

УДК 541.64 : 543.54

ГЕЛЕВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ПОЛИМЕРОВ.
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕРОЯТНОСТИ СОРБЦИИ В УСЛОВИЯХ
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПЫТА

Л. З. Виленчик, Б. Г. Беленъкий

За последние годы в исследовании и фракционировании полимеров резко возросла роль хроматографических методов. Их широкое применение [1] выдвигает на первый план ряд задач, настоятельно требующих практического разрешения и теоретической разработки. Данная работа преследует цель рассмотреть физические закономерности процессов, лежащих в основе элютивной хроматографии полимеров на пористых сорбентах, и использовать полученную информацию для объяснения широкой совокупности экспериментальных фактов, не укладывающихся полностью в рамках существующих теоретических подходов [2—7].

В работе рассматриваются следующие варианты хроматографии полимеров: адсорбционная, в которой решающую роль играет адсорбция на поверхности сорбента [8], гелевая [9, 10], т. е. обусловленная только молекулярно-ситовым эффектом, и смешанная, являющаяся суперпозицией первых двух. Хроматография позволяет не только разделять макромолекулы по размерам [11] и молекулярному весу [10, 12], но и охарактеризовывать их (при наличии соответствующей теории) с точки зрения гидро- и термодинамических свойств, структурных особенностей, химического состава. Лучшая сорбируемость крупных макромолекул по сравнению с малыми приводит в адсорбционной хроматографии к отставанию первых от вторых при движении вдоль колонки. В гелевой хроматографии наблюдается обратное явление: здесь большие макромолекулы опережают малые по причине меньшей доступности для них гелевых пор и более слабой диффузационной подвижности. В общем случае перечисленные факторы накладываются друг на друга.

Описание поведения макромолекул в подвижной фазе колонки на основе теории случайных блужданий. Детальное описание поведения макромолекул в хроматографической колонке, заполненной пористым сорбентом и промываемой растворителем, должно включать в себя баланс полимерных фракций в процессе их движения и распределения между подвижной и неподвижной фазами, кинетику и статику их сорбции, гидро- и термодинамику процесса, его начальные и граничные условия. Причем решающую роль в каждом из перечисленных пунктов следует отвести вероятностям сорбции λ и десорбции λ' макромолекул и соотношению между ними. Чем чаще макромолекулы покидают подвижную фазу, чем дольше они задерживаются в неподвижной фазе, тем меньше времени они проводят в потоке и тем позже появятся на выходе из колонки. Именно это различие в значениях λ и λ' , характеризующих разные макромолекулярные фракции, приводит к разделению их в хроматографическом эксперименте.

Понятие вероятности сорбции, являющееся ключевым в рассматриваемом процессе, определяется большим набором факторов, среди которых особо следует выделить скорость промывания колонки растворителем, распределение пор в сорбенте, размеры и форму каналов в нем, степень взаимодействия сорбента с растворителем и макромолекулами, структурные свойства последних, их гидро- и термодинамические характеристики, молекулярный вес, размеры. Благодаря этому вероятность сорбции можно

рассматривать как некий обобщенный параметр, пригодный для описания поведения любой макромолекулярной фракции при ее хроматографировании.

При выводе выражения для вероятности сорбции будем исходить из следующих допущений.

1) Поскольку растворы, используемые в элютивной хроматографии, сильно разбавлены, а возможностей для сорбции достаточно много — большая поверхность сорбента, пригодная для адсорбции, или большое количество доступных пор в нем, или и то и другое вместе взятое, — будем пренебречь конкуренцией между фракциями.

2) Условимся считать колонку на всем протяжении однородной по свойствам и различать в колонке две фазы: подвижную — пространство между гранулами сорбента (иначе говоря, каналы) и неподвижную, включающую в себя оставшуюся область колонки, т. е. поры, поверхность и тонкий слой, к ней прилегающий.

3) Каналы в сорбенте, радиус которых определяется размерами его частиц, будем рассматривать как цилиндрические (при устремлении их длины к бесконечно малой величине), а поток в них — как ламинарный, направленный вдоль оси OZ .

Очевидно, что для попадания в одну из пор сорбента или адсорбции на его поверхности макромолекула должна прежде всего оказаться достаточно близко около этой поверхности. Это может случиться только за счет теплового движения, представляющего непрерывное случайное блуждание макромолекулы внутри одного из каналов.

Воспользуемся результатами, полученными в теории случайных блужданий. Для этого будем считать, что макромолекула, находясь в подвижной фазе колонки, подвергается последовательным перемещениям r_1, r_2, \dots , причем абсолютная величина и направление каждого перемещения независимы от всех предыдущих. При этом вероятность того, что перемещение r_i лежит между r_i и $r_i + dr_i$, подчинена функции распределения $f_i(r_i)$, определяемой априори. Нужно найти вероятность $F(R)dR$ того, что после N перемещений координаты макромолекулы будут лежать в интервале $[R, R + dR]$. Ясно, что положение R частицы является результатом сложения N векторов r_i , величина и направление каждого из которых подчинены вероятностному распределению $f_i(r_i)$. Совершая переход от дискретных скачков к непрерывному случайному блужданию, получим искомое описание поведения макромолекул в подвижной фазе колонки.

Известно [13—15], что случайное блуждание произвольных микрочастиц можно трактовать как некий обобщенный процесс диффузии, описываемый уравнением

$$\frac{\partial F}{\partial t} = u_x \frac{\partial F}{\partial x} + u_y \frac{\partial F}{\partial y} + u_z \frac{\partial F}{\partial z} + D_x \frac{\partial^2 F}{\partial x^2} + D_y \frac{\partial^2 F}{\partial y^2} + D_z \frac{\partial^2 F}{\partial z^2}, \quad (1)$$

в котором введены следующие обозначения:

$$D_x \equiv \frac{1}{2} n \langle r_x^2 \rangle, \quad D_y \equiv \frac{1}{2} n \langle r_y^2 \rangle, \quad D_z \equiv \frac{1}{2} n \langle r_z^2 \rangle,$$

$$u_x \equiv -n \langle r_x \rangle, \quad u_y \equiv -n \langle r_y \rangle, \quad u_z \equiv -n \langle r_z \rangle$$

Размерность величин D_x, D_y, D_z — $\text{см}^2/\text{сек}$, а величин u_x, u_y, u_z — $\text{см}/\text{сек}$. Под n здесь понимается число перемещений, испытываемых частицей в среднем за единицу времени, x, y, z — координаты частицы, r_x, r_y, r_z — длины перемещений, символ $\langle \rangle$ означает усреднение

$$\langle r \rangle = \int r f(r) dr$$

Из (1) следует, что отнесенные к единицам времени и площади числа частиц, пересекающих элементы площадок по направлениям нормалей x, y, z ,

z , равны соответственно

$$I_x = -u_x F - D_x \frac{\partial F}{\partial x}, \quad I_y = -u_y F - D_y \frac{\partial F}{\partial y}, \quad I_z = -u_z F - D_z \frac{\partial F}{\partial z} \quad (2)$$

Чтобы перейти от дискретных скачков произвольных частиц к непрерывному случайному блужданию макромолекул, будем рассматривать величины D_x, D_y, D_z как коэффициенты молекулярной диффузии D исследуемых макромолекул в данном растворе, а u_x, u_y, u_z — как средние скорости их перемещения в каждом из трех направлений. Используем при этом априорность функции $f(\mathbf{r})$, предполагая равновероятность всех направлений случайных перемещений молекулы. Это приведет к обращению в нуль величин u_x и u_y , совпадению u_z со скоростью u потока, промывающего колонку, и к равенству $D_x = D_y = D_z = D$.

В результате уравнение (1) и выражение (2) перепишутся следующим образом

$$\frac{\partial F}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 F}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 F}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 F}{\partial z^2} \right) + u \frac{\partial F}{\partial z} \quad (3)$$

$$I_x = -D \frac{\partial F}{\partial x}, \quad I_y = -D \frac{\partial F}{\partial y}, \quad I_z = -D \frac{\partial F}{\partial z} - uF \quad (4)$$

Решение уравнения (3) следует искать при определенных начальном и предельном условиях. Нас интересует средняя вероятность сорбции λ макромолекулы в единицу времени на боковой поверхности элементарного объема колонки dV , заключенного между двумя поперечными сечениями, отстоящими друг от друга на dz . Эта величина впоследствии понадобится при выводе уравнений баланса и диффузной кинетики, полностью описывающих процесс хроматографирования. Поэтому начальное условие, налагаемое на функцию $F(x, y, z)$, должно приводить к тому, что в момент времени $t = 0$ молекула с равной вероятностью находится в любой точке объема dV . Предельное условие должно учитывать, что часть q боковой поверхности dV поглощает макромолекулы, а часть $1 - q$ отражает их, т. е. с вероятностью q функция $F(x, y, z)$ должна обращаться в нуль в точках, удовлетворяющих условию $x^2 + y^2 = r^2$, и с вероятностью $1 - q$ в нуль должны обращаться в этих же точках ее частные производные по x и y .

Однако рассматривая λ как величину, обратную времени, по истечении которого поток I через боковую поверхность dV принимает максимальное значение, можно упростить задачу, пренебрегая предельным условием и считая, что молекулы начинают блуждания из центра симметрии объема dV , куда удобно поместить начало координат. Незначительное отличие полученного таким образом выражения для λ от истинного можно учесть с помощью некоторых констант, определяемых экспериментальным путем. Кроме того, ясно, что достаточно рассмотреть поведение макромолекул в одном из каналов колонки внутри dV . Полученные при этом результаты автоматически распространяются на весь элементарный объем dV .

При сделанных допущениях решение уравнения (3) запишется в виде

$$F(x, y, z) = \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp \left[-\frac{x^2 + y^2 + (z + ut)^2}{4Dt} \right], \quad (5)$$

а вероятность пересечения макромолекулой в момент времени t элементарной площадки $ds = dy dz$, перпендикулярной оси OX , окажется в стационарном случае в соответствии с (4) равной

$$I_x = \frac{x}{2t} \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp \left[-\frac{x^2 + y^2}{4Dt} \right] dy dz \quad (6)$$

Следовательно, боковую поверхность цилиндра радиуса r и длины dz макромолекула пересекает с вероятностью

$$I = 4 \int_0^{\pi/2} \frac{r \cos \varphi}{2t} \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp \left[-\frac{r^2}{4Dt} \right] r \cos \varphi d\varphi dz = \\ = \frac{\pi r^2}{2t} \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp \left[-\frac{r^2}{4Dt} \right] dz \quad (7)$$

Величина I достигает максимального значения при $t = r^2/10D = T$. В этот момент большинство частиц, одновременно начавших блуждание внутри dV , достигнут стенок каналов. Поэтому T можно рассматривать как наиболее вероятное (или среднее) время блуждания макромолекул внутри объема dV до соприкосновения со стенками каналов, $1/T$ — как среднюю вероятность этого соприкосновения в единицу времени.

В случае промывания колонки потоком растворителя, движущимся со скоростью u , вероятность I запишется как

$$I = \frac{\pi r^2}{2t} \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp \left[-\frac{r^2 + u^2 t^2}{4Dt} \right] dz, \quad (8)$$

а для времени T будет справедливо следующее соотношение:

$$T = \frac{5D}{u^2} \left[\sqrt{1 + \frac{u^2 r^2}{25D^2}} - 1 \right] \quad (9)$$

Сравнение выражений (7) и (8) показывает, что вероятность пересечения макромолекулой стенок при промывании колонки в $\exp[u^2 t / 4D]$ раз меньше, чем в стационарном случае. Это наводит на мысль о существовании такого же соотношения и между средними вероятностями $1/T$. Тем более, что из (9) при определенных допущениях о степени малости входящих в него величин следует

$$\frac{1}{T} \approx \frac{u^2}{5D} \frac{1}{\frac{u^2 r^2}{50D^2} + \frac{u^4 r^4}{625 \cdot 6 \cdot D^4}} \approx \frac{10D}{r^2} \exp \left[-\frac{u^2 r^2}{125D^2} \right] \quad (10)$$

Вводя уже упоминавшиеся эмпирические константы ζ_1 и ζ_2 , учитывающие поправки на некоторую модельность наших представлений, окончательно запишем

$$\frac{1}{T} = \frac{\zeta_1 D}{r^2} \exp \left[-\frac{u^2 r^2}{\zeta_2 D} \right] \quad (11)$$

Отсюда сразу видно, что значения $1/T$ для малых макромолекул выше, чем для крупных, и что $1/T$ растет с уменьшением скорости u и убывает с ростом размеров каналов, а следовательно, и зерен сорбента.

Определение вероятности каналов на внешней поверхности сорбента для случая адсорбционной хроматографии. В адсорбционной хроматографии вероятность сорбции, помимо величины $1/T$, определяется также отношением площади, занимаемой адсорбционными площадками S_{ad} , к площади всей внешней поверхности сорбента S_b . Причем для адсорбирования макромолекуле достаточно вступить во взаимодействие с адсорбционным центром одним из своих звеньев. Учитывая это, для клубкообразных макромолекул в выражении для средней вероятности сорбции λ следует заменить r на $r - h$. Тогда для стационарного случая получим

$$\lambda_{ad}^{st} = K \frac{\zeta_1 D}{(r - h)^2} \frac{S_{ad}}{S_b}, \quad (12)$$

где, памятуя о разбавленности хроматографических растворов, мы описа-

ли адсорбцию с помощью линейной изотермы, определяемой коэффициентом Генри K .

В случае промывания колонки в выражении (12) должны появиться еще два сомножителя, один из которых — $\exp[-u^2(r-h)^2/\zeta_2 D^2]$, а другой — учитывает протяженность во времени взаимодействия макромолекул с адсорбционными центрами, т. е. то, что это взаимодействие происходит не мгновенно, а с некоторой конечной скоростью *. По этой причине часть макромолекул, вступив в контакт с определенной адсорбционной площадкой, не успевает на ней адсорбироваться, будучи увлечена потоком растворителя.

Пусть N — число макромолекул данного сорта, вступивших в контакт с адсорбционной площадкой. Поскольку процесс адсорбции имеет вероятностный характер, за время Δt адсорбируется ΔN из этих N макромолекул, причем

$$\Delta N = -\eta N \Delta t, \quad (13)$$

где η — константа взаимодействия, имеющая размерность, обратную времени.

Устремляя Δt к нулю и решая получающееся при этом из (13) дифференциальное уравнение, найдем, что вероятность адсорбироваться за время t для макромолекулы, вступившей в контакт с адсорбционной площадкой, равна

$$\lambda_{\text{ад}} = 1 - \exp[-\eta t] \quad (14)$$

t в (14) есть время, в течение которого макромолекула, увлекаемая потоком, находится в контакте с некоторым адсорбционным центром хотя бы одним из своих звеньев (как бы скользя по адсорбционному центру).

Для клубообразных макромолекул t можно определить как h/u , где h — расстояние между концами полимерной цепочки, u — скорость потока.

Тогда (14) перепишется в виде

$$\lambda_{\text{ад}} = 1 - \exp[-\eta h/u], \quad (15)$$

и вероятность адсорбции окажется равной

$$\lambda_{\text{ад}} = K \frac{\zeta_1 D}{(r-h)^2} \frac{S_{\text{ад}}}{S_b} \exp\left[-\frac{u^2(r-h)^2}{\zeta_2 D^2}\right] \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{\eta h}{u}\right] \right\} \quad (16)$$

Появление множителя (15) (так же, как и $\exp[-u^2(r-h)^2/\zeta_2 D^2]$) в выражении для $\lambda_{\text{ад}}$ эквивалентно уменьшению общей площади $S_{\text{ад}}$ адсорбционных площадок. Т. е. вводя эффективную площадь адсорбционных площадок

$$S_{\text{ад}}^{\text{эфф}} = S_{\text{ад}} \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{\eta h}{u}\right] \right\} \exp\left[-\frac{u^2(r-h)^2}{\zeta_2 D^2}\right], \quad (17)$$

можно переписать (16) в виде, аналогичном (12)

$$\lambda_{\text{ад}} = K \frac{\zeta_1 D}{(r-h)^2} \frac{S_{\text{ад}}^{\text{эфф}}}{S_b} \quad (18)$$

Определение вероятности сорбции для случая гелевой хроматографии и адсорбции внутри пор. В гелевой хроматографии [10] и при адсорбции внутри пор вероятность сорбции сводится к вероятности проникновения макромолекул в поры набухших гелевых шариков, плотно упакованных в хроматографической колонке.

В стационарном случае для макромолекул, достигших стенок каналов, вероятность сорбции определяется количеством пор, доступных для них по своим размерам. К их числу следует отнести поры достаточно глубокие и с достаточно широкими входными отверстиями. Фактор глубины можно

* Имеется в виду некая средняя скорость, характеризующая взаимодействие данного типа макромолекул с данным сорбентом.

охарактеризовать отношением $V_{\text{acc}} / V_{\text{n}}$, а размеры отверстий — отношением $\tilde{S}_{\text{acc}} / S_{\text{b}}$, где V_{n} — объем всех пор в сорбенте. \tilde{S}_{acc} определяется величиной $S_{\text{n}}W$, где S_{n} — площадь входных отверстий всех пор в сорбенте, а W — вероятность того, что линейные размеры макромолекулы окажутся меньше соответствующих размеров входных отверстий пор. Для клубкообразных макромолекул в соответствии с опытами Кантона и Джонсона [11] целесообразно считать доступными поры, линейные размеры которых не меньше расстояния h между концами полимерной цепочки. Тогда, предполагая входные отверстия пор круглыми, по аналогии с де-Бризом [2] запишем

$$\tilde{S}_{\text{acc}} = S_{\text{n}} - \int_0^{\beta h^2} \varphi(s) ds \quad (19)$$

$$V_{\text{acc}} = V_{\text{n}} - \int_0^{\alpha h^3} \psi(v) dv, \quad (20)$$

где $\varphi(s)$ и $\psi(v)$ — плотности функций распределения пор по размерам входных отверстий и объемам соответственно.

Вводя в описание поры максимального размера, встречающиеся в данном геле, (19), (20) можно переписать в виде

$$\tilde{S}_{\text{acc}} = \int_{\beta h^3}^{s_{\text{макс}}} \varphi(s) ds \quad (21)$$

$$V_{\text{acc}} = \int_{\alpha h^3}^{v_{\text{макс}}} \psi(v) dv \quad (22)$$

Здесь α и β — геометрические константы пор.

Таким образом, средняя вероятность сорбции в единицу времени в элементарном объеме колонки для стационарного случая представляет собой следующую величину

$$\lambda_{\text{b}}^{\text{st}} = \frac{1}{T} \frac{\tilde{S}_{\text{acc}}}{S_{\text{b}}} \frac{V_{\text{acc}}}{V_{\text{n}}} \quad (23)$$

Или, вводя обозначение $\tilde{S}_{\text{acc}} \frac{V_{\text{acc}}}{V_{\text{n}}} \equiv S_{\text{acc}}$ и учитывая, что $T = r^2 / 10D$, получим

$$\lambda_{\text{b}}^{\text{st}} = \frac{10D}{r^2} \frac{S_{\text{acc}}}{S_{\text{b}}} \quad (24)$$

При промывании колонки растворителем следует уточнить, какие макромолекулы считать сорбированными. Дело в том, что часть макромолекул, попавших в поры, но недостаточно в них углубившихся, может быть тут же «вымыта» обратно в канал. Поэтому следует ввести некоторую характерную для каждого сорта макромолекул глубину a проникновения в поры, начиная с которой (при промывании колонки) молекулу можно считать сорбированной, т. е. «попавшей в пору». Тогда, вводя константы ζ_1 и ζ_2 , для вероятности сорбции λ_{b} при промывании получим

$$\lambda_{\text{b}} = \frac{\zeta_1 D}{r^2} \frac{S_{\text{acc}}}{S_{\text{b}}} \exp \left[-\frac{(r+a)^2 u^2}{\zeta_2 D^2} \right] \quad (25)$$

Появление множителя $\exp \left[-\frac{(r+a)^2 u^2}{\zeta_2 D^2} \right]$ в выражении для λ_{b} эквивалентно уменьшению величины S_{acc} или, то же, уменьшению числа пор, доступных для данного сорта макромолекул.

Используя эффективную площадь входных отверстий доступных пор

$$S_{\text{acc}}^{\text{эфф}} \equiv S_{\text{acc}} \exp \left[-\frac{(r+a)^2 u^2}{\zeta_2 D^2} \right], \quad (26)$$

перепишем (25) в виде

$$\lambda_b = \frac{\zeta_1 D}{r^2} \frac{S_{\text{acc}}^{\text{эфф}}}{S_b} \quad (27)$$

Авторы благодарны Ю. Я. Готлибу за интерес к работе и обсуждение ряда вопросов, в ней затронутых.

Выводы

В общем случае хроматографии на пористых сорбентах выражение для вероятности сорбции складывается из величин λ_b и $\lambda_{\text{ад}}$, т. е.

$$\lambda = \lambda_b + \lambda_{\text{ад}}$$

Поскольку «попадание в пору» на некоторое время исключает макромолекулу из потока, возможность сорбции ее внутри поры окажет влияние лишь на время ее пребывания в поре. Это можно учесть с помощью вероятности десорбции, которая здесь не рассматривается.

Анализируя написанное выше выражение для вероятности сорбции λ мы видим, что λ является сложной функцией, определяемой как хроматографическими параметрами опыта, так и специфическими свойствами элюируемых макромолекул. Среди этих свойств следует назвать гидродинамические, отражающие действия сил трения при движении в растворе и учитываемые с помощью коэффициентов диффузии D , а также гибкость макромолекул, которая вносит свой вклад в размеры молекул, и, следовательно, в величину S_{acc} . Молекулярный вес макромолекул, их размеры также связаны с величинами D и S_{acc} . Влияние термодинамических свойств макромолекул на их разделение в хроматографической колонке мы рассмотрим в следующей работе.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
7 VIII 1969

ЛИТЕРАТУРА

1. S. S. Porter, T. Johnson, *Progress in Polymer Sciense*, ed. by A. D. Tenkis, v. 2, Oxford, 1970, p. 203.
2. A. I. de-Vries, *International Symposium on Macromoleculare Chemistry*, Praga, 1963, p. 139.
3. W. W. Yay, C. P. Malone, *J. Polymer Sci.*, 8, B-5, 663, 1967.
4. J. C. Giddings, E. Kučera, C. P. Russell, M. N. Myers, *Preprint, Department of Chemistry, University of Utah Salt Lake City, Utan 84112*.
5. E. Kučera, *J. Chem.*, 19, 237, 1965.
6. J. B. Carmichael, *J. Chem. Phys.*, 49, 5161, 1968.
7. H. Vink, *J. Chromatogr.*, 15, 488, 1964; 18, 25, 1965; 20, 305, 1965; 25, 71, 1966.
8. Б. Г. Беленский, Э. С. Ганкина, *Докл. АН СССР*, 194, 573, 1971.
9. Т. С. Moore, *J. Polymer Sci.*, A2, 835, 1964.
10. Б. Г. Беленский, Л. З. Виленчик, Д. Д. Новиков, *Сб. Новое в методах исследования полимеров*, изд-во «Мир», 1968.
11. M. T. R. Cantow, T. F. Johnson, *Polymer*, 8, 187, 1967.
12. G. Meughoff, *Makromolek. Chem.*, 89, 282, 1965.
13. A. Эйнштейн, *Ann. Phys.*, 17, 549, 1905.
14. А. Н. Колмогоров, *Успехи матем. п.*, 1963, вып. V.
15. С. Чандraseкар, *Стохастические проблемы в физике и астрономии*, Изд-во иностр. лит., 1947.

GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY OF POLYMERS. DETERMINATION OF THE SORPTION PROBABILITY IN CHROMATOGRAPHIC EXPERIMENTS

L. Z. Vilenchik, B. G. Belen'kit

Summary

The random walk of macromolecules in the mobile phase of the chromatographic column is characterized in terms of the mean sorption probability in unit time, which depends on the structural, hydro- and thermodynamic properties of macromolecules, their size, the elution rate, the «porosity» of the sorbent and the degree of interaction with the solvent and macromolecules.