимости от этого определится и степень аппроксимирующего ее полинома

$$V_R = \sum_{i=0}^n \bar{C}_i [\lg(M[\eta])]^i \quad (V.19)$$

$$\lg(M[\eta]) = \sum_{k=0}^n \bar{B}_k V_R^k \quad (V.20)$$

где \bar{B}_k и \bar{C}_i — калибровочные коэффициенты.

У. 4.2. Калибровка по широким стандартам с известным ММР

Калибровку хроматографа часто осуществляют с помощью широких стандартов с известными молекулярно-массовыми распределениями. В этом случае по хроматограмме стандарта строится интегральная хроматограмма, т. е. зависимость $F_I(V)$, показывающая долю полимера, вышедшего из хроматографа с данным удерживаемым объемом:

$$F_I(V_R) = \int_0^{V_R} F(V) dV \Big/ \int_0^{\infty} F(V) dV \quad (\text{V.21})$$

Затем функция $F_I(V_R)$ сравнивается с интегральным ММР стандарта $W_I(M)$. Пары величин V_R и M , соответствующие одинаковым значениям функций F_I и W_I , выписывают. Для каждого M находят его логарифм и методом наименьших квадратов отыскивают зависимость $V_R = f_1(\lg M)$ (рис. V.5).

В отсутствие калибровочных стандартов для отыскания молекулярно-массовой зависимости на ненабухающих сорбентах с узким распределением по размерам пор можно воспользоваться данными их ртутной порометрии и зависимостью Kd от $(\bar{R}^2)^{1/2}$, изображенной на рис. IV.33.

Калибровочные зависимости можно рассматривать как характеристики эффективности хроматографических систем. Например, для зависимости (V.17) чем больше угол наклона к оси $\lg M$, тем эффективнее система в данном интервале молекулярных масс. Это позволяет подбирать хроматографические колонки таким образом,

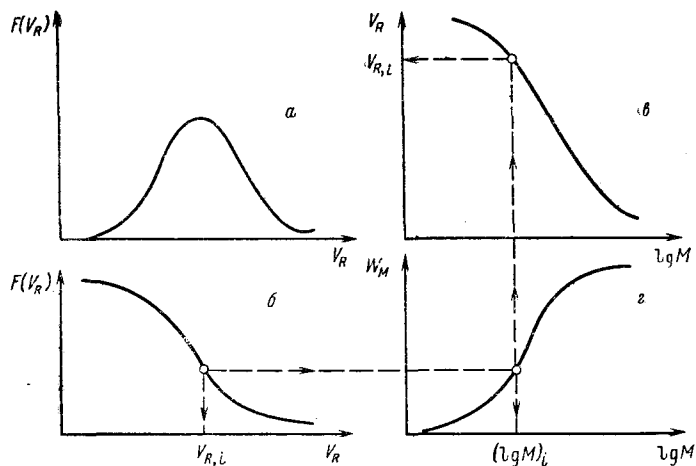


Рис. V.5. Схема калибровки хроматографа по «широкому» полимерному образцу с известным интегральным молекулярно-массовым распределением: а — хроматограмма; б — интегральная хроматограмма; в — интегральное ММР; г — искомая калибровочная зависимость.

чтобы обеспечить достаточную эффективность при анализе каждого конкретного полимера. Так, например, на колонке со средним размером пор $\bar{r} = 6$ нм хорошо делятся макромолекулы в диапазоне молекулярных масс от 10 000 до 100 000. На колонке с $\bar{r} = 13$ нм область высокого разрешения сдвигается в сторону более высоких M : от 100 000 до 300 000. При $\bar{r} = 60$ нм хорошо делятся полимеры в диапазоне M 300 000—800 000. И, наконец, при $\bar{r} = 150$ нм наибольшая эффективность имеет место при разделении полимеров с M от 800 000 до нескольких миллионов. Объединение этих колонок в одну хроматографическую систему позволяет добиваться высокого разрешения в широком интервале молекулярных масс — от нескольких тысяч до нескольких миллионов, а разумным комбинированием числа этих колонок можно прийти к линейной калибровочной зависимости.

У. 5. Определение калибровочной зависимости с помощью линейных полидисперсных полимерных образцов с известными значениями среднемассовых и среднечисленных характеристик

На практике нередко встречаются случаи, когда колонки не откалиброваны, калибровочные стандарты отсутствуют, однако имеется возможность измерения одной из средних характеристик анализируемых образцов, например характеристической вязкости или какой-нибудь из средних молекулярных масс. Тогда отыскание калибровочной зависимости сводится к следующему. Для нескольких образцов полимергомологов измеряют средние характеристические вязкости $\langle [\eta]_i \rangle$ и составляют систему уравнений:

$$\langle [\eta]_i \rangle = \frac{1}{S_i} \int_{V_H}^{V_K} [\eta]_i(V) F_i(V) dV \quad (\text{V.22})$$

где i — номер образца, $i = 1, 2, \dots, m$.

Предполагается, что в нужном диапазоне молекулярных масс для данной системы колонок справедлива линейная калибровочная зависимость (V.5a). Тогда на основании (V.8) и (V.22) можно записать

$$\langle [\eta]_i \rangle = \frac{1}{S_i} K_{\eta} D_1^a \int_{V_H}^{V_K} \exp(-D_2 a V) F_i(V) dV \quad S_i \equiv \int_{V_H}^{V_K} F_i(V) dV \quad (\text{V.23})$$

$$i = 1, 2, \dots, m.$$

Систему уравнений (V.23) при известных значениях констант K_{η} и a надо разрешить относительно коэффициентов D_1 и D_2

калибровочной зависимости (V.5a). Очевидно, что для этого достаточно двух измерений характеристической вязкости ($i = 1, 2$). С целью повышения точности расчетов следует определить значения $\langle [\eta]_i \rangle$ возможно большего числа образцов и составить квадраты разностей левых и правых частей уравнений (V.23)

$$\left\{ \langle [\eta]_i \rangle - \frac{1}{S_i} K_{\eta} D_1^a \int_{V_H}^{V_K} \exp(-D_2 a V) F_i(V) dV \right\}^2 = \varepsilon_i(D_1, D_2) \quad (V.24)$$

Все значения $\varepsilon_i(D_1, D_2)$ затем суммируют и отыскивают значения параметров D_1 и D_2 , при которых эта сумма становится минимальной, т. е. все сводится к задаче отыскания экстремума функции двух переменных:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial}{\partial D_1} \sum_{i=1}^m \varepsilon_i(D_1, D_2) &= 0 \\ \frac{\partial}{\partial D_2} \sum_{i=1}^m \varepsilon_i(D_1, D_2) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (V.25)$$

Решение системы уравнений (V.25) дает значения D_1 и D_2 , средние для всех промеренных образцов.

Однако значения D_1 и D_2 , полученные таким образом, требуют проверки, так как при их определении было сделано допущение о линейном характере калибровочной зависимости. Для проверки найденные значения D_1 и D_2 подставляют в правые части каждого из уравнений системы (V.23). Интегралы, стоящие в правых частях этих уравнений, вычисляют и результаты сравнивают со значениями $\langle [\eta]_i \rangle$, определенными с помощью вискозиметра. Если расхождение находится в пределах допустимой погрешности, то найденную калибровку следует признать удовлетворительной. В противном случае надо допустить нелинейность калибровочной зависимости и аппроксимировать ее многочленом типа (V.18), считая его степень равной 2. Обозначим $V_R = V$. Тогда

$$\lg M = B_0 + B_1 V + B_2 V^2$$

Отсюда

$$M = \exp[(B_0 + B_1 V + B_2 V^2) \ln 10]$$

И вместо системы (V.23) получим

$$\langle [\eta]_i \rangle = \frac{1}{S_i} K_{\eta} \exp(a B_0 \ln 10) \int_{V_H}^{V_K} \exp[a(B_1 V + B_2 V^2) \ln 10] F_i(V) dV \quad (V.26)$$

$i = 1, 2, \dots, m.$

Видно, что теперь число искоемых параметров увеличилось до трех и уже нельзя ограничиться измерениями характери-

ческой вязкости менее чем для трех образцов. Отыскав по одной из описанных альтернативных схем значения калибровочных коэффициентов B_0, B_1 и B_2 , надо с их помощью рассчитать средние значения $\langle [\eta]_i \rangle$ исследуемых образцов и сравнить их с теми значениями, которые получены на вискозиметре. При удовлетворительном результате найденную калибровку можно рассматривать как «истинную». В противном случае надо увеличить степень многочлена (V.18) на единицу и отыскать новую группу параметров B_i и т. д. Если при этом пользоваться вторым альтернативным способом, то задача сведется к отысканию экстремума функции (V.24), которая теперь будет зависеть более чем от двух переменных.

Кроме характеристической вязкости для определения параметров калибровочной зависимости могут быть также использованы средние молекулярные массы образцов. Например, пусть имеется возможность с помощью светорассеяния измерить значения среднемассовых молекулярных масс $M_{w,i}$ у m анализируемых образцов. Тогда, составляя систему уравнений, аналогичную (V.23), получим возможность определить параметры калибровки:

$$M_{w,i} = \frac{1}{S_i} \int_{V_H}^{V_K} M(V) F_i(V) dV = \int_{M_1}^{M_2} MW(M) dM \left/ \int_0^{\infty} W(M) dM \right.$$

$$M = \exp \left[\sum_{k=0}^n B_k V^k \ln 10 \right]$$

$$M_{w,i} = \frac{1}{S_i} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[(\ln 10) \sum_{k=0}^n B_k V^k \right] F_i(V) dV \quad (V.27)$$

$i = 1, 2, 3, \dots, m; \quad k = 0, 1, 2, \dots, n.$

где $W(M)$ — дифференциальная среднемассовая функция распределения; i — номер образца; k — степень калибровочного многочлена.

Для определения параметров B_k следует решить задачу отыскания минимума функции $\sum_{i=1}^m \delta_i(B_1, B_2, \dots, B_k, \dots, B_n)$:

$$\left. \begin{aligned} \delta_i(\dots B_k \dots) &= \\ &= \left\{ M_{w,i} - \frac{1}{S_i} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[(\ln 10) \sum_{k=0}^n B_k V^k \right] F_i(V) dV \right\}^2 \\ \frac{\partial}{\partial B_k} \sum_{i=1}^m \delta_i(\dots B_k \dots) &= 0 \quad k = 0, 1, \dots, n \end{aligned} \right\} \quad (V.28)$$

Аналогичным образом можно определить калибровочную зависимость, располагая значениями среднечисленных молекулярных масс*:

$$M_{n,i} = S_i \left[\int_{V_H}^{V_K} M^{-1}(V) F(V) dV \right]^{-1} = S_i \left\{ \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[-(\ln 10) \sum_{k=0}^n B_k V^k \right] F_i(V) dV \right\}^{-1} \quad (\text{V.27a})$$

В этом случае для определения параметров B_k отыскивается минимум функции $\sum_{i=1}^m \gamma_i(B_1, \dots, B_k, \dots, B_n)$:

$$\left. \begin{aligned} \gamma_i(\dots B_k \dots) &= \left\{ M_{n,i} - S_i \left[\int_{V_H}^{V_K} \exp \left(-\ln 10 \sum_{k=0}^n B_k V^k \right) F_i(V) dV \right]^{-1} \right\}^2 \\ \frac{\partial}{\partial B_k} \sum_{i=1}^m \gamma_i(\dots B_k \dots) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (\text{V.29})$$

И, наконец, имея возможность охарактеризовать образцы по значениям их M_w , M_n и $\langle [\eta] \rangle$, целесообразно для отыскания параметров калибровки искать минимум функции $\sum_{i=1}^m \varkappa_i(B_1, \dots, B_k, \dots, B_n)$:

$$\left. \begin{aligned} \varkappa_i(\dots B_k \dots) &= \varepsilon_i(\dots B_k \dots) + \delta_i(\dots B_k \dots) + \gamma_i(\dots B_k \dots) \\ \frac{\partial}{\partial B_k} \sum_{i=1}^m \varkappa_i(\dots B_k \dots) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (\text{V.30})$$

С помощью формул (V.9a—V.9e) найденную калибровку можно затем использовать для интерпретации хроматограмм полимеров из других гомологических рядов.

V. 6. Определение констант a и K_η уравнения Марка — Куна — Хаувинка по данным ГПХ-эксперимента

Гель-проникающая хроматография может быть использована для определения степени набухания полимеров в растворе и формы

$$* M_{n,i} = \left[\int_{M_1}^{M_2} M^{-1} W(M) dM \right]^{-1} \int_0^\infty W(M) dM$$

их макромолекул. Эти свойства в известной степени характеризуются константами a и K_η из уравнения Марка — Куна — Хаувинка:

$$[\eta] = K_\eta M^a$$

ГПХ позволяет определять эти константы следующим образом. Пусть калибровочная зависимость данной хроматографической системы для исследуемой пары полимер — растворитель имеет вид (V.18). Тогда для средней характеристической вязкости каждого из анализируемых образцов справедливо выражение

$$\langle [\eta]_i \rangle = \frac{1}{S_i} K_\eta \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[(\ln 10) \sum_{k=0}^n a B_k V^k \right] F_i(V) dV \quad (\text{V.31})$$

$$i = 1, 2, \dots, m.$$

Измеряя с помощью вискозиметра для каждого образца значение $\langle [\eta]_i \rangle$ и на основе (V.31) составляя разность $\tilde{\varepsilon}_i(K_\eta, a)$ типа (V.24), нужно затем решить задачу отыскания минимума функции двух переменных $\sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i(K_\eta, a)$

$$\left. \begin{aligned} \tilde{\varepsilon}_i(K_\eta, a) &= \left\{ \langle [\eta]_i \rangle - \frac{1}{S_i} K_\eta \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[(\ln 10) \sum_{k=0}^n a B_k V^k \right] F_i(V) dV \right\}^2 \\ \frac{\partial}{\partial K_\eta} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i(K_\eta, a) &= 0 \\ \frac{\partial}{\partial a} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i(K_\eta, a) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (\text{V.32})$$

Отличие от задач предыдущего параграфа в том, что переменные здесь другие — это искомые константы K_η и a данной системы полимер — растворитель.

Следует отметить, что располагая несколькими десятками (30—50) полимерных образцов одного и того же гомологического ряда, можно достаточно точно определить константы a и K_η и параметры калибровки B_k , если и те, и другие заранее неизвестны. Для этого $\tilde{\varepsilon}_i$ в (V.32) должны рассматриваться как функции $(3+n)$

переменных, в число которых входят a , K_η и B_k , а задача на экстремум выглядит так:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial}{\partial K_\eta} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i (K_\eta, a, \dots, B_k \dots) &= 0 \\ \frac{\partial}{\partial a} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i (K_\eta, a, \dots, B_k \dots) &= 0 \\ \dots \dots \dots \dots \dots \dots \dots \dots \dots \dots \\ \frac{\partial}{\partial B_k} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i (K_\eta, a, \dots, B_k \dots) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (V.33)$$

Если возможно определить независимым от ГПХ методом средние молекулярные массы M_w и M_n нескольких образцов, то задачу отыскания параметров K_η , a и B_k удобно решать в два этапа. На первом этапе по схеме (V.30) находят значения калибровочных коэффициентов B_k , а на втором — по схеме (V.32) — K_η и a . При этом в схеме (V.30) функции $\tilde{\varepsilon}_i$ должны быть определены без ε_i . Обозначим их $\tilde{\varepsilon}_i$:

$$\left. \begin{aligned} \tilde{\varepsilon}_i (\dots B_k \dots) &= \delta_i (\dots B_k \dots) + \gamma_i (\dots B_k \dots) \\ \frac{\partial}{\partial B_k} \sum_{i=1}^m \tilde{\varepsilon}_i (\dots B_k \dots) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (V.34)$$

Полезно также рассмотреть случай, когда хроматографическая система охарактеризована не молекулярно-массовой (V.5, V.17, V.18), а универсальной калибровочной зависимостью. Вне зависимости от ее типа (V.6, V.19, V.20) обозначим ее в общем виде:

$$\ln (M [\eta]) = f(V) \quad (V.35)$$

С помощью уравнения Марка — Куна — Хаувинка характеристическую вязкость полимеромологов можно выразить как функцию гидродинамического размера их макромолекул [т. е. как функцию произведения ($M [\eta]$):

$$[\eta] = K_\eta^{1/(a+1)} ([\eta] M)^{a/(a+1)} \quad (V.36)$$

Воспользовавшись калибровкой (V.35), получим из (V.36)

$$[\eta] = K_\eta^{1/(a+1)} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] \quad (V.37)$$

В результате для среднего значения характеристической вязкости i -го образца вместо выражения (V.31) будем иметь

$$\langle [\eta]_i \rangle = \frac{1}{S_i} K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] F_i (V) dV \quad (V.38)$$

где $f(V)$ задана в виде (V.6), (V.19) или (V.20).

Дальнейшая процедура определения K_η и a сводится либо к решению относительно K_η и a системы из двух уравнений (V.38), когда $i = 2$, либо (когда $i \gg 2$) к отысканию минимума функции двух переменных по схеме (V.32) с предварительной заменой уравнения (V.31) уравнением (V.38).

После отыскания констант a и K_η легко найти калибровку хроматографа по молекулярной массе:

$$\ln M = \frac{\ln [\eta]}{a} - \frac{\ln K_\eta}{a} = \frac{f(V)}{a} - \frac{\ln M}{a} - \frac{\ln K_\eta}{a}$$

Откуда

$$\ln M = \frac{1}{a+1} f(V) - \frac{1}{a+1} \ln K_\eta$$

или

$$\lg M = \frac{\lg e}{a+1} f(V) - \frac{1}{a+1} \lg K_\eta \equiv \varphi(V) \quad (V.39)$$

Теперь по одной из стандартных схем, описанных в разделах V.7 или V.8, легко найти молекулярно-массовые распределения и средние молекулярные массы образцов.

Наличие универсальной калибровки (V.35) позволяет определять константы a и K_η , располагая лишь одним полимерным образцом. Для этой цели достаточно снять его хроматограмму и определить независимыми методами какие-либо две из трех его средних характеристик: $\langle [\eta] \rangle$, M_w , M_n . Знание их позволяет записать следующую систему уравнений:

$$\left. \begin{aligned} \langle [\eta] \rangle &= \frac{1}{S} K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_w &= \frac{1}{S} K_\eta^{-1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_n^{-1} &= \frac{1}{S} K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[-\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \end{aligned} \right\} \quad (V.40)$$

В левых частях уравнений этой системы стоят величины, найденные по данным вискозиметрии, светорассеяния и осмометрии, а в правой — по данным хроматографического эксперимента с использованием хроматограммы образца и параметров универсальной калибровки. Очевидно, что совместное рассмотрение любых двух уравнений системы (V.40) позволяет определить константы K_η и a анализируемого полимера. Затем, воспользовавшись уравнением (V.39), можно найти калибровку хроматографа по молекулярной массе и с ее помощью рассчитать функции молекулярно-массовых распределений образца и его средние молекулярные массы.

Для определения K_η и a целесообразно также одновременно рассмотреть все три уравнения системы (V.40), если, конечно, имеется возможность измерения и $\langle [\eta] \rangle$, и M_w , и M_n . Составляя разности ε , δ и γ и отыскивая минимум их суммы κ , можно по схеме, аналогичной (V.30), найти K_η и a :

$$\left. \begin{aligned} \varepsilon(K_\eta, a) &= \left\{ \langle [\eta] \rangle - \frac{1}{S} K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \right\}^2 \\ \delta(K_\eta, a) &= \left\{ M_w - \frac{1}{S} K_\eta^{-1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \right\}^2 \\ \gamma(K_\eta, a) &= \left\{ M_n^{-1} - \frac{1}{S} K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[-\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \right\}^2 \end{aligned} \right\} \quad (V.41)$$

$$\left. \begin{aligned} \kappa(K_\eta, a) &= \varepsilon(K_\eta, a) + \delta(K_\eta, a) + \gamma(K_\eta, a) \\ \frac{\partial}{\partial K_\eta} \kappa(K_\eta, a) &= 0 \\ \frac{\partial}{\partial a} \kappa(K_\eta, a) &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (V.42)$$

Системы (V.41, V.42) позволяют найти значения K_η и a с большей точностью, чем при решении какой-либо пары уравнений системы (V.40). Точность здесь повышается за счет усреднения данных всех трех независимых методов: вискозиметрии, светорассеяния и осмометрии.

V.7. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров без коррекции хроматографических данных на «приборное уширение» [первый уровень интерпретации]

На промышленных предприятиях, связанных с производством полимеров, необходимо следить, чтобы молекулярно-массовые характеристики получаемого полимера не отклонялись от некоторого стандарта более чем на 20—30%. Наиболее быстрым, простым и надежным методом такого контроля является гелепроникающая хроматография. В этом методе распределение анализируемого вещества на выходе из хроматографической системы

определяется как функция удерживаемых объемов $V_R \equiv V$ с помощью хроматограммы $F(V)$. Поскольку в основе записи хроматограмм лежит чувствительность детектора к концентрации хроматографируемого вещества, площадь какого-либо участка хроматограммы отражает количество полимера в растворе, а частное от деления площади этого участка на площадь, занимаемую всей хроматограммой, дает массовую долю полимера, прошедшего через детектор в рассматриваемом диапазоне удерживаемых объемов. Поэтому среднемассовая дифференциальная функция распределения по молекулярным массам может быть получена из $F(V)$ заменой удерживаемых объемов V на M в соответствии с молекулярно-массовой зависимостью (V.2), характерной для данного хроматографа. Учитывая закон сохранения вещества

$$F(V) dV = W(M) dM \quad (V.43)$$

получим

$$W(M) = F[f_1(M)] \left| \frac{df_1(M)}{dM} \right| \quad (V.44)$$

где производную от удерживаемого объема по молекулярной массе следует во всех случаях брать с положительным знаком. В случае линейной калибровочной зависимости (V.5) для получения ММР ординаты хроматограмм надо разделить на значения молекулярных масс, соответствующих удерживаемым объемам, и умножить на постоянный множитель $C_2 \lg e$

$$W(M) = F(V) C_2 \lg e / M \quad (V.45)$$

где C_2 — один из коэффициентов калибровочной зависимости (V.2).

Схематически эта процедура показана на рис. V.6.

Непосредственно из хроматограмм могут быть найдены и средние молекулярные массы M_w , M_n , M_z :

$$M_w = \int M(V) F(V) dV / \int F(V) dV$$

$$M_n = \int F(V) dV / \int M^{-1}(V) F(V) dV$$

$$M_z = \int M^2(V) F(V) dV / \int M(V) F(V) dV$$

Или в общем случае

$$M_{z+n} = \int M^{2+n}(V) F(V) dV / \int M^{1+n}(V) F(V) dV \quad (V.46)$$

$$n = -2, -1, 0, 1, 2, 3, \dots$$

При $n = -1$ уравнение (V.46) определяет M_w , при $n = -2$ — M_n , при $n = 0$ — M_z .

Например, в случае калибровочной зависимости (V.6a) из (V.46) имеем:

$$M_{z+n} = \frac{D_1 \int_{V_H}^{V_K} \exp[-(2+n) D_2 V] F(V) dV}{\int_{V_H}^{V_K} \exp[-(1+n) D_2 V] F(V) dV} \quad (V.46a)$$

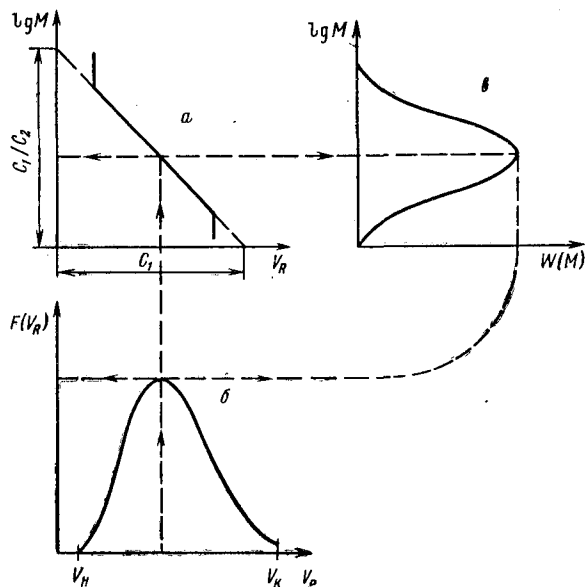


Рис. 5.6. Схема интерпретации хроматограмм полимеров в молекулярно-массовые распределения с помощью калибровки Мура (V.5): а — калибровочная зависимость; б — хроматограмма; в — ММР.

В общем случае, когда связь (V.2) удерживаемых объемов с логарифмом молекулярной массы нелинейна, пересчет хроматограмм для определения ММР при калибровочной зависимости (V.17) осуществляется по формуле

$$W(M) = F[V(M)] \left| \sum_{i=0}^n i C_i \frac{\lg e}{M} (\lg M)^{i-1} \right| \quad (V.47)$$

а при зависимости (V.18) по формуле:

$$W(M) = F[V(M)] \left| \sum_{k=0}^n (k B_k (\ln 10) [V(M)]^{k-1} M \right|^{-1} \quad (V.48)$$

Как видно, для получения ММР удобнее пользоваться калибровкой (V.17), а для расчета средних молекулярных масс — калибровкой (V.18). Степень многочленов (V.17, V.18) обычно не выше пятой, чаще всего для учета нелинейной связи между $\lg M$ и V_R достаточно ограничиться третьей степенью.

Процедуру обработки экспериментальных данных для определения ММР и СММ полимеров целесообразно проводить с помощью ЭВМ. Это обеспечивает высокую точность интерпретации и ее быстроту.

V.8. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров с учетом «приборного уширения», описываемого функцией Гаусса [второй уровень интерпретации]

В гель-проникающей хроматографии раствор исследуемого вещества обычно вводят в хроматографическую систему в виде узкой зоны, которую условно можно описать дельта-функцией:

$$\delta(x - \bar{x}(t)) \quad [\bar{x}(0) = 0]$$

В процессе хроматографирования эта зона размывается и для ее последующего описания уже надо пользоваться некоторой «размазанной» функцией $f(x)$, полученной применением к $\delta(x - \bar{x}(t))$ интегрального оператора \mathcal{H}

$$f(x) = \mathcal{H} \delta(x - \bar{x}(t)) = \int \delta(x - \bar{x}(t)) G(x, x') dx' \equiv G(x, \bar{x}(t)) \quad (V.49)$$

ядро $G(x, x')$ которого характеризует размывание. В основе размывания, с одной стороны, лежит естественное для ГПХ разделение молекул по их размерам, а с другой — статистический характер хроматографического процесса на всех его стадиях от массообмена между фазами до гидродинамического перемешивания вещества при движении вдоль колонок. Кроме того, не следует забывать размывание во внеколоночных коммуникациях хроматографа: блоках ввода и вывода раствора, насосах, соединительных капиллярах. Под влиянием этих процессов и формируются хроматограммы полимерных образцов. Процесс разделения полимергомологов по размерам их молекул желателен, остальные процессы — нежелательны. Их следует по возможности ограничивать, а при интерпретации хроматограмм — учитывать. Под влиянием первого процесса смеси полимергомологов разделяются в хроматографической колонке на отдельные фракции. Все остальные процессы приводят к расширению этих фракций и вследствие этого к их перемешиванию. Распределение фракций вдоль хроматографической колонки описывается семейством функций (V.49): $G(x, \bar{x}(t))$. Функции этого семейства отличаются параметром $\bar{x}(t)$, который задает скорость продвижения фракций вдоль хроматографической системы. При замене координат x и $\bar{x}(t)$ на удерживаемые объемы V и y эти функции можно рассматривать как хроматограммы полимергомологов $G(V, y_i)$, первые моменты которых есть y_i , а V — текущий удерживаемый объем. Поскольку любой полимерный образец состоит из набора большого числа полимергомологов, его хроматограмма $F(V)$ является суперпозицией хроматограмм $G(V, y_i)$ полимергомологов (см. рис. V.1).

Каждый полимергомолог вносит свой вклад $G(V, y_i) \Delta y$ в общую хроматограмму $F(V)$ со статистическим весом $W(y_i)$,

отражающим его долю в данном полимерном образце. Таким образом, можно записать

$$F(V) = \sum_{i=1}^n W(y_i) G(V, y_i) \Delta y \quad (V.50)$$

где функция $W(y_i)$ — доля площади индивидуальной хроматограммы i -го полимергомолога от площади всей хроматограммы образца.

Так как распределение полимергомологов во всех полимерных образцах практически непрерывно, удобно перейти от их суммирования в (V.50) к интегрированию:

$$F(V) = \int_{y_1}^{y_2} W(y) G(V, y) dy \quad (V.51)$$

где y_1 и y_2 — удерживаемые объемы, ограничивающие хроматограмму образца.

Интегральное уравнение Фредгольма первого рода (V.51) впервые в ГПХ было составлено Л. Тангом [6] и с тех пор часто называется его именем.

Решение уравнения (V.51) — $W(V)$ дает хроматограмму образца в таком виде, какой бы она имела в отсутствие нежелательных процессов, приводящих к размыванию и перемешиванию зон полимергомологов. Таким образом, $W(y)$ в уравнении (V.51) представляет собой хроматограмму полимерного образца, скорректированную на «приборное уширение». Наиболее удобным методом ее получения, т. е. решения уравнения (V.51) является метод последовательных приближений, который может быть реализован следующим образом. Хроматограмма образца $F(V)$ выбирается в качестве начального приближения $W_0(V)$:

$$W_0(V) = F(V)$$

Первое приближение $W_1(V)$ определяется добавлением к $W_0(V)$ поправки $\Delta_1 W(V)$:

$$W_1(V) = W_0(V) + \Delta W_1(V) = F(V) + \Delta W_1(V)$$

$$\Delta W_1(V) = \frac{F(V) - \int_{V_1}^{V_2} W_0(V) G(V, y) dy}{\int_{V_1}^{V_2} W_0(V) G(V, y) dy} W_0(y)$$

Следовательно, функция $W(V)$ в $(k+1)$ -м приближении $W_{k+1}(V)$ вычисляется с помощью функции $W(V)$ k -го приближения $W_k(V)$ по следующей схеме:

$$W_{k+1}(V) = W_k(V) + \Delta W_{k+1}(V) \quad (V.52)$$

где

$$\Delta W_{k+1}(V) = \frac{F(V) - \int_{V_1}^{V_2} W_k(y) G(V, y) dy}{\int_{V_1}^{V_2} W_k(y) G(V, y) dy} W_k(y) \quad (V.53)$$

Не располагая точным выражением для ядра $G(V, y)$ уравнения (V.51), нельзя рассчитывать на его точное решение. Поэтому итерационный процесс следует прервать на шаге $(l+1)$, если среднеквадратичная интегральная ошибка ΔI на шаге l не больше некоторого наперед заданного числа ε :

$$\Delta I \leq \varepsilon \quad (V.54)$$

$$\Delta I = \sqrt{\sum_{i=0}^N \left[F(V_i) - \int_{V_1}^{V_2} W_i(y) G(V_i, y) dy \right]^2} / (N+1) \quad (V.55)$$

$$V_i = V_1 + i \Delta V$$

Здесь хроматограмма $F(V)$ разбита на $(N+1)$ сегментов одинаковой ширины ΔV , а величина ε определяется точностью, с которой воспроизводится хроматограмма.

Тангом был предложен метод решения уравнения (V.51), использующий конкретный вид искомого молекулярно-массового распределения. В этом методе предполагается, что ММР любого полимерного образца может хорошо аппроксимироваться полиномом следующего типа:

$$W(y) = \exp[-P^2(y-y_0)^2] \sum_{i=0}^n (y-y_0)^i R_i \quad (V.56)$$

где R_i — коэффициенты полинома; P и y_0 — два дополнительных параметра.

Уравнение (V.51) с некоторым заданным ядром $G(V, y)$ и функцией $W(y)$ вида (V.56) интегрируют. После этого из системы алгебраических уравнений, полученных для различных значений y , находят величины R_i , P и y_0 , а вместе с ними и хроматограмму $W(y)$, скорректированную на «приборное уширение».

В целом система уравнений (V.51—V.55) описывает коррекцию хроматограмм на «приборное уширение». Но для ее успешной реализации необходимо знание ядра $G(V, y)$ уравнения (V.51), описывающего размывание полимергомологов при их хроматографировании. Танг и Смит [6, 7] предложили использовать для этой цели гауссиан

$$G(V, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left[-\frac{(V-y)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (V.57)$$

где y — значение удерживаемого объема в максимуме хроматографического пика полимергомолога; σ^2 — его дисперсия.

Величина σ^2 может быть рассчитана

$$\sigma^2 = \int_{y_H}^{y_K} (y-V)^2 G(V, y) dy \Big/ \int_{y_H}^{y_K} G(V, y) dy \quad (\text{V.58})$$

или определена непосредственно из хроматограммы. Для этого достаточно через точки перегиба провести касательные до пересечения с осью абсцисс. Отрезок, отсекаемый при этом на оси абсцисс, равен 4σ . С другой стороны, полуширина пика на высоте h равна σ (рис. V.7), если $h \approx 0,61H_0$ (здесь $\sigma \equiv \sqrt{\sigma^2}$).

Выбор гауссиана (V.57) в качестве ядра интегрального уравнения (V.51) приводит ко второму уровню интерпретации данных ГПХ.

V. 9. Определение дисперсии хроматографического размывания

V. 9.1. Экстремальный характер дисперсии

Характер изменения дисперсии с изменением удерживаемого объема нетрудно проследить, анализируя упрощенное выражение для дисперсии

$$\sigma^2 \approx \text{const } Kd\tau \quad (\text{V.59})$$

которое представляет собой одно из слагаемых в (I.47); его значение гораздо выше значений остальных слагаемых в условиях обычного ГПХ-эксперимента. В постоянный множитель перед $Kd\tau$ входят величины, характеризующие хроматографическую систему и режим эксперимента и не зависящие от M . Коэффициент распределения Kd в ГПХ с ростом M уменьшается, а время запаздывания τ сначала растет, а затем убывает в соответствии с зависимостями (I.40) и (III.9). Поэтому в области роста τ можно ожидать экстремального поведения дисперсии σ^2 , что и было обнаружено Тангом [8]. Для проверки этого переищем (V.59) в виде

$$\sigma^2 \approx \text{const} \frac{Kd^2}{\gamma D [1 - \exp(-3r^2/2R^2)]} \quad (\text{V.60})$$

и воспользуемся известными соотношениями

$$D = k_D M^{-b} \quad Kd = A' - B' \ln M \quad \bar{R}^2 = K_\eta M^{2(a+1)/3}$$

где A' и B' — калибровочные константы; K_η , k_D , b и a — константы, характеризующие полимер в данном растворителе.

Учитывая, что эксперимент [8] дает экстремум σ^2 в области, где $(r^2/\bar{R}^2) \ll 1$, разложим экспоненту равенства (V.60) в ряд и ограничимся первым членом этого разложения. Кроме того,

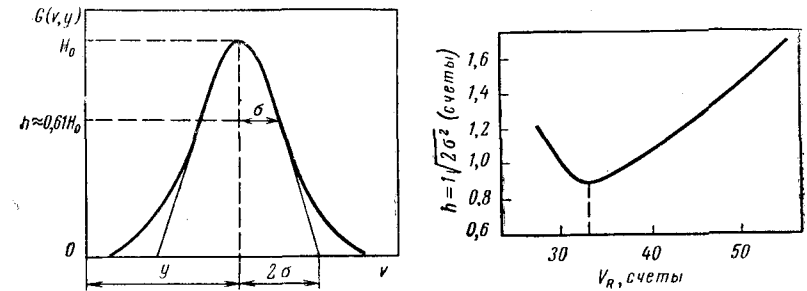


Рис. V.7. Функция Гаусса и ее характеристики.

Рис. V.8. Зависимость размывания хроматографических пиков гомополимеров от удерживаемых объемов.

будем полагать $a \approx 1/2$. Тогда нетрудно убедиться*, что дисперсия σ^2 принимает максимальное значение при

$$V_R = V_0 + 2/(3bB') \quad (\text{V.61})$$

что хорошо согласуется с экспериментальными данными [8] (рис. V.8).

Аналогичный результат получается и для высоты H , эквивалентной теоретической тарелке. При этом максимум H несколько сдвинут относительно максимума σ^2 .

Таким образом, в каждом ряду полимергомологов существует полимер, наименее эффективно хроматографируемый с помощью данной хроматографической системы (и наибольшим образом размывающийся при этом).

V. 9.2. Определение дисперсии с учетом ММР калибровочных образцов

Сложность экспериментального установления зависимости, изображенной на рис. V.8, состоит в том, что каждый полимерный образец представляет собой набор некоторого числа полимергомологов, т. е. является полидисперсным. Сказанное относится и к калибровочным стандартам, в ширину хроматографических пиков которых всегда вносит определенный вклад молекулярно-массовое распределение. Учесть его можно с помощью изящного хроматографического эксперимента, первоначально предложенного Тангом и названного впоследствии «методом возвратного потока» [9]. Суть его в следующем. Если полимерный образец ввести в колонку и некоторое время Δt элюировать, не выводя

* Условием максимума σ^2 в точке $V = V_{\text{макс}}$ является равенство нулю ее первой производной $\partial\sigma^2/\partial V|_{V=V_{\text{макс}}} = 0$ и отрицательность второй производной $\partial^2\sigma^2/\partial V^2|_{V=V_{\text{макс}}} < 0$.

за ее пределы, а затем повернуть поток в обратном направлении, то через время $2\Delta t$ от начала опыта ширина хроматографической зоны будет определяться только размыванием полимергомологов данного образца за время $2\Delta t$. Полимергомологи при этом не разделяются. Разделение происходило при движении в первоначальном направлении, а с поворотом потока на 180° полностью скомпенсировалось, так что ни будь размывания, весь полимер собрался бы в первоначальной зоне. Исходя из этого, Танг предложил определять дисперсию колонок, условно разбивая их на две части. Сначала образец элюируют до середины колонки. Затем поток поворачивают в обратном направлении и на выходе из колонки снимают хроматограмму. По ней рассчитывают дисперсию σ_1^2 для той половины колонки, где образец успел побывать. После этого тот же образец вводят в эту колонку с другого конца и вновь элюируют до ее середины, после чего опять меняют направление потока на обратное. На выходе из колонки снимают хроматограмму и по ней рассчитывают σ_2^2 для второй половины колонки. Дисперсия для всей колонки определится как сумма дисперсий для каждой из ее половин:

$$\sigma^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2$$

Проводя подобные операции с каждым из калибровочных стандартов, можно получить зависимость, предсказываемую теорией (см. рис. V.8). Пользуясь этой зависимостью, теперь можно в заданном интервале молекулярных масс выбрать некоторое среднее значение $\bar{\sigma}^2$, характерное для данной хроматографической колонки. Для высокополимеров, анализируемых на эффективных хроматографических системах, погрешность, допускаемая при этом, будет лежать в пределах 1—3%.

V. 9.3. Приближенные методы определения дисперсии

Влияние молекулярно-массовых распределений образцов на величину дисперсии, определяемую по их хроматограммам, можно исключить последовательной рехроматографией фракций узкодисперсного полимера. Для этой цели из центральной части хроматографической зоны на ее выходе из колонки отбирают узкую фракцию и затем вновь ее хроматографируют. Из нее вновь отбирают центральную часть, хроматографируют и т. д. до тех пор, пока не начнут получаться тождественные хроматограммы (при условии, что концентрации растворов одинаковы). Дисперсия любой из этих хроматограмм будет связана только с «приборным уширением».

Ориентировочное значение σ^2 можно получить, измеряя ширину хроматографического пика какого-нибудь индивидуального вещества. Например, если в качестве растворителя в ГПХ используется ТГФ, таким веществом может быть толуол.

V. 9.4. Определение дисперсии с использованием ММР стандартов

Для определения дисперсии на втором уровне интерпретации Гамелеком и Рэм [10] предложен оригинальный метод, использующий значения средних молекулярных масс калибровочных образцов. Любая из средних молекулярных масс, по определению, может быть задана равенством:

$$M_k = \int_0^\infty M^{k-1} W_M(M) dM \left/ \int_0^\infty M^{k-2} W_M(M) dM \right. \quad (V.62)$$

где $W_M(M)$ — ММР образца; $k=1, 2, \dots, n$.

Так, с помощью (V.62) при $k=1$ может быть получена среднечисленная молекулярная масса, при $k=2$ — среднемассовая, при $k=3$ — z -средняя и т. д. Делая в (V.62) замену переменных в соответствии с некоторой молекулярно-массовой зависимостью, можно получать значения средних молекулярных масс $M_k(h)$ из хроматограмм $W(V)$, скорректированных на «приборное уширение», и $M_{k,0}$ из нескорректированных хроматограмм $F(V)$

$$M_k(h) = \int_{V_H}^{V_K} W(V) M^{k-1}(V) dV \left/ \int_{V_H}^{V_K} W(V) M^{k-2}(V) dV \right. \quad (V.63)$$

$$M_{k,0} = \int_{V_H}^{V_K} F(V) M^{k-1}(V) dV \left/ \int_{V_H}^{V_K} F(V) M^{k-2}(V) dV \right. \quad (V.64)$$

где $W(V)$ — решение уравнения (V.51); $h \equiv 1/2\sigma^2$.

Используя калибровочную зависимость

$$M(V) = D_1 \exp(-D_2 V) \quad D_1, D_2 > 0$$

можно вместо (V.63) и (V.64) записать:

$$\frac{M_k(h)}{M_{k,0}} = \exp \left[(3-2k) D_2^2 / 4h \right] \quad (V.65)$$

Равенство (V.65) позволяет определить значение h , а следовательно, и σ^2 , если известно значение какой-либо из средних молекулярных масс M_k , определенное независимым методом.

$$h = \left[\frac{1}{D_2^2} \frac{4}{3-2k} \ln \frac{M_k}{M_{k,0}} \right]^{-1} \quad (V.66)$$

Точность нахождения дисперсии рассмотренным способом, естественно, повышается, если пользоваться значением не одной молекулярной массы M_k , а нескольких. Тогда, составляя для ЭВМ минимизационную схему, можно найти более точные (усредненные) значения h .

У. 10. Определение полидисперсности полимеров без предварительной калибровки прибора

Полидисперсность унимодального полимерного образца можно определять и без предварительной калибровки прибора с помощью следующей приближенной процедуры. Для большинства таких образцов можно сказать, что их ММР в пределах допустимых погрешностей может аппроксимироваться логарифмически нормальным распределением. Тогда должно выполняться равенство (V.14)

$$\sigma_M^2 = \ln(M_w/M_n)$$

где индекс M у σ^2 означает, что здесь записана дисперсия ММР. Дисперсия хроматограммы σ^2 , естественно, несколько больше дисперсии ММР σ_M^2 , и можно допустить, что

$$\sigma^2 \approx k\sigma_M^2 \quad k > 1 \quad (V.67)$$

Отсюда

$$\sigma^2 = k \ln(M_w/M_n) \quad (V.68)$$

Располагая всего одним стандартом с известными значениями M_w и M_n , можно на основании выражения (V.68) найти приближенно полидисперсность исследуемого образца. Пусть дисперсия его хроматограммы есть σ_x^2 , а дисперсия хроматограммы стандарта σ^2 . Тогда для их отношения имеем:

$$\frac{\sigma^2}{\sigma_x^2} = \frac{k \ln(M_w/M_n)}{k \ln(M_w/M_n)_x} \quad (V.69)$$

Таким образом, получаем следующее правило: дисперсии хроматограмм полимеров с унимодальными ММР относятся как логарифмы их индексов полидисперсности.

Следовательно

$$(M_w/M_n)_x = \exp[(\sigma_x^2/\sigma^2) \ln(M_w/M_n)] \quad (V.70)$$

Используя разложение логарифма в ряд, можно получить другое приближенное правило: дисперсии хроматограмм полимеров с унимодальными ММР пропорциональны их индексам полидисперсности:

$$\sigma_1^2/\sigma_2^2 = d_1/d_2 \quad d_i = M_{w,i}/M_{n,i} \quad i = 1, 2 \quad (V.71)$$

Правило, подобное (V.71), было обнаружено экспериментально Блаем [11]. Очевидно, что правила (V.69) и (V.71) приближенные. Они достаточно хорошо выполняются для полимеров с ММР, близким к логарифмически нормальному, но не могут быть обобщены в такой простой форме на полимеры с произвольным ММР.

У. 11. Об оценке погрешности первого уровня интерпретации, связанной с «приборным уширением»

Формула (V.65) позволяет оценить погрешность, допускаемую на первом уровне интерпретации из-за «приборного уширения» хроматограмм. С этой целью разделим почленно друг на друга выражения, фигурирующие в (V.65) при $k = 2$ и $k = 1$:

$$\frac{M_2(h)}{M_{2,0}} \frac{M_{1,0}}{M_1(h)} \equiv \frac{M_w(h)}{M_{w,0}} \frac{M_{n,0}}{M_n(h)} = \frac{d}{d_0} = \exp(-D_2^2/2h) \quad (V.72)$$

где d и d_0 характеризуют полидисперсность полимерного образца:

$$d \equiv \frac{M_w(h)}{M_n(h)} \quad d_0 \equiv \frac{M_{w,0}}{M_{n,0}} \quad (V.73)$$

Отношение d/d_0 может быть выражено через относительные погрешности, допускаемые при определении из ГПХ средних молекулярных масс без учета «приборного уширения». Действительно, «приборное уширение» хроматограмм приводит к увеличению массы M_w на некоторую величину ΔM_w и к уменьшению M_n на величину ΔM_n . Для высокополимеров ΔM_w и ΔM_n существенно меньше M_w и M_n , а для олигомеров могут быть с ними сравнимы. Используем это для определения отношения d/d_0 :

$$d_0 = \frac{M_{w,0}}{M_{n,0}} = \frac{M_w(h) + \Delta M_w}{M_n(h) - \Delta M_n}$$

$$\frac{d_0}{d} = \frac{[M_w(h) + \Delta M_w]/[M_n(h) - \Delta M_n]}{M_w(h)/M_n(h)} \equiv \frac{1 + \alpha_w}{1 - \alpha_n} \quad (V.74)$$

где

$$\alpha_w \equiv \Delta M_w/M_w(h); \quad \alpha_n \equiv \Delta M_n/M_n(h).$$

Таким образом, подставляя (V.74) в (V.72), получаем

$$\exp(D_2^2/2h) = (1 + \alpha_w)/(1 - \alpha_n) \quad (V.75)$$

или, переходя к калибровочной зависимости (V.5) и дисперсии σ^2

$$\exp\left[\left(\frac{1}{\lg e} \frac{\sqrt{\sigma^2}}{C_2}\right)^2\right] = \frac{1 + \alpha_w}{1 - \alpha_n} \quad (V.76)$$

Через α_w и α_n можно выразить погрешность в определении молекулярной массы M . Так как в ГПХ для узких фракций можно считать справедливым

$$M = \sqrt{M_w M_n}$$

то

$$\frac{\Delta M}{M} = \frac{1}{2} (\alpha_w + \alpha_n) \equiv \alpha_0 \quad (V.77)$$

Поскольку α_w и α_n всегда меньше единицы, можно вместо (V.76) записать

$$\exp\left[\left(\frac{1}{\lg e} \frac{\sqrt{\sigma^2}}{C_2}\right)^2\right] \approx 1 + \alpha_w + \alpha_n = 1 + 2\alpha_0 \quad (V.78)$$

Из выражения (V.78) видно, что относительная погрешность α_σ в определении молекулярной массы на первом уровне интерпретации существенно зависит от дисперсии σ^2 и коэффициента C_2 , определяющего угол наклона калибровочной зависимости (V.5). Чем меньше дисперсия и чем больше угол наклона, тем меньше погрешность определения молекулярных масс M , а следовательно, и молекулярно-массовых распределений полимеров. Таким образом, отношение $\sqrt{\sigma^2}/C_2$ может рассматриваться как характеристика эффективности хроматографической системы: чем меньше отношение $\sqrt{\sigma^2}/C_2$, тем эффективнее данная система, тем точнее определяются на ней молекулярные массы. Из выражения (V.78) также видно, что с ростом молекулярной массы относительная ошибка в ее определении понижается. Это значит, что интерпретация на первом уровне более приемлема для высокополимеров, чем для олигомеров. Чтобы на этом уровне получить молекулярную массу олигомеров с той же точностью, что и высокополимеров, надо пользоваться хроматографической системой с малым значением $\sqrt{\sigma^2}/C_2$ (или, что то же, с большим значением $C_2/\sqrt{\sigma^2}$). На практике удастся реализовать системы с $C_2/\sqrt{\sigma^2} \approx 75$ [12]. Это позволяет определять значения молекулярной массы высокополимеров ($M > 10^5$), пользуясь первым уровнем интерпретации, с погрешностью (вызванной «приборным уширением»), не превышающей несколько процентов.

Нетрудно увидеть, что эта погрешность зависит также от полидисперсности полимерного образца. Для этого разделим погрешности α_n и α_w друг на друга

$$\alpha_n/\alpha_w = d \Delta M_n / \Delta M_w \equiv dk$$

Полагая для высокополимеров

$$\Delta M_n / \Delta M_w \equiv k \approx \text{const} \quad (\text{V.79})$$

можно переписать (V.78) в виде:

$$\alpha_w = \left\{ \exp \left[\left(\frac{1}{\lg e} \frac{\sqrt{\sigma^2}}{C_2} \right)^2 \right] - 1 \right\} \frac{1}{1 + kd} \quad (\text{V.80})$$

$$\alpha_n = \alpha_w kd$$

Таким образом, видно, что для фиксированного значения $\sqrt{\sigma^2}/C_2$ погрешность α_w уменьшается, а α_n увеличивается с ростом полидисперсности образца d . Это значит, что при определении ММР достаточно широких полимерных образцов ($d > 2$) рассмотренная погрешность вносится главным образом в низкомолекулярную часть ММР. Следовательно, если доля этой части невелика, а хроматографическая система достаточно эффективна (с точки зрения величины $\sqrt{\sigma^2}/C_2$), для высокополимеров нет необходимости в учете «приборного уширения» и первый уровень интерпретации хроматограмм оказывается вполне приемлемым.

Для ГПХ олигомеров таких выводов сделать нельзя и интерпретацию следует проводить не ниже чем на втором уровне. При этом значение дисперсии функции (V.57) легко находится из хроматограмм, так как олигомерные смеси удастся разделить на индивидуальные компоненты, хроматографические пики которых формируются лишь под влиянием «приборного уширения».

V. 12. О принципиальной погрешности, допускаемой на втором уровне интерпретации данных ГПХ

Предположение о симметричном (гауссообразном) размывании хроматографической зоны является принципиальной неточностью, сознательно допускаемой на втором уровне интерпретации данных ГПХ. Коррекция хроматограмм с помощью уравнения (V.51) с ядром вида (V.57) приводит их к симметричному сужению, не изменяющему положения максимумов. На самом же деле размывание хроматограмм асимметрично из-за некоторой неравномерности ГПХ-процесса и из-за «концевого» эффекта на выходе из хроматографических колонок. Асимметрия может быть также вызвана «перегруженностью» колонки, если опыт ставится при больших концентрациях раствора (т. е. таких, при которых наблюдается зависимость удерживаемых объемов от концентрации).

Все перечисленные эффекты приводят не только к асимметрии хроматограмм, но и к смещению их математических ожиданий и максимумов в сторону больших удерживаемых объемов. Это означает, что при интерпретации хроматограмм как на первом, так и на втором уровнях значения молекулярных масс полимеров занижаются. Исправить положение может использование в уравнении (V.51) асимметричного ядра. Это приведет к асимметричному сужению хроматограмм, при котором они сдвинутся в сторону меньших удерживаемых объемов. Тогда при замене удерживаемых объемов на молекулярные массы будут получены значения ММР и СММ

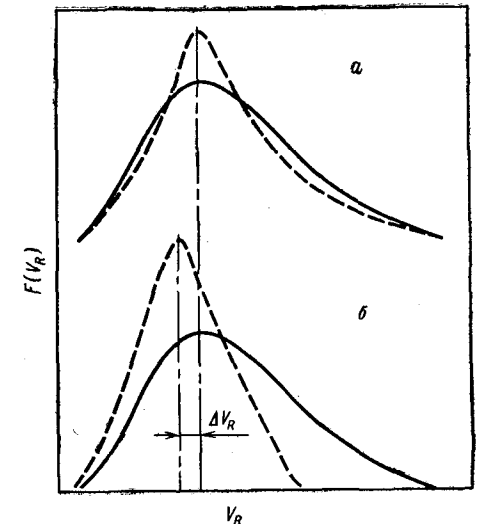


Рис. V.9. Коррекция хроматограмм с помощью уравнения Танга при использовании симметричного (а) и асимметричного (б) ядер (сплошная линия — экспериментальная хроматограмма, пунктирная линия — исправленная хроматограмма).

полимеров, более близкие к истинным (рис. V.9). Погрешность, допускаемая при интерпретации хроматограмм на втором уровне из-за асимметрии, может быть ориентировочно оценена следующим образом. Выбирая в качестве откорректированной хроматограммы [т. е. решения уравнения (V.51)] дельта-функцию, а в качестве ядра — какую-либо конкретную асимметричную функцию, например асимметричный гауссиан, нетрудно показать, что смещение максимума хроматограммы при коррекции близко к смещению друг относительно друга максимума и математического ожидания этой функции.

Определяя это смещение, можно с помощью калибровочной зависимости оценить и погрешность, допускаемую при расчете молекулярных масс без учета асимметричного размывания хроматограмм. Для этого удобно воспользоваться мерой асимметрии Пирсона Sk , показывающей степень скошенности унимодальных распределений в зависимости от их дисперсии и расстояния между математическим ожиданием (первым моментом μ_1) и максимумом (модой):

$$Sk = \frac{M_1 - \text{мода}}{\sigma} = \frac{\gamma_1 (\gamma_2 + 6)}{2 (5\gamma_2 - 6\gamma_1^2 + 6)} \quad (\text{V.81})$$

где $\gamma_1 = M_3/M_2^{3/2}$; $\gamma_2 = (M_4/M_2^2) - 3$; $\sigma^2 = M_2$; M_2, M_3, M_4 — второй, третий и четвертый центральные моменты хроматографического пика.

Пусть молекулярно-массовая калибровочная зависимость, найденная для данной хроматографической колонки, есть

$$V_R = C_1 - C_2 \lg M$$

Тогда изменение удерживаемого объема на величину ΔV_R приводит к изменению сопоставляемой ему молекулярной массы полимера на величину ΔM :

$$\Delta V_R = C_2 \frac{\Delta M}{M} \lg e$$

Следовательно, относительное изменение молекулярной массы (в %), связанное со смещением максимума хроматограммы на величину ΔV_R , выразится как:

$$\frac{\Delta M}{M} 100 \equiv \varepsilon = \frac{\Delta V_R}{C_2} 100 \ln 10 \quad (\text{V.82})$$

Определим величину ΔV_R , входящую в (V.82), через центральные моменты хроматографического пика с помощью уравнения (V.81):

$$Sk = \frac{M_1 - \text{мода}}{\sigma} = \frac{\Delta V_R}{M_2^{1/2}} \quad (\text{V.83})$$

Откуда

$$\Delta V_R = M_2^{1/2} Sk \quad (\text{V.84})$$

Подставляя (V.84) в (V.82), найдем

$$\varepsilon = \frac{M_2^{1/2} Sk}{C_2} 100 \ln 10 = \frac{M_2^{1/2} \gamma_1 (\gamma_2 + 6)}{2C_2 (5\gamma_2 - 6\gamma_1^2 + 6)} 100 \ln 10 \quad (\text{V.85})$$

Если хроматограмма мало отличается от гауссового вида, т. е. γ_1 и γ_2 малы, то выражение (V.85) принимает вид:

$$\varepsilon \approx \frac{M_2^{1/2} \gamma_1}{2C_2} \ln 10 \cdot 100 = \frac{M_3}{M_2} \frac{1}{2C_2} 100 \ln 10 \quad (\text{V.86})$$

Используя выражения для центральных моментов хроматограмм, полученные в гл. I, найдем [13], что в реальных условиях ГПХ

$$\varepsilon = \frac{600}{4C_2} S_n U \tau \ln 10 \quad (\text{V.87})$$

где S_n — площадь сечения подвижной фазы колонки; U — скорость растворителя; τ — время запаздывания в установлении термодинамического равновесия между фазами.

В (V.87) предполагается, что концентрационный эффект отсутствует, а «концевой» очень мал.

Выражение (V.87) представляет собой оценку погрешности в определении молекулярных масс методом ГПХ, допускаемой как на первом, так и на втором уровнях интерпретации экспериментальных данных. Оно показывает, что для достаточно длинных хроматографических колонок значение ε не зависит от длины колонки, растет с увеличением скорости растворителя U и с понижением эффективности колонки [когда, в частности, уменьшается значение коэффициента C_2 в (V.87) и (V.5)]. Погрешность растет также вместе с увеличением площади сечения подвижной фазы S_n , т. е. с увеличением ширины колонки и ухудшением качества ее упаковки. К повышению значения ε приводит также увеличение диаметра d_p зерен сорбента и уменьшение диффузионной подвижности D_s элюируемых макромолекул, так как при этом возрастает значение τ .

V. 13. Определение молекулярно-массовых характеристик полимеров с учетом асимметрии хроматограмм гомополимеров (третий уровень интерпретации)

Для повышения точности интерпретации данных ГПХ надо учитывать асимметричный характер «приборного уширения» [14—21]. С этой целью Гамелеком и Болкем [14] была разработана процедура коррекции значений средних молекулярных масс, полученных на втором уровне интерпретации, на основе соответствующей подгонки коэффициентов молекулярно-массовой калибровочной зависимости (V.5). Пусть для учета асимметрии коэффициенты D_1

и D_2 этой зависимости следует изменить на $D_1(Sk)$ и $D_2(Sk)$. Тогда (V.5) переписывается в виде

$$M(V) = D_1(Sk) \exp[-D_2(Sk)V] \quad (V.88)$$

Средние молекулярные массы $M_w(h, Sk)$, $M_n(h, Sk)$ после коррекции на «приборное уширение» с учетом его асимметрии можно записать как

$$M_w(h, Sk) = D_1(Sk) \int_{-\infty}^{+\infty} W(V) \exp[-D_2(Sk)V] dV \quad (V.89)$$

$$M_n(h, Sk) = D_1(Sk) \int_{-\infty}^{+\infty} W(V) \exp[D_2(Sk)V] dV \quad (V.90)$$

где функция $W(V)$ нормирована; V — удерживаемые объемы: $V \equiv V_R$.

Делая предположение, что асимметрия не влияет на наклон калибровочной зависимости, а приводит лишь к ее параллельному переносу в сторону больших удерживаемых объемов, получим

$$\left. \begin{aligned} C_2(Sk) = C_2 \quad D_2(Sk) = D_2 = (\ln 10)/C_2 \\ D_1 = 10^{C_1/C_2} \quad D_1(Sk) = 10^{C_1(Sk)/C_2(Sk)} \end{aligned} \right\} \quad (V.91)$$

При этом отношение средних масс, скорректированных на размывание и асимметрию, и нескорректированных, имеет вид:

$$\frac{M_w(h, Sk)}{M_{w,0}} = \frac{D_1(Sk) \int_{-\infty}^{+\infty} W(V) \exp(-D_2V) dV}{D_1 \int_{-\infty}^{+\infty} F(V) \exp(-D_2V) dV} = \frac{D_1(Sk)}{D_1} \exp(-D_2^2/4h) \quad (V.92)$$

$$\frac{M_w(h, Sk)}{M_{n,0}} = \frac{D_1(Sk)}{D_1} \exp[D_2^2/4h] \quad (V.93)$$

С помощью (V.91) отношение $D_1(Sk)/D_1 \equiv B$ можно выразить через коэффициенты C_1 , C_2 зависимости (V.5), откуда

$$C_1(Sk) = C_1 + C_2 \lg B \quad (V.94)$$

Теперь удобно ввести параметр Sk , характеризующий различие между истинными значениями средних молекулярных масс

$$M_w = M_w(h, Sk) \quad \text{и} \quad M_n = M_n(h, Sk)$$

и теми, которые находятся на втором уровне интерпретации. Складывая почленно равенства, полученные из (V.65) при $k = 1$ и $k = 2$, придем к выражению

$$\frac{M_n(h)}{M_{n,0}} + \frac{M_w(h)}{M_{w,0}} = \exp[D_2^2/4h] + \exp[-D_2^2/4h] \quad (V.95)$$

справедливого при симметричном «приборном уширении». Дополнительная поправка значений $M_w(h)$ и $M_n(h)$ на асимметрию

нарушает равенство (V.95). Разность между его левой и правой частями можно рассматривать как определение параметра асимметрии Sk , называемого также «скошенностью»:

$$Sk = \frac{M_n(h, Sk)}{M_{n,0}} + \frac{M_w(h, Sk)}{M_{w,0}} - (\exp[D_2^2/4h] + \exp[-D_2^2/4h]) \quad (V.96)$$

Подставляя в уравнение (V.96) выражения (V.92) и (V.93), получим величину B

$$B = 1 + \frac{Sk}{\exp[D_2^2/4h] + \exp[-D_2^2/4h]} \quad (V.97)$$

Из (V.94) имеем (используя разложение в ряд Тейлора):

$$C_1(Sk) \approx C_1 + C_2 \lg(1 + 1/2Sk) \quad (V.98)$$

Таким образом, третий уровень интерпретации ГПХ-данных состоит из следующих этапов. Сначала по формуле (V.66) находят величину, характеризующую дисперсию «приборного уширения». Затем из (V.96), где молекулярные массы $M_n(h, Sk)$ и $M_w(h, Sk)$ калибровочных стандартов известны из независимых от ГПХ экспериментов, определяют скошенность Sk . После этого в соответствии с (V.98) рассчитывают новый коэффициент $C_1(Sk)$ калибровочной зависимости (V.5). Затем заменой переменной V на M из хроматограмм $W(V)$, скорректированных на симметричное размывание, получают средние молекулярные массы исследуемых полимерных образцов.

Используя уравнения (V.92, V.93 и V.97), можно также получить следующие выражения для средних молекулярных масс

$$M_w(h, Sk) \approx M_{w,0} (1 + 1/2Sk) \exp[-D_2^2/4h] \quad (V.99)$$

$$M_n(h, Sk) \approx M_{n,0} (1 + 1/2Sk) \exp[D_2^2/4h] \quad (V.100)$$

Здесь использовано разложение в ряд Тейлора величины B , определенной равенством (V.92), а средние массы $M_{w,0}$ и $M_{n,0}$ рассчитаны по формулам (V.27 и V.27a).

Можно убедиться, что полученные соотношения для средних молекулярных масс с учетом «асимметричного приборного уширения» остаются неизменными и для нелинейных калибровочных зависимостей (V.17 и V.18).

V.14. Использование асимметричных функций для описания «приборного уширения» [четвертый уровень интерпретации]

Альтернативным предыдущему и более естественным учетом «приборного уширения» выглядит не подгонка коэффициентов калибровочной зависимости, а правильный выбор ядра $G(V, y)$ интегрального уравнения (V.51), описывающего «приборное уширение». Если с самого начала считать это ядро асимметричным по отноше-

нию к удерживаемым объемам, то после решения уравнения (V.51) не потребуется какой-либо дополнительной коррекции для дальнейшей интерпретации ГПХ-данных в ММР и СММ полимеров. Сложность заключается в подборе такого ядра. Оно должно быть достаточно близким к истинной функции «приборного уширения» и в то же время иметь достаточно простой и удобный вид для математического использования. С этой целью апробировались [22—26] следующие функции.

1. Модифицированный гауссиан:

$$G(V, y) = h_{\max} \sqrt{y/V} \exp[-2y(V\bar{y} - \sqrt{V})/2\sigma^2] \quad (\text{V.101})$$

2. Конволюция гауссиана с экспонентой:

$$G(V, y) = \frac{h_{\max}}{2} \int_0^y \exp\left[-\frac{t}{y}\right] \exp\left[-\frac{(V-y-t)^2}{\sigma^2}\right] dt \quad (\text{V.102})$$

3. Асимметричный гауссиан:

$$G(V, y) = h_{\max} \exp[-kV] \exp[-(V-y)^2/2\sigma^2] \quad (\text{V.103})$$

4. Композиция гауссиана с полиномами Эрмита H_n :

$$G(V, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{(V-y)^2}{2\sigma^2}\right] \sum_{n=0}^4 a_n H_n\left(\frac{V-y}{\sqrt{2}\sigma}\right) \quad (\text{V.104})$$

где a_n — известные функции моментов.

5. Использовались также ряды Эджворда, Грамма — Шарлье и композиции с ними гауссианов:

$$G(V, y) = \Phi(V, y) + \sum_{n=3}^{\infty} (-1)^n \frac{A_n}{n!} \frac{\partial^n \Phi(V, y)}{\partial V^n} \frac{1}{(V/2h)^n} \quad (\text{V.105})$$

где $\Phi(V, y)$ — гауссиан; A_n — известные функции моментов:

$$A_3 = M_3/M_2^{3/2}; \quad A_4 = M_4/M_2^2 - 3; \quad A_6 = 10A_3^2; \\ A_5 \approx A_7 \approx A_8 \approx \dots \approx 0; \quad h = 2M_2.$$

Это позволило построить интерпретационную схему, содержащую только три параметра, подлежащих предварительному определению:

$$\frac{M_n(t)}{M_{n,0}} = \exp\left[\frac{D_2^2}{4h}\right] \left[1 + \frac{D_2^3 M_3}{6} + \frac{D_2^4}{24} \left(M_4 - \frac{3}{4h^2}\right) + \frac{D_2^6 M_3^2}{72}\right] \\ \frac{M_w(t)}{M_{w,0}} = \exp\left[-\frac{D_2^2}{4h}\right] \times \\ \times \left[1 - \frac{D_2^3 M_3}{6} + \frac{D_2^4}{24} \left(M_4 - \frac{3}{4h^2}\right) + \frac{D_2^6 M_3^2}{72}\right]^{-1} \quad (\text{V.106})$$

$$\frac{[\eta]_t}{[\eta]_0} = \exp\left[-\frac{a^2 D_2^2}{4h}\right] \times \\ \times \left[1 - \frac{a^3 D_2^3 M_3}{6} + \frac{a^4 D_2^4}{24} \left(M_4 - \frac{3}{4h^2}\right) + \frac{a^6 D_2^6 M_3^2}{72}\right]^{-1}$$

Здесь считаются известными калибровочная зависимость

$$M(V) = D_1 \exp[-D_2 V] \quad (\text{V.107})$$

хроматограммы $F(V)$ калибровочных стандартов, для которых определены средние молекулярные массы $M_n(t)$, $M_w(t)$ и характеристическая вязкость. Значения $M_{n,0}$, $M_{w,0}$ и $[\eta]$ рассчитываются из хроматограмм $F(V)$ в соответствии с калибровкой без учета «приборного уширения», т. е. на первом уровне интерпретации. Общая интерпретационная схема следующая.

1. Из системы уравнений (V.106) находят параметры h , M_3 и M_4 .

2. Эти параметры подставляют в функцию (V.105), которую затем используют в качестве ядра интегрального уравнения Танга (V.51), и решают это уравнение.

3. Решение уравнения Танга, представляющее собой хроматограмму, откорректированную на приборное уширение, обращается в ММР исследуемого полимерного образца заменой переменной V на M .

4. По стандартным формулам находят различные средние макромолекулярные характеристики образца.

Таким образом, подбирая параметры в (V.101—V.105), можно, казалось бы, рассчитывать ММР и СММ полимеров из уравнения (V.51) и калибровочных зависимостей (V.5, V.17 и V.18). Однако попытки, предпринятые в этом направлении, нельзя назвать особенно удачными. Функции вида (V.101—V.105), несмотря на вариацию параметров, все же значительно отличаются от их экспериментального аналога — хроматограмм монодисперсных компонентов, а при использовании рядов Эджворда и Грамма — Шарлье остается открытым вопрос, на каком члене ряд следует оборвать, чтобы получить достаточно хорошее приближение к эксперименту. При этом часто оказывается, что увеличение числа членов ряда приводит к ухудшению результата.

Отсюда напрашивается вывод, что выбор функции, описывающей приборное уширение, должен носить не случайный характер, а органически вытекать из закономерностей хроматографического процесса. Анализ [27] этих закономерностей, проведенный в гл. I, показал, что в гель-проникающей хроматографии размывание зоны имеет пирсоновский характер и, следовательно, может хорошо описываться распределениями из семейства Пирсона.

Распределения этого типа одинаково хорошо аппроксимируют и решение системы дифференциальных уравнений I.IV, описывающей ГПХ-процесс, и хроматограммы индивидуальных компонентов. В то же время это довольно простые и удобные распределения, однозначно отыскиваемые по значениям первых четырех статистических моментов хроматографических пиков с помощью известной стандартной методики.

Таким образом, вычисляя статистические моменты хроматографических пиков узкодисперсных полимерных стандартов во всем диапазоне анализируемых молекулярных масс (и, следовательно, во всем диапазоне удерживаемых объемов), можно найти функцию, адекватно описывающую «приборное уширение». Используемая в качестве ядра интегрального уравнения (V.51), эта функция позволяет проводить интерпретацию ГПХ-хроматограмм для получения ММР полимеров без какой-либо дальнейшей коррекции. Поскольку выражения для моментов, получаемые из системы I.IV, зависят только от размеров макромолекул и, следовательно, одинаковы для всех типов полимеров, можно говорить об универсальном характере калибровочной зависимости каждого из четырех моментов от удерживаемых объемов (и размеров макромолекул). Отсюда следует и универсальный характер функции $G(V_R, y)$, задаваемой распределением Пирсона и описывающей поведение полимергомологов в данной хроматографической системе. Введение предлагаемой калибровочной процедуры дополняет открытую Бенуа универсальную калибровочную зависимость в ГПХ по размерам макромолекул и является дальнейшим шагом в стандартизации процедуры определения ММР полимеров методом ГПХ.

V. 15. О погрешности при определении молекулярных масс методом ГПХ

Погрешность, допускаемую при определении молекулярных масс полимеров методом гель-проникающей хроматографии, можно оценить следующим образом. Во-первых, в нее вносят вклад погрешности $\Delta M_a/M$ абсолютных методов: светорассеяния, вискозиметрии или седиментации, используемых для характеристики калибровочных стандартов; во-вторых, погрешности самого метода ГПХ, связанные с эффективностью хроматографической системы, воспроизводимостью получаемых на ней результатов и методикой их интерпретации.

Погрешность абсолютных методов $\Delta M_a/M$ сказывается уже на калибровке хроматографа и затем существенно отражается на конечных результатах интерпретации данных ГПХ. Аналогичным образом проявляется и погрешность $\Delta M/M$, обусловленная опре-

деленной воспроизводимостью данных ГПХ. В случае калибровочной зависимости (V.5) она равна

$$\frac{\Delta M}{M} = \frac{\Delta V_R}{C_2} \ln 10 \quad (V.108)$$

где ΔV_R и C_2 определяются в одних и тех же единицах удерживаемого объема. Величину ΔV_R здесь следует рассматривать как среднеквадратичное отклонение удерживаемого объема максимума хроматографического пика калибровочного стандарта:

$$\Delta V_R = \sqrt{\sum_{i=1}^n \Delta V_i^2 / (n+1)} \quad (V.109)$$

Под ΔV_i в (V.109) понимается отклонение удерживаемого объема в i -ом опыте от среднего значения V_R

$$V_R = (\sum V_i) / n \quad \Delta V_i = V_R - V_i \quad (V.110)$$

Число опытов n , заключающихся в элюировании через хроматограф одного и того же калибровочного стандарта, обычно варьируется от трех до десяти в зависимости от эффективности хроматографической системы и стабильности условий. При построении калибровочных зависимостей (V.17, V.18) степень аппроксимирующего полинома желательно выбирать такой, чтобы получающаяся кривая, например $V_R = f(\lg M)$, не выходила за пределы погрешностей ΔV_R и $\Delta \lg M_a$ (рис. V.10).

Часто, когда соображения удобства интерпретации ГПХ-данных преобладают над требованиями, предъявляемыми к ее точности, пользуются исключительно линейной калибровочной зависимостью типа (V.5), даже в случаях, когда при ее построении приходится выходить за пределы погрешностей ΔM_a и ΔV_R . При этом, естественно, допускается дополнительная неточность в определении молекулярной массы, которую следует оценить.

На первом уровне интерпретации появляются погрешности $\Delta M_\sigma/M$ и $\Delta M_{Sk}/M$, связанные с «приборным уширением» и его асимметрией и определяемые формулами (V.77, V.87) соответственно:

$$\frac{\Delta M_\sigma}{M} = \frac{1}{2} \left\{ \exp \left[\left(\frac{1}{\lg e} \frac{\sqrt{\sigma^2}}{C_2} \right)^2 \right] - 1 \right\} \quad (V.77a)$$

$$\frac{\Delta M_{Sk}}{M} = \frac{3}{2 \lg e} \frac{S_n U \tau}{C_2} \quad (V.87a)$$

На втором уровне интерпретации погрешность $\Delta M_\sigma/M$ существенно уменьшается, а при идеально найденном значении σ^2 сводится к нулю. То же самое можно сказать о величине $\Delta M_\sigma/M$ и на третьем уровне интерпретации, где, кроме того, сокращается и в идеале сводится на нет погрешность $\Delta M_{Sk}/M$. Четвертый

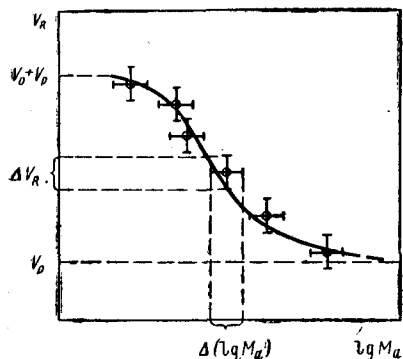


Рис. V.10. Корректное построение калибровочной зависимости (в пределах погрешности экспериментальных данных).

Таким образом, все рассмотренные погрешности можно разбить на две группы: «стандартные» и хроматографические. К первым относятся погрешности абсолютных методов в определении молекулярных масс $\Delta M_a/M$, ко вторым — погрешности $\Delta M_{ГПХ}/M$, связанные с воспроизводимостью ГПХ-результатов, эффективностью хроматографической системы и качеством интерпретации, получаемых на ней результатов

$$\frac{\Delta M_{ГПХ}}{M} = \frac{\Delta M_V}{M} + \frac{\Delta M_\sigma}{M} + \frac{\Delta M_{Sk}}{M} \quad (V.111)$$

Суммарная относительная погрешность $\Delta M/M$, допускаемая при определении молекулярных масс полимеров методом гелевой проникающей хроматографии, определяется как сумма

$$\frac{\Delta M}{M} = \frac{\Delta M_a}{M} + \frac{\Delta M_{ГПХ}}{M} \quad (V.112)$$

Если при интерпретации пользоваться не молекулярно-массовой зависимостью Мура (V.5), а универсальной калибровочной зависимостью Бенуа, то в окончательном результате появится дополнительная погрешность $\Delta [\eta]/[\eta]$, обусловленная неточностью вискозиметрических измерений. В этом случае

$$\frac{\Delta M}{M} = \frac{\Delta M_a}{M} + \frac{\Delta [\eta]}{[\eta]} + \frac{\Delta M_{ГПХ}}{M} \quad (V.113)$$

Ориентировочная оценка этих погрешностей следующая:

$$\begin{aligned} 100\Delta M_a/M &\approx 10\% & 100\Delta [\eta]/[\eta] &\approx 5\% & 100\Delta M_V/M &\approx 0.1\% \\ 100\Delta M_\sigma/M &\approx 5\% & 100\Delta M_{Sk}/M &\approx 3\% & \Delta M/M &\approx 23\% \end{aligned}$$

Таким образом, третий уровень интерпретации и использование калибровочной зависимости (V.5, V.17 или V.18) обеспечивает точность в определении молекулярных масс, практически не уступающую точности абсолютных методов.

Литература

1. Moor J. C. Pol. Sci., A, 1964, v. 2, p. 835—843.
2. Benoit H. e. a. J. Chim. Phys., 1966, t. 63, p. 1507—1514.
3. Meyerhoff G., Jovanovic S. J. Pol. Sci., B, 1967, v. 5, p. 495—499.
4. Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворе. М., «Наука», 1964. 720 с.
5. Berger K. C., Schulz G. V. Makromol. Chem., 1970, Bd. 136, S. 221—239.
6. Tung L. H. J. Appl. Pol. Sci., 1966, v. 10, p. 375—385.
7. Smith W. W. J. Appl. Pol. Sci., 1967, v. 11, p. 639—657.
8. Tung L. H., Runyon T. R. J. Appl. Pol. Sci., 1969, v. 13, p. 2397—2409.
9. Tung L. H., Moore J. C., Knight G. W. J. Appl. Pol. Sci., 1966, v. 10, p. 1261—1270.
10. Hamielec A., Ray W. J. Appl. Pol. Sci., 1969, v. 13, p. 1319—1321.
11. Bly D. D. Anal. Chem., 1969, v. 41, p. 477—480.
12. Нефедов П. П. Канд. дис. ИВС АН СССР. Л., 1973.
13. Виленчик Л. З. Канд. дис. ЛПИ им. М. И. Калинина, Л., 1974.
14. Balke S., Hamielec A. J. Appl. Pol. Sci., 1969, v. 13, p. 1381—1420.
15. Novikov D. D. e. a. J. Chromat., 1970, v. 53, p. 117—124.
16. Evreinov V. V., Romanov A. K., Entelis S. G. J. Chromat., 1970, v. 53, p. 109—115.
17. De Clerk K., Buys T. S. Sep. Sci., 1972, v. 7 (4), p. 371—387.
18. Ouano A. C. J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem., 1973, v. 9 (1), p. 123—148.
19. Chilcote D. D. J. Chromat., 1974, v. 99, p. 243—256.
20. Berger K. C. Makromol. Chem., 1974, Bd. 175, S. 2121—2132.
21. Smith W. W. J. Appl. Pol. Sci., 1974, v. 18 (3), p. 925—931.
22. Chang K. S., Huang R. Y. J. Appl. Pol. Sci., 1972, v. 16 (2), p. 329—335.
23. Rosen E. M., Provder T. Sep. Sci., 1970, v. 5 (4), p. 485—521, 437—484.
24. Smith J. A. M., Hoogervorst C. J., Staverman A. J. Appl. Pol. Sci., 1971, v. 15, p. 1479—1492.
25. Ishige T., Lee S., Hamielec H. J. Appl. Pol. Sci., 1971, v. 15, p. 1607—1622.
26. Mehta R. V., Merson R. L., McCoy B. J. J. Chromat., 1974, v. 88, p. 1—6.
27. Виленчик Л. З. и др. Высокомолекулярное соединение, 1976, т. А18, с. 946—948.

Сочетание гель-проникающей хроматографии с другими физико-химическими методами для анализа разветвленных и химически неоднородных полимеров

Классические методы исследования полимеров — светорассеяние, седиментация, осмометрия, вискозиметрия и другие сталкиваются с существенными трудностями при анализе разветвленных и неоднородных по составу полимеров. Еще более сложен, а зачастую и невозможен анализ этими методами смесей таких полимеров с линейными полимерами. Подобные смеси часто возникают при синтезе сложных полимерных систем — блоксополимеров, привитых сополимеров и разветвленных гомополимеров, когда наряду с основным продуктом получают соответствующие линейные гомополимеры. Сочетание ГПХ с классическими методами анализа полимеров и с другими хроматографическими методами (адсорбционной и пиролизической газовой хроматографиями) позволяет проводить анализ и таких сложных систем. При этом адсорбционную хроматографию можно с успехом использовать в тонкослойном варианте (ТСХ), что позволяет осуществлять качественный и количественный анализ структурной и химической неоднородности фракций, полученных микропрепаративным ГПХ-фракционированием. С помощью пиролизической газовой хроматографии (ПГХ) можно находить брутто-состав полимеров, а классические методы дают сведения о таких средних макромолекулярных характеристиках, как характеристическая вязкость, среднемассовая и среднечисленная молекулярные массы.

VI. 1. Анализ разветвленных полимеров путем сочетания методов ГПХ и вискозиметрии

При анализе разветвленных полимеров методом светорассеяния можно сравнивать отношения \bar{R}^2/M для линейных и разветвленных образцов данного полимера. Уменьшение значения \bar{R}^2/M может служить мерой разветвленности, так как чем больше образец разветвлен, тем меньше средние размеры \bar{R}^2 его макромолекул по сравнению с размерами молекул линейного полимера той же

молекулярной массы (или той же степени полимеризации). Однако, строго говоря, такое сравнение имеет смысл только для достаточно узких гомогенных полимерных фракций. Анализируемые образцы обычно полидисперсны, поэтому их следует предварительно расфракционировать по молекулярным массам. Это затрудняется разветвленностью образцов, так как фракционирование идет одновременно и по молекулярным массам, и по степени разветвленности. Кроме того, метод светорассеяния позволяет получать размеры макромолекул \bar{R}^2 и их среднемассовые молекулярные массы M_w , а оценка разветвленности по этим данным требует существенной поправки на полидисперсность образца, причем за точность этой поправки обычно бывает трудно поручиться.

Значительно меньшее влияние полидисперсность оказывает на значение характеристической вязкости $[\eta]$, не вызывая заметных отклонений зависимости

$$\ln [\eta] = f(\ln M)$$

от линейной, которая справедлива для монодисперсных полимерных образцов. Близость этой зависимости к линейной для полидисперсных образцов, молекулярная масса которых M_w определена методом светорассеяния, объясняется близостью усреднений при измерениях $[\eta]$ и M_w (особенно в хороших растворителях). Уменьшение размеров макромолекул разветвленных полимеров по сравнению с размерами молекул линейных полимеров той же молекулярной массы приводит к меньшим значениям характеристической вязкости и, следовательно, делает эту зависимость существенно нелинейной.

Метод скоростной седиментации позволяет определять отношение молекулярной массы и коэффициента поступательного трения (M/f), который, в свою очередь, связан с размером макромолекул. На величину этого отношения определенное влияние оказывает также полидисперсность полимерных образцов.

Таким образом, анализ разветвленных полимеров методами светорассеяния, вискозиметрии и седиментации может проводиться достаточно надежно только при сочетании этих методов и тщательном предварительном фракционировании исследуемых образцов. Эта процедура трудоемкая, требующая больших затрат времени (от 7 до 10 дней), поэтому естественно обращение к гель-проникающей хроматографии как к более прогрессивному методу характеристики полимеров.

Однако для анализа разветвленных образцов данных, получаемых только в ГПХ, недостаточно. По ним можно судить лишь о размерах макромолекул, а для характеристики разветвленности и определения молекулярной массы надо привлечь дополнительные сведения об исследуемом полимере, полученные с помощью какого-либо другого метода. Наиболее удобным является сочетание данных ГПХ и вискозиметрии.

VI. 1.1. Использование проточного вискозиметра

Охарактеризовав хроматографическую систему соответствующей универсальной калибровочной зависимостью типа

$$V = f^{-1} (\lg M [\eta]) \quad (\text{VI.1})$$

по значениям удерживаемых объемов ($V \equiv V_R$) для исследуемых образцов (независимо от степени их разветвленности) можно легко найти распределения по гидродинамическим размерам макромолекулы или, что то же, по произведению ($M [\eta]$).

Если оснастить хроматограф проточным вискозиметром (в качестве второго детектора), то одновременно с концентрационной будет сниматься зависимость удерживаемого объема от характеристической вязкости

$$V = \varphi^{-1} (\lg [\eta]) \quad (\text{VI.2})$$

Перепишем выражения (VI.1) и (VI.2), используя обратные к f^{-1} и φ^{-1} функции f и φ

$$\lg (M [\eta]) = f(V) \quad (\text{VI.1a})$$

$$\lg [\eta] = \varphi(V) \quad (\text{VI.2a})$$

Тогда из (VI.1a)

$$\lg M + \lg [\eta] = f(V)$$

Подставляя сюда выражение (VI.2a), получим калибровку хроматографа по молекулярным массам, справедливую для данного полимера

$$\lg M = f(V) - \lg [\eta] = f(V) - \varphi_k(V) \equiv \psi(V) \quad (\text{VI.3})$$

где $\varphi_k(V)$ есть функция $\varphi(V)$, откорректированная на «приборное уширение» путем решения интегрального уравнения

$$\varphi(V) = \int_{V_H}^{V_K} \varphi_k(y) G(V, y) dy \quad (\text{VI.4})$$

где y — переменная интегрирования, изменяющаяся в пределах: $V_H \leq y \leq V_K$.

Найденная таким образом молекулярно-массовая зависимость (VI.3) позволяет определить ММР и СММ анализируемого полимера заменой переменной V на молекулярную массу M . При этом степень разветвленности можно определить следующим образом. Как мы уже отмечали, молекулы разветвленных и линейных полимеров одной и той же молекулярной массы имеют разные размеры: разветвленные молекулы более компактны, их размер меньше. Поэтому простейшей характеристикой разветвленности может служить отношение квадратов радиусов инерции разветвленных \bar{R}_{br}^2 и линейных \bar{R}_l^2 макромолекул

$$\bar{R}_{br}^2 / \bar{R}_l^2 \equiv g \quad (\text{VI.5})$$

Для линейных полимеров справедливо уравнение

$$[\eta]_l = \Phi_l (\bar{R}^2)_l^{3/2} / M_l \quad (\text{VI.6})$$

где Φ — константа Флори.

Аналогично для разветвленных полимеров

$$[\eta]_{br} = \Phi_{br} (\bar{R}^2)_{br}^{3/2} / M_{br} \quad (\text{VI.6a})$$

Тогда для образцов с одинаковой молекулярной массой с учетом (VI.5) имеем

$$\frac{[\eta]_{br}}{[\eta]_l} = \frac{\Phi_{br}}{\Phi_l} g^{3/2} \equiv X \quad (\text{VI.7})$$

Величину X можно рассматривать как характеристику разветвленности полимера.

В теории Флори первоначально предполагалось, что константы Φ_{br} и Φ_l равны, т. е. $\Phi_{br} = \Phi_l$. В этом случае

$$X = g^{3/2} \quad (\text{VI.8})$$

Затем Зимм и Килб показали [1], что это не так (т. е. $\Phi_{br} \neq \Phi_l$). Они получили

$$\frac{\Phi_{br}}{\Phi_l} \approx \frac{(\bar{R}^2)_l^{1/2}}{(\bar{R}^2)_{br}} = g^{-1} \quad (\text{VI.9})$$

и, следовательно, фактор X в уравнении (VI.7) равен:

$$X = g^{1/2} \quad (\text{VI.10})$$

Есть работы [2], в которых предлагается пользоваться иными соотношениями для X , например

$$X = g \quad \text{или} \quad X = g^{0.6} \quad (\text{VI.10a})$$

С помощью уравнения Марка — Куна — Хауинка для линейного полимера с молекулярной массой M_l всегда можно рассчитать характеристическую вязкость $[\eta]$

$$[\eta]_l = K_\eta M_l^a \quad (\text{VI.11})$$

Вычисляя отношение характеристической вязкости разветвленных полимеров, полученной на проточном вискозиметре, и ее значения для линейных полимеров, рассчитанного по формуле (VI.11) с учетом калибровочной зависимости (VI.3), найдем фактор g как функцию удерживаемых объемов

$$g = g(V)$$

Усредненное по V значение g , равное $\langle g \rangle$, позволит затем найти среднее по образцу число точек ветвления n_w , приходящееся на одну молекулу, по следующей формуле [3]:

$$\langle g \rangle = \frac{6}{n_w} \left\{ \frac{1}{2} \left(\frac{2+n_w}{n_w} \right)^{1/2} \ln \left[\frac{(2+n_w)^{1/2} + n_w^{1/2}}{(2+n_w)^{1/2} - n_w^{1/2}} \right] - 1 \right\} \quad (\text{VI.12})$$

В случае монодисперсного образца [3]

$$g_3 = [(1 + n/7)^{1/2} + 4n/9\pi]^{-1/2} \quad (\text{VI.13})$$

где n — число точек ветвления; индекс 3 означает, что из каждой точки ветвления выходят три ветви.

Формулы (VI.12, VI.13) относятся только к длинноцепному ветвлению, когда длина боковых ветвей сравнима с длиной «ствола» (или последнего вообще нет — статистическое ветвление).

В случае только короткоцепного ветвления для фактора g по Штокмайеру [4] справедливо выражение

$$g' = \frac{1}{n+1} [1 + n(1 - 2f + 2f^2 - 2f^3) + n^2(4f^2 - f^3 - f)] \quad (\text{VI.14})$$

где n — число короткоцепных ветвлений на одну молекулу; f — относительная длина ветвлений.

При одновременном длинно- и короткоцепном ветвлении Килб [5] рекомендует определять фактор g'' как произведение g и g'

$$g'' = g \cdot g' \quad (\text{VI.15})$$

В качестве характеристики разветвленности может также выступать частота ветвления λ

$$\lambda = n(M)/M \quad (\text{VI.16})$$

где число ветвлений n записано как функция молекулярной массы, $n = n(M)$.

Для всего образца в среднем имеем

$$n_w = \int_0^\infty n(M) W(M) dM = \lambda \int_0^\infty M W(M) dM = \lambda M_w \quad (\text{VI.17})$$

$$\lambda = n_w/M_w$$

где $W(M)$ — нормированное ММР образца; M_w — его среднемассовая молекулярная масса.

Таким образом, наличие у хроматографа двух детекторов позволяет надежно, просто и быстро определять ММР, средние молекулярные массы и характеристики разветвленности полимеров. На обычных хроматографах для этого требуется 2,5—3 ч, на скоростных — 10—15 мин.

VI. 1.2. Использование обычного (непроточного) вискозиметра

Молекулярно-массовые распределения и параметры длинноцепной разветвленности полимеров можно также рассчитывать по хроматограммам, полученным в ГПХ, предполагая некоторую модель

ветвления и используя значение среднемассовой характеристической вязкости образца $\langle [\eta] \rangle$

$$\begin{aligned} \langle [\eta] \rangle &= \int_0^\infty [\eta](M) W(M) dM \int_0^\infty W(M) dM = \\ &= \int_{V_{II}}^{V_K} [\eta](V) F(V) dV \int_{V_{II}}^{V_K} F(V) dV \end{aligned} \quad (\text{VI.18})$$

где $W(M)$ — ММР образца; $F(V)$ — его хроматограмма, откорректированная на размывание.

Интерпретация хроматограмм происходит при этом следующим образом [6, 7]. Сначала скорректированная на «приборное уширение» хроматограмма $F(V)$ разветвленного полимера анализируется как хроматограмма линейного образца с тем же распределением по произведению $M[\eta]$. С помощью молекулярно-массовой калибровочной зависимости, например, вида

$$M(V) = D_1 \exp(-D_2 V) \quad (\text{VI.19})$$

и уравнения (VI.11) рассчитывается средняя характеристическая вязкость такого линейного образца

$$\langle [\eta]_l \rangle = K_\eta \int_{V_{II}}^{V_K} M^a(V) F(V) dV = K_\eta D_1^a \int_{V_{II}}^{V_K} \exp(-D_2 a V) F(V) dV \quad (\text{VI.20})$$

и ее значение сравнивается со значением $\langle [\eta]_{br} \rangle$, полученным на вискозиметре. В случае соответствия $\langle [\eta]_{br} \rangle$ и $\langle [\eta]_l \rangle$ делается вывод, что исследуемый полимер — линейный. Когда

$$\langle [\eta]_l \rangle > \langle [\eta]_{br} \rangle$$

полимер следует считать разветвленным. Для количественного учета степени разветвленности и определения ММР составляется следующая система уравнений

$$\langle [\eta]_{br} \rangle = K_\eta \int_{V_{II}}^{V_K} M_{br}^a(V) X(V) F(V) dV \quad (\text{VI.21})$$

$$M[\eta] = K_\eta M_l^{a+1} = K_\eta M_{br}^{a+1} X \quad (\text{VI.22})$$

где фактор X следует выбирать в виде (VI.8, VI.10 или VI.10a). При этом увеличение показателя степени у величины g приводит к уменьшению рассчитываемой степени разветвленности и меньшим значениям молекулярных масс.

Для решения системы уравнений (VI.21—VI.22) надо предложить конкретную модель ветвления и в зависимости от ее выбора воспользоваться затем соответствующей зависимостью фактора g от среднего числа точек ветвления на молекулу (VI.12

или VI.13), причем выбор этой зависимости в виде (VI.13) дает более высокую степень ветвления, чем в виде (VI.12).

Рассмотрим в качестве примера алгоритмы решения системы уравнений (VI.21—VI.22) с факторами g и n заданными равенствами (VI.12 и VI.17), в которых средние величины n_w и M_w заменены на переменные n и M . Исходная система уравнений в этом случае выглядит следующим образом:

$$\langle [\eta]_{br} \rangle = \int_{V_{II}}^{V_K} F(V) K_\eta M^a(V) X(V) dV \quad (VI.21a)$$

где

$$X = \left\{ \frac{6}{\lambda M} \left[\frac{(\lambda M + 2)^{1/2}}{2(\lambda M)^{1/2}} \ln \frac{(\lambda M + 2)^{1/2} + (\lambda M)^{1/2}}{(\lambda M + 2)^{1/2} - (\lambda M)^{1/2}} - 1 \right] \right\}^{1/2}$$

$$B_1 \exp(-B_2 V) = [\eta]_{br} M_{br} = [\eta]_l M_l = K_\eta M^{a+1} X \quad (VI.22a)$$

Она решается на ЭВМ методом последовательных приближений: на первом шаге в выражение (VI.21a) подставляют массив значений $M(V)$, соответствующих линейному полимеру с той же хроматограммой $F(V)$, что и у исследуемого образца. Уравнение (VI.21a) решается с этим массивом относительно λ . При этом поиск λ ведется в некоторой окрестности наперед заданного значения λ_0 . Найденное таким образом значение λ_1 подставляют в уравнение (VI.22a), из которого теперь находят новый массив $M_1(V)$. Затем $M_1(V)$ подставляют в уравнение (VI.21a) и отыскивают следующее приближение по λ , равное λ_2 , и т. д. Построенный таким образом итерационный процесс считается законченным, если абсолютная разность двух последовательных приближений становится не больше некоторого положительного числа ε , представляющего собой абсолютную погрешность метода:

$$|\lambda_i - \lambda_{i-1}| \leq \varepsilon$$

Слабым местом рассмотренного алгоритма является априорный выбор начального приближения по λ , равного λ_0 . От известного произвола, допускаемого здесь, можно избавиться следующим образом.

Средняя характеристическая вязкость полидисперсных образцов для линейных и разветвленных полимеров с одним и тем же ММР рассчитывается в соответствии с выражениями

$$\langle [\eta]_l \rangle_{W(M)} = \int_0^\infty [\eta]_l W(M) dM = K_\eta \int_0^\infty M^a W(M) dM \equiv K_\eta M_\eta^a \quad (VI.23)$$

$$\langle [\eta]_{br} \rangle_{W(M)} = \int_0^\infty [\eta]_{br} W(M) dM =$$

$$= K_\eta \int_0^\infty X(M) M^a W(M) dM \equiv X_{\text{хар}} K_\eta M_\eta^a \quad (VI.24)$$

где M_η — средневязкостная молекулярная масса

$$M_\eta = \left[\int_0^\infty M^a W(M) dM \right]^{1/a} \quad (VI.25)$$

Здесь $X_{\text{хар}}$ — параметр, характеризующий разветвленность полидисперсного образца. Он получен по теореме о среднем значении определенного интеграла и равен отношению средних характеристических вязкостей разветвленного и линейного полимеров с одинаковым молекулярно-массовым распределением

$$X_{\text{хар}} = \frac{\langle [\eta]_{br} \rangle}{\langle [\eta]_l \rangle} \Big|_{W(M)} \quad (VI.26)$$

Видно, что $X_{\text{хар}}$ и M_η в уравнениях (VI.24, VI.26) играют для полидисперсных образцов ту же роль, что X и M для монодисперсных в уравнениях (VI.7, VI.11). Поэтому можно ожидать, что для полидисперсного образца существует связанный с $X_{\text{хар}}$ параметр $n_{\text{хар}}$, аналогичный n для монодисперсных образцов и задающий некоторое характерное для данного полимера число ветвлений на одну молекулу:

$$n_{\text{хар}} = \lambda M_\eta \quad (VI.27)$$

где λ — частота ветвлений, определенная равенством (VI.16).

Из уравнения (VI.27) имеем

$$\lambda = n_{\text{хар}} / M_\eta$$

и, подставляя это в уравнения (VI.16) и (VI.17), получим

$$n = n_{\text{хар}} \frac{M}{M_\eta}, \quad n_w = n_{\text{хар}} \frac{M_w}{M_\eta} \quad (VI.28)$$

Таким образом, определив величины $n_{\text{хар}}$ и M_η , можно найти ориентировочное значение $\lambda = \lambda_0$, нужное на первом шаге итерационного процесса.

С этой целью вычислим отношение средних характеристических вязкостей разветвленного и линейного образцов, имеющих одинаковые хроматограммы

$$\langle [\eta]_{br} \rangle = \int_0^\infty K_\eta M_{br}^a X W_{br}(M_{br}) dM_{br} = \int_0^\infty K_\eta M_l^a X^{-a/(a+1)+1} W_l(M_l) dM_l =$$

$$= (X^{1/(a+1)})_{\text{хар}} \int_0^\infty K_\eta M_l^a W_l(M_l) dM_l = (X^{1/(a+1)})_{\text{хар}} \langle [\eta]_l \rangle$$

$$\frac{\langle [\eta]_{br} \rangle}{\langle [\eta]_l \rangle} = (X^{1/(a+1)})_{\text{хар}} \quad (VI.29)$$

Здесь использовали теорему о среднем, замену переменных $M_{br} \rightarrow M_l$, приводящую к

$$W_{br}(M_{br}) = W_l(M_l) \left| \frac{dM_l}{dM_{br}} \right|$$

и связь молекулярных масс линейной и разветвленной молекул, выходящих из хроматографа с одним и тем же удерживаемым объемом

$$M_{br} X^{1/(a+1)} = M_l \quad (\text{VI.30})$$

полученную при одинаковых V из равенства

$$M_{br} [\eta]_{br} = M_l [\eta]_l$$

Предполагая (на основании экспериментальных данных) приближенное выполнение равенства

$$X_{\text{хар}} \approx (X^{1/(a+1)})_{\text{хар}}^{a+1} \quad (\text{VI.31})$$

найдем

$$X_{\text{хар}} \approx \frac{\langle [\eta]_{br} \rangle^{a+1}}{\langle [\eta]_l \rangle^{a+1}} \quad (\text{VI.32})$$

Так как из уравнения (VI.24) следует

$$M_\eta = \frac{1}{K_\eta^{1/a}} \frac{1}{X_{\text{хар}}^{1/a}} \langle [\eta]_{br} \rangle^{1/a}$$

то, подставляя сюда $X_{\text{хар}}$ из выражения (VI.32), получим

$$M_\eta = K_\eta^{-1/a} \frac{\langle [\eta]_l \rangle^{(a+1)/a}}{\langle [\eta]_{br} \rangle} \quad (\text{VI.33})$$

где средняя вязкость линейного образца вычислена по хроматограмме исследуемого разветвленного полимера.

Близость $X_{\text{хар}}$ к X , M_η к M_w , $n_{\text{хар}}$ к n_w приводит к приближенному равенству

$$X_{\text{хар}} \approx \sqrt{\frac{6}{n_{\text{хар}}} \left[\frac{1}{2} \left(\frac{n_{\text{хар}} + 2}{n_{\text{хар}}} \right)^{1/2} \ln \frac{(n_{\text{хар}} + 2)^{1/2} + n_{\text{хар}}^{1/2}}{(n_{\text{хар}} + 2)^{1/2} - n_{\text{хар}}^{1/2}} - 1 \right]} \quad (\text{VI.34})$$

где использована связь (VI.10) между X и g .

Таким образом, последовательность отыскания начального приближения по λ такова.

1) По формулам (VI.32, VI.33) подсчитывают значения $X_{\text{хар}}$ и M_η . При этом $\langle [\eta] \rangle_{br}$ измеряют на вискозиметре, а $\langle [\eta]_l \rangle$ рассчитывают из хроматограммы разветвленного образца, считая его линейным:

$$\langle [\eta]_l \rangle = K_\eta \int_{V_H}^{V_K} B_1^a \exp[-B_2 a V] F(V) dV$$

где B_1 и B_2 — коэффициенты универсальной калибровки; $F(V)$ — нормированная хроматограмма, откорректированная на приборное уширение

2) Из уравнения (VI.34) находят $n_{\text{хар}}$.

3) Определяют

$$\lambda_0 = n_{\text{хар}} / M_\eta \quad (\text{VI.35})$$

Практика показала, что найденная таким образом частота ветвления λ_0 отличается от ее значения, полученного по окончании итерационного процесса не более чем на 40%.

Зная значение λ_0 , следует несколько видоизменить начальную стадию решения системы уравнений (VI.21a—VI.22a) методом последовательных приближений. Теперь она начнется решением уравнения (VI.22a), из которого по заданному значению λ_0 находят массив значений $M_1(V)$. Подстановка этого массива в (VI.21a) позволит найти следующее приближение по λ и т. д.

Пользование этим алгоритмом в несколько раз сокращает время, нужное на решение системы (VI.21a—VI.22a), и исключает вероятность бесплодных поисков λ_1 в области, которая может находиться далеко в стороне от истинных значений λ . Алгоритмы, рассмотренные в этом разделе, проверены на модельных разветвленных полистиролах и полиэтиленах низкого давления. В обоих случаях они оправдали себя, так как молекулярно-массовые распределения и параметры длинноцепной разветвленности, найденные с их помощью по совокупным данным ГПХ и вискозиметрии, совпали с данными светорассеяния и скоростной седиментации.

VI. 2. Определение ММР разветвленных полимеров сочетанием методов ГПХ и вискозиметрии без постулирования модели ветвления

При синтезе разветвленных полимеров не всегда можно с достаточной уверенностью прогнозировать модель ветвления. В этих случаях желательно проводить их анализ, не пользуясь какой-либо конкретной формулой, связывающей фактор g с числом ветвлений на молекулу n . Вместо этого достаточно считать, что связь между $\ln [\eta]$ и $\ln M$ таких образцов (являющаяся нелинейной) может хорошо аппроксимироваться кривой второго порядка

$$\ln [\eta] = A_0 + A_1 \ln M + A_2 \ln^2 M \quad (\text{VI.36})$$

где коэффициенты A_0 , A_1 и A_2 подлежат определению (рис. VI.1). Алгоритм их отыскания следующий. Сначала, как и в разделе VI.1.2, надо убедиться в разветвленности исследуемого полимера, т. е. в выполнении неравенства

$$\langle [\eta]_l \rangle > \langle [\eta]_{br} \rangle$$

в котором правая часть получена по данным вискозиметрии, а левая — из хроматограммы образца в предположении, что он линейный.

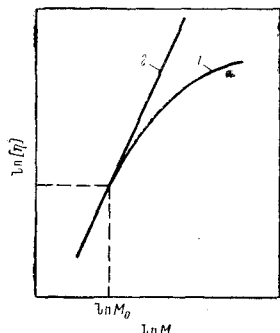


Рис. VI.1. Зависимость характеристической вязкости полимера от молекулярной массы (в логарифмическом масштабе):

1 — зависимость (VI.36); 2 — зависимость (VI.37).

(VI.36) и (VI.37) и их производные в точке $\ln M_0$, получим

Убедившись, что образец разветвлен, будем считать для него справедливой зависимость (VI.36). Чтобы определить ее коэффициенты A_0 , A_1 и A_2 , воспользуемся тем, что для линейного аналога этого образца справедливо уравнение (VI.11), логарифмирование которого дает

$$\ln [\eta] = \ln K_{\eta} + a \ln M \quad (\text{VI.37})$$

Это уравнение прямой в координатах $\ln [\eta]$, $\ln M$, касательной к кривой (VI.36) в некоторой точке $\ln M_0$. Условие касания прямой (VI.37) к кривой (VI.36) позволяет связать между собой искомые коэффициенты уравнения (VI.36) с константами уравнения Марка — Куна — Хауvinка (VI.37) и значением $\ln M_0$. Приравнявая правые части выражений (VI.36) и (VI.37) и их производные в точке $\ln M_0$, получим

$$A_0 = \ln K_{\eta} + A_2 (\ln M_0)^2 \quad (\text{VI.38})$$

$$A_1 = a - 2A_2 \ln M_0 \quad (\text{VI.39})$$

Таким образом, удалось выразить коэффициенты A_0 и A_1 из уравнения (VI.36) через A_2 и $\ln M_0$.

Пусть используемая хроматографическая система охарактеризована универсальной калибровочной зависимостью (VI.1a). Сопоставляя (VI.1a) и (VI.36), получим

$$A_2 (\ln M)^2 + (A_1 + 1) \ln M + A_0 - f(V) = 0 \quad (\text{VI.40})$$

Откуда

$$\ln M = \frac{-(A_1 + 1) \pm \sqrt{(A_1 + 1)^2 - 4A_2 [A_0 - f(V)]}}{2A_2} \equiv \psi(A_0, A_1, A_2, V) \quad (\text{VI.41})$$

Здесь следует взять только положительные решения, так как известно, что $M \gg e$.

Тогда

$$M = \exp [\psi(A_0, A_1, A_2, V)] \quad (\text{VI.42})$$

$$[\eta] = \exp \left[\sum_{k=0}^2 A_k \psi^k(A_0, A_1, A_2, V) \right] \quad (\text{VI.43})$$

Подставляя в функцию ψ значения A_0 и A_1 , выраженные с помощью (VI.39) через A_2 и $\ln M_0$, получим выражения для M и $[\eta]$, как функции только двух параметров A_2 и M_0 . Выбирая

в качестве значения M_0 молекулярную массу мономера, можно для определения ММР использовать следующие уравнения:

$$f(V) = A_0 + (A_1 + 1) \ln M + A_2 (\ln M)^2 \quad (\text{VI.44})$$

$$\langle [\eta]_{br} \rangle = \int_{V_H}^{V_K} [\eta](V) F(V) dV = \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\sum_{k=0}^2 A_k \psi^k(V) \right] F(V) dV \quad (\text{VI.45})$$

Зависимость фактора ветвления X от молекулярной массы найдем, подставляя в выражение (VI.7) $[\eta]_{br}$ из (VI.36) и $[\eta]_l$ из (VI.11) и используя равенство (VI.39):

$$X(M) = \exp \{A_2 [\ln(M_0/M)]^2\} = (M_0/M)^{A_2 \ln(M_0/M)} \quad (\text{VI.46})$$

Подставляя выражения $X(M)$, определенное равенством (VI.46), в (VI.22), можно вместо (VI.40) записать

$$f(V) = K_{\eta} M^{a+1} (M_0/M)^{A_2 \ln(M_0/M)} \quad (\text{VI.47})$$

Следовательно, рассматриваемые совместно уравнения (VI.38, VI.39, VI.42, VI.47) позволяют определить коэффициенты A_0 , A_1 и A_2 в уравнении (VI.36), молекулярно-массовую калибровочную зависимость (VI.42) для разветвленного полимера, его молекулярно-массовое распределение и характеристику разветвленности — фактор $X(M)$.

Согласование молекулярно-массовых распределений, полученных по алгоритмам, приведенным в разделах VI.1 и VI.2, дает возможность говорить о модели ветвления исследуемых полимерных образцов: если ММР, рассчитанные по этим алгоритмам, совпали, то модель ветвления, принятая в алгоритмах раздела VI.1, верна; в противном случае — неверна и надо пользоваться иными зависимостями, связывающими фактор g с числом ветвлений на молекулу n и число ветвлений λ с частотой ветвления λ и молекулярной массой M .

VI.3. Определение ММР разветвленных полимеров сочетанием методов ГПХ и седиментации

Полимеры с длинноцепным ветвлением можно успешно исследовать сочетанием методов ГПХ и скоростной седиментации [8—10]. В основе таких исследований лежит то обстоятельство, что хроматограммы разветвленных образцов дают заниженную M_r , а седиментограммы — завышенную M_s (по сравнению с истинным) молекулярные массы, если при их интерпретации использовать алгоритмы, годные только для линейных полимеров. Поэтому истинная молекулярная масса M должна лежать где-то между M_r и M_s .

Для определения M вспомним, что эксперименты в скоростной седиментации дают связь константы седиментации S с молеку-

лярной массой M и гидродинамическим радиусом R_s макромолекул в тэта-условиях:

$$S = k_s M / R_s \quad (\text{VI.48})$$

где k_s — коэффициент пропорциональности.

Для линейных макромолекул при этом M пропорциональна R_s^2

$$M = k_r R_s^2 \quad (\text{VI.49})$$

где k_r — некоторая константа.

Следовательно

$$S = k_s k_r^{1/2} M^{1/2} \quad (\text{VI.50})$$

В случае линейных полимеров уравнение (VI.50) обычно используют для корреляции значений константы седиментации и молекулярной массы. Если же полимер разветвлен, из уравнения (VI.50) можно получить только кажущуюся молекулярную массу M_s :

$$M_s = S^2 / k_s^2 k_r \quad (\text{VI.51})$$

Используя калибровочные зависимости в ГПХ, связывающие удерживаемые объемы с молекулярной массой и гидродинамическими размерами линейных макромолекул, легко подсчитать кажущуюся молекулярную массу M_r разветвленного полимера

$$M_r = k_r R_s^2 \quad (\text{VI.52})$$

считая, что гидродинамический радиус разветвленных макромолекул, как и линейных, пропорционален кубическому корню из произведения $M[\eta]$.

Подставляя выражения для S из (VI.51) и для R_s из (VI.52) в (VI.48), получим для монодисперсного образца

$$M = \frac{S}{k_s} R_s = \frac{M_s^{1/2} k_s k_r^{1/2}}{k_s} \frac{\tilde{M}_r^{1/2}}{k_r^{1/2}} = (M_s M_r)^{1/2} \quad (\text{VI.53})$$

Так как гидродинамические размеры у разветвленных молекул меньше, чем у линейных с той же молекулярной массой, константа седиментации у них больше. Это и приводит к завышению молекулярной массы, о котором говорилось в начале раздела.

В ГПХ — картина обратная. Здесь кажущаяся молекулярная масса M_r уменьшается вместе с R_s . Поэтому $M_r < M$.

Таким образом

$$M_r < M < M_s \quad (\text{VI.54})$$

И лишь в случае линейных образцов неравенство (VI.54) превращается в равенство:

$$M_r = M = M_s \quad (\text{VI.55})$$

Если для характеристики разветвленности воспользоваться параметром h , введенным Зиммом и Штокмайером

$$h = R_{s, br} / R_{s, l} \quad (\text{VI.56})$$

где $R_{s, l}$ — гидродинамический радиус линейной макромолекулы; $R_{s, br}$ — гидродинамический радиус разветвленной макромолекулы той же молекулярной массы

то из уравнений (VI.49, VI.53) можно найти

$$R_{s, l}^2 = (M_r M_s)^{1/2} / k_r \quad (\text{VI.57})$$

Отсюда, комбинируя уравнения (VI.57, VI.56, VI.53), получим

$$h^2 = (M_r / M_s)^{1/2} \quad (\text{VI.58})$$

В случае полидисперсных образцов (с которыми обычно и приходится иметь дело на практике) и ГПХ, и скоростная седиментация дают распределения кажущихся молекулярных масс $F(M_r)$ и $G(M_s)$. Для линейных образцов обе эти функции в пределах погрешностей экспериментов совпадают с истинным молекулярно-массовым распределением $W(M)$, а для разветвленных, естественно, различаются. Можно показать, что для полимеров, степень разветвленности которых монотонно возрастает с молекулярной массой, справедливость неравенства

$$(M_r)_2 > (M_r)_1 \quad (\text{VI.59})$$

требует выполнения неравенства

$$(M_s)_2 > (M_s)_1 \quad (\text{VI.60})$$

и наоборот, неравенство (VI.60) требует выполнения неравенства (VI.59).

Тогда, составляя интегральные функции

$$F_I(M_r) = \int_0^M F(M_r) dM_r \Big| \int_0^\infty F(M_r) dM_r \quad (\text{VI.61})$$

$$G_I(M_s) = \int_0^M G(M_s) dM_s \Big| \int_0^\infty G(M_s) dM_s \quad (\text{VI.62})$$

легко подсчитать интегральное распределение $W_I(M)$ истинных молекулярных масс, приравнявая значения $F_I(M_r)$ и $G_I(M_s)$ и сопоставляя их с молекулярной массой

$$M = (M_r M_s)^{1/2}$$

$$W_I(M) \Big|_{M=(M_r M_s)^{1/2}} = F_I(M_r) = G_I(M_s) \quad (\text{VI.63})$$

Эта процедура наглядно иллюстрируется рис. VI.2.

Дифференциальное ММР получается из $W_I(M)$ дифференцированием по M

$$W(M) = (\partial/\partial M) W_I(M) \quad (\text{VI.64})$$

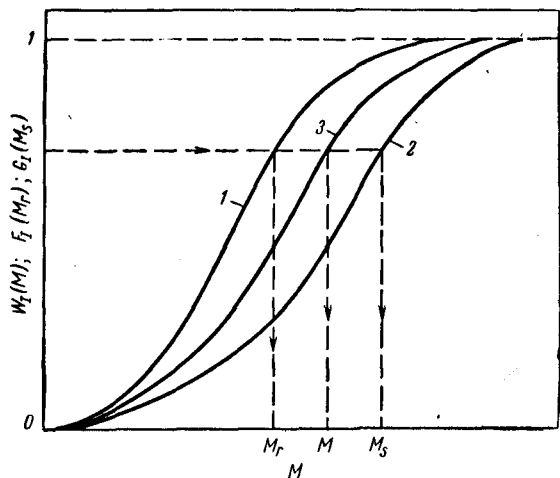


Рис. VI.2. Определение интегральных молекулярно-массовых распределений $F_1(M_r)$ (1), $G_1(M_s)$ (2) и $W_1(M)$ (3) полимеров сочетанием методов ГПХ и седиментации.

Корень квадратный из отношения M_r к M_s дает в соответствии с (VI.58) фактор разветвленности h^2 как функцию молекулярных масс M .

Совпадение функций $W(M)$, полученных по формуле (VI.64) и с помощью методики, описанной в разделе VI.1, позволяет говорить об адекватности выбранной там для расчетов модели ветвления.

Изложенная здесь методика анализа разветвленных полимеров была впервые предложена Л. Х. Тангом [9] и апробирована им на сополимерах стирола с дивинилбензолом и на полиэтиленах низкой плотности [10].

VI.4. Сочетание ГПХ с независимыми методами получения усредненных молекулярных характеристик

Знание таких усредненных молекулярных характеристик полимеров, как средняя характеристическая вязкость $\langle [\eta] \rangle$, средне-массовая M_w и среднечисленная M_n молекулярная масса, существенно расширяет возможности гель-проникающей хроматографии при анализе полимеров. В предыдущих разделах мы видели, как можно определять с помощью ГПХ константы уравнения Марка — Куна — Хаувинка K_η и a , ММР и параметры длинноцепной разветвленности ветвящихся полимеров, если для них измерены значения средних характеристических вязкостей $\langle [\eta] \rangle$.

Принципиально ничего не изменится, если вместо $\langle [\eta] \rangle$ известны либо величины M_w по данным светорассеяния, либо M_n

по данным осмометрии. При этом следует только в алгоритмах, описанных в предыдущих разделах, заменить уравнение, выражающее $\langle [\eta] \rangle$ с помощью ГПХ-хроматограмм $F(V)$

$$\langle [\eta] \rangle = \int [\eta](V) F(V) dV$$

на одно из уравнений, определяющих из этих хроматограмм значения M_w или M_n^* :

$$M_w = \frac{\int_{V_H}^{V_K} M(V) F(V) dV}{\int_{V_H}^{V_K} F(V) dV}$$

$$M_n = \left[\int_{V_H}^{V_K} M^{-1}(V) F(V) dV \right]^{-1} \int_{V_H}^{V_K} F(V) dV$$

Если исследуемый образец разветвлен и его константы K_η и a неизвестны, то лишь знание всех трех рассмотренных средних характеристик $\langle [\eta] \rangle$, M_w и M_n позволяет определить ММР, параметры разветвленности и константы уравнений Марка — Куна — Хаувинка. Пусть универсальная калибровочная зависимость задана в виде:

$$[\eta] M = K_\eta M^{a+1} X \equiv \exp [f(V)] \quad (VI.65)$$

Тогда для характеристической вязкости справедливо выражение

$$[\eta] = K_\eta^{1/(a+1)} X^{1/(a+1)} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] \quad (VI.66)$$

а для молекулярной массы

$$M(V) = \left(K_\eta X \right)^{-1/(a+1)} \exp \left[\frac{1}{a+1} f(V) \right] \quad (VI.67)$$

Если исследуемый образец линейный ($X = 1$), то решая совместно любые два уравнения из системы

$$\left. \begin{aligned} \langle [\eta] \rangle &= K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_n^{-1} &= K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[-\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_w &= K_\eta^{-1/(a+1)} \int_{V_H}^{V_K} \exp \left[\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \end{aligned} \right\} \quad (VI.68)$$

* Здесь, как и раньше, используется обозначение $V_R \equiv V$.

можно найти константы K_η и a и затем с помощью уравнения (VI.67) рассчитать молекулярно-массовую калибровку хроматографа и ММР образца $[F(V)]$ в системе (VI.68) нормирована].

В случае разветвленного образца необходимо рассмотрение всех трех уравнений системы (VI.68), записанных с учетом того, что величина $X(M)$ отлична от единицы:

$$\left. \begin{aligned} \langle [\eta] \rangle &= K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_n}^{V_k} X^{1/(a+1)} \exp \left[\frac{a}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_n^{-1} &= K_\eta^{1/(a+1)} \int_{V_n}^{V_k} X^{1/(a+1)} \exp \left[-\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \\ M_w &= K_\eta^{-1/(a+1)} \int_{V_n}^{V_k} X^{-1/(a+1)} \exp \left[\frac{1}{a+1} f(V) \right] F(V) dV \end{aligned} \right\} \quad (\text{VI.69})$$

Система уравнений (VI.69) совместно с уравнением (VI.67) позволяет определять константы K_η , a , параметр X и ММР разветвленного образца, если при этом предполагать определенную модель ветвления, как это делалось в разделе VI.1, либо аппроксимировать зависимость $\ln [\eta]$ от $\ln M$ полиномом второй степени в соответствии с алгоритмом, описанным в разделе VI.2.

VI.5. Определение ММР статистических сополимеров сочетанием методов ГПХ, вискозиметрии, осмометрии, светорассеяния и пиролизической газовой хроматографии

Сочетание с ГПХ методов вискозиметрии, осмометрии, светорассеяния и ПГХ позволяет определять молекулярно-массовые распределения статистических сополимеров. При этом с помощью пиролизической газовой хроматографии или другим методом, например с применением двух детекторов, определяют процентный состав χ фракций узкодисперсных по составу сополимеров, полученных с малой конверсией, а любые два уравнения из системы (VI.68) используют для определения констант K_η и a . Затем данные по составу объединяют с парами K_η и a , найденными для различных узкодисперсных образцов одного и того же сополимера, и строят зависимости констант K_η и a от состава χ

$$\left. \begin{aligned} K_\eta &= K_\eta(\chi) \\ a &= a(\chi) \end{aligned} \right\} \quad (\text{VI.70})$$

Аппроксимированные некоторыми полиномами зависимости (VI.70) подставляются в уравнение (VI.67), где $X = 1$

$$M(V, \chi) = K_\eta(\chi)^{-1/(a+1)} \exp \{ f(V)/[a(\chi)+1] \} \quad (\text{VI.74})$$

Пропуская через хроматограф полидисперсный образец сополимера, можно по мере его выхода из колонок отбирать узкие фракции и с помощью пиролиза определять их состав (в %). В результате удастся построить распределение по составу для данного образца

$$\xi = \xi(\chi) \quad (\text{VI.72})$$

Теперь заменой переменных χ на M в соответствии с (VI.71) можно получить ММР образца

$$W(M) = \xi(\chi(M)) \left| \frac{\partial \chi(M)}{\partial M} \right| \quad (\text{VI.73})$$

где функция $\chi(M)$ определяется равенством (VI.71). Описанная методика требует привлечения ЭВМ.

VI.6. Комбинированные хроматографические методы анализа сложных полимерных систем с использованием гель-проникающей, тонкослойной и пиролизической газовой хроматографии

При синтезе сложных полимерных систем, таких как блоксополимеры, привитые сополимеры, разветвленные гомополимеры, наряду с основным продуктом, который характеризуется полидисперсностью по молекулярной массе и составу (типу ветвлений), получают и соответствующие линейные гомополимеры. До настоящего времени исследование таких полидисперсных систем представляет чрезвычайно сложную и трудоемкую задачу и часто вообще не может быть выполнено с использованием классических методов анализа полимеров. Существенные результаты в этой области могут быть достигнуты путем комбинированного использования хроматографических методов анализа полимеров: ГПХ для микропрепаративного фракционирования полимеров с определением гидродинамического радиуса R_g полученных фракций, ТСХ для качественного и количественного анализа структурной и химической гетерогенности фракций (см. гл. VIII), пиролизической газовой хроматографии (ПГХ) для определения их брутто-состава. При этом метод ГПХ не имеет себе равных по чувствительности анализа (для него требуются микрограммовые количества вещества) и точности определения состава сополимеров с соотношением компонентов менее 1/20—1/50 [11].

VI.6.1. Исследование смеси линейных и разветвленных полимеров методами гель-проникающей и тонкослойной хроматографии

В работе [12] показана возможность исследования смеси линейных и разветвленных полистиролов (ПС) с использованием ГПХ и ТСХ. С помощью ГПХ было осуществлено микропрепаративное

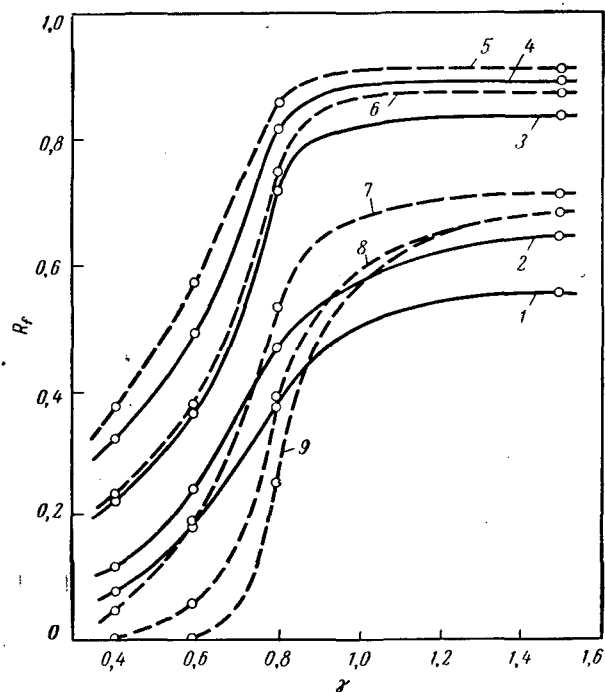


Рис. VI.3. Зависимость R_f компонентов образца полистирола (сплошная линия) и линейных полистирольных стандартов (пунктирная линия) от содержания ацетона (γ) в системе циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : γ) на силикагеле КСК:

1—4 — компоненты полистирольного образца; 5 — $M = 10\,300$; 6 — $M = 19\,800$; 7 — $M = 51\,000$; 8 — $M = 173\,000$; 9 — $M = 2 \cdot 10^6$.

фракционирование исследуемого ПС с определением гидродинамического радиуса R_s каждой фракции. Для этого использовалась калибровочная зависимость, полученная на линейных образцах ПС. ГПХ-фракции далее исследовались методом ТСХ в системе циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : γ) на пластинках с силикагелем КСК. При этом в каждой фракции обнаруживалось несколько компонентов с различной зависимостью R_f от содержания в системе ацетона (γ) (рис. VI.3). Видно, что некоторые из этих компонентов ведут себя подобно линейным стандартам, они были идентифицированы как линейные полистиролы. Другая часть имеет более слабую зависимость R_f (γ), эти компоненты идентифицированы как разветвленные полистиролы, причем было выдвинуто предположение, что различия в адсорбируемости линейных и разветвленных образцов должны увеличиваться с ростом степени разветвленности. С использованием денситометра был проведен количественный анализ ГПХ-фракций, что позволило получить распределение в образце полистирола линей-

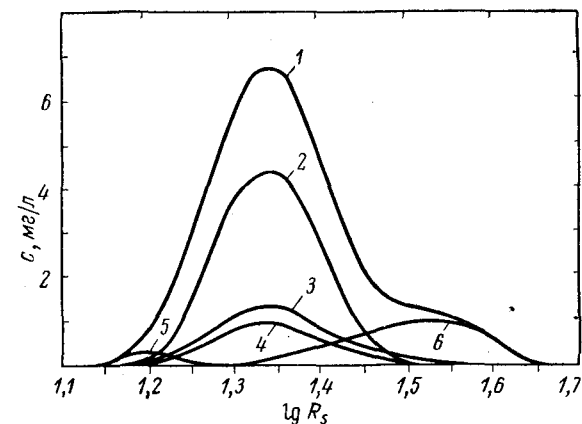


Рис. VI.4. Распределение образца полистирола (1) и его компонентов (2—6) как функция R_s .

ных и разветвленных компонентов (рис. VI.4). Согласно зависимости R_f (γ) эти компоненты были идентифицированы как разветвленные (компоненты 1 и 2), слабо разветвленный (компонент 3) и линейные (компоненты 4 и 5). Учитывая, что эти компоненты образуют непрерывный ряд от линейных до сильно разветвленных, можно было предположить, что компонент 5 представляет собой истинно линейный полистирол, а соответственно компоненты 1, 2, 3 и 4 — разветвленные полистиролы с числом ветвей, равным 4, 3, 2 и 1 (практически линейный). Теперь можно было воспользоваться известным соотношением [13] между R_s и M разветвленных полимеров, которое для ПС имеет вид:

$$R_s = 0,255gM^{1/2}$$

где g — фактор разветвленности; M — молекулярная масса.

Поскольку при синтезе исследуемых полистиролов в качестве инициатора был использован полистириллитий, они должны иметь

Таблица VI.1. Результаты анализа образца полистирола (гребнеобразная модель)

Параметры	Компоненты				
	1	2	3	4	5
R_s , нм	2,05	2,15	3,25	2,25	1,65
Молекулярная масса полимера	10 500	10 600	19 500	10 500	5500
основной цепи	5 000	5 000	—	—	—
боковой цепи	1 400	1 900	—	—	—
Содержание компонент	23	15	16	42	4

гребнеобразное строение и для этой модели в работе [14] выбраны соответствующие значения g , что позволяет получить для разветвленного полимера значения молекулярных масс основной и боковых цепей. Результаты подобного анализа одного из образцов полистирола приведены в табл. VI.1.

Следует отметить, что для столь детального анализа узкодисперсного образца полистирола ($M_w/M_n < 1,1$) оказалось достаточно 2 мг полимера. При этом были определены молекулярные массы линейных (с помощью ТСХ и ГПХ) и разветвленных образцов, параметры разветвленности, охарактеризован компонент 5, содержание которого в анализируемом образце составляло всего лишь 4%.

VI. 6.2. Определение полидисперсности блоксополимеров стирола и метилметакрилата с помощью гель-проникающей, тонкослойной и пиролитической газовой хроматографии

Определение полидисперсности блоксополимеров включает анализ их распределения по молекулярной массе, составу, примеси соответствующих гомополимеров. Показано [15], что полидисперсность блоксополимеров может быть эффективно исследована с помощью последовательного использования нескольких хроматографических методов. После предварительного фракционирования макромолекул по размеру (методом ГПХ) осуществляют с помощью ТСХ повторное хроматографическое разделение полученных фракций по составу с отделением блоксополимера от примеси гомополимеров и, наконец, используя ПГХ [11], определяется состав ГПХ- и ТСХ-фракций. Описываемая методика использовалась для изучения блоксополимера типа АВА, синтезированного с помощью бифункционального триперекисного инициатора [16] [А — полиметилметакрилат (ПММА), а В — полистирол (ПС)].

Метод ПГХ позволяет при выборе соответствующих условий определять с точностью 1—2% брутто-состав фракций, содержащих полимеры стирола (СТ) и метилметакрилата (ММА), независимо от молекулярной массы и химической структуры полимеров. При этом для анализа достаточно 0,1—5 мкг образца. Этот метод может быть использован для анализа как ГПХ-фракций, так и фракций, разделенных с помощью ТСХ. Интересные возможности открывает сопоставление состава полной фракции и ее компонентов. Нетрудно показать, что если знать состав двух фракций, полученных с помощью ТСХ, $m_1'/m_2' = x$ и $m_1''/m_2'' = y$, и исходной ГПХ-фракции, $m_1'''/m_2''' = z$ (здесь m_1 и m_2 — массы полистирола и полиметилметакрилата), то с помощью формулы (VI.74) можно определить соотношение разделенных ТСХ компонентов:

$$\omega = \frac{g_1}{g_2} = \frac{(z-x)(1+y)}{(1+x)(y-z)} \quad (\text{VI.74})$$

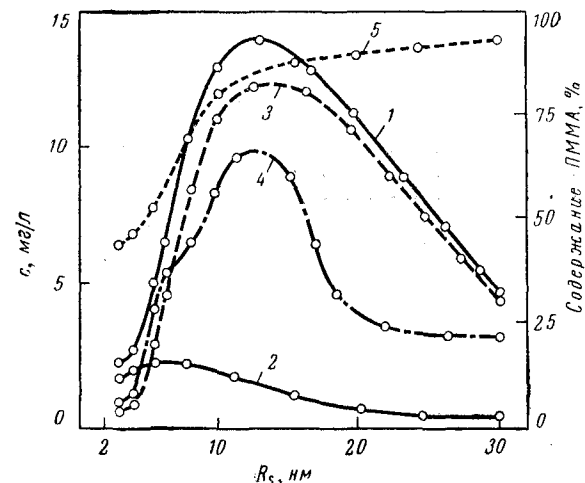


Рис. VI.5. Распределение блоксополимера стирола и метилметакрилата и компонентов блоксополимера как функция R_s :

1 — нефракционированный полимер; 2 — полистирольный компонент; 3 — полиметилметакрилатный компонент; 4 — блоксополимер; 5 — содержание ПММА в блоксополимере.

Анализируемый блоксополимер был фракционирован с помощью ГПХ в ДМФА на колонках со стирогелем, градуированных в R_s . Параллельно на этих же колонках фракционировали ПММА. Полученные фракции анализировали с помощью ТСХ в системе хлороформ — метанол с содержанием метанола 80—72% в зависимости от M анализируемой ГПХ-фракции (ПММА). В этой системе ПММА двигался по пластинке, а блоксополимер оставался на старте. Анализ фракций с помощью ПГХ, ГПХ и ТСХ позволил, используя формулу (VI.74), получить содержание блоксополимера в каждой фракции и, зная ее состав и инкременты показателя преломления ПС и ПММА, определить (используя правило их аддитивности в растворе сополимера [17]) содержание в анализируемом образце ПС- и ПММА-компонентов, блоксополимера и его состав в зависимости от R_s , как это показано на рис. VI.5.

VI. 6.3. Исследование привитых сополимеров целлюлозы с помощью гель-проникающей и тонкослойной хроматографии

Обычно при исследовании привитых сополимеров устанавливают присутствие в них соответствующих свободных гомополимеров. С этой целью может быть использована ТСХ, как это показано на примере привитого сополимера стирола и метилметакрилата [18].

Таблица VI.2. Результаты ГПХ-анализа полистирола

Образец полистирола	$M_w \cdot 10^{-5}$	$M_n \cdot 10^{-4}$	M_w/M_n
После гидролиза	2,8	13,0	2,2
Привитой	1,9	5,8	3,3
Свободный	4,9	17,0	2,9

При изучении привитых сополимеров целлюлозы проводят кислотный гидролиз или ацетализ и определяют молекулярные характеристики освобождающегося привитого гомополимера. Однако здесь встречаются трудности в разделении привитого и присутствующего свободного гомополимера.

Так, для исследования привитого сополимера целлюлозы и полистирола [19] осуществляли кислотный гидролиз сополимера, разделение свободного и привитого ПС с помощью адсорбционной ТСХ и определение ММР этих ПС методом ГПХ. Отщепляемые при кислотном гидролизе привитого сополимера полистирольные цепочки имеют на конце полисахаридные звенья, обладающие высокой адсорбционной активностью. Эта паразитная, на первый взгляд, высокая чувствительность ТСХ к содержанию в ПС с $M \approx 10^5$ концевой глюкозидной группы коррелирует с обнаруженной [20] возможностью разделять с помощью ТСХ ПС с $M = 5 \cdot (10^4 \div 10^5)$, различающиеся числом концевых карбоксильных групп.

Таким образом, с помощью ТСХ на пластинках силикагеля при использовании в качестве элюента ТГФ, можно разделить свободный и привитой ПС. При этом нижнее (стартовое) пятно представляет собой привитой ПС, а движущаяся с фронтом растворителя зона — свободный ПС. Если проявить хроматограмму, последовательно опрыскивая ее насыщенным раствором тимолового синего в 50%-ном водном этаноле и 3 н. H_2SO_4 , то интенсивность почернения верхнего и нижнего пятен позволяет определить долю привитого ПС в общем количестве ПС. ПС экстрагировали с пластинки ТГФ и определяли его ММР с помощью ГПХ на колонках со стирогелем в ТГФ. Найденные значения M_w и M_n приведены в табл. VI.2.

Разработанный метод анализа позволяет определить индекс частоты прививки $F_{пр}$ — отношение среднего числа цепей ПС к среднему числу целлюлозных цепей в привитом сополимере.

Литература

1. Zimm B. H., Kilb R. W. J. Pol. Sci., 1959, v. 37, p. 19—42.
2. Kurata M. e. a. Polym. J., 1972, v. 3, p. 729—738, 739—748.
3. Zimm B. H., Stockmayer W. H. J. Chem. Phys., 1949, v. 17, p. 1301—1312.
4. Stockmayer W. H. J. Am. Chem. Soc., 1955, v. 75, p. 6118—6123.
5. Kilb R. W. J. Pol. Sci., 1959, v. 38, p. 403—415.

6. Drott E. E., Mendelson R. A. J. Pol. Sci., A-2, 1970, v. 8, p. 1361—1380.
7. Miltz J., Ram A. «Polymer», 1971, v. 12, p. 685—696.
8. Guillet J. E. J. Pol. Sci., A, 1963, v. 1, p. 2869—2880.
9. Tung L. H. J. Pol. Sci., A-2, 1969, v. 7, p. 47—55.
10. Tung L. H. J. Pol. Sci., A-2, 1971, v. 9, p. 759—762.
11. Туркова Л. Д., Беленький Б. Г. Высокомолекул. соед., 1970, т. А12, с. 467—473.
12. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1973, v. 77, p. 209—217.
13. Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворах. М., «Наука», 1964. 720 с.
14. Гречановский В. А. «Успехи химии», 1969, т. 38, с. 2194—2205.
15. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1975, v. 108, p. 61—78.
16. Толпышка Т. А., Галибей В. И., Иванчев С. С. Высокомолекул. соед., 1972, т. А14, с. 1027—1035.
17. Benoit H., Bushuk W. Can. J. Chem., 1958, v. 36, p. 1616—1626.
18. Belenkii B. G., Gankina E. S. J. Chromat., 1970, v. 53, p. 3—15.
19. Taya T., Inagaki H. Angew. Makromol. Chem., 1973, Bd. 33, S. 129—135.
20. Tak-Yk-Min, Miyamoto T., Inagaki H. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 1975, v. 53, p. 381—387.

Общая характеристика метода тонкослойной хроматографии

VII. 1. Развитие метода и его особенности

Тонкослойная хроматография (ТСХ) была открыта в 1938 г. Н. А. Измайловым и М. С. Шрайбер [1] и первоначально названа «капельной хроматографией». В их работе отмечалась универсальность нового метода, его высокая чувствительность, методическая простота и скорость анализа. Однако ТСХ получила распространение после опубликования в 1956 г. работы Э. Штала [2], в которой описывались методы стандартизации сорбентов, приготовления хроматографических пластинок, наблюдения и документации хроматограмм. В 1962 г. появилось первое руководство по ТСХ под редакцией Э. Штала [3], и с этого момента метод ТСХ непрерывно прогрессирует. Его развитие идет несколькими путями. Во-первых, расширяется область применения. В настоящее время она охватила все классы органических и неорганических соединений. Во-вторых, расширяется диапазон используемых сорбентов. Вслед за окисью алюминия и силикагелем нашли применение окись магния, силикат магния, ионообменные смолы, целлюлоза и ее ионообменные производные, сефадексы, пористые стекла, а также пористая полиамидная пленка [4], которая наряду с хорошими гидродинамическими характеристиками обладает необходимой устойчивостью, позволяющей использовать ее многократно. В-третьих, исследуются теоретические аспекты ТСХ, связанные с динамическими характеристиками этого процесса [5—9], вопросы получения эффективных разделительных систем [10, 11], особенностями поведения многокомпонентного элюента на хроматографической пластинке, где он разделяется на активном сорбенте, образуя отдельные зоны разного состава (так называемая «полизональная» хроматография) [12]. В-четвертых, развивается аппаратное оформление ТСХ, включающее автоматические аппликаторы для приготовления пластинок, устройства для создания градиентов, приспособления для наблюдения и фотографической регистрации хроматографических пластинок в видимой и ультрафиолетовой областях спектра, а также для люмоавтордиографического детектирования радиоактивных веществ, многочисленные конструкции сканирующих денситометров и флюори-

метров для количественной ТСХ и, наконец, выпуск стандартных тонкослойных пластинок с различными сорбентами.

При этом несмотря на такое современное, дорогостоящее аппаратное оформление ТСХ по-прежнему остается наиболее простым для экспериментального осуществления методом хроматографии, сочетающим в себе такие качества, как универсальность, ультрачувствительность, великолепную разрешающую способность и высокую скорость анализа. В этом отношении ТСХ не имеет равных среди других разновидностей хроматографии, чем и объясняется ее необычная популярность у исследователей и аналитиков.

По классификации Гиддингса [13], тонкослойная хроматография (ТСХ) представляет собой зонный неэлютивный хроматографический процесс. В отличие от элютивной колоночной хроматографии (КХ) при ТСХ время движения по хроматографическому слою одинаково для всех компонентов анализируемых веществ, а их разделение происходит вследствие различия во времени пребывания в подвижной и неподвижной фазах хроматографической пластинки. В результате при ТСХ хроматографическое размывание за счет факторов подвижной фазы (продольной диффузии, внешедиффузионной массопередачи) связано с подвижностью компонентов. В то же время в КХ подобное размывание у всех компонентов одинаково.

Таким образом, в ТСХ в наименьшей степени размывается зона наиболее медленного компонента, в то время как в КХ — наиболее быстрого. Эти особенности ТСХ и КХ должны учитываться при анализе микропримесей. Другая особенность ТСХ связана с двумерным размыванием хроматографических зон (хроматографических пятен): как в направлении движения элюента, так и в поперечном к нему направлении. И, наконец, побудителями движения элюента в ТСХ являются капиллярные силы, возникающие при смачивании жидкостью пористого слоя сухого сорбента. В результате этого скорость элюента по мере подъема по пластинке постепенно замедляется в отличие от КХ, где скорость элюции, как правило, постоянная.

В аппаратном отношении ТСХ гораздо проще КХ. Для проведения анализа методом ТСХ не требуется ни насоса, ни проточного детектора, поскольку элюция совершается за счет движения жидкости в капиллярах, а хроматографические зоны легко обнаружить путем непосредственного прокрашивания тонкого слоя проявляющими реагентами. В ТСХ несложно осуществить параллельное хроматографирование нескольких анализируемых смесей и рехроматографирование предварительно разделенных образцов. В последнем случае достаточно высушить пластинку и прохроматографировать ее в направлении, перпендикулярном к первоначальному. С помощью этого широко используемого в ТСХ приема удастся разделить на одной пластинке 20—40 компонентов. С особенностями динамики ТСХ связаны

и ее недостатки. Если сравнить ТСХ с хроматографией на микро-колонках, диаметр которых соизмерим с толщиной слоя сорбента на пластинке, то можно отметить меньшую чувствительность анализа, больший расход сорбентов и растворителей и худшую воспроизводимость результатов.

VII.2. Математическое описание процесса ТСХ

Хроматографическое размывание в ТСХ наблюдается как двумерное. В направлении элюции x действуют гидродинамические, диффузионные и кинетические факторы, а в направлении y , перпендикулярном к x , — только диффузионные. Поэтому, сравнивая размывание хроматографического пятна в продольном и поперечном направлениях, можно определить дисперсию σ_t^2 , связанную с неравновесной кинетикой процесса

$$\sigma_t^2 = \sigma_x^2 - \sigma_y^2$$

и с ее помощью найти время запаздывания τ . Поэтому для описания хроматографического процесса в тонком слое удобно выбрать систему уравнений I. IV, кинетика описывается уравнением (I.24). Вводя среднюю по слою концентрацию \bar{c} :

$$\bar{c} = \alpha c + \beta c' \quad \alpha c = \bar{c} R_f \quad \beta c' = \bar{c} (1 - R_f) \quad (\text{VII.1})$$

можно свести эту систему к одному уравнению

$$\frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = R_f D_{l,x} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} + R_f D_{l,y} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial y^2} - U R_f \frac{\partial \bar{c}}{\partial x} - (1 - R_f) U \tau \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x \partial t} \quad (\text{VII.2})$$

где α и β — соответственно площади поперечного сечения подвижной и неподвижной фаз, а коэффициенты D_l и D^* заменены на коэффициенты «продольной диффузии» (диффузии в подвижной фазе) вдоль осей x и y .

При решении уравнения (VII.2) следует рассматривать два случая: с постоянной и переменной скоростью U . Первый случай имеет место в *проточной ТСХ*, второй — в *ТСХ по сухому слою*.

В случае *проточной ТСХ*, когда течение жидкости в пористом слое установилось и имеет постоянную скорость, определяемую перепадом уровней в верхнем и нижнем резервуарах с растворителем или равномерным высушиванием края пластинки, уравнение (VII.2) при условии

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{\partial \bar{c}}{\partial t} \right) = \frac{\partial}{\partial x} \left(-R_f U \frac{\partial \bar{c}}{\partial x} \right) \quad (\text{VII.3})$$

принимает вид [14]:

$$\frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = R_f U \frac{\partial \bar{c}}{\partial x} = R_f D_{l,x} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} + R_f D_{l,y} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial y^2} + (1 - R_f) R_f U^2 \tau \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} \quad (\text{VII.4})$$

Решение уравнения (VII.4) для случая стандартных условий ТСХ, когда все вещество в начальный момент времени t_0 сосредоточено в узкой области объемом δ с концентрацией \bar{c}_0 , имеет вид

$$\bar{c}(x, y, t) = \bar{c}_m \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left[\frac{(x - R_f U t)^2}{\sigma_x^2} + \frac{y^2}{\sigma_y^2} \right] \right\} \quad (\text{VII.5})$$

где σ_x^2 и σ_y^2 — дисперсии, характеризующие размывание хроматографического пятна в направлениях x и y :

$$\sigma_x^2 = 2D_{l,x} R_f t + 2(1 - R_f) R_f U^2 \tau \quad (\text{VII.6})$$

$$\sigma_y^2 = 2D_{l,y} R_f t \quad (\text{VII.7})$$

\bar{c}_m — концентрация в центре пятна:

$$\bar{c} = q / (2\pi \sigma_x \sigma_y) \quad (\text{VII.8})$$

q — количество вещества в пятне:

$$q = \bar{c}_0 \delta = \iint \bar{c}(x, y) dx dy$$

При хроматографировании по *сухому слою* скорость движения растворителя по пластинке изменяется во время опыта и уравнение (VII.2) принимает вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} + \left[U + (1 - R_f) \tau \frac{\partial U}{\partial x} \right] R_f \frac{\partial \bar{c}}{\partial x} = \\ = R_f D_{l,x} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} + R_f D_{l,y} \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial y^2} + (1 - R_f) R_f U^2 \tau \frac{\partial^2 \bar{c}}{\partial x^2} \end{aligned} \quad (\text{VII.9})$$

В стандартных условиях ТСХ решение уравнения (VII.9) может быть записано в форме (VII.5), где величина $R_f U t$ в экспоненте заменена на

$$\int_{t_0}^t \left[R_f U + (1 - R_f) \tau \frac{\partial U}{\partial t} \right] dt$$

а дисперсии σ_x^2 и σ_y^2 выглядят следующим образом [14]:

$$\sigma_x^2 = 2R_f \left[D_{l,x} (t - t_0) + (1 - R_f) \tau \int_{t_0}^t U^2(t) dt \right] \quad (\text{VII.10})$$

$$\sigma_y^2 = 2R_f D_{l,y} (t - t_0) \quad (\text{VII.11})$$

где t_0 — время, в течение которого растворитель проходит расстояние от линии погружения пластинки до стартового пятна.

Сравнение дисперсий при горизонтальной, нисходящей и восходящей ТСХ (σ_r^2 , σ_n^2 , σ_b^2) показывает, что для не слишком больших времен ($t \leq 2 \cdot 10^3$ с), т. е. для не слишком больших пластинок

(длиной ≤ 10 см) нельзя отдать предпочтение с точки зрения разделительного эффекта ни одному из способов ТСХ. Это происходит потому, что гидростатическое давление является малой добавкой к капиллярным силам при достаточно малых d_p и длине пластинки. Известно, однако, что при восходящей ТСХ получаются несколько лучшие результаты, чем при нисходящей. Это происходит, по-видимому, вследствие выравнивания фронта потока растворителя по сечению при восходящем процессе и увеличения соотношения β/α .

VII. 3. Основные закономерности тонкослойной хроматографии

Анализ распределения вещества при тонкослойной хроматографии, проведенный на основе решения (VII.5) уравнения (VII.4), позволяет сделать следующие заключения об особенностях ТСХ.

Скорость элюции. Скорость элюции U по сухой пластинке связана с длиной пробега растворителя R_s обратной зависимостью

$$U = U(R_s) \approx R_s^{-1}$$

вследствие чего она быстро уменьшается в процессе хроматографирования до некоторого значения, определяемого размером зерна сорбента и такими свойствами растворителя, как вязкость, поверхностное натяжение, величина краевого угла смачивания. Это иллюстрирует рис. VII.1, из которого видно, что при достижении высоты ~ 3 см (правее пунктирной линии t_0) скорость движения растворителя становится практически постоянной.

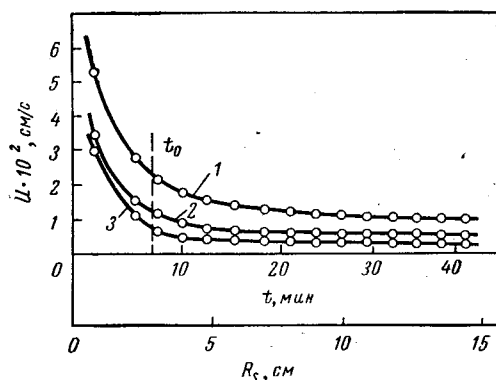


Рис. VII.1. Зависимость скорости элюции U от времени t и расстояния R_s на пластинке с силикагелем КСК ($d_p = 12$ мкм) в различных растворителях: 1 — гептан ($\rho = 0,68$ г/см³, $\eta = 0,4 \cdot 10^{-3}$ Па·с, $\lambda = 5 \cdot 10^{-3}$ Н/м); 2 — дихлорэтан ($\rho = 1,25$ г/см³, $\eta = 0,75 \cdot 10^{-3}$ Па·с, $\lambda = 31,5 \cdot 10^{-3}$ Н/м); 3 — хлороформ ($\rho = 1,49$ г/см³, $\eta = 0,55 \cdot 10^{-3}$ Па·с, $\lambda = 26,2 \cdot 10^{-3}$ Н/м).

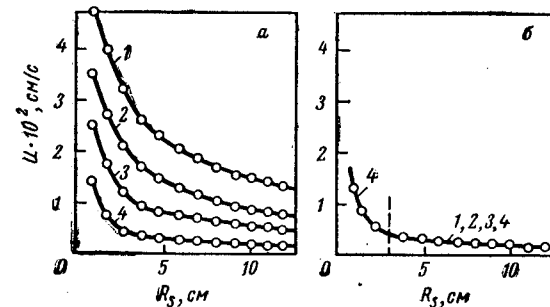


Рис. VII.2. Зависимость скорости элюции U от расстояния R_s на пластинках с силикагелем КСК с диаметром зерна 30 мкм (1), 20 мкм (2), 11 мкм (3) и 4 мкм (4) в дихлорэтане (а) и на составных пластинках (б) с силикагелем КСК [нижняя часть пластинки (3 см) — силикагель с $d_p = 4$ мкм, верхняя часть — силикагель с $d_p = 30, 20, 11$ и 4 мкм].

На рис. VII.2 показана зависимость скорости U от размера зерна. Она является линейной. Если же в начале пластинки нанести слой сорбента с малым размером зерен, а в остальной части — с более крупным, то за пределами начальной зоны скорость U практически не связана с размером зерна. Подобные пластинки можно использовать для изучения зависимости размывания от диаметра зерна при постоянной скорости элюции. Следует иметь в виду, что при движении растворителя по сухому сорбенту определенная его часть тратится на заполнение пор сорбента и поэтому скорость движения фронта растворителя меньше средней скорости подвижной фазы в $1/(1 + \beta/\alpha)$ раз. При этом фронт растворителя размыт из-за медленного заполнения пор адсорбента и одновременного заполнения жидкостью межчастичных капилляров разного диаметра. Однако эти отклонения в скорости течения растворителя U от скорости движения его фронта U_f являются постоянными и их можно учесть с помощью эмпирического коэффициента, приблизительно равного 1,1 [13]:

$$U = 1,1U_f \quad (\text{VII.12})$$

Из равенств (VII.10, VII.11) видна зависимость размывания хроматографических пятен от времени t_0 . Увеличение t_0 , в особенности в области малых значений этой величины (левее пунктирной линии на рис. VII.1), приводит к существенному уменьшению σ_x^2 и улучшению разделения хроматографических пятен на пластинке. Таким образом, для повышения эффективности хроматографического разделения при ТСХ необходимо наносить стартовые пятна разделяемых веществ на некотором расстоянии от линии погружения пластинки в растворитель (не менее 2—3 см).

Чувствительность хроматографического анализа. Отношение концентрации вещества c_m в центре (максимуме)

хроматографического пятна к полному его количеству в пятне q определяет чувствительность метода ТСХ:

$$\frac{c_m}{q} = \frac{1}{4\pi \sqrt{R_f^2 D_{l,x} D_{l,y} (t-t_0)^2 + (1-R_f) R_f^2 \tau D_{l,y} (t-t_0) \int_{t_0}^t U^2(t) dt}} \quad (VII.13)$$

Из уравнения (VII.13) видно, что чувствительность анализа возрастает, когда $D_{l,x}$, $D_{l,y}$, R_f , $(t-t_0)$ и τ уменьшаются. К этому может привести улучшение однородности хроматографического слоя, уменьшающее дисперсионные коэффициенты $D_{l,x}$ и $D_{l,y}$, увеличение времени пробега растворителя по пластинке до точки стартового пятна t_0 , улучшение кинетических характеристик процесса, связанное с уменьшением времени запаздывания τ , и возрастание массообмена, в частности, за счет уменьшения R_f . Последний фактор является универсальным, так как он действует во всех вариантах ТСХ, в том числе, когда хроматографический процесс приближается к равновесному: $\tau \rightarrow 0$. В этом случае размывание пятна в продольном и поперечном направлениях почти одинаково, т. е.

$$D_{l,x} \approx D_{l,y} \equiv D_l$$

и уравнение (VII.13) упрощается:

$$\frac{c_m}{q} = \frac{1}{4\pi R_f D_l (t-t_0)} \quad (VII.14)$$

В равновесных условиях влияние величины R_f на чувствительность анализа более существенно, чем в неравновесных.

Это можно использовать для определения в веществе незначительных примесей, если скорость их движения вдоль пластинки мала ($R_f \ll 0$). При этом необходимо выбрать хроматографический процесс, который обеспечивает нахождение микрокомпонента вблизи стартового пятна, в то время как макрокомпонент уходит вперед и не мешает определению микрокомпонента. Наиболее удобен для этой цели элютивно-вытеснительный процесс, в котором движение макрокомпонента происходит по законам вытеснительной хроматографии в условиях обострения задней границы пятна, а микрокомпонент движется по законам элютивной хроматографии позади фронта вытеснителя. На рис. VII.3 показан пример такого процесса, когда удается определить и идентифицировать микропримеси: ДНФ-ала, ДНФ-гли, составляющие $\approx 0,001\%$ от содержания основного компонента (ДНФ-ОН).

Имеется еще одна возможность повышения чувствительности ТСХ: уменьшение размера стартового пятна, дисперсия которого σ_0^2 аддитивно складывается с дисперсией размывания σ^2 :

$$\tilde{\sigma}^2 = \sigma_0^2 + \sigma^2$$

Для уменьшения размера стартовых пятен их следует наносить в возможно малом объеме растворителя, одновременно подогревая пластинку, чтобы увеличить скорость его испарения. При этом следует для нанесения пятен выбирать растворители, в которых исследуемые вещества хроматографически мало подвижны ($R_f \ll \ll 1$). Тогда даже при большом объеме наносимой пробы размер стартовых пятен будет мал.

• **Влияние структуры слоя адсорбента на размывание хроматографического пятна.** Структурная неоднородность по толщине адсорбционного слоя вносит дополнительный вклад в размывание хроматографического пятна. Этот вклад можно учесть, расширяя смысловое содержание диффузионных коэффициентов $D_{l,x}$ и $D_{l,y}$ таким образом, чтобы они отражали размывание, связанное с объединенной вихревой диффузией. Кроме того, можно рассчитать статистические моменты для уравнения (VII.9) при заданном градиенте по толщине слоя адсорбента. В случае ступенчатого профиля

$$U_t(z) = \begin{cases} U_0, & 0 \leq z \leq h_v \\ U_0 + \Delta U, & h_v \leq z \leq h_0 \end{cases} \quad (VII.15)$$

где $\Delta U \equiv$ изменение (скачок) скорости; h_v — его координата; h_0 — толщина слоя адсорбента.

можно получить следующее выражение для дисперсии [14]:

$$\sigma_{\perp}^2 = \frac{2R_f v^2 (1-v)^2 h_0^2 (\Delta U)^2}{3D_{\perp}} t \quad (VII.16)$$

где $v \equiv h_v/h_0$; D_{\perp} — квазидиффузионный коэффициент конвективного перемешивания по толщине слоя адсорбента.

Числитель в правой части равенства (VII.16) характеризует относительный сдвиг концентраций в различных сечениях, увеличивающий размеры пятна при наблюдении (фотографировании). Знаменатель описывает выравнивание концентрации по толщине слоя за счет диффузионного «подтаивания» переднего края пятна в нижнем сечении и заднего края в верхнем.

Распределение частиц по толщине слоя при различных способах его приготовления можно определять путем срезания отдельных

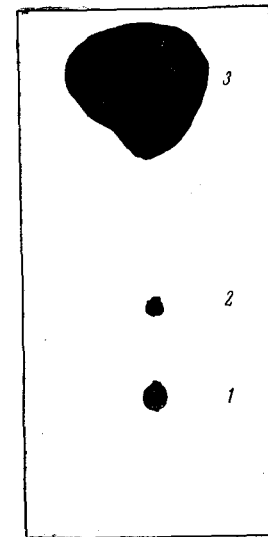


Рис. VII.3. Контактная фотография тонкослойной хроматограммы динитрофенильных производных аминокислот на силикагеле КСК в системе растворителей хлороформ — бензиловый спирт — уксусная кислота (70 : 30 : 3): 1 — ДНФ-гли, 0,05 мкг; 2 — ДНФ-ала, 0,05 мкг; 3 — динитрофенол, 1000 мкг.

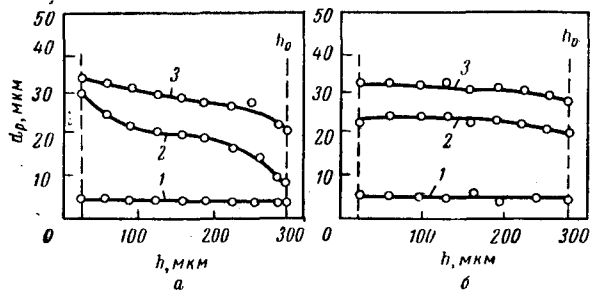


Рис. VII.4. Распределение средних размеров гранул адсорбента по толщине слоя:
 а — наливной способ; б — погружной способ; 1 — $d_p = 5$ мкм; 2 — $d_p = 30$ мкм; 3 — смесь 1 и 2 в соотношении 1 : 3, $d_p = 20$ мкм.

пластов с помощью микротома и измерения в них среднего размера частиц. На рис. VII.4 показаны результаты таких измерений для трех фракций крупнопористого силикагеля КСК. Зависимость размывания пятен от толщины слоя показана на рис. VII.5.

Для получения высокоэффективных хроматографических пластинок следует использовать концентрированные суспензии сорбента. Характерно, что при наливном способе приготовления слоя участок с наибольшей структурной неоднородностью находится

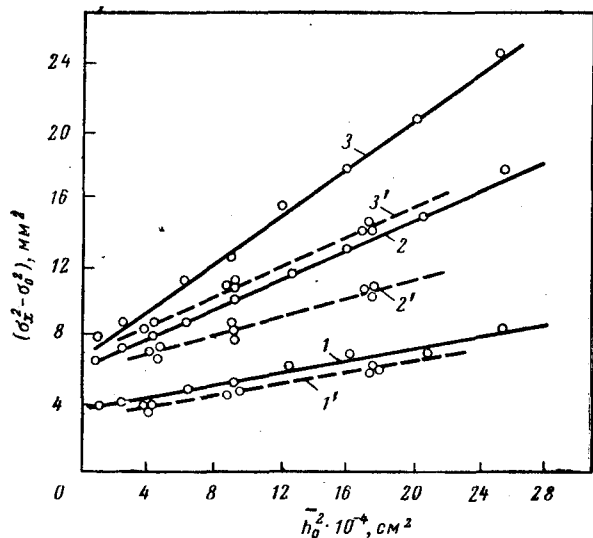


Рис. VII.5. Зависимость размывания хроматографического пятна ДНС-глицина $\sigma_x^2 - \sigma_0^2$ от квадрата толщины слоя h_0^2 при приготовлении слоя из разведенной (сплошные линии) и концентрированной (пунктирные линии) суспензий силикагеля КСК ($R_s = 6$ см):
 1, 1' — $d_p = 5$ мкм, $t = 50$ мин; 2, 2' — $d_p = 30$ мкм, $t = 20$ мин; 3, 3' — $d_p = 20$ мкм, $t = 20$ мин.

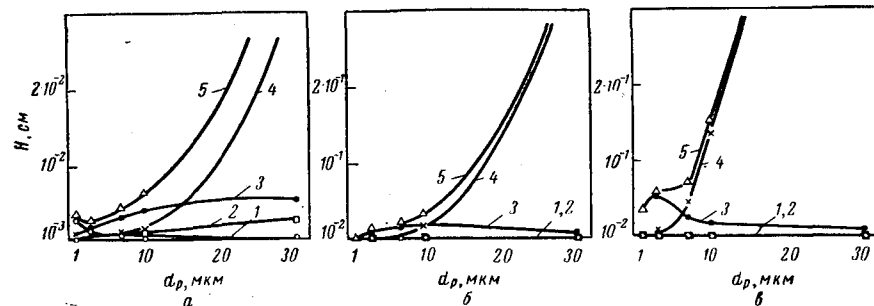


Рис. VII.6. Зависимость \bar{H}_M (1), \bar{H}_{CED} (2), \bar{H}_\perp (3), \bar{H}_{MT} (4) и \bar{H}_Σ (5) от размеров зерен сорбента:
 а — при $D = 10^{-5}$ см²/с; б — при $D = 10^{-6}$ см²/с; в — при $D = 10^{-7}$ см²/с.

у его поверхности. Удаление этого участка из приготовленного слоя (например, путем его срезания) уменьшает размывание хроматографического пятна.

Эффективность метода ТСХ. Представляет интерес оценить для ТСХ вклад в хроматографическое размывание, т. е. в высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ), — \bar{H} , отдельных составляемых, связанных с молекулярной диффузией — \bar{H}_M , сопряженной

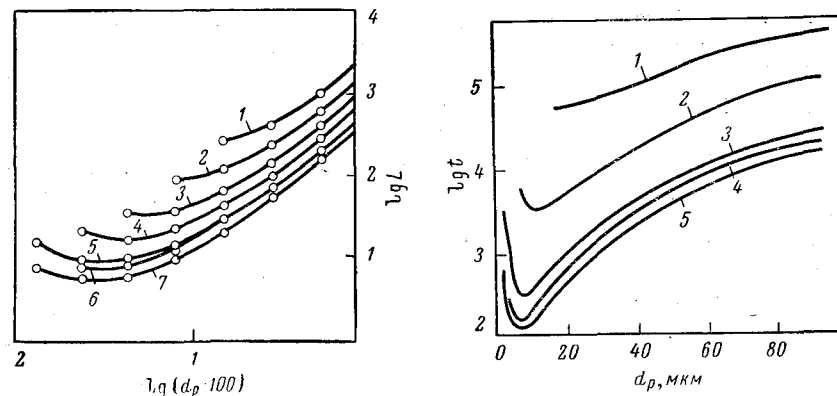


Рис. VII.7. Зависимость длины L (в см) пластинки от среднего диаметра зерен сорбента (в см) ($D = 10^{-6}$ см²/с, $\zeta = 1 \cdot 10^2$; $\Delta K/K = 0,2$; $\Delta d_p = 0,1$; $\gamma_p = 0,05$; $\gamma = 0,6$; $\omega = \bar{\lambda}' = 0,5$; $k_0 = 5 \cdot 10^{-2}$ см; $\sigma_0 = 5 \cdot 10^{-2}$ см):
 1 — $R_f = 10^{-2}$; 2 — $R_f = 2 \cdot 10^{-2}$; 3 — $R_f = 4 \cdot 10^{-2}$; 4 — $R_f = 8 \cdot 10^{-2}$; 5 — $R_f = 16 \times 10^{-2}$; 6 — $R_f = 63 \cdot 10^{-2}$; 7 — $R_f = 32 \cdot 10^{-2}$.

Рис. VII.8. Зависимость времени разделения от среднего диаметра зерен сорбента (параметры опыта те же, что и на рис. VII.7):
 1 — $R_f = 10^{-2}$; 2 — $R_f = 4 \cdot 10^{-2}$; 3 — $R_f = 16 \cdot 10^{-2}$; 4 — $R_f = 63 \cdot 10^{-2}$; 5 — $R_f = 32 \cdot 10^{-2}$.

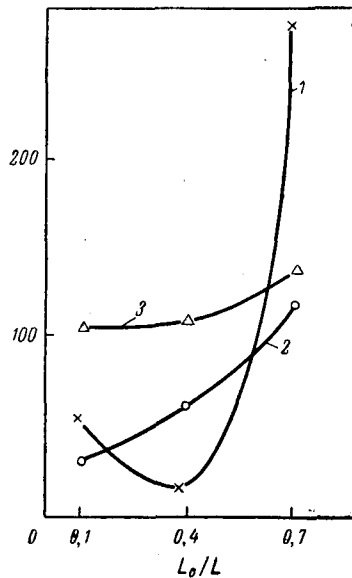


Рис. VII.9. Зависимость времени анализа ($t = X \cdot 10^2$, с) (1), длины пластинки ($L = X$, см) (2) и дисперсии хроматографического пятна ($\sigma_L^2 = X \cdot 10^3$, см²) (3) от относительной координаты начальной зоны (L_0/L) при $d_p = d_{\text{опт}}$ и $R_f = R_{f, \text{опт}}$ (параметры опыта те же, что на рис. VII.7).

$= 10^{-5}$ см²/с. Для веществ с $D_m = 10^{-6} \div 10^{-7}$ см²/с, т. е. полимеров, этот минимум находится в области $d_p < 10^{-4}$ см. Указанные закономерности справедливы в случае достаточно однородного хроматографического слоя ($\Delta d_p \leq 0,1 d_p$). Когда же неоднородность хроматографического слоя увеличивается, например, до $\Delta d_p = 0,5 d_p$, эти закономерности могут нарушаться, поскольку \bar{H}_\perp проходит через максимум, который смещается в область больших \bar{H}_\perp при увеличении коэффициента диффузии D_m .

Приведенные результаты показывают, что в зависимости от условий хроматографирования роль отдельных слагаемых в суммарной величине ВЭТТ различна, что позволяет подбирать эти условия оптимальным образом. Оптимизация в ТСХ заключается в правильном подборе растворителя, размера зерен сорбента d_p , длины пластинки L и способа ее приготовления. В основе соответствующих расчетов лежат формулы (I.100 и I.106), связывающие между собой перечисленные величины. С уменьшением d_p и ростом R_f заданная эффективность разделения достигается на пластинках меньшей длины (рис. VII.7, VII.8). При этом в области

вихревой диффузией — $\bar{H}_{\text{СЭД}}$, внутренней массопередачей — $\bar{H}_{\text{МТ}}$ и трансслойным эффектом размывания — \bar{H}_\perp

$$\bar{H} = \bar{H}_M + \bar{H}_{\text{СЭД}} + \bar{H}_{\text{МТ}} + \bar{H}_\perp \quad (\text{VII.17})$$

На рис. VII.6 показаны зависимости величин \bar{H}_M , $\bar{H}_{\text{СЭД}}$, $\bar{H}_{\text{МТ}}$, \bar{H}_\perp и \bar{H} от размера зерен сорбента d_p [9]. Характерной особенностью этих зависимостей является резкое снижение ВЭТТ при переходе от $d_p = 3 \cdot 10^{-3}$ см к $d_p \approx 10^{-3}$ см, что связано с уменьшением ВЭТТ массопередачи $\bar{H}_{\text{МТ}}$ в этой области. Область минимальных значений \bar{H} (при $d_p = 10^{-4} \div 7 \cdot 10^{-4}$ см) зависит от коэффициента диффузии хроматографируемых веществ D_m и составляет соответственно $2 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-3}$ и $2 \cdot 10^{-2}$ см для $D_m = 10^{-5}$, 10^{-6} и 10^{-7} см²/с. Можно отметить наличие весьма пологого минимума \bar{H} у пластинок с $d_p = 3 \times 10^{-3}$ см при ТСХ веществ с $D_m =$

$10^{-3} \div 10^{-4}$ см зависимости L и t от d_p имеют минимум. Из рис. VII.9 видно, что при заданном R_f и оптимальном d_p величины L и t уменьшаются вместе с расстоянием S_0 между стартовой зоной и линией погружения пластинки в растворитель. Оптимизация по размеру зерна ($d_p \approx 5$ мкм) позволяет получить эффективное разделение 20–30 веществ на пластинках 5×5 см. Вариант ТСХ с этими условиями был назван микротонкослойной хроматографией [39]; за рубежом он известен как метод высокоэффективной ТСХ (HPTLC) [40].

VII. 4. Полизональная и градиентная тонкослойная хроматография

Многокомпонентный элюент при движении по пластинке с активным сорбентом разделяется на отдельные зоны по законам фронтальной хроматографии. Такая разновидность тонкослойной хроматографии была названа Бреннером и Нидервизером [15] полизональной ТСХ. Нидервизер рассматривает термин «полизональная хроматография» как эквивалентный понятию градиентной ТСХ [12]. Существуют различные способы создания градиентных условий на тонкослойной пластинке: путем изменения активности сорбента по длине пластинки (градиент-адсорбентная ТСХ); за счет изменения состава элюента (собственно полизональная и градиент-элютивная ТСХ); путем комбинации этих двух способов и, наконец, при экспозиции хроматографической пластинки в парах различных растворителей (градиент-паровая ТСХ) с образованием отрицательного градиента активности адсорбционного слоя по направлению движения элюента [16]. По эффективности эти методы располагаются в следующем порядке: градиент-адсорбентная ТСХ > градиент-элютивная ТСХ > собственно полизональная ТСХ > градиент-паровая ТСХ [17]. Вполне понятно, что для разделения веществ, сильно различающихся по адсорбционным характеристикам, необходимо использовать сильные градиенты и полизональную ТСХ, для разделения близких по свойствам веществ следует применять слабые градиентные поля.

Наибольший интерес представляет собственно полизональная ТСХ. Поскольку при разделении элюента на зоны состав элюента в каждой зоне различен, то в зависимости от подвижности вещества в зоне $R_{f(\alpha)}$, $R_{f(\beta)}$, $R_{f(\gamma)}$ * и подвижности границ зон, описываемых с помощью величин, эквивалентных R_f ($R_{z(\alpha)}$, $R_{z(\beta)}$, $R_{z(\gamma)}$), вещество может двигаться только в α -зоне, α - и β -зонах или α -, β - и γ -зонах. Тогда положение хроматографического пятна S_x ,

* Величины $R_{f(\alpha)}$, $R_{f(\beta)}$ и $R_{f(\gamma)}$ определяются соотношением скорости вещества в данной зоне и скорости ее фронта:

$$R_f = R_{f(\beta)} R_{z(\beta)} \quad R_f = R_{f(\gamma)} R_{z(\gamma)} \quad R_f = R_{f(\beta)} R_{z(\beta)}$$

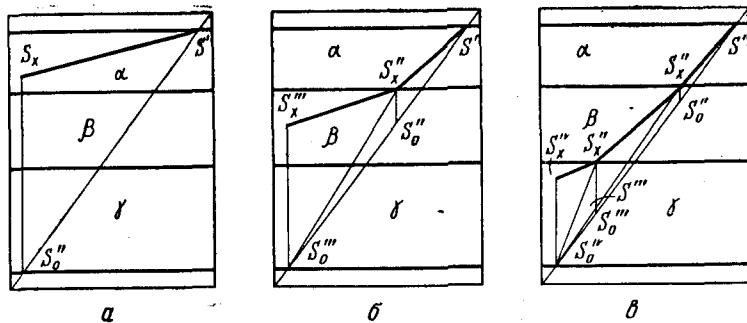


Рис. VII.10. Полизональная ТСХ. Расположение пятен S_x при нанесении стартовых точек S_0 по диагонали пластинки [условия хроматографии а, б и в соответствуют уравнениям (VII.33, VII.34, VII.35)].

нанесенного на расстоянии S_0 от линии погружения пластинки в растворитель при движении только в α -зоне

$$S_x = S_0 (1 - R_{f(\alpha)}) + R_{f(\alpha)} R_{s(\alpha)} \quad (\text{VII.18})$$

в α - и β -зонах

$$S_x = S_0 R_{z(\beta)} \frac{(1 - R_{f(\alpha)})(1 - R_{f(\beta)})}{R_{z(\beta)} - R_{f(\alpha)}} + R_{s(\beta)} R_{f(\beta)} \quad (\text{VII.19})$$

и α -, β - и γ -зонах

$$S_x = S_0 R_{z(\beta)} R_{z(\gamma)} \frac{(1 - R_{f(\alpha)})(1 - R_{f(\beta)})(1 - R_{f(\gamma)})}{(R_{z(\beta)} - R_{f(\alpha)})(R_{z(\gamma)} - R_{z(\beta)} R_{f(\beta)})} + R_{s(\gamma)} R_{f(\gamma)} \quad (\text{VII.20})$$

где R_s — длина пробега растворителя.

Из формул (VII.18, VII.19 и VII.20) видно, что если расположить, как это предложил Нидервизер [12], стартовые точки на одной линии (S_0) по диагонали пластинки, то линия финишных пятен (S_x) будет располагаться под некоторым углом к линии погружения пластинки в растворитель, причем ее наклон уменьшается при переходе из α - в β - и из β - в γ -зону (рис. VII.10). Подобное расположение финишных пятен на прямых под некоторым углом к линии погружения в растворитель можно использовать в качестве критерия однородности адсорбционных свойств сорбента внутри зоны. Параллельное расположение линии финишных пятен относительно линии погружения в растворитель служит доказательством наличия непрерывного градиента состава растворителя по длине пластинки. Так, при использовании «сандвич-камеры» (С-камеры) градиент появляется за счет испарения летучих компонентов растворителя вблизи фронта элюента в воздушной пространственной камере (рис. VII.11). Этим объясняется высокая эффективность ТСХ в С-камерах, связанная с продоль-

ным сжатием хроматографических пятен в условиях градиента растворителя. Каждая зона в полизональной ТСХ представляет собой особую хроматографическую систему, наиболее подходящую для разделения веществ определенного класса. Так, например, в хроматографической системе, состоящей из хлороформа, спирта и уксусной кислоты, хорошо разделяются динитрофенил (ДНФ)-производные различных классов органических соединений. В первой зоне, где растворитель — чистый хлороформ, движутся ДНФ-амины, во второй зоне, где растворитель состоит из хлороформа и спирта, — ДНФ-фенолы, а в третьей зоне, где растворитель имеет исходный состав, разделяются ДНФ-аминокислоты [12]. Характерной особенностью полизональной ТСХ является наличие переходных зон — фронтов, где концентрация наиболее адсорбируемого компонента растворителя резко изменяется. В этой области в определенных условиях может наблюдаться феномен вытеснительной хроматографии. Вытеснительную ТСХ целесообразно использовать для определения микропримесей.

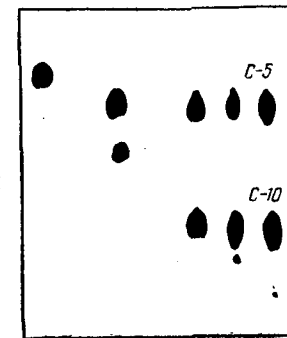


Рис. VII.11. Хроматограмма смеси сополимеров стирола и метилметакрилата с $M = 8 \cdot 10^4$, содержащих 54% СТ ($C = 5$) и 31% СТ ($C = 10$) на силикагеле КСК в С-камере в системе хлороформ — ацетон (12 : 1,2) (стартовые точки нанесены по диагонали пластинки).

VII. 5. Количественная тонкослойная хроматография

Количественный анализ в ТСХ возник на ранних этапах развития метода. Первые попытки количественной оценки хроматограмм, основанные на измерении размеров пятен, были сделаны Фишером в 1948 г. [18]. В 1962 г. предложен [19] метод количественного анализа, основанный на использовании эмпирического соотношения между площадью пятна и количеством содержащегося в нем вещества. При последующем развитии количественной ТСХ с пластинки снимался слой адсорбента в области хроматографических пятен и из него вымывалось исследуемое вещество, которое затем анализировалось каким-либо физическим или физико-химическим методом. Начиная с 1967 г., намечается переход от методов извлечения вещества из тонкослойной пластинки (так называемых элюционных методов) к количественному анализу *in situ*, т. е. анализу непосредственно на слое путем сканирования пятен и отыскания распределения вещества путем измерения светопоглощения, флуоресценции, радиоактивности или каких-либо других свойств (например, электропроводности [20]).

Таким образом, количественный анализ в ТСХ можно осуществить тремя путями: 1) извлекая хроматографируемое вещество

из тонкослойной пластинки и определяя его количество каким-либо подходящим аналитическим методом (фотометрическим, спектрофотометрическим, флюориметрическим, масс-спектрометрическим, гравиметрическим и т. д.); 2) исследуя распределение вещества в хроматографическом пятне; 3) измеряя размеры хроматографического пятна.

Хроматографические пятна в ТСХ (при гауссовом распределении вещества в них) имеют форму эллипса

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} = 1 \quad (\text{VII.21})$$

полуоси которого a и b связаны с отношением концентраций в центре и на границах $c_m/c_{гp}$ следующим образом

$$\left. \begin{aligned} a &= [2 \ln (c_m/c_{гp}) \sigma_x^2]^{1/2} \\ b &= [2 \ln (c_m/c_{гp}) \sigma_y^2]^{1/2} \end{aligned} \right\} \quad (\text{VII.22})$$

где σ_x^2 и σ_y^2 — дисперсии распределения в продольном и поперечном направлениях.

Уравнения (VII.8, VII.21, VII.22) позволяют связать количество вещества в пятне с размерами пятна:

$$\lg q = A + 4Bab \quad (\text{VII.23})$$

где $A = 18,4\sigma_x\sigma_y \lg (2\pi\sigma_x\sigma_y c_{гp})$; $B = 1/(18,4\sigma_x\sigma_y)$.

При выполнении анализов методом элюционной ТСХ необходимо соблюдение ряда условий: полное удаление (скарификация) сорбента с веществом в области хроматографического пятна, количественная элюция анализируемого вещества из сорбента при отсутствии элюции побочных веществ (например, загрязнений с сорбента и растворителей, используемых при хроматографировании) и точный анализ разбавленных растворов, элюируемых из сорбента.

Для полного удаления сорбента в области хроматографического пятна необходимо точно установить положение пятна на пластинке. С этой целью можно предварительно определять R_f анализируемых веществ на отдельной хроматограмме или детектировать хроматографические зоны непосредственно на анализируемой пластинке, например, по гашению люминесценции введенного в адсорбент люминофора или другими методами.

При количественной элюционной ТСХ рекомендуется применять специальные меры по повышению стабильности разделяемых веществ, например проводить ТСХ в темноте или при ослабленном освещении, удалять из адсорбента примеси тяжелых металлов [21].

Для повышения полноты элюции вещества из сорбента и предотвращения попадания в раствор посторонних примесей рекомендуется тщательно промывать сорбент перед хроматографирова-

нием анализируемых веществ тем растворителем, который затем будет использоваться для элюции [21]. Растворитель должен иметь низкую температуру кипения с тем, чтобы обеспечить его эффективное удаление при высушивании пластинок и свести к минимуму термический распад анализируемых веществ [22].

Для скарификации сорбента с пластинки и элюирования из него анализируемого вещества разработано большое число приспособлений [23—25], в том числе и автоматический скарификатор, управляемый компьютером [25].

Для выбора элюента рекомендуется использовать растворители, в которых анализируемые вещества имеют $R_f \geq 0,8$. В то же время целесообразно применять для элюции воду и низшие спирты, поскольку они экстрагируют материал хроматографического слоя (гипс, связующие).

Важное значение для элюционной количественной ТСХ, так же как и для других методов количественной ТСХ, имеют способы нанесения пробы вещества на хроматографическую пластинку. С этой целью разработано значительное число специальных приспособлений [26]. Обычно пробу вещества наносят в виде непрерывной полосы или серии пятен, расположенных на линии старта. Для элюционной количественной ТСХ эти способы равноценны. Однако при денситометрии высокой щелью лучше наносить стартовую зону в виде полосы.

Воспроизводимость элюционной количественной ТСХ такова, что при анализе 50 мкг вещества элюционные методы обеспечивают стандартное отклонение 2,5—4% (при числе повторных измерений порядка 10) [27]. Однако такая воспроизводимость достигается при особо тщательном выборе условий эксперимента. При уменьшении размера пробы до 10 мкг воспроизводимость анализа уменьшается до 15% [28]. Для количественного анализа микрограммовых количеств веществ элюционные методы не используют.

VII.6. Методы количественного анализа тонкослойных хроматограмм, основанные на измерении распределения вещества в хроматографическом пятне

Измерение распределения вещества в хроматографическом пятне можно проводить различными методами: чаще методами фотометрии (денситометрии) и флюориметрии, а также с помощью пламенно-ионизационного детектора [29], измерения радиоактивного излучения [30], электропроводности [20].

VII. 6.1. Денситометрическое определение количества вещества в хроматографическом слое

Денситометрическое определение вещества в хроматографическом слое осложняется диффузионным рассеянием света на зернах сорбента. Прохождение и отражение света в сильно рассеивающих средах описываются сложными интегро-дифференциальными уравнениями [31], которые в общем случае не имеют аналитических решений. На практике обычно используют приближенные уравнения. Одним из таких приближений являются дифференциальные уравнения, полученные Кубелкой и Мунком [32]. Эти уравнения были положены в основу работ по теории денситометрического анализа тонкослойных хроматограмм [33]. На основе решений системы дифференциальных уравнений для проходящего и отраженного света при введении ряда упрощающих предположений была получена связь концентрации вещества $c(x, y)$ в точке (x, y) хроматографического пятна с поглощением и рассеянием света в этой области:

$$\bar{c}(x, y) = \frac{2 \exp[-A_0(x, y)]}{\varepsilon} \{A(x, y) + 0.4[A(x, y)]^2\} \quad (\text{VII.24})$$

где ε — мольная экстинкция для данного вещества; A_0 — поглощение света за счет рассеяния; A — поглощение света исследуемым веществом.

Из уравнения (VII.24) видно, что при прохождении света через сильнорассеивающую среду зависимость поглощения A от концентрации вещества отклоняется от линейного закона Бера

$$\bar{c} = \text{const } A/\varepsilon$$

Справедливость формулы (VII.24) проверена экспериментально при $0,7 \leq A_0 \leq 1,3$ и $0 \leq A \leq 1,0$.

VII. 6.1.1. Способы сканирования при денситометрическом анализе тонкослойных хроматограмм

Распределение интенсивности проходящего светового потока в плоскости хроматографической зоны с гауссовым распределением концентрации имеет вид

$$I(x, y) = I_0 \exp \left\{ -k c_m \exp \left[-\frac{1}{2} \left(\frac{x^2}{\sigma_x^2} + \frac{y^2}{\sigma_y^2} \right) \right] \right\} \quad (\text{VII.25})$$

Рассмотрим различные способы денситометрии хроматографических пятен на пластинке.

Двухкоординатная денситометрия точечным световым зондом. В этом случае хроматографическое пятно сканируется вдоль главных осей эллипса через его центр световым зондом малого диа-

метра. Полученные таким образом кривые распределения интенсивности света описываются уравнением

$$I(\xi_j) = I_0 \exp \left[-k \exp \left(-\frac{\xi_j^2}{2\sigma_{\xi(j)}^2} \right) \right] \quad (\text{VII.26})$$

где $j = 1, 2$; $\xi_1 = x$; $\xi_2 = y$; k — коэффициент пропорциональности.

Расчет количества вещества в пятне на основе анализа полученных кривых можно производить двумя способами. Во-первых, из кривых можно определить все величины, входящие в формулу (VII.8): \bar{c}_m , σ_x , σ_y . Для этого, выбирая $\ln I_0 = 0$ (например, компенсируя сигнал, идущий со свободной от вещества части хроматографической пластинки), получаем

$$\bar{c}_m = -\ln I_{\text{мин}}/K \quad (\xi = 0) \quad (\text{VII.27})$$

Значения σ_x^2 и σ_y^2 находим как дисперсии распределений $f(\varepsilon_j) = \ln I(\varepsilon_j)$. Во-вторых, одновременно с записью кривых (VII.26) производим интегрирование по переменным ξ_i , получая соответствующие площади S_x и S_y :

$$S_{\xi(i)} = \int_{-\infty}^{+\infty} \ln [I(\xi_i)] d\xi_i = -k \bar{c}_m \sqrt{2\pi} \sigma_{\xi(i)} \quad i = 1, 2 \quad (\text{VII.28})$$

Перемножая S_x и S_y и деля их произведение на $\bar{c}_m K^2$, получаем в соответствии с (VII.8) величину q

$$q = S_x S_y / (k^2 \bar{c}_m) \quad (\text{VII.29})$$

При сканирующей денситометрии точечным световым зондом необходимо выбрать оптимальный его размер. Показано [14], что размер зонда должен составлять $\leq 0,1$ размера хроматографического пятна.

Однокоординатная денситометрия высокой щелью. Сканирование хроматографической зоны высокой щелью связано с усреднением светового потока по ее площади. Поскольку в хроматографическом пятне вещество распределено неравномерно, а интенсивность проходящего света связана с концентрацией вещества экспоненциальной зависимостью, усреднение светового потока по площади щели не означает усреднения концентрации вещества

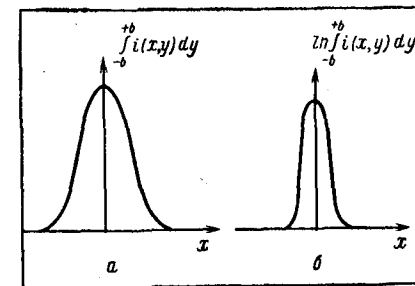


Рис. VII.12. Денситометрия хроматографического пятна высокой щелью (высотой 2b) вдоль пятна:

a — распределение светового потока по оси x; b — распределение логарифма суммарного светового потока по оси x.

в этой области, и, следовательно, использование высокой щели для сканирования хроматографического пятна должно приводить к неточным результатам. Тем не менее высокая щель используется в ряде современных денситометров для ТСХ.

При сканировании хроматографического пятна высокой щелью можно получить или распределение суммарной интенсивности света вдоль пятна, или распределение оптической плотности, соответствующей усредненному по площади щели световому потоку (рис. VII.12). При интегрировании отношений суммарной интенсивности света, пропускаемого щелью при сканировании пятна, и соответствующей величины, связанной с пропусканием света через свободный от вещества слой сорбента, имеем:

$$Q_a = \int_{-a}^{+a} \left[\int_{-b}^{+b} I_0 dy \right] / \left[\int_{-b}^{+b} I dy \right] dx = \Phi_1 (c_m \sigma_x) + q \Phi_2 (c_m \sigma_y) \quad (\text{VII.30})$$

где $\pm a$ — пределы сканирования по x ; $2b$ — высота щели.

Близкое по смыслу выражение получится и при интегрировании соответствующих оптических плотностей:

$$Q_b \equiv \int_{-a}^{+a} \left[\ln \left(\int_{-b}^{+b} I_0 dy \right) / \left(\int_{-b}^{+b} I dy \right) \right] dx = q \psi (c_m, \sigma_x) \quad (\text{VII.31})$$

Эти уравнения показывают, что в обоих случаях количество вещества при фотометрии высокой щелью определяется с точностью до коэффициентов Φ_1 , Φ_2 , ψ , зависящих от концентрации вещества в центре пятна (c_m) и стандартных отклонений гауссовых кривых (σ_x , σ_y). Указанные величины не могут быть определены из опыта. Очевидно, что при равных c_m , т. е. при определении равных количеств вещества (и равенстве σ_x и σ_y), точность количественного анализа по этим методам будет максимальной. Однако по мере

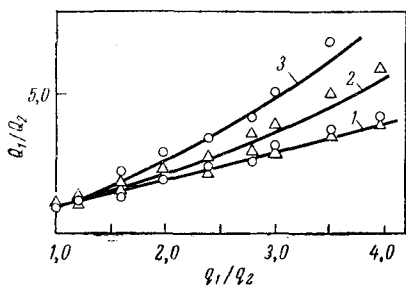


Рис. VII.13. Зависимость между измеренным Q_1/Q_2 и заданным q_1/q_2 отношениями количеств веществ в хроматографических пятнах:

1 — двухкоординатная денситометрия точечным зондом; 2, 3 — однокоординатная денситометрия щелью; Δ — смесь ДНФ-гли и ДНФ-ала; \circ — смесь ДНФ-гал и ДНФ-илей.

увеличения разницы в количествах сравниваемых веществ ошибка определения будет возрастать. Эти закономерности иллюстрирует рис. VII.13, где изображено соотношение между измеренным (Q_1/Q_2) и заданным (q_1/q_2) относительным содержанием вещества в хроматографических пятнах.

Денситометрия точечным зондом при многократных параллельных проходах хроматографического пятна в одном направлении. Конечные размеры светового зонда приводят к его неравномерному заполнению.

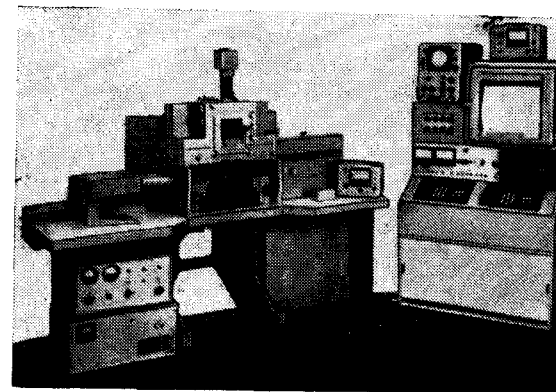


Рис. VII.14. Микроабсорбциометр — флюориметр МФТХ-1 для ТСХ (Ленинградское оптико-механическое объединение):

двухлучевая схема; оптические измерения в диапазоне 240—650 нм; размеры светового зонда 1—3000 мкм, точность измерения 1%; сканирование по оси x , двухкоординатное — через центр пятна по осям x и y и многошаговое со смещением по оси x .

Неоднородность светового потока минимальна при сканировании хроматографического пятна по главным осям эллипса и увеличивается по мере удаления от них. По этой причине метод многократного сканирования точечным зондом (с числом шагов n), когда результат измерения определяется выражением

$$q_n = k \sum_{l=1}^n \left[\int_{-\infty}^{+\infty} \ln(I_0/I) dx \right]_l \Delta y_l \quad (\text{VII.32})$$

менее точен по сравнению с двухкоординатным сканированием, когда q есть предел, к которому стремится q_n при неограниченном увеличении числа шагов n и уменьшении их длины Δy_l :

$$q = \lim_{\substack{n \rightarrow \infty \\ \Delta y_l \rightarrow 0}} q_n = k \iint \ln(I_0/I) dx dy \quad (\text{VII.33})$$

индекс l здесь означает номер шага сканирования.

Метод многократного сканирования желательно использовать при денситометрии хроматографических пятен неправильной, отличной от (VII.21) формы, а при отдельной записи каждого сканирования по оси « y » — для отыскания распределения вещества вдоль этой оси и сравнения его количества в разных пятнах.

Этот метод, как и двухкоординатная денситометрия, реализован [14] в микроабсорбциометре-флюориметре МФТХ-1 (рис. VII.14). Близкий к нему способ пилообразного сканирования пятен [34] используется в денситометре «Витатрон».

VII. 6.2. Количественная тонкослойная хроматография на основе сканирующей флуориметрии

Флуориметрический метод количественной тонкослойной хроматографии является наиболее чувствительным методом анализа [21]. Он включает три разновидности метода, связанные с измерением нативной флуоресценции, с измерением флуоресценции комплексов исследуемого вещества с флуорогенным реагентом (с обработкой реагентом до и после хроматографирования пластинки), с измерением гашения флуоресценции введенного в хроматографическую пластинку флуорохрома в области хроматографического пятна за счет поглощения света возбуждения анализируемым веществом.

Наиболее простой и точный способ основан на измерении нативной флуоресценции. Здесь возникают два требования к технике эксперимента: тщательное удаление возбуждающего излучения, рассеиваемого слоем сорбента и обеспечение точного соответствия между количеством флуоресцирующего вещества в хроматографическом пятне и интенсивностью света, собираемого фотоприемником прибора. Нарушение последнего условия может происходить за счет ослабления возбуждающего излучения по мере проникновения света в глубь слоя сорбента, рассеяния и гашения света флуоресценции, испускаемого веществом, находящимся в глубине слоя сорбента, собственной флуоресценции сорбента. Эти обстоятельства затрудняют использование флуоресцентного метода как абсолютного метода количественного анализа. Однако при одновременном хроматографировании на одной пластинке анализируемого вещества и эталонного могут быть получены точные результаты.

В том случае, когда анализируемое вещество приобретает флуоресцентные свойства в результате специальной обработки, существенное значение для точности анализа также имеют перечисленные выше условия. Однако если обработка флуорогенным реагентом производится после хроматографирования, то необходимо обеспечить однородное прокрашивание хроматографического слоя, как в глубину, так и по плоскости пластинки.

Если количественный анализ проводится по тушению флуоресценции флуорохрома, введенного в хроматографический слой, то необходимы равномерное распределение люминофора в слое (когда элементарный участок неоднородности значительно меньше размера светового зонда) и выбор оптимального размера зерен сорбента и люминофора с тем, чтобы наблюдалась максимальная светотдача люминофора и не происходило излишне большое рассеяние света на маленьких частицах, в особенности света возбуждения (поскольку рассеяние света пропорционально четвертой степени его частоты). Наилучшие результаты в этом варианте флуориметрического анализа могут быть получены при использовании пластинок с возможно более тонким слоем сор-

бента. Следует отметить, что чувствительность анализа в этом случае значительно ниже, чем в предыдущих. Это происходит потому, что чувствительность визуальных методов значительно снижается при наблюдении темных пятен на освещенном фоне по сравнению с регистрацией светящихся пятен на темном фоне.

VII. 6.3. Количественный анализ тонкослойных хроматограмм по размерам пятен

Количественная ТСХ может быть основана на измерении размеров хроматографических пятен. Это делается с помощью сверхконтрастной фотопечати [35] или эквиденситного изображения [36] границ пятна с точным определением оптической плотности его контура.

VII. 6.3.1. Количественный анализ тонкослойных хроматограмм по размерам пятна при наличии эталонов анализируемых веществ

Количество вещества в эллипсовидном пятне связано с его размерами по осям x ($2a$) и y ($2b$) зависимостью (VII.23). Для отношения количеств двух веществ в хроматографических пятнах, имеющих различные R_f , справедливо выражение, следующее из (VII.23):

$$\lg(q_1/q_2) = (A_1 - A_2) + B_1 2a_1 2b_1 - B_2 2a_2 2b_2 \quad (\text{VII.34})$$

Коэффициенты $(A_1 - A_2)$, B_1 и B_2 определяются из решения системы трех уравнений типа (VII.34), составленных для трех различных соотношений.

Для проведения анализа по размерам хроматографического пятна существенное значение имеет точное определение его границ. С этой целью можно использовать метод многократной фотопечати на сверхконтрастных фотоматериалах [36], основанный на экспоненциальной зависимости контрастности изображения от числа отпечатков.

VII. 6.3.2. Количественный анализ по размерам пятна в отсутствие эталонов хроматографируемых веществ

Метод количественного анализа по размерам хроматографических пятен может быть использован и в случае, когда отсутствуют эталонные вещества для построения градуировочного графика. Лучшие результаты получают при использовании высокоэффективной ТСХ в равновесных условиях, когда $\sigma_x = \sigma_y \equiv \sigma$. Тогда $a = b = d/2$

где d — диаметр пятна:

$$d = \sqrt{8\sigma^2 \ln(c_m/c_{rp})} \quad (\text{VII.35})$$

Заменяя в (VII.35) σ^2 на $2R_f D_f t$

где D_l — коэффициент квазидиффузии в подвижной фазе: $D_{l,x} = D_{l,y} \equiv D_l$; t — время опыта; $c_m = q/2\pi\sigma^2$.

получаем интересующую нас зависимость

$$\lg(q/R_f) = A' + B'(d^2/R_f) \quad (\text{VII.36})$$

где $A' = \lg(4\pi D_l t c_{гр})$; $B' = 1/(36,8 D_l t)$.

Соотношение (VII.36) должно выполняться для хроматографических пятен с любыми значениями R_f при условии постоянства величин D_l и $c_{гр}$. Первая из этих величин достаточно постоянна для веществ с близкими молекулярными массами. Постоянство $c_{гр}$ будет иметь место, если чувствительность детектирования сравнимых веществ одинакова. Равенство (VII.36) может быть использовано для анализа радиоактивных веществ методом автордиографии. Если природа радиоактивного излучения этих веществ одинакова, то для них $c_{гр} = \text{const}$ и формула (VII.36) является точной (единственная неточность метода связана с допущением постоянства D_l для анализируемого и эталонного веществ).

На рис. VII.15 показано использование этого метода для анализа тритийсодержащих веществ с помощью автордиографии [37], которая позволяет анализировать меченные тритием пиримидиновые основания с активностью до 10^{-9} Кюри с точностью $\approx 10\%$.

Описанный метод анализа использован [37] и для определения радиоактивной примеси неизвестной природы путем сопоставления размера пятен примеси и основного вещества, нанесенного на хроматографическую пластинку в аликвотных количествах (рис. VII.16). Определение ширины хроматографической зоны (по оси «у») позволяет получить количество вещества в этом сечении и может быть использовано для анализа распределения поли-

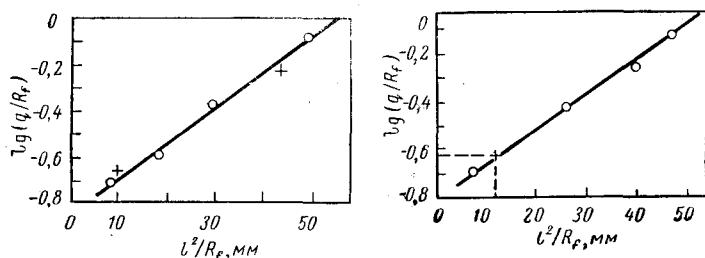


Рис. VII.15. Зависимость $\lg(q/R_f)$ от l^2/R_f для двух меченных тритием пиримидиновых оснований, полученная из контактных отпечатков их люмоавтордиограмм.

Рис. VII.16. Определение радиоактивной примеси в 6-Т-5-бромурациле с использованием зависимости $\lg(q/R_f)$ от l^2/R_f : \circ — основное вещество (аликвотные пробы); \times — примесь.

мера вдоль оси «х» по какому-либо свойству полимера, от которого зависит R_f : молекулярной массе, составу. Этот вид анализа полидисперсности полимеров с помощью ТСХ описан в работе [38].

Литература

1. Измайлов А. А., Шрайбер М. С. «Фармация», 1938, т. 3, с. 1—6.
2. Stahl E. «Pharmazie», 1956, Bd. 11, S. 633—637.
3. Dünnschicht-chromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch. E. Stahl-Berlin, Springer, 1962. 534 S.
4. Wang K. T., Huang Y. M. K., Wang I. S. Y. J. Chromat., 1966, v. 22, p. 362—368.
5. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1967, v. 31, p. 360—368.
6. Бельский Б. Г., Нестеров В. В., Смирнов М. М. ЖФХ, 1968, т. 42, с. 1484—1489.
7. Бельский Б. Г. и др., ЖФХ, 1968, т. 42, с. 2876—2880.
8. Нестеров В. В., Бельский Б. Г. ЖФХ, 1973, т. 47, с. 1517—1521.
9. Belenkii B. G., Kolegov V. J., Nesterov V. V. J. Chromat., 1975, v. 107, p. 265—283.
10. Snyder L. R. Principles of Adsorption Chromatography, N. Y., Dekker, 1968. 413 с.
11. Киселев А. В. и др. «Физико-химическое применение газовой хроматографии. М., «Химия», 1973. 255 с.
12. Niederwieser A., Honegger C. C. Adv. in Chromat., 1966, v. 2, p. 123—167.
13. Giddings J. C. Dynamics of Chromatography, N. Y., Dekker, 1965. 323 p.
14. Нестеров В. В. Канд. дис., 1972, Л., ЛПИ им. М. И. Калинина.
15. Niederwieser A., Brenner M. «Experientia», 1965, v. 21, p. 50—54.
16. Zeew R. A. Anal. Chem., 1968, v. 40, p. 2134—2138.
17. Snyder L. R., Saunders D. L. J. Chromat., 1969, v. 44, p. 1—13.
18. Fisher R. B., Parsos P. S. Nature, 1948, v. 161, p. 764—765.
19. Purdy S. J., Truter E. V. «Analyst», 1972, v. 87, p. 802—809.
20. Cremer E., Kraus Th., Nan H. Z. Anal. Chem., 1969, Bd. 245, S. 37—42.
21. Количественная бумажная и тонкослойная хроматография. Под ред. Е. Дж. Шеллард. Пер. с нем. М., «Мир», 1971. 192 с.
22. Brown T. I., Benjamin J. Anal. Chem., 1964, v. 36, p. 446—447.
23. Millet M. A. e. a. Anal. Chem., 1964, v. 36, p. 491—495.
24. Lohmann G., Hahn H. G. Z. Anal. Chem., 1967, Bd. 227, S. 81—89.
25. Attal J., Mendele S. M. J. Chromat., 1967, v. 27, p. 167—171.
26. Pharmaceutical Applications of Thin-Layer and Paper Chromatography, Ed. K. Macek, Amsterdam, Elsevier, 1972. 743 с.
27. Borfitz H. e. a. J. Ass. Offic. Anal. Chem., 1967, v. 50, p. 264—268.
28. Gagliardi E., Pokorny G. Mikrochim. Acta, 1967, Heft 3, p. 550—554.
29. Cotgreave T., Jynes A. J. Chromat., 1967, v. 30, p. 117—124.
30. Wilde P. F. Thin-Layer Chromatography. London, United Trade Press., Ltd, 1965, 291 p.
31. Chendrasecher S. Radiative Transfer. London, Inter. Publ., 1950, 270 p.
32. Кубелка П., Мунк Я. ЖТФ, 1931, т. 12, с. 593—599.
33. Goldman J., Goodall R. R. J. Chromat., 1963, v. 32, p. 24—42.
34. Goldman J., Goodall R. R. J. Chromat., 1969, v. 40, p. 189—190.
35. Нестеров В. В. «Биохимия», 1968, т. 33, с. 537.
36. Брейдо Н. Н., Виленская Б. Г. Журн. научн. и прикладн. фотографии и кинематографии, 1971, т. 5, с. 373—375.
37. Бельский Б. Г., Солодовицова Е. Г. ЖАХ, 1973, т. 28, с. 1772—1776.
38. Belenkii B. G., Gankina E. S. J. Chromat., 1977, v. 141, p. 13—92.
39. Бельский Б. Г. «Молекулярная биология», 1967, т. 1, с. 184—190.
40. HPTLC — High — Performance Thin — Layer Chromatography ed. A. Zlatkis and R. E. Kaiser, Amsterdam, Elsevier, 1976. 240 p.

Применение тонкослойной хроматографии для анализа полимеров

VIII. 1. Развитие метода тонкослойной хроматографии полимеров и его разновидности

Принципиальным успехом в развитии тонкослойной хроматографии явилось применение этого метода для анализа высокополимеров. В 1968 г. первые исследования по ТСХ статистических полимеров выполнены Б. Г. Беленьким и Э. С. Ганкиной [1] и Инагаки с сотр. [2]. С тех пор основным направлением исследований по ТСХ полимеров стало использование этого метода для изучения полидисперсности полимеров (композиционной неоднородности, ММР) и идентификации (диагностики) полимеров различной микроструктуры [3—5]. Используя ТСХ, удалось разделить статистические сополимеры по составу, идентифицировать статистические, блок- и альтернирующие сополимеры, диагностировать и разделить двух- и трехблочные сополимеры, разделить блок- и привитые сополимеры и сопутствующие им гомополимеры, идентифицировать и разделить стереорегулярные ПММА и ПС различной микротаكتичности, разделить геометрические изомеры ПБД и ПИ, идентифицировать линейные и разветвленные ПС, а также ПС с различными концевыми группами и отделить их от монофункционального и бифункционального ПС. Многочисленные исследования по ТСХ полимеров посвящены определению ММР гомополимеров, оценке М статистических сополимеров, определению ММР и функциональности олигомеров.

Все эти направления в использовании ТСХ полимеров отражены в табл. VIII.1.

Можно выделить следующие виды ТСХ.

Адсорбционная ТСХ (АТСХ) полимеров впервые предложена для разделения сополимеров Б. Г. Беленьким и Э. С. Ганкиной [1, 6] и Инагаки с сотр. [2], применена для анализа ММР гомополимеров [7].

Осадительная ТСХ (ОТСХ) полимеров предложена Инагаки с сотр. [8, 9] для фракционирования полимеров по молекулярной массе.

Экстракционная ТСХ (ЭТСХ) основана на селективном растворении полимера в области стартового пятна и использована

Таблица VIII.1. Применение ТСХ в анализе полимеров

АТСХ — адсорбционная ТСХ; ОТСХ — осадительная ТСХ; ЭТСХ — экстракционная ТСХ; ПБД — полибутадиены; ПИ — полиизопрены

Определение ММР	Определение композиционной однородности	Обнаружение разветвленности	Определение микроструктуры	Исследование сложных полимерных систем (в сочетании с другими хроматографическими методами)
Гомополимеры (АТСХ, ОТСХ) Статистические сополимеры (ОТСХ)	Статистические сополимеры (АТСХ) Блоксополимеры (АТСХ)	Гомополимеры (АТСХ) Олигомеры (АТСХ)	Регулярность ПБД, ПИ (АТСХ, ЭТСХ) Стереорегулярность (АТСХ, ЭТСХ)	Анализ смеси линейных и разветвленных гомополимеров (ПХ, АТСХ) Анализ смеси блоксополимеров и соответствующих гомополимеров (ПХ, ОТСХ, с определением состава фракций сополимеров с помощью пирометрической газовой хроматографии)
Олигомеры (АТСХ)	Функциональность олигомеров и полимеров (АТСХ)		Статистические, чередующиеся и блоксополимеры (АТСХ) Двух- и трехблочные сополимеры (АТСХ) Блок- и привитые сополимеры и примеси в них соответствующих гомополимеров (АТСХ, ОТСХ, ЭТСХ) Отщепленные боковые цепи привитых сополимеров (АТСХ)	Анализ привитых сополимеров, ММР привитых цепей (ПХ, АТСХ)

для разделения изотактического и атактического ПММА [10] и изотактического и атактического ПС [11].

Тонкослойная гель-проникающая хроматография (ТСГПХ), в основе которой лежит молекулярно-ситовой эффект. Здесь адсорбция полимера подавлена, а поровое пространство сорбента предварительно заполнено растворителем либо за счет капиллярной конденсации при экспонировании хроматографической пластинки в парах растворителя [3, 7], либо с помощью так называемой преэлюции [12] — пропускания растворителя по хроматографическому слою перед нанесением анализируемой пробы.

Для разделения полимеров часто используют смешанные виды ТСХ, например проводят разделение полимеров в стартовом пятне по механизму селективного растворения (десорбции) с последующим фракционированием на основе адсорбционной или осадительной ТСХ.

Интересными особенностями характеризуется ТСХ олигомеров [13, 14], где благодаря низким молекулярным массам отчетливо проявляется вклад концевых функциональных групп в адсорбируемость. В результате этого с помощью адсорбционной ТСХ удается разделять олигомеры не только по молекулярным массам, но и по числу и характеру функциональных групп (по функциональности). Разновидности ТСХ полимеров можно объединить в две группы. Первая группа включает методы, основанные на адсорбции: собственно адсорбционная ТСХ, где проявляется положительная адсорбция полимеров, и гель-проникающая ТСХ с отрицательной адсорбцией. Ко второй группе относятся методы, основанные на растворимости полимеров — фазовом разделении их растворов: осадительная и экстракционная ТСХ полимеров.

VIII. 2. Адсорбционная тонкослойная хроматография полимеров

VIII. 2.1. Адсорбционная ТСХ сополимеров

Адсорбционная ТСХ была первым вариантом ТСХ полимеров, разработанным [1, 2, 6, 15] для фракционирования сополимеров по составу. Исследования по адсорбционной ТСХ сополимеров были связаны, в частности, с изучением статистических сополимеров стирола (СТ) и метилметакрилата (ММА) [1, 6, 7]. Для ТСХ этих сополимеров на пластинках с силикагелем использовали системы элюентов, составленные из растворителей — хлорированных углеводородов и вытеснителей — адсорбционно-активных кислородсодержащих соединений (в соотношении 5 : 1). Зависимость R_f сополимеров [С-10 (31% СТ) и С-5 (54% СТ)] от природы растворителя и вытеснителя показана в табл. VIII.2.

Таблица VIII.2. Значения R_f сополимеров стирола и метилметакрилата в различных системах элюентов

Система элюентов		R_f	
Растворитель	Вытеснитель	С-10	С-5
Дихлорбензол	Эфир	0	0
	Метилэтилкетон	0	0
	Ацетон	0	0,52
	Тetraгидрофуран	0	0,71
	Диоксан	0	0,83
Дихлорэтан	Эфир	0	0
	Метилэтилкетон	0	0
	Ацетон	0	0,70
	Тetraгидрофуран	0,69	0,92
	Диоксан	0,77	0,92
Хлороформ	Эфир	0	0,17
	Метилэтилкетон	0	0,32
	Ацетон	0,49	0,85
	Тetraгидрофуран	0,70	0,90
	Диоксан	0,88	0,95

Как следует из табл. VIII.2, растворители и вытеснители для сополимеров СТ-ММА могут быть распределены в следующие элюотропные ряды: хлорбензол < дихлорэтан < хлороформ; эфир < метилэтилкетон < ацетон < тетрагидрофуран < диоксан.

Хроматографирование сополимеров проводили в С-камерах, в которых создавали градиент летучего вытеснителя за счет его преимущественного испарения в воздушное пространство С-камеры. Поскольку в хлорированных углеводородах адсорбционные активности стирола и метилметакрилата резко различаются, для

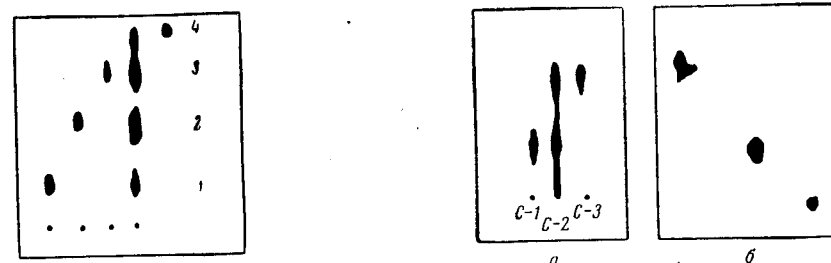


Рис. VIII.1. ТСХ статистических сополимеров СТ-ММА на силикагеле КСК в системе хлороформ — ацетон с С-камере: 1 — С-14 (22% СТ), $M_w = 2,3 \cdot 10^4$; 2 — С-10 (31% СТ), $M_w = 8,8 \cdot 10^4$; 3 — С-5 (54% СТ), $M_w = 8 \cdot 10^4$; 4 — С-1 (80% СТ), $M_w = 1,2 \cdot 10^5$. Здесь и далее изображены контактные фотографии восходящих тонкослойных хроматограмм полимеров, проявленных 3%-ным раствором $KMnO_4$ в концентрированной H_2SO_4 .

Рис. VIII.2. ТСХ высокого разрешения: а — сополимеры СТ-ММА (содержание стирола 80%; С-1, С-2, С-3) в системе хлороформ — метилэтилкетон (12 : 0,6); б — двумерная хроматограмма образца С-2 (стартовая точка в правом нижнем углу).

282 Таблица VIII.3. Использование адсорбционной тонкослойной хроматографии на силикагеле для исследования полимеров

Условия проявления: I — 3%-ный раствор $KMnO_4$ в концентрированной H_2SO_4 с последующим нагреванием до 180 °C; II — 1%-ный раствор I_2 в метаноле; III — 14,7%-ная H_2SO_4 с последующим нагреванием до 100 °C; IV — насыщенный раствор тимолового синего в смеси этанол—вода (1 : 1) с последующим опрыскиванием 3 н. H_2SO_4 ; V — реактив Драгендорфа; VI — 10%-ная H_2SO_4 с последующим нагреванием до 110 °C; VII — 10%-ная $HClO_4$; VIII — 0,05 M I_2 ; IX — раствор Kayalon Fast Brown R в смеси вода—метанол; X — $ZnSiO_3$ индикатор; XI — пары I_2 .

Полимер	Исследуемая полидисперсность	Элюент	Условия ТСХ	Условия проявления	Литература
Гомополимеры					
ПММА	По молекулярной массе ($2 \cdot 10^3$ — $1,5 \times 10^6$)	Хлороформ — ацетон (12 : 3,7)	Неградиент.	I	27
»	По стереорегулярности (отделение синдио- и атактического ПММА от изотактического)	Этилацетат	»	II	10
»	Отделение стереокомплекса (изо- и синдиотактического ПММА) (1 : 1) от изо- и синдиотактического ПММА	Ацетон	»	»	27—29
ПММА	Разделение стереоблочного ПММА с различным содержанием изо- и синдиотактических триад	Этилацетат	Неградиент.	II	10
»	Разделение синдио- и атактического ПММА ($2 \cdot 10^5$ — $1,2 \cdot 10^6$)	Изопропилацетат — этилацетат (8 : 25)	»	»	30
ПБД	Отделение 1,4-транс- и 1,2-ПБД от 1,4-цис-ПБД	Четыреххлористый углерод	»	III	31
ПИ	Отделение 1,4-транс- и 3,4-ПИ от 1,4-цис-ПИ	Циклогексан — <i>n</i> -ксилол (20 : 80)	Неградиент.	»	22
»	Отделение 3,4-ПИ от 1,4-цис и 1,4-транс-ПИ	Четыреххлористый углерод — <i>n</i> -ксилол	»	»	22
ПЭО	По молекулярной массе ($3 \cdot 10^3$ — $2 \cdot 10^4$)	Пиридин — вода (1 : 9)	»	V	17
»	По молекулярной массе	Пиридин — вода (1 : 9) Этиленгликоль — метанол *; метанол — диметилформамид *	»	»	»

ПС	По молекулярной массе (314 — $2 \cdot 10^6$)	Циклогексан — бензол — ацетон (40 : 16 : 0,4 ÷ 2)	Неградиент.	I	3, 7
»	Разделение линейных и разветвленных ПС	Циклогексан — бензол — ацетон (40 : 16 : 0,4 ÷ 15)	»	»	32
»	Отделение разветвленного ПС (четырёх-лучевая звезда) от линейного полимера	Циклогексан — бензол (50 : 50) → (25 ; 75)	Градиент.	IV	22, 33
ПС	Разделение по функциональности (по концевым COOH и глюкозидным группам после гидролиза привитого сополимера на целлюлозе)	Тетрагидрофуран	Неградиент.	IV	34, 35

Статистические сополимеры

Сополимер СТ—МА	По составу (9,98—76% СТ) **	Четыреххлористый углерод — метилацетат (5 : 1) → метилацетат	Градиент., нисх.	II	2
То же	То же	Хлороформ → этилацетат	То же	»	2
»	Разделение статистических, альтернирующих и блоксополимеров	Четыреххлористый углерод — метилацетат (5 : 1)	»	II	36
Сополимер СТ—ММА	По составу (22—80% СТ)	(Хлороформ, дихлорэтан, хлорбензол) — (эфир, метилэтилкетон, ацетон, диоксан, тетрагидрофуран)	С-камера	I	1, 3, 6
То же	По составу (54% СТ, азеотропный)	Хлороформ — эфир (12 : 4,2)	»	»	3, 6
»	Разделение статистических альтернирующих и блоксополимеров	Хлороформ → этилацетат; хлороформ — этилацетат → этилацетат	»	»	36
Сополимер СТ—АН	По составу (15—31,2% АН)	Хлороформ — метилацетат	Неградиент.	II	20, 21
То же	По составу (до 60% АН) **	Дихлорэтилен → этилацетат	Градиент., нисх.	»	22
»	По составу (18,7—50,7% АН)	Бензол (толуол) → ацетон	»	»	23, 24
Сополимер СТ—БД	По составу (5—60% СТ)	Циклогексан — бензол	Неградиент. двумерн.	IV	18

* На окиси алюминия.

Полимер	Исследуемая полидисперсность	Элюент	Условия ТСХ	Условия проявления	Литература
Сополимер СТ-БД	По составу (14,6—62,4% СТ) **	Четыреххлористый углерод → хлороформ — четыреххлористый углерод (20 : 50)	Градиент., нисх.	IV	19
То же	Разделение статистических, альтернирующих и блоксополимеров	Циклогексан — хлороформ (9 : 1) → хлороформ	То же	»	17
Частично замещенный ацетат целлюлозы	По составу (52,5—60,5% АЦ) **	Циклогексан — хлороформ (140 : 75)	Неградиент.	»	»
Частично замещенный нитрат целлюлозы	По составу **	Метиленхлорид — метанол (85 : 15)	»	VI	25
Сополимер о-аминокапроновой и аминокундекановой кислот	По составу	Ацетон — этилацетат (20 : 30) → хлороформ — этилацетат (1 : 2)	Градиент., восх.	VI	4
	По составу	Муравьиная кислота или муравьиная кислота — фенол	Неградиент.	V	26
Блоксополимеры					
Блоксополимер СТ-ММА	По составу (13,5—80,5% СТ) **	Четыреххлористый углерод → метилэтилкетон	Градиент., нисх.	II	37
То же	По молекулярной массе ($6,8 \cdot 10^4$ — $2,76 \cdot 10^6$) и составу (9,1—53,7% СТ)	Нитроэтан → ацетон; Четыреххлористый углерод метилацетат; бензол → метилэтилкетон	Градиент.	»	38
»	Последовательность блоков (АВ и АВА)	Четыреххлористый углерод — метилэтилкетон (соотношение зависит от состава блоксополимера)	Неградиент.	»	37
»	Отделение ПС	Хлороформ	»	IV	17, 39
»	Отделение ПММА	Бензол — метилэтилкетон	»	»	»
Блоксополимер СТ-БД	Последовательность блоков (АВ и АВА)	Циклогексан — хлороформ (9 : 1) → хлороформ	Градиент., нисх.	II	17, 39
То же	Разделение статистического, двух- и трехблочного сополимеров	Циклогексан — хлороформ (140 : 75)	Неградиент.	IV	17, 39
»	Отделение двух- от трехблочного сополимеров	Четыреххлористый углерод *	»	»	17, 39
»	Разделение двух- и трехблочных сополимеров	Четыреххлористый углерод — <i>n</i> -гексан (9 : 1) *	»	»	17, 39
Блоксополимер СТ-ЭО	Отделение ПС и ПЭО	Этилацетат — метанол (9 : 1) ***	»	XI	39a
То же	Отделение ПС	Циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : 2)	Неградиент., двумерн.	I, V	3, 6
»	Отделение ПЭО	Пиридин — вода (3 : 7)			
Привитые сополимеры					
ПС на ПММА	Отделение гомополимеров	Ацетон — уксусная кислота (12 : 2)	Неградиент., двумерн.	I	3
ПС на ПММА	Разделение ПММА и ПС	Хлороформ — метилэтилкетон (12 : 2)	То же	»	3
	Отделение привитого сополимера и ПС от ПММА	Циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : 0,7)	»	»	3
	Отделение ПС и ПММА от привитого сополимера	Ацетон — уксусная кислота (12 : 2)	»	»	3
ПС на триацетате целлюлозы	Отделение триацетата целлюлозы	Метиленхлорид — метанол (1 : 1); хлороформ — диоксан (3 : 1)	»	VII	40
То же	Отделение ПС	Хлороформ	»	»	40

* На окиси алюминия; ** — анализ композиционной неоднородности (количественный); *** — на микрокристаллической целлюлозе.

Полимер	Исследуемая полидисперсность	Элюент	Условия ТСХ	Условия проведения	Литература
ПС на ПВА	Отделение ПВА	Метанол — вода (9 : 1)	Проточн.	VII	40
»	Отделение ПС	Хлороформ	Ступенч.	»	»
ПММА на ПВА	Отделение ПВА	Метанол — вода (9 : 1)	Проточн.	VIII	»
То же	Отделение ПММА	Метилэтилкетон — четыреххлористый углерод (8 : 2)	Ступенч.	»	»
ПС на найлоне	Отделение найлона	Муравьиная кислота	»	»	»
То же	Отделение ПС	Хлороформ	»	VI	»
ПС на ПЭТФ	Отделение ПЭТФ	Фенол — вода (75 : 25)	Ступенч.	IX	»
»	Отделение ПС	Хлороформ	Неградиент.	»	»
ПС на целлюлозе	Отделение сопутствующего и привитого ПС	Тетрагидрофуран	Неградиент.	IV	35, 39
ПС на ПВД	Отделение ПС	Четыреххлористый углерод — хлороформ	»	»	22

разделения сополимеров с большими различиями по составу использовали сильные градиенты, получаемые смещением растворителя с небольшим количеством адсорбционно-активного вытеснителя (например, ацетона) или с большим количеством малоактивного вытеснителя (эфира) (рис. VIII.1). Для разделения близких по составу сополимеров (рис. VIII.2) применяли хроматографические системы высокого разрешения со слабым градиентом, приготовленные из растворителя с небольшим количеством малоактивных вытеснителей (эфира, метилэтилкетона). С помощью ТСХ высокого разрешения удается отчетливо показать, что сополимер С-2 состоит из двух фракций, идентичных сополимерам С-1 и С-3. Эффективность тонкослойной хроматографии сополимеров высокого разрешения столь велика, что с ее помощью можно установить различия в полидисперсности сополимеров азеотропного состава [с 54% (мол.) СТ], полученных с разной глубиной конверсии.

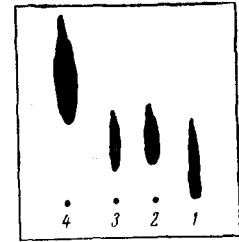


Рис. VIII.3. ТСХ статистических сополимеров СТ-ММА (содержание стирола 31%) в системе хлороформ — ацетон (12 : 2,2):
 1 — $M_w = 2,8 \cdot 10^5$; 2 — $M_w = 1,6 \cdot 10^5$; 3 — $M_w = 8,8 \cdot 10^4$; 4 — $M_w = 5 \cdot 10^4$.

Показано [3, 6], что R_f сополимера зависит не только от его состава, но и от молекулярной массы (наиболее сильно при $M < 10^5$) (рис. VIII.3).

Аналогичные результаты получены по адсорбционной ТСХ статистических сополимеров СТ — ММА и СТ — МА [2]. С помощью ТСХ было определено [2] распределение сополимера

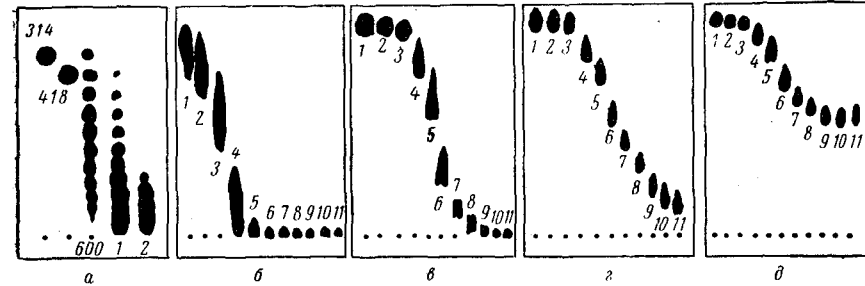


Рис. VIII.4. ТСХ узкодисперсных образцов полистиролов с $M_w/M_n < 1,1$ на силикагеле КСК в системе циклогексан — бензол — ацетон при соотношении растворителей 14 : 3 : 0 (а); 13 : 3 : 0,1 (б); 12 : 4 : 0,4 (в); 14 : 4 : 0,7 (г); 12 : 4 : 1 (д):
 1 — ПС-1 ($M_n = 900$); 2 — ПС-2 ($M_n = 2030$); 3 — ПС-3 ($M_w = 5000$, $M_n = 4600$); 4 — ПС-4 ($M_w = 10\,300$, $M_n = 9700$); 5 — ПС-5 ($M_w = 19\,850$, $M_n = 19\,650$); 6 — ПС-6 ($M_w = 51\,000$, $M_n = 49\,000$); 7 — ПС-7 ($M_w = 98\,200$, $M_n = 96\,200$); 8 — ПС-8 ($M_w = 173\,000$, $M_n = 164\,000$); 9 — ПС-9 ($M_w = 411\,000$, $M_n = 392\,000$); 10 — ПС-10 ($M_w = 867\,000$, $M_n = 773\,000$); 11 — ПС-11 ($M_w = 2\,145\,000$, $M_n = 1\,780\,000$); 314 и 418 — тример и тетрамер стирола; 600 — ПС с $M_n = 600$.

СТ — МА по составу, которое соответствовало теоретическому, а среднее молярное содержание СТ в сополимере, равное 0,355, хорошо совпадало со значением 0,342, определенным с помощью элементного анализа.

Установлено [16], что хроматографическая подвижность сополимеров стирола и метилметакрилата связана с их структурой (длиной блока). Так, в системе хлороформ — этилацетат сополимеры, содержащие 49% СТ, ведут себя следующим образом: блоксополимер остается на старте, альтернирующий сополимер (с регулярно чередующимися сегментами) находится посередине пластинки, а статистический сополимер движется с наибольшей скоростью. В градиентных системах метилэтилкетон — четыреххлористый углерод R_f увеличивается в ряду: двухблочный \gg трехблочный \gg статистический сополимеры СТ — ММА. Эти различия, так же как и различия в адсорбируемости стереорегулярных ПММА, вначале объяснили [16] разной адсорбируемостью триад мономерных звеньев, рассматривая их как адсорбционные единицы полимерной цепочки. Без сомнения, ближайшее окружение адсорбирующихся групп ответственно за степень адсорбции полимера, однако триадная модель адсорбции макромолекул [16] выглядит упрощенно и от нее впоследствии отказались [17].

С помощью адсорбционной ТСХ исследована композиционная гетерогенность и других статистических сополимеров: бутадиена и стирола [18, 19], стирола и акрилонитрила [20—24], частично замещенных ацетата [25] и нитрата целлюлозы [26], сополимера ω -напроновой и 4-аминоундекановой кислот [2] (табл. VIII.3).

VIII. 2.2. Адсорбционная ТСХ гомополимеров

В работе [7] были впервые продемонстрированы большие возможности адсорбционной ТСХ для разделения гомополимеров. На рис. VIII.4 изображены хроматограммы узкодисперсных ПС ($M_w/M_n \leq 1,1$), полученные на пластинках с силикагелем КСК в системе циклогексан — бензол — ацетон. Первые два компонента являются растворителями для ПС, третий компонент — осадитель. Поскольку адсорбционно-активный ацетон присутствует в хроматографических системах в малых количествах ($\leq 6\%$), наблюдается адсорбционная ТСХ ПС, где ацетон играет роль вытеснителя.

Как видно из рис. VIII.4, с увеличением содержания в хроматографической системе ацетона величина R_f для ПС увеличивается и при содержании в системе более 6% ацетона даже самые высокомолекулярные образцы полимера перестают адсорбироваться. Если предварительно экспонировать пластинку в парах растворителя*, то разделение ПС происходит в соответствии с молекулярно-ситовым эффектом, когда низкомолекулярные фракции движутся медленнее высокомолекулярных.

* При этом поровое пространство силикагеля заполняется растворителем.

На основе адсорбционной ТСХ удалось разделить ПС в системах, состоящих только из растворителей для этого полимера, обладающих различной адсорбционной активностью по отношению к силикагелю. На рис. VIII.5 показано разделение ПС в системе циклогексан — бензол. Видно хорошее разделение полимеров с низкой и средней молекулярными массами и отсутствие эффективной хроматографии ПС с $M > 4 \cdot 10^5$, что, безусловно, связано с малой скоростью адсорбционно-десорбционных процессов у высокомолекулярных полимеров в этих системах. Аналогичные результаты по разделению ПЭО по молекулярной массе получены с помощью адсорбционной ТСХ в системах пиридин — вода [11] и этиленгликоль — метанол на силикагеле и метанол — диметилформамид на окиси алюминия [41].

Как видно из рис. VIII.4, адсорбционная ТСХ позволяет фракционировать ПС с высоким разрешением в относительно узких диапазонах. Для расширения этих диапазонов можно использовать градиентную ТСХ с постепенным увеличением в растворителе содержания ацетона.

Адсорбционная ТСХ полимеров используется также для разделения ПММА по стереорегулярности [10, 30], ПИ [22], ПБД [31], по геометрической и стереоизомерии, блоксополимеров СТ — ММА [37], СТ — БД [17] по степени блочности (см. табл. VIII.3).

VIII. 2.3. Тонкослойная гель-проникающая хроматография (ТСГПХ)

Разделение полимеров в ТСХ может осуществляться на основе молекулярно-ситового механизма [3, 7, 12, 42, 43]. Для осуществления ТСГПХ необходимо соблюдение двух условий: адсорбционная активность сорбента должна быть подавлена, а его поры заполнены растворителем до начала элюции, что может быть достигнуто предварительным насыщением хроматографической пластинки либо самим растворителем — преэлюция [12], либо его парами [3, 7].

Эффективность ТСГПХ существенно зависит от качества приготовления хроматографического слоя, и в частности от его толщины [12]. С уменьшением толщины слоя, с одной стороны, уменьшается размывание вещества на пластинке, а с другой — из-за снижения плотности упаковки слоя изменяется соотношение между поровым и межчастичным пространствами (увеличивается межчастичное пространство). Влияние плотности упаковки особенно заметно при сравнении зависимости K_f^* от M для тонкослойного варианта ГПХ и колоночной ГПХ, где упаковка может быть очень плотной (рис. VIII.6).

* Величина K_f^* представляет собой отношение длин пробега исследуемого и полностью исключаемого из пор сорбента полимеров.

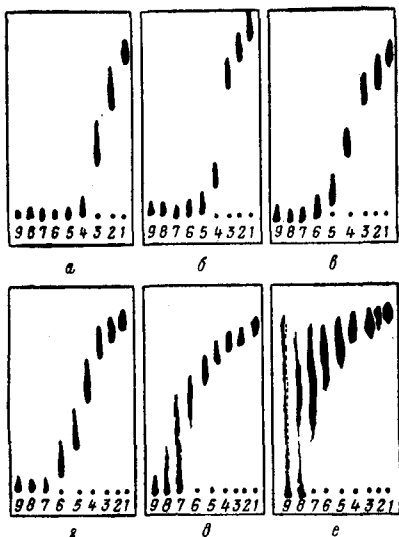
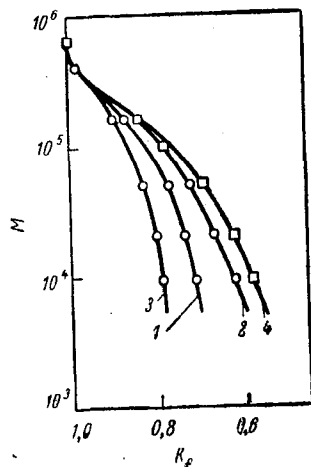


Рис. VIII.5. ТСХ образцов ПС-3—ПС-11 (см. рис. VIII.4) на силикагеле КСК в системе бензол — циклогексан при соотношении растворителей 15 : 7 (а), 15 : 6,5 (б), 15 : 6 (в), 15 : 5,5 (г), 15 : 5,3 (д), 15 : 5 (е):

1 — ПС-3; 2 — ПС-4; 3 — ПС-5; 4 — ПС-6; 5 — ПС-7; 6 — ПС-8; 7 — ПС-9; 8 — ПС-10; 9 — ПС-11.

Рис. VIII.6. Зависимость K_f от молекулярной массы полистирола на пластинках с силикагелем КСК ($d_{\text{п}} = 70$ нм) толщиной слоя адсорбента 0,5 мм (1), 4,0 мм (2) и 0,25 мм (3) и при ГПХ на колонках (4).



VIII.3. Основные закономерности адсорбционной хроматографии полимеров

Анализ теоретических работ, посвященных особенностям адсорбции макромолекул, позволяет объяснить основные термодинамические закономерности, наблюдаемые в хроматографии полимеров на макропористых сорбентах. Как мы видели в гл. II, изменение свободной энергии макромолекул при адсорбции

$$\Delta F = \Delta H - T \Delta S \quad (\text{VIII.1})$$

связано с образованием контактов сегмент — адсорбент, которое сопровождается изменением энтальпии (ΔH) и энтропии (ΔS) макромолекул при их переходе из раствора в адсорбированное состояние.

При соответствующей нормировке величина ΔF определяет вероятность перехода макромолекулы в данное состояние

$$W = \exp[-\Delta F/(kT)] \quad (\text{VIII.2})$$

Очевидно, что в случае преобладания энергетических (энтальпийных) изменений над энтропийными ($-\Delta F > 0$), для макро-

молекулы выгодно, когда некоторая часть ее сегментов адсорбируется на поверхности адсорбента.

В случае $-\Delta F < 0$ адсорбция невыгодна и макромолекула удаляется от поверхности. И, наконец, при $\Delta F = 0$ присутствие адсорбционной поверхности не изменяет свободной энергии макромолекулы. С точки зрения статистической физики, состояние макромолекулы остается неизменным и макромолекула как целое «не замечает» поверхности (хотя часть ее сегментов при этом адсорбирована).

Энергия взаимодействия макромолекулы с сорбентом в расчете на один статистический сегмент (см. гл. III), при которой справедливо равенство $\Delta F = 0$, получила название критической $E = E_{\text{кр}}$. Было показано, что переход макромолекул из адсорбированного состояния в свободное (так же, как и обратный переход) при $E = E_{\text{кр}}$ носит характер фазового перехода. Это справедливо как для плоской адсорбционной поверхности, где наблюдается фазовый переход II рода, так и для пористого сорбента, где происходит фазовый переход I рода. Попадание макромолекул в поры сорбента связано со значительными энтропийными потерями. Энтальпийные изменения, сопровождающие адсорбцию макромолекул, компенсируют эти потери, и в связи с этим можно говорить о влиянии адсорбции на вероятность попадания макромолекул в поры адсорбента.

Вместе с тем макромолекула, адсорбируясь внутри пор, контактирует с адсорбционной поверхностью большим числом сегментов, и это позволяет говорить о влиянии соотношения размеров макромолекулы и поры (молекулярно-ситового эффекта) на адсорбцию.

Таким образом, адсорбция внутри пор и молекулярно-ситовый эффект взаимно дополняют друг друга, что, в частности, может приводить к увеличению предела исключения макромолекул из пор адсорбента при их адсорбционном взаимодействии с внутренней поверхностью адсорбента, когда макромолекулы начинают попадать в ранее недоступные для них поры [44, 45]. Возможность адсорбции макромолекул в порах, размеры (r) которых много меньше размеров макромолекул, следует из расчетных данных по изменению свободной энергии (в единицах kT) в расчете на один сегмент $-\Delta F/NkT$ макромолекулы в щелевидных порах [46] (см. рис. II.13). На этом рисунке слева от $E = E_{\text{кр}}$ находится область, в пределах которой на вероятность попадания макромолекулы в поры сорбента молекулярно-ситовый эффект оказывает большее влияние, чем адсорбционный. В области справа от $E = E_{\text{кр}}$ — картина обратная: здесь влияние адсорбционного эффекта существенно выше молекулярно-ситового. Эти закономерности хорошо иллюстрирует рис. VIII.7, на котором показаны результаты ТСХ полистирола на пластинках с силикагелем КСК (диаметр пор около 10 нм) в системе циклогексан — бензол — ацетон (40 : 16 : x). Видно, что при значениях $x > 2$ (которым

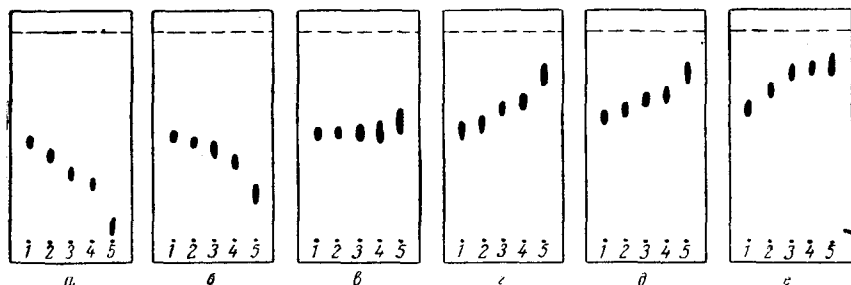


Рис. VIII.7. ТСХ образцов ПС-5—ПС-9 (см. рис. VIII.4) на силикагеле КСК в системе циклогексан — бензол — ацетон при соотношении растворителей 40 : 16 : 1,5 (а), 40 : 16 : 1,8 (б), 40 : 16 : 2 (в), 40 : 16 : 2,2 (г), 40 : 16 : 2,5 (д), 40 : 16 : 2,8 (е) с предварительным насыщением пластинки парами растворителей (2 ч): 1 — ПС-5; 2 — ПС-6; 3 — ПС-7; 4 — ПС-8; 5 — ПС-9.

соответствуют значения $(-E) \ll (-E_{кр})$ наблюдается картина, типичная для ГПХ полимеров: макромолекулы с малыми молекулярными массами отстают от больших макромолекул. С уменьшением доли ацетона в растворителе различие в хроматографических подвижностях макромолекул постепенно сглаживается и при $x \approx 2$ полностью исчезает. При этом $E = E_{кр}$, а $Kd = 1$ для макромолекул всех размеров. Дальнейшее уменьшение x [и, следовательно, увеличение $(-E)$] приводит к ситуации, типичной для адсорбционной хроматографии: в области $(-E) > (-E_{кр})$ ($x \ll 2$) малые макромолекулы начинают опережать большие.

Согласуясь с выводами теории адсорбции макромолекул, эксперимент показывает, что в области $(-E) > (-E_{кр})$ адсорбция в порах тем выгоднее, чем меньше отношение размера пор к размеру макромолекул $(r/\bar{R}^2)^{1/2}$, а в области $(-E) \ll (-E_{кр})$ — чем оно больше. Это хорошо видно на рис. VIII.8, где показаны результаты ТСХ на силикагелях разной пористости, но с одинаковой концентрацией и активностью адсорбционных центров на внутренней

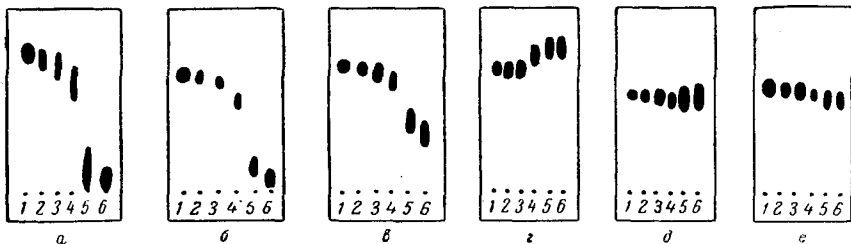


Рис. VIII.8. ТСХ полистиролов на силикагелях КСМ ($d_n = 3$ нм) (а, в), КСК ($d_n = 12$ нм) (б, д) и С-80 ($d_n = 700$ нм) (е, е) в системе циклогексан — бензол — ацетон при соотношении растворителей 40 : 16 : 2 (а, б, в) и 40 : 16 : 1,7 (г, д, е): 1 — $M_n = 600$; 2 — $M_n = 2,03 \cdot 10^3$; 3 — $M_n = 4 \cdot 10^3$; 4 — $M_n = 19,85 \cdot 10^3$; 5 — $M_n = 96,2 \cdot 10^3$; 6 — $M_n = 1,64 \cdot 10^4$.

поверхности. С этой целью силикагели обрабатывали [47] растворами HCl (1 : 1) для разрушения наиболее активных адсорбционных центров, связанных с присутствующим в силикагеле Al. Остающиеся после подобной обработки гидроксильные группы имеют одну и ту же поверхностную концентрацию (~ 5 на 1 нм^2) независимо от размера пор [48]. Наблюдаемый эффект увеличения адсорбируемости полимера в порах малого размера не согласуется с результатами экспериментальных исследований [49—51] адсорбции полимеров при достаточно больших (не хроматографических) концентрациях, но находится в полном согласии с теорией Ди Марцио — Рубина [46]. В экспериментах по адсорбции ПС на силикагелях разной пористости (см. рис. VIII.9) найдено, что значение $(-E_{кр})$ у микропористого силикагеля КСМ больше, чем у крупнопористого силикагеля КСК и макропористого силикагеля С-80. Увеличение $(-E_{кр})$ при уменьшении размера пор, не учитываемое теорией [46], в которой рассматривалась «бестелесная» модель макромолекулы, по-видимому, связано с влиянием объемных эффектов.

Чтобы получить зависимость $(-\Delta F/kT)$ от $(-E)$ по данным хроматографического эксперимента надо воспользоваться соотношением

$$Kd = \exp[-\Delta F/kT] \quad (\text{VIII.3})$$

где

$$Kd = \frac{1 - R_f}{R_f} \cdot \frac{V_0}{V_p} \quad (\text{VIII.4})$$

Здесь V_0/V_p — соотношение объемов межчастичного и порового пространства в слое адсорбента. Величину V_0/V_p можно

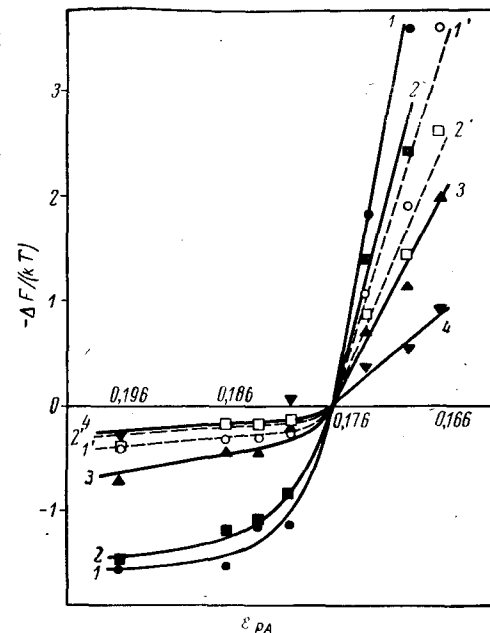


Рис. VIII.9. Экспериментальная зависимость $(-\Delta F/kT)$ от энергии взаимодействия адсорбент — растворитель ϵ_{PA} , полученная с помощью ТСХ на силикагеле КСК (сплошные линии) и на силихроме С-80 (пунктирные линии) для полистиролов:

1, 1' — $M_w = 173 \cdot 10^3$; 2, 2' — $M_w = 111 \cdot 10^3$; 3, 3' — $M_w = 51 \cdot 10^3$; 4, 4' — $M_w = 19,85 \cdot 10^3$.

определить из R_f полимера при $E = E_{кр}$, когда Kd макромолекул любого размера равен 1

$$\frac{V_0}{V_p} = \left(\frac{R_f}{1-R_f} \right)_{E=E_{кр}} \quad (\text{VIII.5})$$

Значение $(-E)$ можно определить как разность энергии адсорбционных взаимодействий полимера $(-E_{ПА})$ и растворителя $(-E_{РА})$:

$$(-E) \approx (-E_{ПА}) - (-E_{РА})$$

$(-E_{РА})$ можно рассчитать для двухкомпонентного и трехкомпонентного растворителя, следуя Снайдеру [52].

Поскольку $(-E_{ПА})$ рассчитать по Снайдеру невозможно (так как неизвестна конфигурация адсорбированного полимерного звена), то в качестве величины $(-E)$ логично принять $(E_{РА})$.

Как видно из рис. VIII.9, зависимость $(-\Delta F/kT)$ от $(-E)$, полученная из экспериментов по ТСХ полимеров, весьма схожа с теоретической зависимостью, изображенной на рис. II.13. На обоих рисунках зависимости для всех полимеров пересекают ось абсцисс в одной точке $(-E) = (-E_{кр})$. (На рис. VIII.9 $(-E_{кр}) = E_{РА} = 0,178$ единиц kT). Характерно, что для полистирола ПС с $M = 5 \cdot 10^5$ при весьма незначительном изменении $(-E)$ вблизи критической точки происходит резкое изменение $(-\Delta F/kT)$. Это является следствием фазового перехода при адсорбции макромолекул. При уменьшении M фазовый переход выражен менее отчетливо. Важно отметить, что в случае ТСХ можно наблюдать адсорбционные эффекты только при энергиях адсорбции, близких к $(-E_{кр})$, так как при дальнейшем увеличении $(-E)$ резко возрастает адсорбируемость макромолекул. Как видно из рис. VIII.9, в области преимущественного действия молекулярно-ситового эффекта [слева от $(-E_{кр})$] с увеличением M полимера значение $(-\Delta F/kT)$ увеличивается. При этом переход от $(-\Delta F/kT) < 0$ к $(-\Delta F/kT) = 0$ делается более резким.

Как видно из рис. VIII.9, зависимость $(-\Delta F/kT)$, а следовательно, и коэффициента хроматографического распределения Kd от энергии $(-E)$ в области $(-E) > (-E_{кр})$ имеет линейный характер. Следует отметить, что зависимость $(-\Delta F/kT)$ от числа мономерных звеньев в макромолекуле N также линейна (рис. VIII.10).

Показанная на рис. VIII.10 экспериментальная зависимость следует из теоретической

$$Kd = \exp(-\lambda_E N) \quad (\text{VIII.6})$$

где $(-\lambda_E)$ — изменение свободной энергии макромолекулы при энергии адсорбции сегмента $(-E)$ в расчете на одно звено.

Используя (VIII.6), легко записать выражение для R_f в случае адсорбционной ТСХ полимеров

$$R_f = \frac{1}{1 + (V_p/V_0) Kd} = \frac{1}{1 + (V_p/V_0) \exp(-\lambda_E N)} \quad (\text{VIII.7})$$

Если продифференцировать выражение (VIII.7) по N и λ_E , то видно, что зависимость R_f от числа мономерных звеньев N (молекулярной массы) полимера $\partial R_f / \partial N$ уменьшается с увеличением N , в то время как чувствительность R_f к составу сополимера $\partial R_f / \partial \lambda_E$ при слабом изменении $(-\lambda_E)$ растет с увеличением N . Эти закономерности отвечают экспериментальным данным по адсорбционной ТСХ гомополимеров и сополимеров [6, 7]. Приведенные выше результаты отчетливо демонстрируют основные закономерности адсорбционной хроматографии

полимеров, в том числе зависимость R_f от M полимера. Следует, однако, отметить, что в ряде работ [8, 12, 19, 53] высказывается недоумение по поводу возможности фракционирования полимера по M с помощью адсорбционной ТСХ. Это, по-видимому, связано с трудностями подбора такого растворителя, чтобы полимеры с разными M имели $(-\Delta F/kT)$ в диапазоне 0—3 (например, для $M = 2 \cdot 10^4 - 5 \cdot 10^5$, см. рис. VIII.4). В ряде случаев просто невозможно найти такой растворитель, который обеспечил бы требуемую величину $(-E)$ [53]. Выход может быть найден в использовании бинарных или тройных смесей растворителей*.

Следует отметить, что адсорбционную хроматографию полимеров осложняет также замедленная кинетика процесса адсорбции — десорбции. На рис. VIII.5 изображены хроматограммы ПС в системе циклогексан — бензол (без ацетона). Здесь видно, что

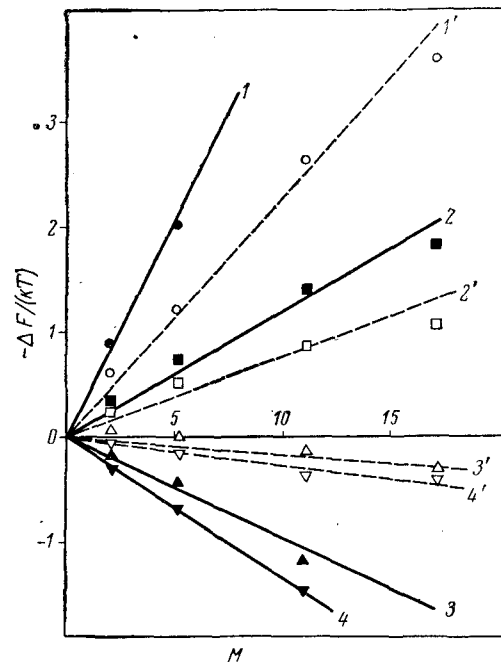


Рис. VIII.10. Экспериментальная зависимость $(-\Delta F/kT)$ от молекулярной массы для полистиролов, определенная с помощью ТСХ на силикагеле КСК (сплошные линии) и силохроме С-80 (пунктирные линии) при различных энергиях взаимодействия $(-E)$: 1, 1' — $E = 0,170$; 2, 2' — $E = 0,175$; 3, 3' — $E = 0,187$; 4, 4' — $E = 0,194$.

* Как указывается в работе [53], лучшие результаты получают в том случае, если R_f полимеров (независимо от их M) в одном растворителе равны нулю, а во втором единице, причем близость диэлектрических проницаемостей этих растворителей не имеет никакого значения.

у ПС с $M > 10^5$ вследствие замедленной кинетики адсорбции — десорбции хроматографический процесс не реализуется. Часть полимера остается на старте, часть движется с фронтом растворителя. Добавление в систему адсорбционно-активного ацетона изменяет эту картину (см. рис. VIII.4).

Таким образом, хроматографическое разделение веществ наиболее эффективно проводить в области $(-E_m) > (-E) > (-E_{кр})$, где коэффициент распределения $Kd \approx 1,5 \div 3$. При энергии взаимодействия $(-E) = (-E_m)$ полимеры почти не движутся по пластинке ($R_f < 0,2$) из-за сильной адсорбируемости макромолекул, при $(-E) = (-E_{кр})$ хроматография неэффективна, а в области $(-E) < (-E_{кр})$ ее эффективность возрастает с уменьшением $(-E)$, достигая максимального значения при $(-E) = -\infty$. Так как во всей области изменения $(-E)$ зависимость Kd от M полимера имеет характер (VIII.6), эту зависимость можно предложить в качестве калибровочной для всех хроматографических систем:

$$Kd = \exp(-\gamma M) \quad (\text{VIII.8})$$

Параметр γ , определенный для какого-либо полимера из данного гомологического ряда, характеризует весь ряд при условии тождественности используемого растворителя и температурного режима. Это позволит определять ММР и средние M полимеров в условиях адсорбционной хроматографии при более эффективном, чем, например, в ГПХ, разделении компонентов полимерного образца.

Следует отметить, что описанные закономерности соответствуют идеализованному случаю адсорбции макромолекул без эффектов исключенного объема. Поэтому в реальном эксперименте зависимость (VIII.8) выполняется только в определенном диапазоне M , связанном с соотношением размеров пор адсорбента и размеров макромолекул.

VIII. 4. Осадительная и экстракционная тонкослойная хроматография полимеров

Инагаки [8, 9] предложил осадительную хроматографию в качестве основного способа разделения полимеров методом ТСХ. Осадительная ТСХ была с успехом использована им и другими исследователями для фракционирования гомополимеров [22, 30, 33—35, 41, 53] и статистических сополимеров [39] по молекулярной массе, разделения атактического и синдиотактического ПММА [9], фракционирования блоксополимеров СТ — ММА [38], разделения этих блоксополимеров и ПММА [54], разделения блоксополимеров СТ — БД по молекулярной массе [39], разделения геометрических и стереоизомеров ПБД [31], разделения ПС, содержащих концевые гидроксильные и карбоксильные группы по молекулярной массе (см. табл. VIII.4).

Следует отметить, что основное направление в использовании осадительной ТСХ полимеров — фракционирование по молекулярной массе и определение ММР. Показано хорошее совпадение ММР, полученного с помощью осадительной ТСХ на пластинках с флюоресцентным индикатором $ZnSiO_3$, и спектрофлуориметрии пластинок [55], а также путем их фотографирования с последующей фотоденситометрией [55а] и методом ГПХ в колонках. Без сомнения, для определения ММР полимеров более пригоден метод колоночной ГПХ. Этот метод превосходит ТСХ по скорости анализа и его точности, однако уступает ему по чувствительности и возможности одновременного, с использованием двумерной ТСХ, определения ММР и (с помощью адсорбционной ТСХ) композиционной однородности сополимеров.

В связи с этим следует отметить работу [39], в которой показана возможность использования осадительной ТСХ в системе тетрагидрофуран — метанол для определения состава и молекулярной массы статистических сополимеров СТ и БД. При этом зависимость R_f от M сополимера и мольной доли (x) стирола определялась уравнением:

$$R_f = A + xB - C \lg M$$

где A , B и C — константы.

VIII. 4.1. Особенности осадительной ТСХ полимеров

Элементарный акт осадительной ТСХ связан с фазовым разделением раствора полимера на разбавленную фазу и концентрированную гель-фазу, которая осаждается на поверхности гранул адсорбента. При этом разбавленная фаза переносится с током растворителя и таким образом осуществляется хроматографический процесс. Для того чтобы реализовать осадительную ТСХ, необходимо подавить адсорбцию полимера. Отсюда возникают два требования к растворителям, используемым в этом варианте ТСХ полимеров: они должны быть адсорбционно активны (т. е. обладать достаточной адсорбируемостью, характеризуемой, например, параметром ϵ_0 по Снайдеру, и являться плохими растворителями для полимера, что может быть оценено с помощью параметра растворимости Флори — Хаггинса χ , представляющего собой разность свободной энергии (в единицах $-kT$), при переносе из растворителя в полимер молекулы растворителя. При $\chi > 0,5$ растворимость полимера снижается и начинается образование гель-фазы.

Согласно теории Флори — Хаггинса, фазовое разделение раствора полимера (при условии постоянства температуры) может происходить под воздействием двух факторов: увеличения χ ($> 0,5$) и, если $\approx 0,5$, увеличения объемной доли полимера в растворе ϕ_c . Увеличение χ может быть вызвано повышением содержания осадителя в составе элюента, а увеличение объемной доли —

Полимер	Исследуемая полидисперсность	Элюент	Условия ТСХ	Условия проявления *	Литература
Гомополимеры					
ПС	По молекулярной массе ($1,98 \cdot 10^4 - 5 \cdot 10^4$)	Хлороформ — ацетон (10 : 1) → хлороформ	Градиент.	IV	22, 23
»	По молекулярной массе ($10^4 - 2 \cdot 10^4$)	Ацетон	Неградиент.	X	41
»	По молекулярной массе ($10^4 - 1,6 \cdot 10^5$)	Ацетон — хлороформ	»	X	41
»	По молекулярной массе ($10^4 - 10^6$)	Ацетон → ацетон — хлороформ (90 : 5 — 70 : 30)	Градиент.	X	41
		Ацетон → ацетон — тетрагидрофуран (95 : 5 — 70 : 30)	»	X	41
»	По молекулярной массе ($10^4 - 10^6$)	Ацетон → ацетон — толуол (95 : 5 ÷ ÷ 70 : 30)	»	X	41
»	По молекулярной массе ($10^4 - 10^6$)	Бензол — изопропиловый спирт (64,2 : 35,8)	Неградиент.	X	54
»	По молекулярной массе ($10^4 - 10^6$) **	Диоксан — изопропиловый спирт (71,4 : 28,6)	»	VII	54
		Ацетон — изопропиловый спирт (96 : 4) → ацетон — хлороформ — изопропиловый спирт (66 : 30 : 4)	Градиент.	VII	54
»	По молекулярной массе ($2 \cdot 10^4 - 8,6 \times 10^5$)	Диоксан — изопропиловый спирт (55 : 45)	Неградиент.	X	43
»	По молекулярной массе **	Ацетон — бензол — этанол (3 : 1 : 2) → → бензол — метилэтилкетон (1 : 1)	Градиент.	IV	35
»	По молекулярной массе ($2 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^5$)	Бензол — метилэтилкетон — ацетон — этанол (5 : 3 : 6 : 4)	Неградиент.	IV	35
»	Отделение изотактического ПС от атактического	Циклогексан — бензол — ацетон (40 : 16 : 2)	»	I	11
»	Отделение разветвленного ПС (четырёхлучевая звезда) от линейного ПС с $M = 10^5 - 10^6$	Хлороформ — ацетон (10 : 1) → хлороформ	Градиент.	IV	22, 23
»	Разделение по молекулярной массе полимеров с концевыми COOH-группами ($1,1 \cdot 10^4 - 5 \cdot 10^4$ и $2,3 \cdot 10^4 - 1,2 \times 10^5$)	Тetraгидрофуран — ацетон (1 : 10) → → тетрагидрофуран	»	IV	34
ПММА	По молекулярной массе ($4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^5$)	Хлороформ — метанол (29 : 71)	Неградиент.	II	30
»	По молекулярной массе ($1,6 \cdot 10^5 - 4,12 \cdot 10^6$)	Бензол — ацетон (2 : 8); изопропиловый спирт — метилформиат (100 : 62); этилацетат — метилацетат (100 : 23)	»	II	53
»	По молекулярной массе, разделение синдио- и атактического полимеров	Ацетонитрил — метанол (20 : 40) } Ацетонитрил — метанол (46 : 54) }	Неградиент. С-камера	II	9
ПЭО	По молекулярной массе ($1,5 \cdot 10^3 - 6 \times 10^3$)	Этиленгликоль — метанол (80 : 20)	Неградиент.	XI	41
»	По молекулярной массе ($1,5 \cdot 10^3 - 2,8 \times 10^4$)	Метанол → метанол — диметилформамид (80 : 20) ***	Градиент.	XI	41
ПВД	Отделение 1,4-цис- и 1,2-ПВД от 1,4-транс-ПВД	Пентилхлорид	Неградиент.	III	31
Сополимеры					
СТ—БД (статистический)	По молекулярной массе ($6,1 \cdot 10^4 - 1,46 \cdot 10^5$)	Тetraгидрофуран → метанол	Градиент.	IV	39
СТ—БД (блочный)	Отделение ПММА от сополимера	Хлороформ — метанол (6 : 16 ÷ 4 : 16)	С-камера	I	55
То же	Разделение по молекулярной массе, отделение низкомолекулярного ПС	Хлороформ — метанол (3 : 2) → метанол	Градиент.	III	39
Привитой ПС на ПВД	Отделение ПС от сополимера	Метилэтилкетон	Проточн.	III	22

* Методы проявления и их обозначения см. табл. VIII.3.; ** определение ММР; *** на окиси алюминия.

полимера φ_c изменением фазового отношения r (отношение объема элюента к массе адсорбента). Запишем простейшие соотношения, характеризующие фазовое разделение раствора полимера. Если обозначить долю молекул (со степенью полимеризации x) в гелевой фазе f'_x , а в разбавленной фазе — f_x , то при соотношении объемов этих фаз V'/V получается следующее выражение для коэффициента распределения

$$Kd = f'_x/f_x = (V'/V) \exp(\sigma_0 x) \quad (\text{VIII.9})$$

где σ_0 — фактор фракционирования, представляющий собой функцию объемных долей полимера и растворителя, а также параметра взаимодействия χ .

Если величина σ_0 положительна и очень слабо зависит от степени полимеризации, то с увеличением последней полимер будет переходить в концентрированную фазу. Коэффициент распределения увеличивается при повышении объемной концентрации полимера φ_c . Соотношение (VIII.9) может быть легко трансформировано в зависимость для ТСХ:

$$\ln \left(\frac{1-R_f}{R_f} \right) = \frac{V'}{V} + \sigma_0 x \quad (\text{VIII.9a})$$

Осадительная ТСХ полимеров может быть реализована и в неградиентных условиях. Однако при необходимости разделить полимеры, сильно различающиеся по растворимости, приходится использовать градиентную ТСХ, применяя в качестве элюента смесь растворителя и осадителя. При этом оба компонента или, по крайней мере, один из них должен быть адсорбционно-активным, превосходя в этом отношении исследуемый полимер. Необходимо также подбирать концентрацию адсорбционно-активного компонента в исходном элюенте таким образом, чтобы полностью предотвратить адсорбцию полимера.

В осадительной ТСХ можно реализовать как селективное растворение в стартовой зоне, так и селективное осаждение движущегося по пластинке полимера. В первом случае необходимо изменять состав подаваемого на пластинку элюента, постепенно добавляя к осадителю растворитель. Во втором случае должна постепенно уменьшаться концентрация осадителя в движущемся по пластинке элюирующем растворе, например за счет преимущественного испарения растворителя вблизи фронта элюента при ТСХ в ненасыщенной С-камере. В обоих случаях должно наблюдаться соответствующее распределение зон полимера на хроматографической пластинке, когда наиболее растворимые фракции полимера, например фракции, содержащие полимергомологи с наименьшими M , имеют наибольшие значения R_f .

Первый метод создания градиента, связанный с селективным растворением полимера в области стартового пятна, следует назвать экстракционным вариантом осадительной ТСХ, а второй — когда на пластинке создается градиент растворимости полимера

за счет испарения растворителя и уменьшения фазового отношения r или только за счет уменьшения r (когда растворитель и осадитель испаряются в одинаковой степени), можно назвать собственно осадительной ТСХ. Примером экстракционного варианта осадительной ТСХ может служить разделение полистирола по молекулярной массе при добавлении к ацетону смесей ацетон — хлороформ, ацетон — толуол [41]. Примером собственно осадительной ТСХ может служить разделение ПММА в системе метанол — хлороформ (71 : 29) [30] и ПС в системе бензол — бутанол — ацетон — этанол (5 : 3 : 6 : 4) [35], в которой первые два компонента являются растворителями, а последние — осадителями для ПС. Показано [55], что при адсорбционной ТСХ молекулярно-массовая зависимость R_f в области $M < 10^5$ сильнее, чем при осадительной ТСХ, а в области $M > 10^5$ слабее ее [8, 12, 53]. Подобные же закономерности обнаружены [41] при сравнении адсорбционной ТСХ полистирола в системе четыреххлористый углерод — тетрагидрофуран и осадительной ТСХ в системах ацетон — толуол, ацетон — хлороформ. Для раздельного определения ММР и композиционной неоднородности статистических сополимеров стирола и бутадиена была использована [19] осадительная ТСХ в системе тетрагидрофуран — метанол и адсорбционная ТСХ в системе хлороформ — четыреххлористый углерод.

Вариантом ТСХ, связанным с растворением полимера, является экстракционная ТСХ, где растворение полимера в стартовой зоне происходит по принципу «все или ничего», и полимеры разделяются на зоны с $R_f = 0$ и $R_f = 1$. Этот вариант ТСХ можно применить для разделения полимеров, сильно различающихся по свойствам, например изотактического и атактического ПММА [10] и ПС [11].

Как уже упоминалось, фазовое разделение раствора полимера происходит не только при увеличении χ , но и при увеличении объемной доли полимера φ_c , связанном с уменьшением фазового отношения r . Известно, что в тонком слое адсорбента существует специальный механизм уменьшения r вблизи фронта элюента, связанный с конечной скоростью смачивания адсорбента жидкостью. Распределение фазового отношения r на пластинке [8] показано на рис. VIII.11. Установлено [8], что объемная доля полимера в хроматографической зоне (зоне осаждения) составляет $\varphi_c = 0,01$, что приблизительно соответствует началу фазового разделения в аналогичных опытах без адсорбента ($\varphi_c = 0,03$). В то же время показано [43], что рассчитанный по данным ТСХ

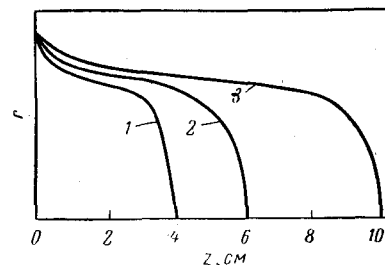


Рис. VIII.11. Зависимость фазового отношения (r) от длины пробега растворителя по пластинке (z) (кривые 1, 2, 3 соответствуют пробегу растворителя 4, 6 и 10 см).

предел растворимости ПС с M 160 000 составляет $\varphi_c = 0,007$, в то время как при турбодиметрическом титровании не удается обнаружить осаждение этого ПС даже при $\varphi_c = 0,02$. Отсюда был сделан вывод, что при осадительной ТСХ определенную роль играет подложка — адсорбент, уменьшающий концентрационный порог осаждения полимера.

По-видимому, экстракционная ТСХ полимеров включает как случаи, где в используемой системе растворителей нет адсорбции полимера, так и случаи, где адсорбция играет главную роль в селективной экстракции полимеров из стартовой зоны. В осадительной ТСХ природа адсорбента не играет существенной роли в разделении полимеров. Так, показано [43], что в θ -растворителе (система диоксан — метанол в соотношении 72 : 28) R_f ПС на адсорбентах различной химической природы и пористости имеют примерно одинаковые значения. Отсюда можно сделать вывод, что осаждение полимерной гель-фазы происходит на внешней поверхности зерна адсорбента. Поэтому при сопоставлении разделяющей способности осадительной и адсорбционной ТСХ [8] необходимо учитывать пористую структуру адсорбента, существенным образом влияющую на адсорбцию полимера.

VIII. 4.2. Образование ложных хроматографических зон при осадительной ТСХ полимеров

При ТСХ в системе растворитель — осадитель, когда растворитель не обладает адсорбционной активностью, а осадитель обладает ею, в зависимости от соотношения указанных компонентов может наблюдаться как адсорбционная, так и осадительная ТСХ полимеров. Как видно из рис. VIII.12, при ТСХ ПММА в системе хлороформ — метанол имеются две области концентраций метанола с содержанием менее 10% и более 70%, где R_f изменяется от 0 до 1. Первая область соответствует адсорбционной, вторая — осадительной ТСХ ПММА. Эта закономерность позволяет объяснить образование ложных хроматографических пятен на пластинках при ТСХ полимеров [55] (рис. VIII.13). Как видно из рис. VIII.13, при нанесении стартовых пятен ПММА по диагонали пластины по мере увеличения высоты нанесения стартовой зоны, происходит как бы «перекатка» вещества из нижнего пятна (в точке старта) в верхнее пятно, движущееся с фронтом растворителя.

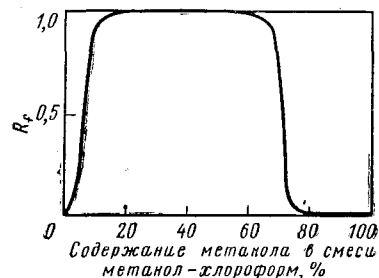


Рис. VIII.12. Зависимость R_f полиметилметакрилата ($M_w = 4,1 \times 10^5$) от состава системы хлороформ — метанол при ТСХ на силикагеле.

Поскольку при движении по пластинке смеси хлороформ — метанол (6 : 16) происходит фронтальное разделение элюента на хлороформенную и хлороформметанольную зоны (фронты этих зон при избытке метанола находятся достаточно близко друг к другу), то размытый фронт элюента с низкой концентрацией метанола, соприкасаясь с хроматографическим пятном, растворит определенную часть полимера, которая будет двигаться по пластинке в этой области концентраций метанола по законам адсорбционной хроматографии (наблюдается обострение заднего фронта зоны полимера, подгоняемого градиентом концентрации метанола). В связи с градиентными условиями хроматографии верхние пятна полимера располагаются параллельно фронту растворителя (линии погружения пластинки в растворитель). Когда же скорость движения элюента превышает скорость растворения полимера, в область стартового пятна быстро вступает та часть фронта элюента, где концентрация метанола выше 70%, и оставшийся нерастворенным ПММА уже больше раствориться не может. В результате этого зона полимера разделяется на две части, одна из которых движется с фронтом растворителя, а другая остается на старте. По-видимому, не должно быть существенных различий в свойствах полимера в этих зонах. Образование двух хроматографических пятен является артефактом, вызванным специфическими условиями хроматографирования полимера в бинарной системе растворителей, когда адсорбционно-активный полярный компонент в больших концентрациях является осадителем полимера. Очевидно, что чем выше на пластинке находится стартовое пятно, тем медленнее движется в этой области фронт растворителя и тем большее количество полимера успеет десорбироваться с силикагеля и перейти в движущуюся хроматографическую зону.

Интересный результат получается при ТСХ ПММА в камере, насыщенной парами растворителя, при использовании системы хлороформ — метанол (4,5 : 16) (рис. VIII.14). Здесь верхние пятна полимера располагаются под углом к линии фронта растворителя, что свидетельствует об отсутствии на пластинке градиентных условий. Таким образом, в растворителе одного состава часть полимера остается на старте, в то время как другая часть движется на пластинке по законам элютивной хроматографии. Описанная ситуация может наблюдаться в том случае, если концентрация метанола в элюенте, обеспечивающая осадительную ТСХ ПММА, выше, чем концентрация, при которой происходит растворение этого полимера в области стартового пятна. Переход полимера из адсорбированной на пластинке твердой фазы в раствор происходит через образование гель-фазы. При этом для осуществления первой стадии растворения полимера необходим растворитель лучшего термодинамического качества (содержащий меньшее количество метанола), чем для второй, соответствующей элементарному акту осадительной ТСХ. Это согласуется

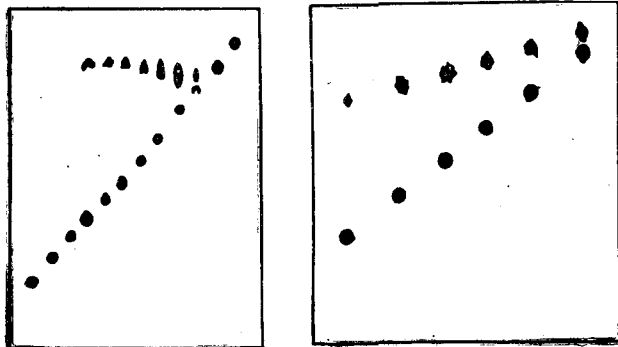


Рис. VIII.13. ТСХ полиметилметакрилата ($M_w = 10^5$) в системе хлороформ — метанол (6 : 16) в ненасыщенной С-камере (пробы нанесены по диагонали пластинки).

Рис. VIII.14. ТСХ полиметилметакрилата ($M_w = 10^5$) в системе хлороформ — метанол (4,5 : 16) в камере с предварительным насыщением пластинки в парах растворителя (пробы нанесены по диагонали пластинки).

с наблюдением [43] об уменьшении растворимости полимера в присутствии адсорбента и о влиянии качества растворителя на скорость десорбции.

Если элюент содержит метанол в большем количестве, чем необходимо для перехода полимера из твердого состояния в гель-фазу, то растворение полимера в области стартового пятна произойдет только тогда, когда через него будет проходить фронт растворителя, где концентрация метанола понижена. При этом, как и в случае ТСХ в ненасыщенной С-камере (см. рис. VIII.12), чем больше время контакта фронта растворителя со стартовым пятном (т. е. чем дальше это пятно находится от линии погружения пластинки в растворитель), тем большая часть полимера перейдет в раствор и будет хроматографироваться в условиях неградиентной осадительной ТСХ.

Сам по себе механизм осадительной ТСХ в безградиентных условиях нуждается в разъяснении. Действительно, при этом движущаяся с током растворителя разбавленная полимерная фаза не образует равновесную гель-фазу и, следовательно, не может быть хроматографического ($R_f < 1$) движения полимерной зоны. По-видимому, хроматография полимеров в элюенте худшем, чем тэта-растворитель, связана с движением агрегатов полимерных молекул, взаимодействующих с адсорбентом, поверхность которого покрыта полярными молекулами ацетона, за счет дисперсионных сил.

VIII. 5. Зависимость формы хроматографического пятна при ТСХ от концентрации полимера

Известно, что вид изотермы адсорбции определяет форму хроматографической зоны [31]. Для слабой адсорбируемости ($R_f \rightarrow 1$) характерна вогнутая изотерма адсорбции. В этом случае при увеличении концентрации хроматографическое пятно вытягивается вниз. Для сильной адсорбируемости ($R_f \rightarrow 0$) характерна выпуклая изотерма адсорбции. Здесь при увеличении концентрации хроматографическое пятно вытягивается вверх. При $R_f \approx 1/2$ изотерма адсорбции близка к линейной и форма хроматографического пятна мало зависит от концентрации (рис. VIII.15). Двумерное размывание в ТСХ приводит к дополнительным концентрационным эффектам. По бокам хроматографической зоны концентрация вещества за счет размывания уменьшается и скорость его движения определяется коэффициентом распределения, иным, чем в центральной зоне. В результате пятно приобретает заостренную форму: острием вверх — при адсорбционной и острием назад — при осадительной ТСХ (рис. VIII.16).

Имеются и другие специфические для высокополимеров концентрационные эффекты, определяющие форму хроматографического пятна. Один из них связан с осаждением полимера, которое происходит, если на пластинке имеется градиент элюента с постепенным уменьшением соотношения растворитель — осадитель. В результате, чем выше концентрация полимера в хроматографическом пятне, тем ниже концентрация осадителя, соответствующая порогу растворимости полимера, и тем больше вытянуто это пятно (рис. VIII.17) в направлении, обратном движению по пластинке. Этот эффект напоминает влияние вогнутой изотермы адсорбции на форму хроматографического пятна, хотя и определяется иными причинами, связанными с осаждением полимера в условиях градиентной ТСХ.

Форма хроматографического пятна в ТСХ полимеров зависит также от особенностей вязкого течения раствора полимера по пластинке. В центре пятна скорость растворителя минимальна. В периферийных областях она увеличивается и достигает максимума в промежутках между хроматографическими пятнами. В результате пятно приобретает каплеобразную форму (рис. VIII.18), характерную для струи, образующейся при обтекании препятствия вязкой жидкостью [56]. При этом задняя граница пятна дополнительно обостряется набегающим потоком жидкости, который препятствует диффузионному размыванию пятна, в то время как в передней части зоны скорость диффундирующих молекул и скорость потока складываются [57]. Эти процессы приводят к неустойчивости хроматографической зоны. Она может приобретать неправильную форму и даже разделиться на несколько отдельно двигающихся пятен.

VIII.6. Исследование микроструктуры полимеров с помощью тонкослойной хроматографии

VIII.6.1. Изучение стереорегулярности полимеров

Разделение стереорегулярных полимеров может быть основано на различиях в их растворимости [10], которые усиливаются, если растворение полимера сочетать с его десорбцией с поверхности адсорбента. Таким образом удалось разделить [10] изотактический ПММА (*и*-ПММА), который оставался в стартовом пятне, от синдиотактического (*с*-ПММА) и атактического (*а*-ПММА), двигавшихся с фронтом растворителя (этилацетата). Если в качестве элюента использовать ацетон [28, 29], то десорбируются *а*-ПММА и *и*-ПММА, однако стереокомплекс *и*-ПММА и *с*-ПММА (состава 1 : 1) остается на старте. Таким образом, *и*-ПММА и *с*-ПММА в соотношении 2 : 1 или 1 : 2 проявляются

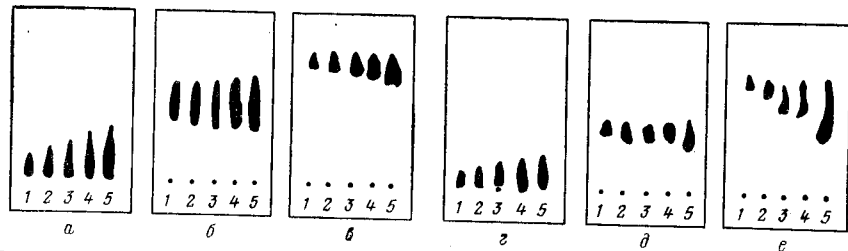


Рис. VIII.15. Зависимость формы хроматографического пятна при ТСХ полистирола с $M_w = 2 \cdot 10^4$ (а, б, в) и $M_w = 4 \cdot 10^5$ (г, д, е) в системе циклогексан — бензол — ацетон при соотношении растворителей 12 : 4 : 0,25 (а, г), 12 : 4 : 0,5 (б, д), 12 : 4 : 1 (в, е) от содержания вещества в пятне: 1 — $q = 2$ мкг; 2 — $q = 5$ мкг; 3 — $q = 10$ мкг; 4 — $q = 20$ мкг; 5 — $q = 40$ мкг.

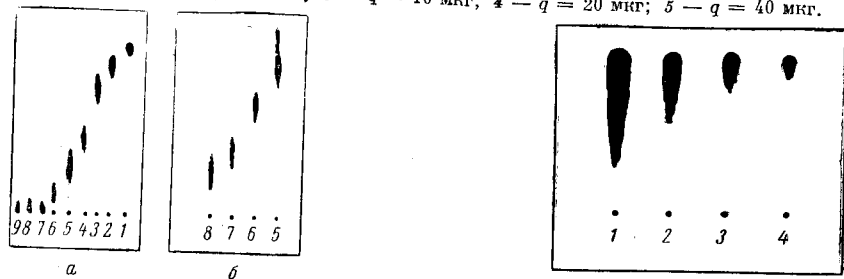


Рис. VIII.16. Зависимость формы хроматографического пятна полистирола от вида ТСХ:

а — адсорбционная ТСХ в системе циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : 0,7); б — осадительная ТСХ в системе ацетон — бензол (15 : 5), силикагель КСК; 1 — ПС-3; 2 — ПС-4; 3 — ПС-5; 4 — ПС-6; 5 — ПС-7; 6 — ПС-8; 7 — ПС-9; 8 — ПС-10; 9 — ПС-11.

Рис. VIII.17. Влияние количества (q) полистирола ($M_w = 5 \cdot 10^4$) на форму пятна в системе бензол — ацетон (3 : 40):

1 — $q = 40$ мкг; 2 — $q = 30$ мкг; 3 — $q = 20$ мкг; 4 — $q = 10$ мкг.

на хроматограмме в виде двух пятен: на старте и вблизи фронта растворителя. Нижнее пятно представляет собой стереокомплекс (1 : 1), а верхнее пятно — соответственно *и*-ПММА или *с*-ПММА. Важно отметить, что если стартовое пятно не смочить предварительно каплей хлороформа, то стереокомплекс не образуется. С помощью ТСХ можно разделить также стереоблочные ПММА с большим содержанием изотактических и синдиотактических триад [10].

Описанные выше условия разделения с помощью ТСХ *и*-ПММА и *с*-ПММА были использованы для препаративного выделения из их смеси *и*-ПММА 80—90%-ной чистоты [58] (адсорбция на силикагеле из раствора в хлороформе, десорбция ацетоном).

Аналогичные результаты получены и при ТСХ полистирола. Кристаллический изотактический ПС не растворяется в системе циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : 1,5) (где с фронтом растворителя движется атактический ПС вплоть до самых высокомолекулярных фракций) и остается на старте хроматографической пластинки.

Разделение *а*-ПММА и *с*-ПММА может быть осуществлено [30] с помощью адсорбционной ТСХ в системе этилацетат — изопропилацетат* (рис. VIII.19а) и градиентной ТСХ в системе ацетонитрил — метанол (рис. VIII.19б). При использовании этих хроматографических систем обнаруживается зависимость R_f не только от содержания синдиотактических триад T_c , но и от M_w . Для системы ацетонитрил — метанол

$$R_f = 1,73T_c - 0,51 \lg M_w - 2,2 \quad (\text{VIII.10})$$

и для системы этилацетат — изопропилацетат:

$$R_f = -1,74T_c - 0,08 \lg M_w + 6,0 \quad (\text{VIII.11})$$

Подставляя значения R_f , полученные при ТСХ ПММА в указанных системах растворителей, в уравнения (VIII.10) и (VIII.11) можно определить T_c и M_w исследуемых полимеров с точностью до 10%.

Поскольку R_f в обоих хроматографических системах изменяется при увеличении M в одном направлении, а зависимость R_f

* При использовании «чистого» этилацетата значения R_f для *и*-ПММА, *а*-ПММА и *с*-ПММА составляют соответственно 0,1 и 1. При добавлении менее полярного изопропилацетата эти образцы полностью разделяются. По значениям R_f в системе этилацетат — изопропилацетат их можно расположить в следующий ряд: изотактический < синдиотактический < атактический.



Рис. VIII.18. Форма хроматографического пятна образцов полистирола ($M_w = 8,7 \times 10^5$) в бензоле на силикагеле КСК:

1 — $q = 40$ мкг; 2 — $q = 30$ мкг; 3 — $q = 20$ мкг; 4 — $q = 10$ мкг.

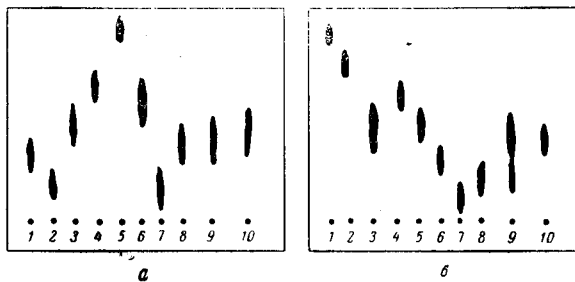


Рис. VIII.19. ТСХ синдио- и атактических полиметилметакрилатов на силикагеле КСК в системах изопропилацетат — этилацетат (8 : 25) (а) и метанол с добавлением ацетонитрила, градиентная ТСХ (б):

Образец	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$M_w \cdot 10^{-3}$	186	285	633	279	200	514	1240	795	500	279
T_c	0,74		0,71	0,66		0,53		0,61	0,66	0,74

от T_c имеет противоположный характер, для исследования стереорегулярности образцов ПММА необходимо использовать обе системы растворителей. Так, например, на рис. VIII.19 показано, что образцы 8 ($M_w = 7,95 \cdot 10^5$, $T_c = 0,61$) и 3 ($M_w = 6,33 \cdot 10^5$, $T_c = 0,71$) разделились только в системе ацетонитрил — метанол. При этом обнаружено также, что образец 9 состоит из двух компонентов.

VIII. 6.2. Разделение изомерных полибутадиенов и полиизопренов с помощью тонкослойной хроматографии

С помощью ТСХ разделяются 1,4-транс-, 1,4-цис- и 1,2-ПБД [31]. Разделение 1,4-транс- и 1,4-цис-ПБД может быть осуществлено с помощью ТСХ на силикагеле и окиси алюминия при использовании четыреххлористого углерода и пентилхлорида. Однако в первом растворителе по пластинке вместе с 1,4-транс-ПБД движется 1,2-ПБД, а во втором растворителе 1,2-ПБД движется вместе с 1,4-цис-ПБД, а 1,4-транс-ПБД остается на старте.

Поскольку четыреххлористый углерод является хорошим растворителем для всех типов ПБД, их разделение в этом растворителе осуществляется с помощью адсорбционных ТСХ. В пентилхлориде при температуре ниже 40 °С растворяются только 1,4-цис- и 1,2-ПБД, поэтому в этом случае разделение ПБД происходит по механизму экстракционной ТСХ.

Эти результаты позволяют, используя ступенчатую ТСХ, т. е. последовательно пропуская оба растворителя на разную длину по пластинке, разделить с помощью одномерной ТСХ любую бинарную смесь ПБД. Для разделения смеси 1,4-цис-

1,4-транс- и 1,2-ПБД следует использовать двумерную ТСХ (рис. VIII.20).

Рассмотренная методика может использоваться для испытания гомогенности так называемых эквибинарных ПБД, в которых присутствуют звенья 1,4-цис- и 1,2-бутадиена. При ТСХ в четыреххлористом углеороде эти полимеры движутся с фронтом растворителя и образуют хроматографические зоны, соответствующие 1,4-цис-ПБД.

Для изучения геометрической и стереоизометрии полиизопрена была использована адсорбционная ТСХ [22]. Показано, что с помощью четыреххлористого углерода можно отделить 3,4-ПИ от 1,4-цис- и 1,4-транс-ПИ, а в системе циклогексан — *n*-ксилол (20 : 80) 3,4- и 1,4-транс-ПИ от 1,4-цис-ПИ.

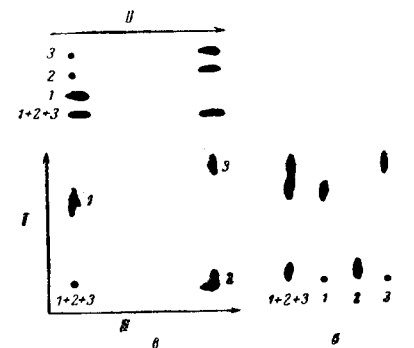


Рис. VIII.20. Разделение полибутадиенов с помощью одномерной (а, б) и двумерной (в) ТСХ в тетрачлорметане (I) и амилхлориде (II): 1 — 1,4-транс-полибутадиен; 2 — 1,4-цис-полибутадиен; 3 — 1,2-полибутадиен.

VIII. 7. Тонкослойная хроматография блок- и привитых сополимеров

На основе исследований гидродинамики блоксополимеров в растворителях разного термодинамического качества [38] установлено [59], что адсорбционная ТСХ весьма чувствительна к изменениям конформации двух- и трехблочного блоксополимера стирола и метилметакрилата. Так, в «плохом» для ПС и «хорошем» для ПММА растворителе (например, в системе нитроэтан — ацетон) происходит коллапсирование ПС-блока с образованием плотного спиралеобразного ПС-домена, окруженного оболочкой ПММА. Такое внутримолекулярное фазовое разделение приводит к тому, что по мере увеличения молекулярной массы адсорбционные свойства блоксополимера приближаются к свойствам чистого ПММА. ПММА и блоксополимер с небольшим содержанием стирола существенно различаются по адсорбционным характеристикам в растворителе, одинаково хорошем для ПС и ПММА, например в системе бензол — метилэтилкетон. Можно предположить, что адсорбционные свойства ПММА и блоксополимера с малым содержанием стирола (в особенности для блоксополимера с высокой M) наиболее сильно будут различаться в растворителе, который, будучи слабым вытеснителем, является термодинамически «хорошим» для ПС и «плохим» для ПММА.

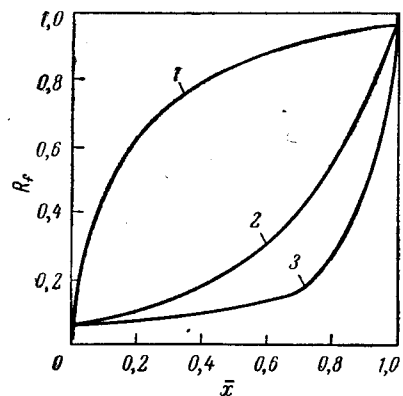


Рис. VIII.21. Зависимость R_f статистического (1), трехблочного (2) и двухблочного (3) сополимеров стирола и метилметакрилата от содержания стирола в образце (x , в долях) при градиентной (добавления метилэтилкетона к тетрагидрометану) ТСХ на силикагеле.

При адсорбционной ТСХ блоксополимеров СТ — БД в системе циклогексан — хлороформ (9 : 1) с постепенным добавлением хлороформа возможно разделение двух- и трехблочных сополимеров; при этом R_f трехблочного сополимера меньше, чем R_f двухблочного (т. е. двух- и трехблочные сополимеры СТ — БД движутся по пластинке в ином порядке, чем более полярные блоксополимеры СТ — ММА). В этой системе значения R_f сополимеров СТ — БД не зависят от M . При использовании осадительной ТСХ в системе хлороформ — метанол (3 : 2) с добавлением метанола удастся разделить блоксополимеры по молекулярной массе. Применение этих систем дало возможность с помощью двумерной ТСХ установить, что промышленный блоксополимер СТ — БД «Кратон-101» состоит из трех компонентов: двух трехблочных сополимеров одного состава, но разной M и ПС с $M_w = 10^4$. Эти данные совпали с результатами анализа «Кратон-101» на гель-хроматографе с рефрактометрическим и спектрофотометрическим детекторами.

Найденные Инагаки условия ТСХ сополимеров, где R_f зависит только от состава сополимера, но не зависит от его молекулярной массы, позволили предложить [37] метод определения композиционной гетерогенности сополимеров, основанный на денситометрии тонкослойных хроматограмм при двух длинах волн: $\lambda_1 = 225$ нм, где поглощают звенья стирола и метилметакрилата, и $\lambda_2 = 265$ нм, где поглощают только звенья стирола. При этом для определения состава не нужно использовать значения R_f , получаемые при калибровке пластинок сополимерами известного состава.

Показана [37] возможность разделения с помощью адсорбционной ТСХ двух- и трехблочных сополимеров: СТ — БД [17, 39] и СТ — ММА [37].

Для разделения последних используется градиентная ТСХ на силикагеле в системе четыреххлористый углерод — метилэтилкетон с увеличивающимся содержанием метилэтилкетона. При этом разделяются статистические, двух- и трехблочные сополимеры одинакового состава. В этих условиях M сополимеров не влияет на их хроматографическое поведение (т. е. на величину R_f) (рис. VIII.21). R_f сополимеров СТ и ММА одного состава уменьшается в ряду: статистический > трехблочный > двухблочный.

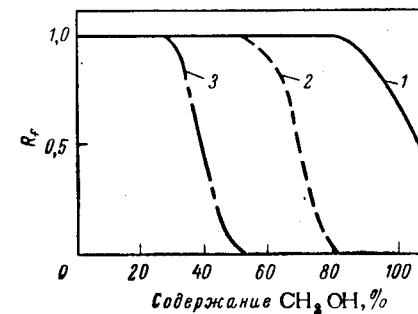
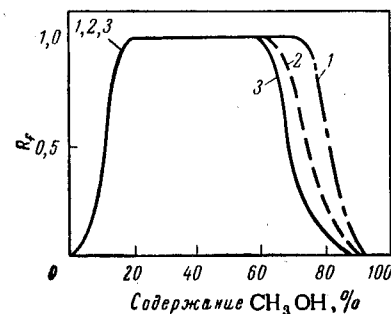


Рис. VIII.22. Зависимость R_f полиметилметакрилата (а) и полистирола (б) разной молекулярной массы от содержания метанола (в %) в системе хлороформ — метанол при ТСХ на силикагеле:

а: 1 — $M_w = 5 \cdot 10^4$; 2 — $M_w = 1,7 \cdot 10^5$; 3 — $M_w = 2 \cdot 10^6$; б: 1 — $M_w = 600$; 2 — $M_w = 1,03 \cdot 10^4$; 3 — $M_w = 9,82 \cdot 10^4$.

Для разделения блоксополимеров можно использовать осадительную ТСХ. Тогда в «плохом» для одного из блоков растворителе будет наблюдаться селективное осаждение блоксополимера, обогащенного этим блоком. В принципе, в таких условиях на основе селективного растворения гомополимера в стартовом пятне можно разделить гомополимер и блоксополимер с малым содержанием второго компонента. В этой связи большой интерес представляет градиентная хроматографическая система, в которой содержание селективного для гомополимера растворителя изменяется по мере подъема элюента по хроматографической пластинке. Подобные свойства пластинки реализуются в осадительной ТСХ ПММА и ПС при использовании системы хлороформ — метанол (1 : 3), где селективный для этих полимеров растворитель (хлороформ) более летуч и преимущественно испаряется с пластинки в ненасыщенной С-камере [55]. Поскольку в системе хлороформ — метанол по мере уменьшения содержания хлороформа вначале высаживается ПС, а затем ПММА (рис. VIII.22), блоксополимер имеет худшую растворимость, чем ПММА, и остается на старте, а ПММА движется по пластинке. При этом для разделения блоксополимера и ПММА по мере увеличения их молекулярных масс и изменения вследствие этого порога растворимости следует снижать концентрацию метанола (с 80 до 72%).

При исследовании блоксополимеров важную роль играет определение примеси сопутствующих гомополимеров. Для подобного анализа блоксополимера стирола и этиленоксида была использована двумерная экстракционная ТСХ [3] в системах циклогексан — бензол — ацетон (12 : 4 : 2) и пиридин — вода (3 : 7), в которых удалось отделить от блоксополимера ПС и ПЭО. Аналогичная задача успешно решена при одномерной ТСХ на микрокристаллической целлюлозе в системе этилацетат — метанол (9 : 1)

[39a]. В этих условиях ПС движется с фронтом растворителя, блоксополимер в центре пластинки, а ПЭО остается на старте. На этой основе разработан [39a] препаративный метод выделения блоксополимера СТ-ЭО на колонке с микрокристаллической целлюлозой. Полистирол вымывали этилацетатом, блоксополимер — смесью этилацетат — метанол (4 : 1); ПЭО вымывали метанолом.

В анализе привитых сополимеров ТСХ используется для определения присутствия гомополимеров, соответствующих основной и боковым цепям, и разделения отщепленных боковых цепей и соответствующего полимера. Применение ТСХ в решении первой задачи было впервые продемонстрировано [3] на примере разделения привитого сополимера ПС на ПММА (основная цепь) и соответствующих гомополимеров (см. табл. VIII.3). Разработаны [40] методы отделения сопутствующих гомополимеров от привитых сополимеров полистирола ПС на триацетате целлюлозы, ПВА, ПЭТФ на полиамиде и ПММА на ПВА с помощью проточной адсорбционной ТСХ (см. табл. VIII.3). Найденные условия разделения позволили перейти к препаративной адсорбционной хроматографии на колонках, где с количественным выходом был получен привитой сополимер ПС на триацетате целлюлозы, содержащей менее 0,5—1% примесей.

Интересно использование ТСХ в исследовании ударопрочного ПС. Для отделения ПС от привитого сополимера ПС на ПВД использована экстракционная ТСХ на силикагеле, элюент — метилэтилкетон [22].

VIII. 8. Тонкослойная хроматография олигомеров

Тонкослойная хроматография олигомеров представляет большой интерес как для анализа этого важнейшего класса полимерных веществ, так и для выяснения особенностей адсорбционной хроматографии полифункциональных соединений с различной химической структурой концевых и центральных звеньев макромолекулярной цепочки. Описана ТСХ многих классов олигомеров: эластомеров [22, 60, 61], полиолов [13, 62—69], полиэфиров [70—80], полиолефинов, полиамидов [78] и др. (см. табл. VIII.5).

В большей части работ показана возможность разделения олигомеров, различающихся числом и строением концевых групп. В ряде работ [13, 14, 68, 82, 83] продемонстрирована независимость хроматографического поведения олигомеров от их молекулярной массы, при этом различие в R_f определяется только числом присутствующих функциональных групп. Это позволяет определять число содержащихся в олигомере концевых групп — функциональность олигомеров [84].

При ТСХ замещенных ПЭО удается разделить компоненты по молекулярной массе с выделением отдельных полимергомологов — до двенадцати — пятнадцатимеров [71, 72]. Показано,

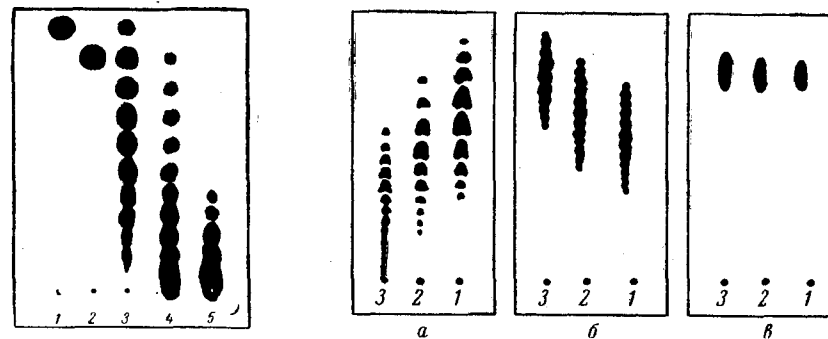


Рис. VIII.23. ТСХ олигомеров стирола в системе циклогексан — бензол (14 : 3):

1 — $M_n = 314$; 2 — $M_n = 418$; 3 — $M_n = 600$; 4 — $M_n = 1000$; 5 — $M_n = 2000$.

Рис. VIII.24. ТСХ полиэтиленоксидов в хроматографических системах:

а — силикагель КСК, пиридин — вода (0,1 : 10); б — окись алюминия, хлороформ — метанол (10 : 1); в — силикагель КСК, хлороформ — пиридин (5 : 7); 1 — $M_n = 300$; 2 — $M_n = 400$; 3 — $M_n = 600$.

что эффективность разделения полиолов по молекулярным массам связана с типом заместителя, блокирующего гидроксильные группы концевых звеньев. Чем гидрофобнее заместитель или, вернее, чем ниже адсорбируемость концевого звена, тем с большей эффективностью разделяется олигомер на отдельные гомологи.

Особенности адсорбции олигомеров связаны с наличием у них концевых функциональных групп. Эти концевые звенья, как правило, превосходят по адсорбционной активности центральные звенья олигомера, и чем более явно выражено это превосходство, тем слабее проявляется зависимость R_f олигомера от его молекулярной массы при адсорбционной ТСХ.

При отсутствии функциональных групп R_f уменьшается с ростом M олигомера (рис. VIII.23). Если олигомер содержит функциональные группы, R_f может как увеличиваться, так и уменьшаться с ростом M , может и не зависеть от нее. На рис. VIII.24 показана ТСХ ПЭО с $M_n = 300, 400$ и 600 в различных хроматографических системах, где наблюдаются подобные зависимости. Характер зависимости R_f от M связан с вкладом центральных звеньев олигомера в изменение свободной энергии ΔF хроматографической системы при адсорбции. Если выделить энергию взаимодействия — E_0 , когда энтропийные потери при адсорбции олигомера, связанные с уменьшением числа свободных конформаций, будут равны приращению энтальпии (E_0 в известной мере аналогична $E_{кр}$ у высокополимеров), то в зависимости от соотношения энергии взаимодействия центральных звеньев с адсорбционной поверхностью $E_{ц}$ с энергией взаимодействия E_0

314 Таблица VIII.5. Использование ТСХ для исследования олигомеров

ПИ — полиизопрен; ПБД — полибутадиен; ПС — полистирол; П- α -МС — поли- α -метилстирол; ПЭО — полиэтиленоксид; ППО — полипропиленоксид; ПЭТФ — полиэтилентерефталат.
 Условия проявления: I — пары I₂; II — 1% ванилина и 10% HClO₄ с последующим нагреванием при 110 °C в течение 1 ч; III — 14,7%-ная H₂SO₄ с последующим нагреванием до 100 °C; IV — 3%-ный раствор KMnO₄ в конц. H₂SO₄ с последующим нагреванием до 180 °C; V — 0,5%-ный раствор тимолового синего в смеси этанол — H₂SO₄ (95 : 5) с последующим нагреванием при 120 °C в течение 1 ч; VI — реактив Драгендорфа; VII — раствор KMnO₄ в уксусной кислоте; VIII — цианат кобальта (II); IX — 0,05%-ный раствор роданина в этаноле; X — 2%-ный раствор KMnO₄ в 2 н. H₂SO₄; XI — 1%-ный раствор I₂ в метаноле; XII — люминесценция при облучении УФ-светом ($\lambda = 366$ нм); XIII — 8–15%-ные растворы кислотно-основных индикаторов в этаноле; XIV — метиловый красный, бромтимоловый синий, формальдегид в 95%-ном этаноле; XV — 0,5%-ный раствор KMnO₄ и K₂S₂O₈; XVI — люминесценция фона при облучении УФ-светом ($\lambda = 365$ нм)

Олигомер	Исследуемая полидисперсность	Адсорбент	Элюент	Условия ТСХ	Условия проявления	Литература
ПИ	По молекулярной массе (700–2100); $M_n = 1780$	Окись алюминия (нейтр.) (17% воды)	Бензол — ацетон (17,43 : 28 : 57)	Неградиент.	I	60
ПБД	По молекулярной массе $M_n = 300$	Незакрепл. силикагель	Гексан	Насыщен.	II	61
1,2-ПБД	По функциональности (COOH, OH, с числом групп 0–2)	Незакрепл. силикагель	n-Гексан Четыреххлористый углерод — тетрагидрофуран (100 : 1)	Неградиент.	III	22
ПС	По молекулярной массе ($P = 3–9$), $M_n = 900$	То же	Циклогексан — бензол (14 : 3)	»	IV	13
П- α -МС	По молекулярной массе ($P = 3–10$)	»	Четыреххлористый углерод — гептан (2 : 1)	»	IV	13
Полиглицерины	По молекулярной массе ($P = 1–4$)	Кизельгур — силикагель	Этилацетат — изопропанол — ацетон — метанол — вода (50 : 15 : 15 : 4 : 16) Изопропанол — этилацетат — вода (30,5 : 55 : 14,5) **	»	V	62
ПЭО	По молекулярной массе ($P = 1–3$); $M_n = 200–2000$	Окись алюминия (I акт.)	Хлороформ — этанол (92 : 8) ***	Насыщен. камера	I	63

»	По молекулярной массе ($M_n = 200–2800$; 3,5-динитробензоаты)	Силикагель	Метилэтилкетон, насыщенный водой	Неградиент.	VI	64
»	По молекулярной массе (дихлорпроизводные) (до $P = 21$)	»	Метилэтилкетон — вода	»	I	65
»	По молекулярной массе (дихлорпроизводные, $P = 13,2$; трифенилметановые производные, $P = 17,2$)	»	То же	С-камера	I	66
»	($M_n = 200–4000$; 3,5-динитробензоаты) *	»	Метилэтилкетон, насыщенный водой	Неградиент.	VII	67
ПЭО	По молекулярной массе ($M_n = 600$)	Силикагель Окись алюминия	Пиридин — вода (0,1 : 10) Хлороформ — этанол (10 : 1)	»	VI	13
ППО	По функциональности	Силикагель	Гексан — диизопропиловый эфир — этанол — вода (5 : 10 : 5 : 3)	»	VIII	68
»	То же (моноол, диол, триол, пентаол); $M_n = 500–5000$	»	Этилацетат, насыщенный водой	»	VI	69
»	По молекулярной массе ($M_n = 150–2000$)	»	Этилацетат — уксусная кислота (97,5 : 2,5)	»	I, IX, X	67
Смесь ППО и ПЭО	Разделение	»	Хлороформ — уайт-спирит (85 : 15)	»	VII	67
Смесь ППО, ПЭО и политетрагидрофурана	Разделение ($M_n = 2000$)	»	Хлороформ — этанол (92 : 8)	»	I	63
ПЭО	По молекулярной массе (нониловый эфир)	Силикагель — 0,5% КМ-целлюлозы	Метилэтилкетон, насыщенный водой ***	Круговая ТСХ	XI	70

Олигомер	Исследуемая полидисперсность	Адсорбент	Элюент	Условия ТСХ	Условия проявления	Литература
ПЭО	По молекулярной массе (до $P = 13$) [производные типа: — $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{SR}$ (R — фенил, <i>n</i> -гексил, <i>n</i> -октил, <i>n</i> -децил); — $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$; — OR (R — фенил, трифенилметил)]	Силикагель	Метилэтилкетон и метилэтилкетон, насыщенный водой	Неградиент.	I	71
»	По — молекулярной массе (до $P = 17$) { производные типа $\text{RO}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_n \text{R}'$ (R, R' — H ($P = 6,5$); R, R' — фенил ($P = 7,3$); R, R' — <i>n</i> -нонилфенил ($P = 5,4$)) }	»	Метилэтилкетон; метилэтилкетон — вода (9 : 1; 95 : 5); метилэтилкетон, насыщенный водой	Насыщен. камера	I	72
»	По молекулярной массе ($P = 6,5-12,9$) (<i>n</i> -нонилфениловый эфир)	»	Метилэтилкетон — вода	Неградиент.	I	73
»	По молекулярной массе (до $P = 8,6$) (поверхностно-активные вещества на основе ПЭО)	»	Метилэтилкетон, насыщенный водой	C-камера	I	74
	По молекулярной массе [поверхностно-активные вещества на основе ПЭО типа $\text{RO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n \text{H}$ (R — алкилфенил, алкил) MMP и степень оксигетилирования (1 : 20) (продукты	»	Метилэтилкетон — вода	Неградиент.	I	75
	конденсации этиленоксида)	»	Метилэтилкетон — вода (1 : 1), верхн. фаза; метил-	»	VI	76
»	Разделение линейных и разветвленных олигоэфиров полиолов адипиновой кислоты ($M_n = 1000-3000$)	»	этилкетон — 2,5%-ный аммиак (1 : 1) — верхн. фаза; <i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода Бензол — этанол (3 : 1)	»	VI	76
Поли(метил- <i>n</i> -оксибензоат)	По молекулярной массе ($M_n = 138-1100$)	»	Бензол — уксусная кислота — вода (2 : 2 : 1)	Препаративная в насыщенной камере	XII	77
ϵ -Капролактам и его циклические олигомеры	По молекулярной массе ($P = 1-8$)	Оксид алюминия	Тetraгидрофуран — петролейный эфир (100—120 °C) — вода (80 : 14 : 10); <i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (10 : 2 : 5); <i>tert</i> -бутанол — муравьиная кислота — вода (75 : 15 : 10); <i>n</i> -бутанол, насыщенный водой; изопропанол — метанол — вода (1 : 1 : 1); <i>n</i> -бутанол — конц. HCl — вода (100 : 20 : 38)	Неградиент.	VI	78
ПЭТФ	По функциональности	Силикагель	Бензол — этанол (85 : 15; 55 : 45), этилацетат	»	XIV	79
Диэтиленгликоль в ПЭТФ	Разделение	»	Дихлорметан — 25%-ный аммиак — метанол (8 : 3 : 17)	Проточная	XV	80
Полиамины	По молекулярной массе	»	Пиридин — <i>tert</i> -бутиловый — 25%-ный аммиак (1 : 1 : 1)	Неградиент.	XIII	81
Полиметилсилоксандиол	По молекулярной массе ($P = 1-20$)	» (с 0,075% флюоресценции)	Бензол — этилацетат (10 : 0,1)	»	XVI	13

наблюдаются следующие три случая молекулярно-массовой зависимости R_f олигомера от числа звеньев N :

$$1) E_{\text{ц}} > E_0, \Delta F = (E_{\text{к}} - E_0) N_{\text{к}} + (E_{\text{ц}} - E_0) (N - N_{\text{к}})$$

следовательно, $\partial Kd/\partial N > 0$, R_f уменьшается с ростом N ;

$$2) E_{\text{ц}} < E_0, \Delta F = (E_{\text{к}} - E_0) N_{\text{к}} - (E_{\text{ц}} - E_0) (N - N_{\text{к}})$$

$\partial Kd/\partial N < 0$; R_f увеличивается с ростом N ;

$$3) E_{\text{ц}} = E_0, \Delta F = (E_{\text{к}} - E_0) N_{\text{к}}$$

$\partial Kd/\partial N = 0$, R_f не зависит от N ,

где $E_{\text{к}}$ — энергия взаимодействия концевых звеньев с адсорбентом; $N_{\text{к}}$ — число концевых звеньев.

Обычно $E_{\text{к}} > E_{\text{ц}}$ и при молекулярно-массовой зависимости R_f второго типа $E_{\text{к}}$ должно быть больше E_0 , иначе все олигомеры будут двигаться с фронтом элюента. Понятно, что чем больший вклад в ΔF дает $(E_{\text{к}} - E_0) N_{\text{к}}$, тем слабее молекулярно-массовая зависимость R_f олигомера.

Следует обратить внимание на соответствие R_f хроматографических зон для ПЭО с разными M_n (см. рис. VIII.24). Это полимергомологи с одинаковым числом звеньев N . Серповидная форма хроматографических пятен (см. рис. VIII.24а) связана с концентрационной зависимостью адсорбируемости полиолов, характеризующейся выпуклой изотермой адсорбции, при которой с увеличением концентрации R_f увеличивается. Следовательно, R_f боковых крыльев хроматографического пятна, где концентрация вещества уменьшается, будет меньше, чем R_f центральной части зоны полимера. В результате хроматографическое пятно приобретает своеобразную форму с резко очерченным «носиком», значение R_f которого относительно R_f крыльев пятна может быть использовано для количественного анализа.

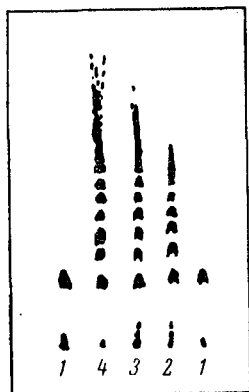


Рис. VIII.25. ТСХ 3,5-динитробензоатов полидиметилсилоксанолилов с числом силоксановых звеньев 0 (1), 5 (2), 9 (3), 20 (4) на силикагеле КСК в системе бензол — этилацетат (10 : 0,1).

Полезно отметить, что при замещении гидроксильных концевых групп ПЭО менее адсорбционно-активными группами полученные отрицательной зависимости R_f от M облегчается.

Для высокоэффективного разделения по молекулярной массе олигомеров со слабоадсорбционно-активными центральными звеньями, например полидиметилсилоксандиолов (рис. VIII.25), непременным требованием является блокирование их концевых групп. Вполне понятно, что, заблокировав концевые гидроксильные группы, например, остатком 3,5-динитробензойной кислоты, легко получить только

такую молекулярно-массовую зависимость, когда по мере увеличения числа слабоадсорбирующихся силоксановых звеньев в олигомере его R_f растет (см. рис. VIII.25).

Изложенные результаты показывают, что особенности ТСХ олигомеров связаны с соотношением адсорбционной активности концевых и центральных звеньев. Изменяя соответствующим подбором разделительных систем эти соотношения, удается осуществить варианты ТСХ, где R_f олигомеров не зависит от M , и они разделяются по функциональности, а также с положительной или отрицательной молекулярно-массовой зависимостью R_f . Последние два варианта ТСХ могут быть использованы для определения ММР олигомеров.

VIII. 8.1. Разделение олигомеров по функциональности

Большой практический интерес представляет разделение олигомеров по функциональности в отсутствие молекулярно-массовой зависимости R_f . Так, при ТСХ полиоксипропиленполиолов в этилацетате, насыщенном водой с добавкой метилэтилкетона, удается разделить моноолы, диолы, триолы, пентаолы в большом диапазоне молекулярных масс (рис. VIII.26). При этом наблюдается небольшая зависимость R_f от M , не перекрывающаяся с влиянием их функциональности на R_f .

С использованием этих систем ТСХ позволяет разделять линейные и разветвленные олигомеры, различающиеся числом концевых функциональных групп (гидроксильных). Так, в системе бензол — этанол (3 : 1) удается полностью разделить линейные и разветвленные сложные эфиры адипиновой кислоты и пропиленгликоля с одинаковой молекулярной массой (рис. VIII.27). В этой системе зависимость R_f от M очень слабая. Для разделения линейных и разветвленных олигоэфирполиолов также оказалась пригодной система, состоящая из бензола и тетрагидрофурана (1 : 1). Меньшая хроматографическая подвижность разветвленных олигоэфиров по сравнению с линейными связана с увеличением у них числа концевых гидроксильных групп. Описанные различия в R_f линейных и разветвленных олигоэфирполиолов с одинаковыми M представляют большой интерес, поскольку они не разделяются при

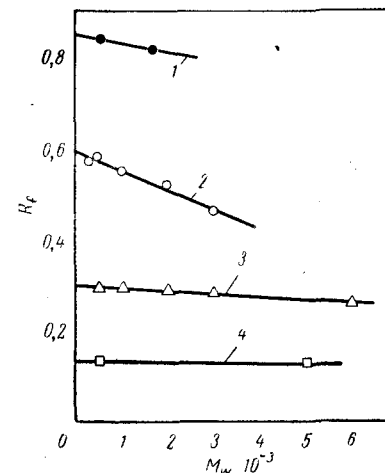


Рис. VIII.26. Разделение полиоксипропиленполиолов на силикагеле КСК в этилацетате, насыщенном водой, с 2% метилэтилкетона: 1 — моноол; 2 — диол; 3 — триол; 4 — пентаол.

ГПХ [85]. Это означает, что ММР олигоэфирполиолов, определенное с помощью ГПХ, может быть существенно дополнено сведениями по молекулярно-массовой зависимости распределения разветвленных олигоэфирполиолов в анализируемом образце.

VIII.9. Способы определения молекулярно-массового и композиционного распределения полимеров по данным ТСХ

Для построения молекулярно-массового и композиционного распределения по данным ТСХ необходимо: а) визуализировать (окрасить) зону полимера на хроматограмме*; б) с использованием градуировочных (реперных) полимерных образцов определить зависимость R_f от M или состава полимера, $R_f = R_f(X)$; в) измерить чувствительность детектирования как функцию R_f .

$$\frac{dQ}{dI} = \frac{dQ}{dI}(R_f)$$

г) измерить распределение интенсивности окраски вещества $I(R_f)$ в хроматографическом пятне; д) используя $\frac{dQ}{dI}(R_f)$ и $I(R_f)$, определить распределение полимера в хроматографическом пятне

$$Q(R_f) = I(R_f) \frac{dQ}{dI}(R_f) \quad (\text{VIII.12})$$

е) зная зависимость $R_f(X)$, определить молекулярно-массовое или композиционное распределение $P(X)$

$$P(X) = Q(R_f) \frac{dR_f}{dX} \quad (\text{VIII.13})$$

При исследовании узкодисперсных полимеров необходимо, кроме того, произвести коррекцию распределения $Q(R_f)$ на хроматографическое размывание, например, с помощью двумерного хроматографирования (рис. VIII.28) [3]. При этом хроматограмма полимера после хроматографирования в первом направлении, уже свободная от распределения по молекулярной массе (составу) в поперечнике пятна, может рассматриваться как стартовая зона для хроматографирования во втором направлении. Разница дисперсий финишной σ_2^2 и стартовой зоны σ_1^2 в направлении второго хроматографирования представляет собой дисперсию хроматографического размывания σ_{xp}^2 . Коррекцию на размывание можно ввести простейшим способом, вычитая ее дисперсию из дисперсии

* С этой целью чаще всего используют 1%-ный раствор I_2 в метаноле [2], насыщенный раствор тимолового синего в 50%-ном водном этаноле с последующей обработкой 3 н. H_2SO_4 [86], 3%-ный раствор $KMnO_4$ в концентрированной H_2SO_4 [3] и для кислородсодержащих полимеров — реактив Драгендорфа [3], пары I_2 [87] (см. табл. VIII.3, VIII.5).

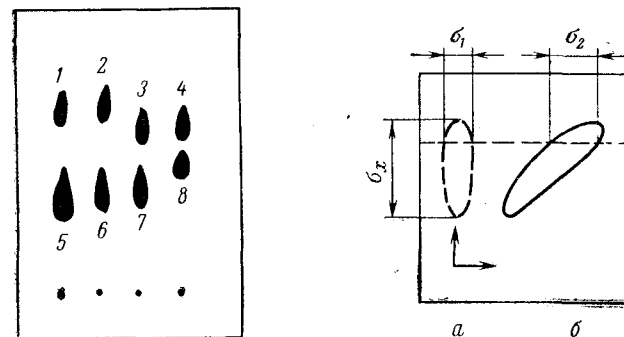


Рис. VIII.27. ТСХ линейных полиэфиров адипиновой кислоты и пропиленгликоля (1—4) и разветвленных полиэфиров адипиновой кислоты и глицерина (5—8) в системе бензол — этанол (3 : 1) на силикагеле КСК-2: 1 — $M_n = 2780$; 2 — $M_n = 2680$; 3 — $M_n = 1400$; 4 — $M_n = 1050$; 5 — $M_n = 3340$; 6 — $M_n = 2660$; 7 — $M_n = 1650$; 8 — $M_n = 1100$.

Рис. VIII.28. Определение хроматографического размывания σ_{xp}^2 с помощью двумерной ТСХ: а — зона полимера после хроматографирования в первом направлении; б — зона полимера на двумерной хроматограмме.

распределения, или более сложным, но строгим способом, как это делается при ГПХ-анализе (см. гл. V).

VIII.9.1. Фотометрический метод количественного анализа

Определение хроматографического распределения фотометрическим методом производится обычно путем сканирования хроматографического пятна вдоль направления хроматографирования (x) высокой щелью, высота которой соответствует ширине хроматографического пятна. Неточности, возникающие при таком методе фотометрии, рассмотрены в гл. VII.

Для получения фотометрически точных результатов следует осуществить многошаговое сканирование точечным зондом с интегрированием сигнала по направлению y , перпендикулярном к оси хроматографирования (x). Эти интегральные величины представляют собой распределение $I(R_f)$, которое получается с точностью, обратно пропорциональной величине шага Δx .

Зная распределение полимера $P(X)$, можно получить нормированное интегральное распределение

$$P_I(X) = \int_0^X P(X) dX / \int_0^\infty P(X) dX \quad (\text{VIII.14})$$

соответствующее дифференциальное распределение

$$P_N(X) = P(X) \int_0^{\infty} P(X) dX \quad (\text{VIII.15})$$

и среднемассовую величину \bar{X}

$$\bar{X}_w = \int_0^{\infty} X P_N X dX \quad (\text{VIII.16})$$

Для определения композиционного распределения сополимеров СТ — ММА (при условии независимости R_f сополимера от его M) предложен [19] способ, основанный на сканировании хроматографической пластинки при двух длинах волн (225 и 265 нм), где мольные экстинкции компонентов сополимера сильно различаются.

При этом поглощение I в точке x , соответствующей X (доле СТ в сополимере), составит:

при $\lambda_1 = 265$ нм

$$I'(x) = X \epsilon'_{\text{СТ}} q(x)$$

при $\lambda_2 = 225$ нм

$$I''(x) = [X \epsilon''_{\text{СТ}} + (1-X) \epsilon''_{\text{ММА}}] q(x)$$

где $q(x)$ — количество полимера в области $x \pm \Delta x/2$; ϵ — мольная экстинкция.

Если определить при λ_1 и λ_2 соответствующие площади под хроматограммой полимера S' и S'' , то, получив $I'(x)$ и $I''(x)$ и зная отношение $(\epsilon'_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})$ и $(\epsilon''_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})$, можно вычислить следующие характеристики сополимера:

а) массовое распределение сополимера — $W(X)/W_t$

$$P(X) = \frac{W(X)}{W_t} = \frac{[1 - (\epsilon''_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})] I'(x) + (\epsilon'_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}}) I''(x)}{[1 - (\epsilon''_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})] S' + (\epsilon'_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}}) S''} \quad (\text{VIII.17})$$

б) зависимость состава (X) от положения на хроматограмме (x)

$$X(x) = \frac{I'(x)}{[1 - (\epsilon''_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})] I'(x) + (\epsilon'_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}}) I''(x)} \quad (\text{VIII.18})$$

в) средний состав сополимера — \bar{X}

$$\bar{X} = \frac{S'}{[1 - (\epsilon''_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}})] S' + (\epsilon'_{\text{СТ}}/\epsilon''_{\text{ММА}}) S''} \quad (\text{VIII.19})$$

Таким образом, с помощью соотношений (VIII.17—VIII.19) в ТСХ можно определить величины $W(X)/W_t$, $X(x)$ и \bar{X} без использования реперных образцов сополимеров.

VIII.9.2. Анализ распределения полидисперсного полимера по ширине хроматографической зоны

Поскольку при ТСХ распределение вещества по оси « y », перпендикулярной к направлению движения элюента « x », имеет гауссову форму, можно, зная ширину зоны при определенной граничной (предельно детектируемой) концентрации, определить количество вещества в этом сечении полимерной зоны на хроматографической пластинке.

Пусть

$$c_{\text{ГР}} = c_{m,i} \exp(-y_i^2/8\sigma_{y,i}^2) \quad (\text{VIII.20})$$

где $c_{m,i}$ — концентрация полимера в максимуме пятна; $\sigma_{y,i}^2$ — дисперсия распределения в i -том (по оси « x ») сечении зоны полимера; y_i — расстояние между точками $c_{\text{ГР}}$ (ширина зоны) в i -том сечении.

Тогда количество вещества q_i в i -том сечении шириной Δx выражается через параметры распределения (VIII.20) следующим образом

$$q_i = \sqrt{2\pi} \bar{c}_{m,i} \bar{\sigma}_{y,i} \Delta x \quad (\text{VIII.21})$$

где амплитуда $\bar{c}_{m,i}$ и стандартное отклонение $\bar{\sigma}_{y,i}$ выбраны средними по слою шириной Δx .

Отсюда можно получить выражение для концентрации $c_{\text{ГР}}$

$$c_{\text{ГР}} = \frac{q_i}{\Delta x \sqrt{2\pi} \bar{\sigma}_{y,i}} \exp\left(-\frac{y_i^2}{8\bar{\sigma}_{y,i}^2}\right) \quad \bar{\sigma}_{y,i}^2 = 2R_{f,i} D_{l,y,i} t \quad (\text{VIII.22})$$

и для оптической плотности — $D_{\text{ГР}}$, соответствующей $c_{\text{ГР}}$

$$D_{\text{ГР}} = \frac{k_i q_i}{\Delta x \sqrt{2\pi} \bar{\sigma}_{y,i}} \exp\left(-\frac{y_i^2}{8\bar{\sigma}_{y,i}^2}\right) \quad \bar{\sigma}_{y,i}^2 = 2R_{f,i} D_{l,y,i} t \quad (\text{VIII.23})$$

где $D_{l,y,i}$ — коэффициент квазидиффузионного размывания по оси « y » в i -том сечении полимерной зоны; t — время хроматографирования; k_i — коэффициент пропорциональности.

Для того чтобы получить из VIII.23 необходимую для построения распределения W_i величину q_i , требуется знание $D_{\text{ГР}}$, $\bar{\sigma}_{y,i}$ и k_i . Если считать k_i постоянным для данного распределения, что будет справедливым при анализе гомополимеров и близких по составу сополимеров, или получить k_i из специальных калибровочных опытов с использованием сополимеров известного состава, то можно определить $\sigma_{y,i}$ двумя способами:

1) нанести на пластинку пробы полимера в количествах Q_1 и Q_2 и на фотографиях хроматограммы измерить ширину пятен $y_{i,1}$ и $y_{i,2}$ ($q_{i,1}/q_{i,2} = Q_1/Q_2$ при $D_{\text{ГР}1} = D_{\text{ГР}2}$);

2) сфотографировать хроматограмму полимера при двух экспозициях и, определив $D'_{\text{ГР}}$ и $D''_{\text{ГР}}$, измерить величины y'_i и y''_i .

Для определения W_i с использованием этих приемов можно получить из (VIII.20) и (VIII.21) следующие выражения:

$$W_i = \frac{\{k(y_1^2 - y_2^2)^{1/2} \exp [y_1^2 / (y_1^2 - y_2^2)]\}_i}{\sum_i \{k(y_1^2 - y_2^2)^{1/2} \exp [y_1^2 / (y_1^2 - y_2^2)]\}_i} \quad (\text{VIII.24})$$

$$W_i = \frac{[k(y'^2 - y''^2)^{1/2} (D'_{гр}/D''_{гр})^{y'^2/(y'^2 - y''^2)}]_i}{\sum_i [k(y'^2 - y''^2)^{1/2} (D'_{гр}/D''_{гр})^{y'^2/(y'^2 - y''^2)}]_i} \quad (\text{VIII.25})$$

где y_1 и y_2 — ширина хроматографических пятен, содержащих Q_1 и Q_2 полимера, в i -том сечении; $(Q_1/Q_2) = e^{y'}$ и y'' — ширина хроматографического пятна в i -том сечении при экспозициях, соответствующих $D'_{гр}$ и $D''_{гр}$.

Из двух последних уравнений наибольший интерес представляет (VIII.25), так как для его использования требуется лишь одна хроматограмма и, следовательно, отсутствуют погрешности, связанные с неточностью нанесения на пластинку рассчитанных количеств полимера Q_1 и Q_2 и с концентрационными эффектами, искажающими форму хроматографического пятна. Для использования уравнения (VIII.25) необходимо знание $D'_{гр}$ и $D''_{гр}$. С этой целью был разработан эквиденситный способ получения изображений хроматографического пятна, основанный на хорошо известном в фотографии явлении Сабатье [86], которое заключается

в полном или частичном обращении кратковременно проявленного изображения под воздействием вторичного освещения. Эквиденситное изображение получается, если с некоторой выдержкой t_v сделать с подлежащего фотометрированию объекта (негатива, в нашем случае тонкослойной хроматографической пластинки) отпечаток на очень контрастном фотоматериале, проявить его в течение короткого времени и, не фиксируя, проэкспонировать вторично при равномерном освещении. После второго проявления места изображения (эквиденситы), соответствующие плотности фотографируемого объекта $D \pm \Delta D$, окажутся светлыми на темном фоне. Выделяемая данной эквиденситой оптическая плотность объекта D определяется выдержкой при первой экспозиции.

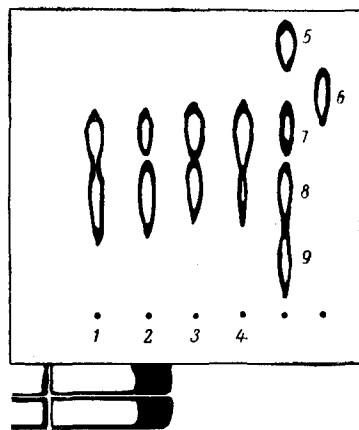


Рис. VIII.29. Эквиденситное изображение тонкослойной хроматограммы полистирола с $M_w = 19\,850$ и $33\,000$ в соотношениях 1:1 (1), 1:2,5 (2), 1:0,6 (3), 1:0,1 (4). Внизу изображен оптический клин, справа — реперные образцы полистирола с $M = 5 \cdot 10^3$ (5), 10^4 (6), $2 \cdot 10^4$ (7), $3,3 \cdot 10^4$ (8), $5 \cdot 10^4$ (9).

Варьируя эту выдержку, можно получить эквиденситы, соответствующие разной оптической плотности $D_{гр}$, которую легко определить, фотографируя вместе с фотометрируемым объектом градуированный оптический клин. Для увеличения контрастности изображения целесообразно произвести фотокопирование эквиденситного изображения на сверхконтрастном фотоматериале с получением черных эквиденсит на светлом фоне (рис. VIII.29).

Точность рассмотренного эквиденситного метода количественного анализа проверена путем определения по хроматограмме соотношения количеств двух полимеров, смесь которых наносили на пластинки в отношении Q_1/Q_2 . Полученные соотношения (2,48 и 0,592) хорошо соответствуют соотношению Q_1/Q_2 этих полимеров в пробе (2,5 и 0,6), как это видно на рис. VIII.29.

На рис. VIII.30 показан пример анализа ММР полимера с помощью эквиденситного метода.

Следует отметить, что описываемый метод вследствие относительно малой зависимости ширины хроматографического пятна от количества содержащегося в нем вещества уступает по точности денситометрическим сканирующим методам количественного анализа. Очевидно, что повышение точности эквиденситного метода связано с более точным определением $D_{гр}$ и ширины хроматографи-

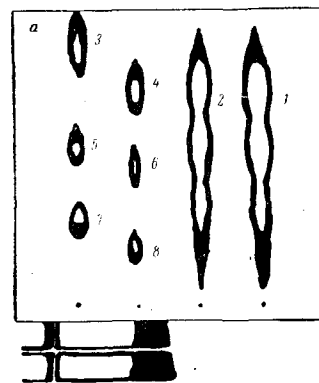
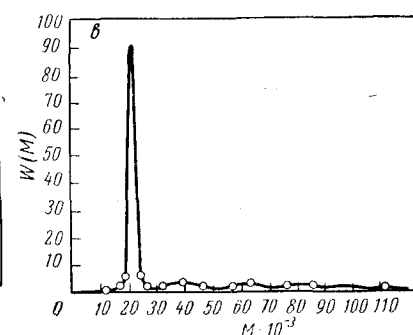
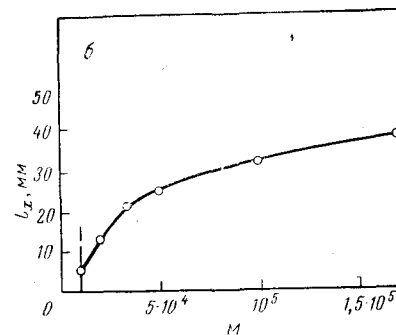


Рис. VIII.30. Определение молекулярно-массового распределения полистирола эквиденситным методом:

a — эквиденситные изображения (с оптическим клином) хроматограммы исследуемого полистирола в двух концентрациях (1, 2) и хроматограммы реперных полистиролов с $M_w = 10^3$ (3), $2 \cdot 10^4$ (4), $3,3 \cdot 10^4$ (5), $5 \cdot 10^4$ (6), $5 \cdot 10^5$ (7), $8 \cdot 10^5$ (8); *b* — калибровочная зависимость координаты l_x от молекулярной массы полистирола; *e* — молекулярно-массовое распределение полистирола ПС-5.



ческого пятна — y (т. е. с более качественным получением ограничивающих пятно линий равной плотности — изофот), а также с увеличением числа измеренных эквиденситных изображений хроматографического пятна, поскольку среднеквадратичная погрешность полученного распределения обратно пропорциональна корню квадратному из числа измерений. Кроме того, вследствие характерной для гауссова распределения зависимости y от q предлагаемый метод оказывается особенно чувствительным к определению микропримесей, в чем нетрудно убедиться, дифференцируя выражение (VIII.20):

$$\frac{dy}{dq} = \frac{\sigma_i}{q_i \sqrt{2 \ln \left[\frac{\sigma_i}{c_{гр}} \sqrt{2\pi\sigma_i} \right]}} \quad (\text{VIII.26})$$

Из выражения (VIII.28) видно, что чувствительность описываемого метода обратно пропорциональна количеству вещества в сечении хроматографического пятна. Действительно, на рис. VIII.30 хорошо заметно, что с наибольшей чувствительностью хроматографическое пятно детектируется в области малого содержания вещества.

VIII. 9.3. Расчет молекулярно-массовых распределений олигомеров по степеням полимеризации с использованием эквиденситных изображений тонкослойных хроматограмм

Особенностью тонкослойной хроматографии олигомеров является дискретность хроматографических зон отдельных полимергомологов до $P \leq 10-12$. Более высокомолекулярные полимергомологи образуют сплошную зону, которую можно анализировать так же, как хроматограмму высокополимеров. При определении количества вещества в дискретных зонах необходимо учитывать его распределение как по оси « y », так и по оси « x ». Для этого можно воспользоваться следующим алгоритмом.

Если обозначить предельно детектируемую концентрацию вещества на хроматограмме $c_{гр}$, то уравнение эллипса, окаймляющего хроматографическое пятно ($x_{гр}$, $y_{гр}$), будет

$$c_{гр} = c_m \exp \left[-\frac{1}{2} \left(\frac{x_{гр}^2}{\sigma_x^2} + \frac{y_{гр}^2}{\sigma_y^2} \right) \right] \quad (\text{VIII.27})$$

где c_m — концентрация в максимуме пятна.

Обозначая полуоси этого эллипса x_0 и y_0 из (VIII.27), имеем

$$c_{гр} = c_m \exp \left(-\frac{1}{2} \frac{x_0^2}{\sigma_x^2} \right) = c_m \exp \left(-\frac{1}{2} \frac{y_0^2}{\sigma_y^2} \right)$$

и, следовательно:

$$\frac{x_0^2}{\sigma_x^2} = \frac{y_0^2}{\sigma_y^2} \quad (\text{VIII.28})$$

Количество вещества в хроматографической зоне (q) можно получить интегрированием выражения (VIII.27)

$$q = 2\pi c_m \sigma_x \sigma_y \quad (\text{VIII.29})$$

Подставляя в (VIII.29) выражения для c_m , σ_x и σ_y , найдем

$$q = 2\pi c_{гр} \sigma_x^2 \frac{y_0}{x} \exp \left(\frac{1}{2} \frac{x_0^2}{\sigma_x^2} \right) \quad (\text{VIII.30})$$

Заменяя $c_{гр}$ через оптическую плотность $D_{гр}$ контура эквиденситного изображения хроматографической зоны ($c_{гр} = kD_{гр}$), получаем выражение для q при использовании двух эквиденситных изображений хроматограммы с $D'_{гр}$ и $D''_{гр}$

$$q = kD'_{гр} \frac{x_0'^2 - x_0''^2}{2 \ln \left[\frac{D'_{гр}}{D''_{гр}} \cdot \frac{y_0'/x_0'}{y_0''/x_0''} \right]} \cdot \frac{y_0''}{x_0''} \left(\frac{D'_{гр}}{D''_{гр}} \cdot \frac{y_0'/x_0'}{y_0''/x_0''} \right)^{x_0'/(x_0'^2 - x_0''^2)} \quad (\text{VIII.31})$$

Используя калибровочную зависимость $R_{f,i}$ в виде полинома второй степени

$$R_{f,i} = a + bi + ci^2 \quad (\text{VIII.32})$$

(где коэффициенты a , b и c получены методом наименьших квадратов), можно найти значения $R_{f,i}$ при $i > n$. Далее методом линейной экстраполяции (справедливым при $R_f < 1/3$), отыщутся значения x'_i , x''_i , y'_i и y''_i для $i > n$ при использовании для этого значений этих величин при $i = n$ и $i = n - 1$.

На рис. VIII.31 представлены эквиденситные изображения тонкослойной хроматограммы ПС с $M_n = 600$ (определено $M_n = 574$).

VIII. 9.4. Количественное определение низкофункциональных примесей в олигомерах с помощью ТСХ

Для количественного определения низкофункциональных компонентов полиоксипропиленполиола можно использовать метод, основанный на зависимости подвижности хроматографического пятна от содержания в нем олигомера. Как видно из рис. VIII.32, хроматографические пятна полиоксипропилендиолов имеют заостренный верх по оси движения элюента (x) «носик» с резко очерченной передней границей, в то время как задний фронт хроматографического

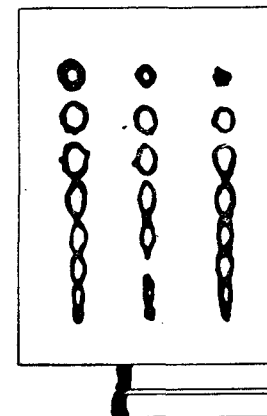


Рис. VIII.31. Эквиденситное изображение (с впечатанным оптическим клином) тонкослойной хроматограммы полистирола ($M_n = 600$) (в трех концентрациях) на силикагеле КСК в системе циклогексан-бензол (14 : 3).

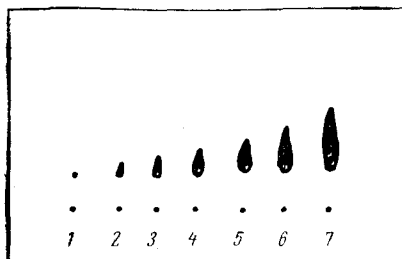


Рис. VIII.32. ТСХ полиоксипропилендиолов ($M_n = 1000$) в системе этилацетат, насыщенный водой, с 2% метилэтилкетона при различном содержании вещества в стартовом пятне:

1 — $q = 6$ мкг; 2 — $q = 20$ мкг; 3 — $q = 30$ мкг; 4 — $q = 35$ мкг; 5 — $q = 50$ мкг; 6 — $q = 65$ мкг; 7 — $q = 100$ мкг.

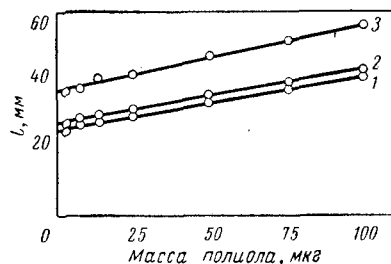


Рис. VIII.33. Зависимость длины хроматографического пятна l в системе этилацетат, насыщенный водой с 2% метилэтилкетона от количества полиоксипропилендиола с:

1 — $M_n = 1000$; 2 — $M_n = 425$; 3 — $M_n = 1000$ (в систему добавлено 40% метилэтилкетона).

пятна размыт. Подобная форма хроматографической зоны, как указывалось в разделе VIII.8, обусловлена специфическими концентрационными эффектами при адсорбции олигомеров, связанными с выпуклой изотермой адсорбции, когда точка с максимальной концентрацией находится в передней части хроматографического пятна, а его боковые зоны, где концентрация вещества меньше, отстают. Естественно использовать величину хроматографической подвижности «носика» хроматографического пятна или, что то же, длину пятна Δl , которую можно точно измерить (например, по расстоянию между носиком пятна и центром пятна с малым содержанием вещества, где концентрационный эффект отсутствует) для определения количества содержащегося в нем полиоксипропилендиола. Эксперименты показывают, что подобная зависимость существует. Она линейна и сохраняется постоянной в диапазоне концентраций, различающихся на два порядка, причем ее наклон связан с молекулярной массой полиоксипропилендиола и положением хроматографического пятна на пластинке (рис. VIII.33). Эту зависимость можно получить, исходя из следующей упрощенной модели адсорбционной ТСХ олигомеров.

Известно, что $R_{f,q}$ максимума пятна, содержащего количество вещества q , связан с концентрацией вещества в максимуме пятна соотношением

$$R_{f,q} = \frac{l_q}{l_s} = \frac{1}{1 + \bar{c}'/\bar{c}} \quad (\text{VIII.33})$$

где l_q и l_s — пробег максимума хроматографического пятна и фронта растворителя на пластинке; \bar{c} и \bar{c}' — концентрации вещества в максимуме пятна для подвижной и неподвижной фаз (в расчете на всю толщину хроматографического слоя).

Соотношение \bar{c}' и \bar{c} можно определить с помощью уравнения Фрейндлиха, которое во многих случаях хорошо описывает адсорбцию полимеров [87]:

$$\bar{c}' = \alpha \bar{c}^\beta \quad (\text{VIII.34})$$

где α и β — константы ($\beta < 1$).

Концентрацию полимера в подвижной фазе \bar{c} можно связать с количеством вещества в пятне q соотношением

$$\bar{c} = k R_{f,q} \quad (\text{VIII.35})$$

где k — константа ($k \ll 1$).

Подставляя выражения (VIII.33) и (VIII.34) в (VIII.35), получим:

$$R_{f,q} = \frac{1}{1 + \alpha (k R_{f,q} q)^\beta} \quad (\text{VIII.36})$$

Для $R_{f,q} = l_{q(0)}/l_s$ предельно малого, но еще детектируемого количества вещества q_0 , имеем

$$R_{f,q(0)} = \frac{1}{1 + \alpha (k R_{f,q(0)} q_0)^\beta} \quad (\text{VIII.37})$$

Полагая, что $k R_{f,q} q$ и $k R_{f,q(0)} q_0 \ll 1$, после несложных преобразований получим искомую зависимость

$$\Delta l = \gamma q \quad (\text{VIII.38})$$

где $\Delta l = l_q - l_{q(0)}$; $\gamma = \alpha (1 - \beta) k l_{q(0)} q_0 R_{f,q(0)} / (1 - \alpha)$.

Из уравнения (VIII.38) видно, что величина Δl линейно связана с q (как это следует из экспериментальных наблюдений), а также, что чувствительность количественного анализа, основанного на измерении длины хроматографического пятна, будет тем выше, чем меньше адсорбируемость полимера, т. е. чем меньше β и больше $R_{f,q(0)}$. При этом наклон зависимости $\Delta l/q = \gamma$ увеличивается.

Описанный метод количественного анализа тонкослойных хроматограмм олигомеров отличается простотой, являясь вместе с тем достаточно точным: $\sigma_q/q = 2-3\%$. С его помощью были определены, например, примеси моноола и диола в образцах полиоксипропиленполиола при содержании примесей 1-2% [69].

VIII. 9.5. Использование сканирующего пламенно-ионизационного детектора для количественной ТСХ полимеров с разделением компонентов на отдельные зоны

Если полимеры удастся разделить на отдельные зоны, то в этом случае можно использовать ТСХ на кварцевом пруте диаметром 0,45 мм, покрытом слоем силикагеля толщиной 75 мкм, который

протягивается через специально приспособленный пламенно-ионизационный детектор (ПВД). Сканирование продолжается несколько десятков секунд [98].

Система ТСХ — ПВД была использована для определения примеси ПС в привитом сополимере ПС на триацетате целлюлозы [22], а также для количественного анализа функциональности низкомолекулярных ПВД [22]. В системе четыреххлористый углерод — тетрагидрофуран (100 : 1) молекулы ПВД, содержащие ОН- или СООН-группы, разделялись на бифункциональные ($R_f = 9$), монофункциональные ($R_f = 0,3$) и не содержащие функциональных групп ($R_f = 1,0$).

Литература

1. Белецкий Б. Г., Ганкина Э. С., Туркова Л. Д. Лекции 2-ой школы по методам очистки и оценки чистоты мономеров и полимеров. Черно-головка, 1968, с. 216—267.
2. Inagaki H., Matsuda H., Kamiyama F. «Macromolecules», 1968, v. 1, p. 520—525.
3. Belenkii B. G., Gankina E. S. J. Chromat., 1970, v. 53, p. 3—85.
4. Belenkii B. G., Gankina E. S. J. Chromat., 1976, v. 21, p. 13—90.
5. Otsuka E. P. M., Adv. Chem. Ser., 1973, v. 125, p. 55.
6. Белецкий Б. Г., Ганкина Э. С. ДАН СССР, 1969, т. 186, с. 857—859.
7. Белецкий Б. Г., Ганкина Э. С. ДАН СССР, 1970, т. 194, с. 573—576.
8. Kamiyama F., Inagaki H. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 1971, v. 49, p. 53—68.
9. Inagaki H., Kamiyama F. «Macromolecules», 1973, v. 6, p. 107—111.
10. Inagaki H., Miyamoto T., Kamiyama F. J. Pol. Sci., 1969, v. B7, p. 329—333.
11. Ганкина Э. С. Канд. дис., Л., 1970 (ИВС АН СССР).
12. Donkai N., Inagaki H. J. Chromat., 1972, v. 71, p. 473—480.
13. Ганкина Э. С., Вальчишина М. Д., Белецкий Б. Г. Высокомо- л. соед., 1976, т. А18, с. 1170—1172.
14. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1976, v. 129, p. 115—124.
15. Барановская И. А. и др. В сб.: «Синтез, структура и свойства полимеров». Л., «Наука», 1970, См. с. 77—80.
16. Inagaki H. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 1969, v. 17, p. 196—208.
17. Donkai N., Migamoto T., Inagaki H. Polymer J., 1975, v. 7, p. 577—583.
18. Tagata N., Homma T. J. Chem. Soc. Japan, 1972, p. 1330—1338.
19. Kotaka T., White J. L. «Macromolecules», 1974, v. 7, p. 106—116.
20. Teramachi S., Fukao T. Polymer J., 1974, v. 6, p. 532—536.
21. Teramachi S., Esaki H. Polymer J., 1975, v. 7, p. 593—599.
22. Inagaki H. In «Fractionation of Synthetic Polymers», ed. L. H. Tung, N. Y., 1975, p. 23—29.
23. Glöckner G. Plaste u. Kautschuk, 1975, Bd. 23, S. 338—345.
24. Glöckner G. Plaste u. Kautschuk, 1976, Bd. 23, S. 577—580.
25. Kamide K., Manabe S., Osatune E. Makromol. Chem., 1973, Bd. 168, S. 173—193.
26. Mori S., Takeuchi T. Kobunshi Kagaku, 1972, v. 29, p. 383—387.
27. Miyamoto T., Inagaki H. «Macromolecules», 1969, v. 2, p. 554—556.
28. Miyamoto T., Inagaki H. Polymer J., 1970, v. 1, p. 46—54.
29. Miyamoto T., Tomashige S., Inagaki H. Makromol. Chem., 1975, v. 176, p. 3035—3050.
30. Inagaki H., Kamiyama F., Yagi T. «Macromolecules», 1971, v. 4, p. 133—134.
31. Donkai N. e. a. Makromol. Chem., 1974, Bd. 175, S. 187—196.
32. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1973, v. 77, p. 209—212.
33. Miyamoto T. e. a. Ann. Reports of Res. Inst. Chem. Fibers, Japan, 1973, v. 30, p. 27—32.
34. Min T., Miyamoto T., Inagaki H. Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., 1975, v. 53, p. 381—386.
35. Taya T., Inagaki H. Angew. Makromol. Chem., 1973, v. 33, p. 129—142.
36. Kamiyama F., Matsuda H., Inagaki H. Makromol. Chem., 1969, Bd. 125, S. 286—290.
37. Kotaka T. e. a. Makromol. Chem., 1975, Bd. 176, S. 1273—1282.
38. Kamiyama F., Inagaki H., Kotaka T. Polymer J., 1972, v. 3, p. 470—475.
39. Inagaki H., Kotaka T., Min Tae-Ik. Pure a. Appl. Chem., 1976, v. 46, p. 61—70.
- 39a. Wesslen B., Naussou P. J. Polym. Sci., 1975, v. 13, p. 2545—2549.
40. Horii F., Ikada J., Sakurada I. J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed., 1975, v. 13, p. 755—760.
41. Otsuka E. P., Hellman M. Y. «Macromolecules», 1970, v. 3, p. 362—365.
42. Halpaar H., Klatyk K. J. Chromat., 1968, v. 33, p. 80—89.
43. Otsuka E. P., Hellman M. Y., Muglia P. M. «Macromolecules», 1972, v. 5, p. 227—228.
44. Белецкий Б. Г. Докт. дис., М., ИВХ АН СССР, 1975.
45. Белецкий Б. Г. и др. ДАН СССР, 1976, т. 231, с. 1147—1149.
46. Di Marzio E. A., Rubin R. J. J. Chem. Phys., 1971, v. 55, p. 4318—4336.
47. Новайделу А. И. и др. Изв. АН Груз. ССР. Сер. хим., 1975, т. 1, с. 76—82.
48. Киселев А. В., Яшин Я. И. Газоадсорбционная хроматография. М., «Наука», 1967, 256 с.
49. Богачева Е. К. и др. Высокомо- л. соед., 1969, т. 11А, с. 2180—2185.
50. Богачева Е. К. и др. ЖФХ, 1965, т. 39, с. 1777—1780.
51. Eltekov Yr. A. J. Polymer. Sci., 1967, v. C16, p. 1931—1936.
52. Snyder L. R. Principles of Adsorption Chromatography. N. Y., M. Dekker, 1968. 413 с.
53. Kamiyama F., Inagaki H. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 1974, v. 54, p. 393—402.
54. Belenkii B. G. e. a. J. Chromat., 1975, v. 108, p. 61—78.
55. Otsuka E. P. «Macromolecules», 1970, v. 3, p. 691—694.
- 55a. Kamtama F., Matsuda H., Inagaki H. Polymer J., 1970, v. 1, p. 518—523.
56. Шлизтин Г. Р. Теория пограничного слоя. М., «Наука», 1974. 711 с.
57. Левин В. Г. Физико-химическая гидродинамика. М., «Физматгиз», 1969. 699 с.
58. Miyamoto T., Tomoshige S., Inagaki H. Polymer J., 1974, v. 6, p. 564—572.
59. Ohnuma H., Kotaka T., Inagaki H. Polymer J., 1970, v. 1, p. 716—726.
60. Брык М. Т., Шевляков А. С., Крезуб О. Б. Высокомо- л. соед., 1968, т. Б10, с. 893—894.
61. Briggs C. J., Chalmers S. B. J. Sci. Food Agr., 1967, v. 18, p. 602—605.
62. Dallas M. S. J., Stewart M. F. «Analyst», 1967, v. 92, p. 634—437.
63. Вахтина И. А., Окунев П. А., Тараканов О. Г. ЖАХ, 1966, т. 21, с. 630—632.
64. Burger K. Z. Anal. Chem., 1967, Bd. 224, S. 421—425.
65. Favretto L., Pertoldi M. G., Gabrielli L. F. J. Chromat., 1970, v. 50, p. 304—310.
66. Favretto L., Pertoldi M. G., Favretto G. L. Ann. Chim. (Rome), 1971, v. 61, p. 712—716.
67. Salvage T. «Analyst», 1970, v. 95, p. 363—365.
68. Kondo K. e. a. Бунсеки Kagaku, 1967, v. 16, p. 419—422.
69. Белецкий Б. Г., Вахтина И. А., Тараканов О. Г. Высокомо- л. соед., 1975, т. А17, с. 2116—2120.
70. Koninshi K., Yamaguchi S. Anal. Chem., 1966, v. 38, p. 1755—1757.
71. Favretto L., Favretto G. L., Pertoldi M. G. J. Chromat., 1972, v. 66, p. 167—171.

72. Favretto L., Pertoldi M. G., Favretto G. L. J. Chromat., 1970, v. 46, p. 255—260.
73. Hayano S., Nihugi T., Asachava T. Tenside, 1968, v. 5, p. 80—82.
74. Stanchev B., Favretto G. L., Favretto L. J. Chromat., 1975, v. 111, p. 459—462.
75. Favretto L., Pertoldi M. G., Favretto G. L. Anal. Chim. (Rome), 1972, v. 62, p. 478—488.
76. Burger K. Z. Anal. Chem., 1963, Bd. 196, S. 259—268.
77. Ciampa G., Grieco C., Siepo C. J. Chromat., 1970, v. 46, p. 132—133.
78. Kobayashi Y. J. Chromat., 1966, v. 24, p. 447—450.
79. Dorman-Smith V. A. J. Chromat., 1967, v. 29, p. 265—266.
80. Janssen R., De Deyne V., Velters A. Makromol. Chem., 1969, Bd. 123, S. 119—122.
81. Weisner I., Vilsherova L. J. Chromat., 1975, v. 114, p. 411—417.
82. Вахтина И. А., Хренова Р. И., Тараканов О. Г. Высокомолекул. соед., 1974, т. А16, с. 2598—2604.
83. Manenskiĭ W. A. J. Appl. Polym. Sci., 1970, v. 14, p. 1189—1195.
84. Энтелис С. Г., Ереинов В. В., Кузав А. П. В кн.: «Успехи химии и физики полимеров». Под ред. З. А. Роговина. М., «Химия», 1973. 353 с.
85. Белецкий Б. Г., Вахтина И. А., Тараканов О. Г. Высокомолекул. соед., 1974, т. Б16, с. 507—509.
86. Муз К. Теория фотографического процесса. М.-Л., Гостехиздат, 1949, 863 с.
87. Липатов Ю. С., Сергеева Л. М. Коллоидн. журн., 1965, т. 27, с. 217—223.
88. Mukherjee K. D., Spans H., Spans E. J. Chromat., 1971, v. 61, p. 317—321.

Заключение

В книге рассмотрены важнейшие современные методы хроматографии полимеров: ГПХ, позволяющая получать распределения макромолекул по размерам и с помощью определенных соотношений переходить от него к ММР, и ТСХ, которая дает возможность определять ММР полимеров, а также их композиционную и структурную гетерогенность на основе адсорбционной и осадительной хроматографии. Особенности этих методов и способы интерпретации получаемых с их помощью результатов изложены на основе современной теории хроматографии и адсорбции полимеров. Значительный удельный вес этих теоретических аспектов поможет, как нам кажется, читателю самостоятельно разобраться в сильных и слабых сторонах современных хроматографических методов исследований полимеров. Можно высказать следующие соображения о современном состоянии и перспективах развития хроматографии полимеров. Метод ГПХ был предложен и осуществляется в настоящее время как вариант колоночной хроматографии, а адсорбционная и осадительная (в том числе и экстракционная) хроматография используются в тонкослойном варианте. И в этом нет ничего удивительного, так как для ГПХ, где коэффициенты распределения $Kd < 1$, необходимо иметь хроматографические слои большой длины, что, естественно, может быть реализовано только в колоночном варианте хроматографии. При этом оптимизация и автоматизация метода ГПХ достигла за последние годы высоких степеней совершенства, время анализа сократилось в 15 раз, интерпретация хроматограмм для определения ММР полимеров осуществляется на мини-ЭВМ в реальном масштабе времени. Адсорбционная и осадительная хроматография, где $Kd > 1$, требует более коротких хроматографических слоев, и поэтому здесь может быть с успехом использована тонкослойная хроматография. Метод ТСХ имеет к тому же ряд достоинств, способствующих его эффективному применению в анализе полимеров: техническая простота и дешевизна оборудования, большая скорость анализа, легкость подбора разделительных систем, возможность хроматографирования в двух направлениях

с использованием разных систем растворителей. Все это послужило причиной быстрого развития метода ТСХ полимеров и использования его для анализа самых разнообразных объектов. Однако хорошо известно, и при ТСХ полимеров это выявилось еще раз, что метод тонкослойной хроматографии обладает двумя недостатками: невысокой воспроизводимостью и большей сложностью точного количественного анализа, чем в колоночной хроматографии. Эти обстоятельства позволяют ожидать в ближайшее время развертывания работ по переводу разработанных в ТСХ методик определения композиционной гетерогенности полимеров и их ММР на основе адсорбционной и осадительной, а возможно и распределительной, хроматографии в соответствующие методы колоночной хроматографии. Современные достижения в области скоростной хроматографии высокого давления и микроколоночной хроматографии (с использованием колонок диаметром 0,5 мм) позволяют сделать это.

Таким образом, одно из направлений развития хроматографии полимеров будет заключаться в переводе методов тонкослойной хроматографии в соответствующие варианты колоночной хроматографии и их стандартизации и оптимизации в такой степени, как это имеет место в современной ГПХ с использованием жидкостных хроматографов высокого давления. Однако при этом ТСХ полимеров не потеряет своего значения, так как она будет использована для качественных определений и подбора оптимальных разделительных систем.

Другим направлением развития хроматографии полимеров является создание ее препаративных вариантов. И, наконец, развитие хроматографии полимеров пойдет в направлении автоматизации этого метода с интерпретацией хроматограмм в ММР и распределения по составу в реальном масштабе времени. В этом виде методы хроматографии полимеров найдут применение не только в исследовательских и контрольно-аналитических лабораториях, но и непосредственно в контроле производственных процессов — управлении работой полимерных реакторов.

Предметный указатель

- Адсорбенты, типы 72 сл.
 Адсорбционное взаимодействие
 зависимость от природы полимера 70 сл.
 — от растворителя 69 сл.
 — от сорбента 70 сл.
 Адсорбционный слой
 структура 67 сл.
 толщина 68
 Адсорбция
 макромолекулы 54 сл., 58 сл.,
 70 сл., 290 сл.
 олигомеров 313
 сополимеров 69 сл.
 теория, молекулярная 71 сл.
 Аллюминий окись, хроматографические характеристики 76
 Аллюмосиликагель 73 сл.
 Ацетон как растворитель в хроматографии 77
 Ацетонитрил как растворитель в хроматографии 77
- Белки
 гель-проникающая хроматография, изучение ассоциации 176 сл.
 — — — изомеризации 169 сл.,
 176 сл.
 — — — комплексообразования 168 сл.
 — — — определение молекулярной массы 168 сл.
 хроматограммы 177
 Бензол как растворитель в хроматографии 77
 Биогели Р 140
 Биоолигомеры, фракционирование ГПХ-методом 143 сл.
 Биополимеры
 определение молекулярной массы 168
- Биополимеры
 сорбенты для ГПХ 82
 фракционирование 11
 Блоксополимеры
 анализ комбинированными хроматографическими методами 250 сл.
 — методом ТСХ 279, 284 сл.,
 296, 309 сл., 311
 — — — микроструктуры 279
 — — — полидисперсности 250 сл.
 Бумага хроматографическая 13
 Бутадиена сополимер со стиролом, анализ методом ТСХ 310
- Винилацетат, сополимер с этиленом, адсорбция 69 сл.
 Вискозиметр как детектор хроматографа 232, 234 сл.
 Вода как растворитель для ГПХ 89
 «Время запаздывания» в хроматографическом процессе 26 сл.
 Высокомолекулярные соединения см. Полимеры
 Высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ) 41 сл.,
 43 сл., 49, 155 сл.
 в ГПХ 150
 в ТСХ 263 сл.
 Вычислитель «Вихрь» 100 сл.
- Гексафторпропанол-2 как растворитель для ГПХ 88
 Гель набухающий 82
 Гель-проникающая хроматография (ГПХ) 10 сл., 13, 81 сл.
 ассоциирующихся систем 176 сл.
 белков 168 сл., 176 сл.
 влияние концентрации раствора 118 сл.
 — растворителя 119

Гель-проникающая хроматография влияние температуры 121
время анализа 133 сл.
высокомолекулярных соединений см. Гель-проникающая хроматография полимеров
детекторы 90 сл.
изомеризующихся систем 169 сл.
интерпретация 189, 190 сл., 217, 219 сл., 223 сл., 227 сл.
калибровочные зависимости 192 сл.
— — универсальная 110 сл., 125, 193 сл., 197, 232
комплексообразующих систем 183 сл.
модель конформационная 108 сл.
— эквивалентных сфер 103 сл.
олигомеров 139 сл., 145
описание процесса 113 сл.
полимеров 122 сл., 145 сл., 150 сл., 189 сл., 230 сл.
полиэлектролитов 164 сл.
препаративная 157 сл.
применение 143 сл.
растворителя 88 сл., 121 сл.
режим, оптимизация 131 сл.
скоростная 150 сл.
сорбенты 82 сл.
сочетание с вискозиметрией 230—239, 246
— с другими хроматографическими методами 246, 250 сл.
— с методом светорассеяния 246
— с независимыми методами получения молекулярных характеристик 244 сл.
— с осмометрией 246 сл.
— с седиментацией 241 сл.
— с тонкослойной хроматографией 247 сл., 251 сл.
теоретические концепции 102 сл.
тонкослойная 280, 289 сл.
Гель-фильтрация 81
Гель-хроматография 98 сл.
Гель-хроматография 82
Глюкоза, ГПХ-разделение 144
Декалин как растворитель для ГПХ 89
Декстран 126 сл.
Десорбция 13, 15, 19 сл.
Детектор(ы)
адсорбционный 92, 97
вискозиметрический 98
для гель-проникающей хроматографии 90 сл.
для жидкостной хроматографии 92
комбинированный 98

Детектор(ы)
ленточный 97 сл.
пламенно-ионизационный 92, 97 сл.
рефрактометрический 92 сл.
— с поллой призмой 93 сл.
— френелевский 93 сл.
спектрофотометрический 94 сл.
фотометрический 94 сл.
Диметилсульфоксид как растворитель для хроматографии 77
Диметилформамид как растворитель для ГПХ 88 сл.
Диоксан как растворитель для хроматографии 77
Дисперсия
молекулярно-массового распределения 216
размывания хроматографической зоны 41 сл., 212 сл.
хроматограммы 163, 216, 270 сл.
хроматографического пятна 256 сл., 261
Диффузия
продольная 31, 42
— коэффициент 37 сл., 42
радиальная 36
«сопряженная вихревая» 40
при хроматографическом процессе 18 сл., 36, 113
Диэтиламин как растворитель в хроматографии 77
Закон
Бугера — Ламберта — Бера 95
сопряжения «вихревой» и обычной диффузии 37
Снелла 93
Стокса 110
Френеля 94
Эйнштейна 106 сл.
Изотерма сорбции 23 сл.
Индекс удерживания 74
ε-Капролактam, анализ методом ТСХ 317
Квазидиффузия
коэффициент 16 сл.
поперечная, коэффициент 40
продольная, коэффициент 17, 38, 40, 42
Кинетика
сорбции — десорбции 15
хроматографического процесса 18 сл.
— — внешнедиффузионная 18 сл., 40, 42 сл.
— — внутридиффузионная 18 сл., 42 сл.

Кинетика
— — диффузионно-адсорбционная 43
— — пленочная, модель 22
Константы
уравнения Марка — Куна — Хауинка 146, 203 сл., 245 сл.
Флори — Хаггинса (параметры) 70 сл., 127 сл., 297
Конформации макромолекулы
изменения при сорбции 54 сл., 108 сл.
— распределение во времени 104
— — по размерам 106
«Концепция запаздывания» в хроматографии 25
Коэффициент
внутренней диффузии в сорбенте 85
диффузии макромолекул 107, 121
диффузии продольной 37 сл., 42
— «сопряженной вихревой» 39
квазидиффузии 16 сл.
— поперечной 40
— продольной 17 сл., 38, 40, 42
пропускания 95
разделения 48 сл., 139, 151
распределения 19, 26 сл., 75, 104, 116, 132, 184 сл., 192
— зависимость от концентрации раствора 120
— — от конформаций макромолекул 114
— — от молекулярной массы 130, 193
— — от размеров макромолекул в растворе 130
— полиэлектролита 166, 168
— равновесный 27, 115 сл.
— в ТСХ адсорбционной 293 сл.
— — осадительной 300
«Краевой эффект» 33
м-Крезол как растворитель для ГПХ 89
Кремнеземы 73 сл.
Макромолекула
адсорбированная 54 сл.
— конформации 55 сл., 104, 106, 108 сл.
адсорбция 54 сл., 58 сл., 70 сл.
— на плоской поверхности 58 сл.
— на пористом сорбенте 64 сл., 290 сл.
жесткость 61
модели механизма ГПХ-разделения 103 сл., 108 сл.
полиэлектролита, поведение при хроматографировании 164 сл.

Макромолекула
размер гидродинамический 102, 106, 130, 232, 242
— в растворе 118 сл., 192
— — зависимость от температуры 122
— «хроматографический эффективный» 103, 117
Мальтодекстрины, ГПХ-разделение 144
Массообмен в хроматографии 22, 31, 40 сл.
Меркогели 140
Метанол как растворитель в хроматографии 77
Метиленхлорид как растворитель в хроматографии 77
Метилметакрилата сополимер со стиролом
анализ методом ТСХ 280 сл.
определение ММР 322
— полидисперсности 250 сл.
разделение 309 сл., 311
хроматограмма 267
Метилэтилкетон как растворитель в хроматографии 77
Метод
Бейкера — Вильямса 11
«возвратного потока» 213 сл.
нарушенного полного внутреннего отражения 68
последовательных приближений 236
расчета конформаций адсорбированной макромолекулы 55 сл.
— — — конечных целей Маркова 56 сл.
— — — множителей Лагранжа 55 сл.
— — — Монте-Карло 57
— — — обобщенных производящих функций 56
статистических моментов в хроматографии 29 сл., 31 сл., 47 сл.
Микроадсорбциометр — флюориметр для ТСХ 273
Модель механизма ГПХ-разделения макромолекул 103 сл.
конформационная 108 сл.
эквивалентных сфер 103 сл.
Молекулярная масса полимера погрешности при ГПХ-определении 226 сл.
среднемассовая 195, 207, 215, 223
среднечисленная 195, 207, 215, 223
z-средняя 207, 215, 222 сл.

Молекулярно-массовое распределение (ММР) 11, 189 сл.
— логарифмически нормальное 196
олигомеров, определение методом ГПХ 142, 145
— — — ТСХА 279
— — — по эквиденситным изображениям хроматограмм 326 сл.
полимеров, определение методом ГПХ 98, 152, 207 сл., 297
— — — ТСХ 279, 297, 320 сл.
— — — ТСХ и фотометрии 321
— разветвленных, определение 98, 239 сл., 241 сл., 244 сл.
сополимеров, определение методом ТСХ 279
— — сочетанием методов 246 сл.
Монохроматор 96

Неравновесность хроматографического процесса 14, 24 сл.

Нитрометан как растворитель в хроматографии 77

Олигомеры
адсорбция 313
анализ методом ГПХ 319 сл.
— — — ТСХ 279 сл., 312 сл., 314 сл., 327 сл.
гель-хроматограмма 145
определение ММР 142, 145, 279, 326 сл.
— разветвленности 279
разделение по функциональности 319 сл.
растворители для ГПХ-анализа 141
соблюдение универсальной калибровочной зависимости 142 сл.
сорбенты для ГПХ 140 сл., 152
фракционирование методом ГПХ 139 сл.

Олигосахарид, коэффициент распределения 130

Олигостирол, хроматограмма рециркуляционная 161 сл.

Оптическая плотность 95

n-Пентад как растворитель в хроматографии 77

Пиковая емкость 156

Пиридин как растворитель в хроматографии 77

Пластинки хроматографические 13, 262 сл.

Пленки хроматографические 13

Показатель изоэлектрической точки поверхности 74

Полиамидокислоты, хроматограммы 164 сл.

Полиамины, анализ методом ТСХ 317

Полибутадиен
анализ методом ТСХ 282, 299, 314
разделение изомеров методом ТСХ 308 сл.

Поливинилловый спирт, удерживаемый объем 126

Поливинилпирролидон, удерживаемый объем 126

Полиглицерины, анализ методом ТСХ 314

Полидиметилсилоксан, гидродинамические размеры 130

Полиизопрен
анализ методом ТСХ 282, 314
разделение изомеров методом ТСХ 308 сл.

Полимеры
анализ 10 сл., см. также полимеры разветвленные
— методом ГПХ 145 сл., 189 сл.
— — — скоростной ГПХ 150 сл.
— — — ТСХ 278 сл.
— — — адсорбционной 11, 278, 280 сл., 282 сл., 288 сл., 290 сл.
— — — осадительной 11, 278, 296 сл., 298 сл., 302 сл.
— — — с пламенно-ионизационным детектором 329 сл.
— — — по ширине хроматографической зоны 323
— — — экстракционной 278, 301 сл.
вязкость динамическая, зависимость от концентрации раствора 121
— — — характеристическая 110, 166, 203 сл., 231, 233, 235 сл.
— — — зависимость от молекулярной массы 240
гель-проникающая хроматография на набухающих сорбентах 122 сл.
гидрофильные, сорбенты для ГПХ 82
гидрофобные, сорбенты для ГПХ 82
изучение микроструктуры методом ТСХ 279, 306 сл.
— стереорегулярности методом ТСХ 306 сл.
кинетика хроматографии 19
коэффициент диффузии 121

Полимеры
«одномерный» 58 сл.
определение композиционного распределения 320 сл.
— ММР 98, 152, 207 сл., 279, 297, 320 сл.
— молекулярно-массовых характеристик (ММР и СММ) 206 сл., 209 сл., 221 сл., 279
— полидисперсности 216 сл.
— разветвленности 279
разветвленность, характеристики 232 сл., 234, 237, 243
разветвленные, анализ 230 сл.
— — — комбинированными хроматографическими методами 247
— — — методом ГПХ 231
— — — в сочетании с вискозиметрией 230 сл.
— — — светорассеяния 230 сл.
— — — седиментации 231
— — — определение ММР сочетанием методов 239 сл., 241 сл., 244 сл.
— хроматограмма, интерпретация 235
раствор 114
смеси, анализ методами ГПХ и ТСХ 247 сл.
— — — методом ТСХ 279
полидисперсные, хроматограмма 148
фракционирование 10 сл., 157
хроматографический ник 190

Полимерные стандарты 196 сл.

Полиметилметакрилат
анализ методом ТСХ 282, 299, 302 сл.
разделение изомеров методом ТСХ 301, 306 сл.

Полиметилсилоксандиол, анализ методом ТСХ 317 сл.

Поликсипропилендиол, анализ методом ТСХ 327 сл.

Полиолы, разделение методом ТСХ 319

Полипропиленоксид
анализ методом ТСХ 315
удерживаемый объем при ГПХ-анализе 142 сл.

Полистирол
анализ методом ГПХ 252
— — — в сочетании с ТСХ 247
— — — ТСХ 283, 287 сл., 290, 292 сл., 298 сл., 314, 330
зависимость гидродинамических объемов от удерживаемых объемов 130 сл.
— — — размеров макромолекул в растворе от температуры 122

Полистирол
зависимость удерживаемого объема от концентрации растворов 119
— — — от молекулярной массы 142 сл.
— — — от температуры 122
определение ММР эквиденситным методом 325
разделение изомеров методом ГПХ 145
— — — на стеклах 84
— — — на стирогелях 84
— — — ТСХ экстракционного варианта 301
форма хроматографического пятна 306 сл.
фракционирование методом сравнительной ГПХ 159 сл.
хроматограмма 30, 144
— тонкослойная, эквиденситное изображение 324, 327

Полиэлектролитное набухание 164, 166

Полиэлектролиты, анализ методом ГПХ 164 сл.

Полиэтилен
молекулярно-массовое распределение 150
хроматограммы 148

Полиэтиленгликоль
коэффициент распределения 130
удерживаемый объем 126 сл.

Полиэтиленоксид
адсорбция, зависимость от времени сорбции 69
— — — от концентрации 69
анализ методом ТСХ 282, 299, 312 сл., 314 сл., 316 сл.
зависимость коэффициента распределения от молекулярной массы 141 сл.
— удерживаемого объема от молекулярной массы 142 сл.
разделение методом ГПХ 141
форма хроматографических пятен 318

Полиэтилентерефталат, анализ методом ТСХ 317

Полиэфир, удерживаемый объем при ГПХ-анализе 142 сл.

Порогели 140

Презлюция 289

«Приборное уширение» хроматограммы 190 сл., 211 сл., 217, 221 сл., 223 сл.

n-Пропанол как растворитель в хроматографии 77

Процесс гетерогенный 18

- Равновесие межфазное, уравнение 23
- Размывание
- хроматограммы 219
 - хроматографического пика 34
 - — зависимость от удерживающего объема 213
 - пятна 256
 - — влияние структуры адсорбционного слоя 261 сл.
 - хроматографической зоны 14, 31, 33 сл., 40—48, 209, 212 сл.
 - в детекторе 46
 - в препаративной ГПХ 157 сл.
 - связанное с усилителем 46 сл.
 - стеночные эффекты, 155
 - в ТСХ-255
 - в фитингах и коннекторах 46
 - экстраколочное 44 сл., 132
 - при рециркуляционной хроматографии 162
- Распределение вещества при хроматографии
- аппроксимация распределением Пирсона 30
 - статистические моменты 29, 32
 - в хроматографической колонке 33, 209
 - — асимметрия 34 сл.
- Распределения Пирсона 30
- Расслоение хроматографической зоны 33
- «степень расслоения» 26
- Растворители
- для ГПХ 88 сл.
 - для осадочной ТСХ 297
 - для хроматографии 77
- Расширение
- хроматографического пика 34
 - хроматографической зоны 31 сл., 35 сл.
- Реакция гетерогенная 18
- Рефрактометр 52, 92, 121, см. также Детектор рефрактометрический R-401 93
- Рехроматографирование 255
- Сефадексы 82, 84, 140
- Силикагель 73 сл., 76, 82 сл., 293
- микросферический 152 сл.
 - подавление адсорбционной активности 83
 - силанизированный 83
- Силы взаимодействия 71
- С-камера для хроматографирования 266, 281
- Скарификация сорбента 268 сл.
- Сополимеры
- адсорбция 69 сл.
 - анализ методом ТСХ 279
 - — адсорбционной 280 сл., 283 сл.
 - — осадительной 299
 - сочетанием хроматографических методов 279
 - определение ММР 246 сл., 279
 - микроструктуры 279
 - привитые, анализ комбинарованными хроматографическими методами 247 сл., 251 сл.
 - методом ТСХ 279, 285, 309 сл.
 - исследование структуры 279
 - фракционирование 296
- Сорбенты
- для ГПХ 82 сл.
 - олигомеров 140 сл.
 - жесткие макропористые 81
 - коэффициент внутренней диффузии 85
 - порометрические свойства, изучение методом ГПХ 184 сл.
 - распределение по размеру пор 85
 - силикатные 82 сл.
 - скарификация 268 сл.
 - для ТСХ 254
 - фракционирование 88
- Сорбция 13 сл., 19 сл.
- изотерма 23 сл.
- Спектрофотометр 92
- Способ Мура приготовления хроматографических колонок 85
- Статистические моменты
- распределения вещества в хроматографической системе 29, 32
 - хроматографического пика 32, 35 сл.
- Стекла макропористые 83, 105, 147
- подавление адсорбционной активности 84
- Стирогели 84, 147, 152
- μ-Стирогели 140, 152 сл.
- Стирол
- блоксополимер с метилметакрилатом, разделение 311
 - с этиленоксидом, анализ 311 сл.
 - олигомеры, анализ методом ТСХ 313
 - сополимер с бутадиеном, разделение 310
 - с метилметакрилатом, анализ методом ТСХ 280 сл., 309 сл.
 - — — определение ММР 322
- Стирол
- сополимер с метилметакрилатом, анализ полидисперсности 250 сл.
 - — — хроматограмма 267
- Теория
- адсорбции, молекулярная 71 сл.
 - адсорбционной хроматографии Снайдера 74 сл.
 - Флори — Хаггинса 297
 - хроматографии 13 сл.
- Тетрагидрофуран как растворитель в хроматографии 77, 88 сл.
- 1,1,2,2-Тетрахлорэтан как растворитель в ГПХ 89
- Трифторэтанол как растворитель в ГПХ 89
- 1,2,4-Трихлорбензол как растворитель в ГПХ 88 сл.
- Толуол как растворитель в хроматографии 77, 88 сл.
- Тонкослойная хроматография (ТСХ)
- 17, 254 сл., 258 сл., 263 сл., 280, 289 сл.
 - адсорбционная 11, 278, 280 сл., 288 сл., 290 сл.
 - блоксополимеров 250 сл., 279, 284 сл., 296, 309 сл., 311
 - высокого разрешения 287
 - высокоэффективная 265
 - гель-проникающая 280, 289 сл.
 - градиент-адсорбционная 265
 - градиентная 265 сл.
 - градиент-паровая 265
 - количественная 267 сл.
 - анализ по размеру пятен 275 сл.
 - денситометрический метод 270 сл.
 - флюориметрический метод 274 сл.
 - микротонкослойная 265
 - олигомеров 279 сл., 312 сл., 314 сл., 327 сл.
 - оптимизация анализа 264 сл.
 - осадительная 11, 278, 296 сл., 302 сл.
 - экстракционный вариант 300 сл.
 - «полизональная» 254, 265 сл.
 - полимеров 278 сл., 306 сл., 320 сл., 329 сл.
 - адсорбционная 11, 278, 280 сл., 282 сл., 288, 290 сл.
 - — осадительная 11, 278, 296 сл., 298 сл., 302 сл.
 - — сочетание с ГПХ 247 сл.
 - — экстракционная 278, 301 сл.
 - проточная 133, 256 сл.
- Тонкослойная хроматография (ТСХ)
- сополимеров 246 сл., 279
 - адсорбционная 280 сл., 283 сл.
 - осадительная 299
 - привитых 279, 285, 309 сл.
 - сочетание с ГПХ 247 сл., 251 сл.
 - по сухому слою 256 сл.
 - эквидисперсный метод 324 сл.
 - экстракционная 278, 301 сл.
 - элюционная 268 сл.
 - эффективность 263 сл.
- Удерживаемый объем 116 сл., 132, 192
- зависимость от гидродинамического объема макромолекул 112
 - от конформационных изменений макромолекул 114
 - от концентрации раствора 119
 - от молекулярной массы 192 сл., 196
 - от размеров макромолекул в растворе 121, 193
 - от температуры 122
 - от характеристической вязкости раствора 232
 - полиэлектролитов 165 сл.
 - связь с коэффициентом распределения 193
- Уксусная кислота как растворитель в хроматографии 77
- Уравнение
- баланса хроматографического процесса 16 сл., 23 сл., 31, 35
 - изотермы сорбции 23 сл.
 - кинетики хроматографического процесса 15 сл., 20, 22 сл., 31, 35
 - кинетики сорбции — десорбции 15
 - Козени — Кармана 49, 153 сл.
 - Марка — Куна — Хауинка 202 сл., 233
 - межфазного равновесия 23
 - Танга 210
 - Тейлора 45
- Устройство преобразования регистрации на перфоленте и печати УПРП-1 100 сл.
- УФ-детектор 97
- УФ-фотометр 121
- Фаза
- неподвижная 113
 - подвижная 113
- Фактор жесткости 61 сл.
- Фактор разрешения Снайдера 155

- Флюориметр 52
 Фотометр 52, 92
 Фотометрирующее устройство 96
 Фракционирование
 биополимеров 11
 олигомеров 139 сл.
 полимеров 10 сл., 157
 сополимеров 296
 сорбентов 88
 Фторуглероды как растворители в
 хроматографии 77
 Функции Гаусса 213
 приборного уширения 191

 Хлорбензол как растворитель в хро-
 матографии 77
 Хлороформ как растворитель в хро-
 матографии 77, 89
 Хроматограмма 100
 асимметрия 219, 221 сл.
 интегральная 198
 интерпретация 189 сл., 206 сл.
 уровни 190 сл., 206 сл., 209 сл.,
 217 сл., 219 сл., 221 сл.,
 223 сл.
 коррекция 190 сл., 210 сл., 219
 полимера 195, 210 сл.
 — дисперсия 216
 — полидисперсного 148
 — разветвленного, интерпрета-
 ция 235
 «приборное уширение» 190 сл.,
 211 сл., 217, 221 сл.,
 223 сл.
 размывание 219
 тонкослойная, количественный
 анализ 269 сл.
 — эквидисситное изображение
 326 сл.
 трехкомпонентной смеси 178
 Хроматографическая зона 209
 ложная 302 сл.
 размывание 14, 31, 33 сл., 40—
 48, 209, 212 сл.
 — в детекторе 46
 — связанное с усилителем
 46 сл.
 — стеночные эффекты 155
 — в соединительных труб-
 ках 45
 — в ТСХ 255
 — в фитингах и коннекторах
 46
 — экстраколоночное 44 сл.,
 132, 162
 расслоение 26, 33
 расширение 31 сл., 35 сл.
 скорость движения 33
 Хроматографическая колонка 13
 для ГПХ-анализа 147 сл.
- Хроматографическая колонка
 длина 133
 — зависимость от давления 135
 — — от скорости элюции 50 сл.,
 133 сл.
 — — от размера зерен сорбента
 133, 135, 155
 с жесткими сорбентами 86
 с мягкими гелями 85 сл.
 приготовление 85 сл., 156 сл.
 проницаемость 153 сл.
 профиль скоростей потока 17,
 35 сл.
 распределение вещества 33, 209
 со стирогелями 85, 152
 фактор разрешения Снайдера
 155
 Хроматографическая система 13, 113
 градиентная 311
 структурная неоднородность
 38 сл.
 трехфазная 36
 эффективность 161 сл., 198 сл.,
 218
 Хроматографический пик
 полимерного образца 190
 размывание 34, 213
 расширение 34
 симметрия 34 сл.
 статистические моменты 32,
 35 сл.
 форма при различных способах
 детектирования 91 сл.
- Хроматографический процесс
 как гетерогенный процесс 18
 кинетика 18 сл.
 неравновесность 14, 20, 24 сл.
 оптимизация 48 сл.
 стохастичность 14
 в трехфазной системе 36 сл.
 уравнение баланса 16 сл.
 — кинетическое 15, 20, 22 сл.
- Хроматографическое пятно 268
 размывание 256, 261 сл.
 распределение вещества, анализ
 269 сл.
 — — денситометрический 270 сл.
 — — по размеру 275 сл.
 форма 268
 — зависимость от концентрации
 полимера 305
- Хроматография 10
 адсорбционная 10 сл., 13, 74 сл.,
 290 сл.
 газо-адсорбционная 10
 газовая 10, 151
 газо-жидкостная 10
 гелевая 81
 гель-проникающая см. Гель-про-
 никающая хроматография
- Хроматография
 жидкостная 10, 48, 92, 151
 — скоростная 151 сл.
 ионообменная 10
 «капельная» 254
 молекулярно-ситовая 81
 осадительная 10 сл.
 «полизоная» 254, 265 сл.
 распределительная 10
 рециркуляционная 160 сл.
 тонкослойная см. Тонкослойная
 хроматография
 эксклюзионная 81
- Хроматографы
 жидкостные 44
 — ХЖ-1302 93
 — ХЖ-1303 93, 99 сл.
 — ХЖ-1304 100 сл.
 — ХЖ-1305 96
 — для ГПХ 98 сл.
 калибровка 195 сл.
 — по узким стандартам 197
 — по широким стандартам 198 сл.
 рециркуляционные 161
 чувствительность 51, 91
 эффективность 44
- Четыреххлористый углерод как
 растворитель в хроматогра-
 фии 77
 Чувствительность детектора 90 сл.
 рефрактометра 52
- Чувствительность детектора
 флюориметра 52
 фотометра 52
 хроматографа 51, 91
- Целлюлоза, анализ сополимеров
 251 сл.
 Цеолиты 73
 Циклогексан как растворитель в хро-
 матографии 77
- Эллипсометрия 67
 Элюционные кривые 189
 Энергия критическая взаимодействия
 полимера с сорбентом 59 сл.,
 291
 Этанол как растворитель в хромото-
 графии 77
 Этилацетат как растворитель в хро-
 матографии 77
 Этилена сополимер с винилацетатом,
 адсорбция 69 сл.
 Этиленгликоль как растворитель в
 хроматографии 77
 Этиленоксида блоксополимер со сти-
 ролом, ТСХ-анализ 311 сл.
 Этиловый эфир как растворитель
 в хроматографии 77
 Эффект
 молекулярно-ситовой 104 сл.,
 122 сл., 280, 291
 профиля скорости в хроматогра-
 фической колонке 38 сл.

БОРИС ГРИГОРЬЕВИЧ БЕЛЕНЬКИЙ
ЛЕВ ЗАЛМАНОВИЧ ВИЛЕНЧИК

**ХРОМАТОГРАФИЯ
ПОЛИМЕРОВ**

Редактор
М. Н. Пастушенко

Художник
В. Г. Дударев

Художественный редактор
Н. В. Носов

Технический редактор
В. М. Скитина

Корректор Л. А. Волкова

ИБ № 28

Сдано в наб. 16.11.77. Подп. в печ. 30.03.78. Т 07622.
Формат бумаги 60 × 90¹/₈. Бумага тип. № 2. Гарн. обьемы.
новая. Печать высокая. Усл. печ. л. 21,5. Уч.-изд. л. 22,09.
Тираж 5600 экз. Заказ № 624. Цена 2 р. 50 к. Изд. № 1128.

Издательство «Химия», 107076, Москва, Стромынка, 13.

Ленинградская типография № 6 Союзполиграфпрома при
Государственном комитете Совета Министров СССР по делам
издательств, полиграфии и книжной торговли.
196006, Ленинград, Московский пр., 91.