

РАВНОВЕСНАЯ СЕДИМЕНТАЦИЯ БЛОК-СОПОЛИМЕРОВ  
В ГРАДИЕНТЕ ПЛОТНОСТИ

*C. E. Бреслер, Л. М. Пырков, С. Я. Френкель*

В 1957 г. Меселсон с сотрудниками [1] предложил метод одновременного определения молекулярного веса  $M$  и парциального удельного объема  $V$  полимеров, основанный на ультрацентрифугировании в градиенте плотности. Растворенные макромолекулы седimentируют при этом в области, где плотность растворителя  $\rho < V^{-1}$ , и флотируют в области с  $\rho > V^{-1}$ , собираясь в узкую полосу, расстояние  $x$  которой от оси вращения определяется условием  $\rho = V^{-1}$ . По ширине полосы после установления равновесия можно определить  $M$  или, если полимер полидисперсен, средний молекулярный вес  $\bar{M}_q$  любого порядка ( $\bar{M}_1 = M_n$ ,  $\bar{M}_2 = M_w$  и т. д.; обозначения обычные).

Метод был использован автором для определения  $M$  и  $V$  высокомолекулярной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и для разделения в поле ультрацентрифуги обычной и изотопно меченой ( $N^{15}$ ) ДНК [2]. Метод Меселсона, с некоторыми модификациями, может быть применен для анализа блок- и граfft-сополимеров и, частности, для отделения от сопровождающей их механической смеси исходных гомополимеров. Ниже приводится пример такого анализа для блок-сополимера стирола и изопрена, родственного описанному ранее [3] и с  $M_w \approx 10^6$ . Количественный его состав ранее не определялся.

Экспериментальная часть

Градиент плотности можно установить, смешивая два растворителя различной плотности (например хлористый бутил и дихлорэтан). Рассматривая растворитель, как раствор тяжелого компонента (1) в легком (2), можно рассчитать по 2-й формуле Сведберга [4] перепад концентрации  $c_1$  в кювете ультрацентрифуги:

$$\ln \frac{c_1(x_b)}{c_1(x_0)} = \frac{M_1(1 - V_1\rho_2)}{2RT} \omega^2 (x_b^2 - x_0^2), \quad (1)$$

где  $x_b$  и  $x_0$  — расстояния дна кюветы и мениска от оси вращения,  $\omega$  — угловая скорость ротора,  $V_1 = \rho_1^{-1}$ ,  $R$  — универсальная газовая постоянная,  $T$  — абсолютная температура. По этой же формуле можно определить  $c_1$  в любой точке столбика жидкости и, следовательно, найти распределение плотности в кювете. Распределение плотности может быть непосредственно измерено и обычными рефрактометрическими методами [4].

Рассмотрим теперь поведение в таком растворителе трехкомпонентной системы, состоящей из двух гомополимеров (с плотностями  $\rho_I$  и  $\rho_{II}$ ) и их блок- или граfft-сополимера ( $\rho_{III}$ ); пусть  $\rho_I > \rho_{II}$ . Если  $\rho_0 < \rho_{II}$  и  $\rho_b > \rho_I$ , то, в согласии со сказанным выше, система разделится на три полосы, собирающиеся в сечениях кюветы, где плотность равна  $\rho_I$ ,  $\rho_{II}$  и  $\rho_{III}$ .

Однако такие условия опыта не обязательно являются оптимальными. При большом градиенте плотности картина может смазаться из-за

суперпозиции расширяющихся полос. Это относится в особенности к сравнительно низкомолекулярным полимерам, дающим широкие полосы за счет диффузии. В рассматриваемом случае приходится считаться еще с возможным дополнительным расширением центральной полосы за счет «химической» неоднородности блок-сополимера. По очевидной причине нельзя работать и со слишком малыми градиентами плотности из-за неизбежного размазывания полос.

Можно предложить целый ряд модификаций метода, сопряженных со специфическим подбором пары растворителей 1 и 2. Одна из них является таким видоизменением «метода трех полос», при котором  $\rho_0 > \rho_{II}$ , но

$< \rho_{III}$ , а  $\rho_B < \rho_I$ , но  $> \rho_{III}$ . При таких условиях гомополимеры при завершенной седиментации образуют Больцмановы слои у мениска и дна (ср. [5]), а блок- или граffт-сополимер дает более или менее широкую полосу где-то в середине кюветы.

Удобной системой растворителей для блок-сополимера стирола и изопрена является как раз смесь хлористого бутила (2) и дихлорэтана (1). В табл. 1 приведены плотности всех компонентов этой системы.

Опыты проводили в большой масляной ультрацентрифуге Сведберга при 54 тыс. об/мин. Наблюдение за равновесной седиментацией вели при помощи оптической схемы Фильпота — Свенссона с фазоконтрастной пластинкой [6]. Высота столбика жидкости в кювете была порядка 9 мм. Температуру поддерживали постоянной в пределах 0,3—0,5° и она была близка к 30°.

Таблица 2

Экспериментальные значения параметров для формулы (1)

$\nu$ об/сек	$\omega^2$	$x_b$	$x_0$	$T^\circ K$
895	$3,16 \cdot 10^7$	7,25 см	6,38 см	$301,6 \pm 0,2$

Основные экспериментальные параметры приведены в табл. 2 [по поводу обозначений см. формулу (1)].

Подставляя эти значения, а также  $M_1 = 99$ ,  $V_1$  и  $\rho_2$  в (1), получим для предварительных оценок

$$c_1(x_b) / c_1(x_0) = 1,25. \quad (2)$$

Здесь же подчеркнем, что подобная оценка является приближенной. В самом деле, формула (1) выведена для малых концентраций  $c_1$ , когда раствор можно полагать идеальным. В нашем случае реальное распределение плотности может несколько отличаться от предсказываемого формулой (1) за счет неидеальности концентрированного раствора.

На рис. 1 приведены диаграммы для чистого растворителя (т. е. смеси). Равновесие устанавливается приблизительно за 3 часа (в согласии с [1]). Постоянство градиента показателя преломления  $\Delta n$  (непосредственно регистрируемая данной оптической схемой величина) свидетельствует о линейном возрастании концентрации дихлорэтана от мениска к дну и, следовательно, о таком же изменении плотности. На рис. 2 видна седиментация полистирола в этой системе. Как видно, за 200 мин. весь полистирол уходит из центральной области диаграммы, образуя Больцмановский слой у дна. Аналогично выглядят диаграммы флотации для полизопрена, который примерно за то же время собирается у мениска.

Таблица 1  
Плотности растворителей и полимеров

Растворители	Хлористый бутил (2) Дихлорэтан (1)	0,88 ( $\rho$ ) 1,26 "
Полимеры	Полистирол (I) Полизопрен II Блок-сополимер (III)	1,10 ( $V^{-1}$ ) 0,89 " 1,01 "

Совсем иная картина получается для блок-сополимера (рис. 3). Уже по истечении двух часов явственно видны два пика, движущиеся навстречу друг другу, причем флотирующий пик «опрокинут». Объясняется это очень просто. Сверху (от мениска) концентрация растет, пока

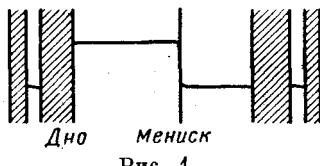
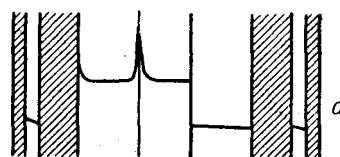
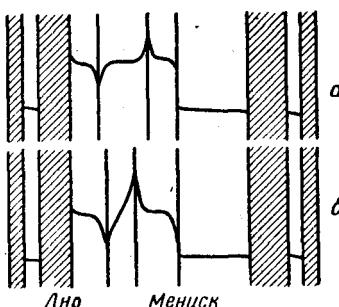


Рис. 1



α



α



β

Рис. 3



Рис. 2

Рис. 1. Диаграмма равновесного распределения градиента показателя преломления для смешанного растворителя (1,2-дихлорэтан—хлористый бутил, 1 : 1 по объему) при  $54 \cdot 10^3$  об./мин и  $30^\circ$ ;  $t = 200$  мин.

Рис. 2. Седиментация полистирола в смешанном растворителе;  $a = 180$ ,  $b = 300$ ,  $c = 420$  мин.

Рис. 3. Равновесная седиментационная диаграмма блок-сополимера в смешанном растворителе;  $a = 240$ ,  $b = 750$  мин.

(точка  $\Delta n = 0$ ) не достигается максимальная концентрация. Между дном и флотирующим пиком также не осталось уже полимера; концентрация там равна нулю. Поэтому естественно, что в области флотирующей границы градиент концентрации, а следовательно и  $\Delta n < 0$ . Это становится яснее, если от дифференциального распределения концентрации перейти к интегральному,  $c(x)$  (точнее  $n(x)$ ). Такой пересчет сделан для  $t = 750$  мин; к этому времени равновесие по отношению к блок-сополимеру можно уже считать установившимся (седиментирующий и флотирующий пик достигли максимального сближения, и далее расстояние между ними уже не меняется). Для этого диаграмма была прокомпаририрована на двухкоординатном измерительном микроскопе УИМ-21, и графическим интегрированием полу-

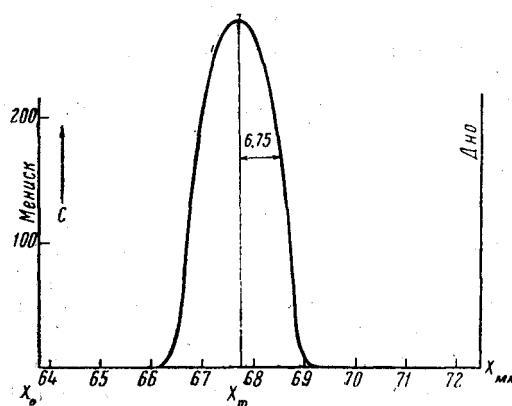


Рис. 4. Распределение концентрации блок-сополимера в полосе. Объяснения в тексте

лучена интегральная кривая (рис. 4), соответственно и являющаяся изображением полосы.

Как видим, полоса представляет собою приблизительно гауссову кривую, ширина которой (ср. [1]) определяется как статистическим разброя-

сом состава, так и обычной полидисперсностью. Для предварительной оценки последней предположим, что второй момент  $\mu_2^2$  этой кривой аддитивно складывается из расширений, обусловленных обоими типами неоднородностей, и что по абсолютной величине эти расширения (точнее, компоненты 2-го момента) равны. Стандартное отклонение этой гауссовой полосы равно  $\sigma = 0,675 \text{ мм} = (\mu_2^0)^{1/2}$ .

На долю полидисперсности состава, при сделанных предположениях, приходится  $\sigma/V\sqrt{2} = 0,48 \text{ мм}$ .

Так как максимум полосы приходится на 67,75 мм, а градиент плотности, как следует из рис. 1, практически постоянен, надо попросту рассчитать перепад плотности в диапазоне 0,48 мм. Полагая, что удельные объемы (1) и (2) в смеси не отличаются от их удельных объемов в чистом виде (экспериментальная проверка подтвердила эту аддитивность) и  $c_1(x_0) + c_1(x_b) = c_1/2$ , где  $c_1$  — исходная концентрация дихлорэтана (равная, очевидно, попросту  $\rho_1/2$ ), а также учитывая температуру опыта, найдем

$$c_1(b) = 0,679 \text{ г/см}^3; \quad c_1(0) = 0,565 \text{ г/см}^3$$

и

$$\rho(b) = 1,075; \quad \rho(0) = 1,043,$$

т. е.

$$\Delta\rho = \frac{0,032}{8,7} = 3,68 \cdot 10^{-3} \text{ г/см}^3. \quad (3)$$

Средняя плотность блок-сополимера равна, таким образом (рис. 4)

$$\bar{\rho} = \rho(0) + \Delta\rho(x_m - x_0) = 1,057 \text{ г/см}^3,$$

а разброс плотности (стандартное отклонение)

$$\sigma(\rho) = \Delta\rho \times \sigma/V\sqrt{2} = 0,0002.$$

Несомненный вывод, следующий из этого анализа, состоит в высокой степени химической гомогенности блок-сополимера. Что касается абсолютного значения его плотности, то оно может быть завышенным в силу приближенности сделанных предпосылок.

Приведенные расчеты носили иллюстративный характер, имея целью показать, как из данных такого опыта могут быть рассчитаны  $\bar{\rho}$  и  $\sigma(\rho)$ .

Детальные опыты и расчеты, с учетом всех необходимых поправок (в частности — на сжатие столба жидкости), будут опубликованы позднее.

### Выводы

1. Центрифugирование в градиенте плотности (примененное Меселсоном с сотрудниками для одновременного определения парциального удельного объема и молекулярного веса дезоксирибонуклеиновой кислоты [1]) может быть использовано для анализа при помощи ультрапентрифуги гибридных (блок- и привитых) синтетических полимеров.

2. Разработана модификация метода Меселсона, в которой за счет подбора растворителей гибридный полимер собирается в полосу в средней части седиментационной кюветы, а соответствующие гомополимеры (если такие имеются) дают Больцманово распределение у дна и мениска.

3. По новой методике получены предварительные данные о составе блок-сополимера стирола и изопрена, синтезированного по методу «живых цепей».

## ЛИТЕРАТУРА

1. M. Meselson, F. Stahl. J. Vinograd, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 43, 581, 1957.
  2. M. Meselson, F. W. Stahl, там же, 44, 672, 1958.
  3. А. А. Коротков, Л. А. Шибаев, Л. М. Пырков, В. Г. Алдошин, С. Я. Френкель, Высокомолек. соед., 1, 443, 1959.
  4. Th. Svedberg, K. O. Pedersen, The Ultracentrifuge. Oxford, Clarendon Press, 1940.
  5. С. Я. Френкель, Успехи физ. наук, 53, 161, 1954.
  6. R. Trautman. J. Phys. Chem., 60, 1211, 1956.
- 

## EQUILIBRIUM SEDIMENTATION OF HYBRID POLYMERS IN THE DENSITY GRADIENT

*S. E. Bresler, L. M. Pyrkov, S. Ya. Frenkel*

## S u m m a r y

It has been shown that ultracentrifugation in a density gradient may be used to analyze the composition and molecular weight distribution of block and graft polymers. An original modification of Meselson's method has been developed, in accordance with which by selection of a proper solvent the hybrid polymer accumulates as a band in the central part of the sedimentation cell and the corresponding homopolymers (when they are present) give the Boltzman distribution at the bottom and at the meniscus. With the aid of the new method preliminary data have been obtained on the composition of styrene-isoprene block polymers synthesized by the «live chain» method.