

**ГРАДУИРОВКА ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФА ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ МАССАМ
ПОЛИМЕРА С УЧЕТОМ ПРИБОРНОГО УШИРЕНИЯ**

Таганов Н. Г., Коровина Г. В., Энтелис С. Г.

Разработана новая градуировочная процедура в гель-проникающей хроматографии, основанная на универсальной градуировочной зависимости Бенуа. Градуировка проводится по гель-хроматограммам набора образцов исследуемого полимера произвольного распределения, охарактеризованных лишь значениями характеристической вязкости. При этом учитывается влияние приборного уширения на результаты гель-хроматографического анализа. Приборное уширение задается двухпараметрической моделью, позволяющей учитывать асимметрию функции приборного уширения.

Метод ГПХ нашел в последние годы широкое применение для исследования ММР полимеров, что связано с рядом преимуществ этого метода: сравнительная быстрота анализа, хорошая воспроизводимость результатов, широкий диапазон применимости по молекулярным массам исследуемых полимеров, и, главное, он может давать наиболее полную, по сравнению с другими методами, информацию о ММР полимеров.

Однако ГПХ — это относительный метод, и при применении для определения ММР полимеров он нуждается в использовании других методов охарактеризации ММР для градуировок. Это обстоятельство несколько усложняет применение ГПХ для указанных целей. Другим фактором, затрудняющим интерпретацию данных ГПХ, является статистическое размытие (приборное уширение) элюируемого фронта пробы полимера при прохождении его через гель-хроматографические колонки. Это размытие приводит к тому, что взаимосвязь между реальной гель-хроматограммой и скорректированной на приборное уширение, непосредственно связанный с информацией о ММР, задается уравнением Фредгольма первого рода

$$F(v) = \int_{-\infty}^{+\infty} w(y) G(v, y) dy, \quad (1)$$

где $F(v)$ и $w(y)$ — сырья и скорректированная на приборное уширение гель-хроматограммы $G(v, y)$ — функция приборного уширения. В ГПХ это уравнение обычно называется уравнением Танга.

В общем случае задачу об интерпретации данных ГПХ полимеров можно разделить на три самостоятельные: 1) определение функции приборного уширения; 2) градуировка гель-хроматограмм по молекулярным массам исследуемого полимера; 3) коррекция «сырой» гель-хроматограммы на приборное уширение, т. е. решение уравнения (1) относительно функции $w(y)$. Для решения последнего в настоящее время существует две группы методов. Это, во-первых, методы, связанные непосредственно с численным решением интегрального уравнения (1), с определением скорректированной гель-хроматограммы в явном виде [1—4], и, во-вторых, методы, основанные на аналитическом решении этого уравнения с привлечением градуировочной зависимости, в результате применения которых определяют моменты ММР [5—8]. Этот этап интерпретации данных ГПХ не требует применения независимых методов охарактеризации ММР полимеров.

Функцию приборного уширения в ГПХ можно определять как с использованием данных абсолютных методов определения средних молекулярных масс полимеров [9], так и на основании только данных ГПХ (метод оборачивания потока [10]; метод, основанный на сопоставлении скорректированных гель-хроматограмм исходного образца и его фракций, полученной при гель-хроматографировании [11]). Таким образом, относительность ГПХ связана в основном с градуировкой ГПХ по молекулярным массам.

Как было показано Муром [12] и подтверждено многолетним опытом применения гель-хроматографии, градуировочная зависимость в ГПХ имеет прямолинейный характер в координатах логарифм молекулярной массы полимера — элюентный объем. Действительно, пользуясь гель-хроматографическими колонками фирмы «Waters», всегда можно подобрать такой их набор, что в интересующем исследователя диапазоне молекулярных масс градуировочная зависимость будет линейна. Поэтому в дальнейшем мы будем рассматривать только случай линейной градуировочной зависимости.

Обычно градуировочная процедура сводится к следующему. Имеют набор узких ($M_w/M_n < 1,1$) фракций исследуемого полимера с измеренными независимым методом молекулярными массами, проводят гель-хроматографический анализ этих фракций и, сопоставляя элюентные объемы полученных гель-хроматограмм с логарифмом соответствующей молекулярной массы, определяют искомую связь элюентного объема

с молекулярной массой. В том случае, когда этот подход неосуществим из-за отсутствия требуемого набора узких охарактеризованных фракций исследуемого полимера, используют более сложные методы. Градиуровку проводят либо по набору образцов произвольного распределения с измеренными независимым методом средними молекулярными массами [13], либо используют универсальную градиуровочную зависимость Бенуа [14], полученную обычно, с помощью градиуровочных полистирольных стандартов фирмы «Waters», и набор узких фракций исследуемого полимера с измеренными значениями характеристической вязкости в том же растворителе и при той же температуре, при которых проводится гель-хроматографический анализ. Для тех случаев, когда нет ни того, ни другого, ни третьего, в литературе отсутствуют какие-либо рекомендации, как корректно провести градиуровочную процедуру. Методы, применяемые в подобных случаях, пренебрегают ошибками, связанными с отсутствием учета приборного уширения, и дают лишь приблизительную оценку градиуровочной зависимости.

В связи с этим нами был рассмотрен вопрос о создании корректной градиуровочной процедуры для случая, когда в распоряжении исследователя находятся лишь образцы исследуемого полимера произвольного распределения и ничего не известно об их молекулярно-массовых характеристиках. Для решения этой задачи использовали универсальную градиуровочную зависимость Бенуа [14] и предполагали, что приборное уширение описывается двухпараметрической моделью, предложенной в работе [8]

$$G(v, y) = q \sqrt{\frac{h}{\pi}} \int_y^{\infty} \exp\{-q(x-y) - h(x-v)^2\} dx, \quad (2)$$

где q и h – параметры модели.

Несмотря на кажущуюся сложность этой модельной функции, заданной в виде свертки экспонент с функцией Гаусса, она позволяет получать решение уравнения (1), не менее удобное для практического применения, чем функция Гаусса. Действительно, подставив уравнение (2) в уравнение (1) и применяя к получившемуся уравнению процедуру двустороннего преобразования Лапласа, получим

$$\bar{F}(s) = \frac{q}{q+s} \bar{w}(s) \exp\left\{-\frac{s^2}{4h}\right\}, \quad (3)$$

где $\bar{F}(s)$ и $\bar{w}(s)$ – образцы двустороннего преобразования Лапласа от функций $F(v)$ и $w(y)$ соответственно $\left(\bar{f}(s) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) e^{-st} dt\right)$. Далее, учитывая, что при линейной градиуровочной зависимости средние молекулярные массы можно выразить через отношения преобразований Лапласа функции $w(y)$

$$\bar{M}_k = D_1 \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} w(y) e^{-(k-1)D_2 y} dy}{\int_{-\infty}^{+\infty} w(y) e^{-(k-2)D_2 y} dy} = \frac{\bar{w}((k-1)D_2)}{\bar{w}((k-2)D_2)} D_1, \quad (4)$$

где $\bar{M}_k|_{k=1} = \bar{M}_n$, $\bar{M}_k|_{k=2} = \bar{M}_w$, $\bar{M}_k|_{k=3} = \bar{M}_z$ и так далее; D_1 и D_2 – коэффициенты прямолинейной градиуровочной зависимости вида

$$M = D_1 \exp\{-D_2 v\}, \quad (5)$$

можно получить выражения, связывающие вычисляемые средние молекулярные массы с интегралами от «сырой» гель-хроматограммы

$$\bar{M}_k = \frac{q + (k-1)D_2}{q + (k-2)D_2} D_1 \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} F(v) e^{-(k-1)D_2 v} dv}{\int_{-\infty}^{+\infty} F(v) e^{-(k-2)D_2 v} dv} \exp\left\{-\frac{(3-2k)D_2^2}{4h}\right\} \quad (6)$$

Отметим, что такой подход к учету асимметрии функции приборного уширения в отличие от подхода, предложенного в работе [9], позволяет коррекцию на асимметрию не только \bar{M}_n и \bar{M}_w , но и средних молекулярных масс более высоких порядков.

Выражение (2) можно использовать в качестве модели функции приборного уширения и в случае численного решения уравнения (1) с получением функции $w(y)$ в явном виде. При этом удается избежать интегрирования в выражении (2) для получения функции приборного уширения в табличном виде. Можно разделить решение на два этапа. Сначала можно провести коррекцию на «гауссово» уширение, являющееся составной частью модели (2). Получаемая при этом скорректированная на гауссову компоненту приборного уширения функция $u(y)$ соответствует прообразу двустороннего преобразования Лапласа $F(s)e^{-s^2/4h}$

$$\bar{u}(s) = \bar{F}(s)e^{-s^2/4h} \quad (7)$$

Связь между $\bar{u}(s)$ и $\bar{w}(s)$, получающаяся из уравнения (3), имеет следующий вид:

$$\bar{w}(s) = \left(1 + \frac{s}{q}\right) \bar{u}(s) \quad (8)$$

Далее, переходя от двусторонних преобразований Лапласа к их прообразам, получим

$$w(y) = u(y) + \frac{1}{q} \frac{\partial u(y)}{\partial y}, \quad (9)$$

т. е., скорректированная на гауссово уширение и асимметрию, гель-хроматограмма $w(y)$ относительно просто выражается через гель-хроматограмму $u(y)$, скорректированную только на гауссово уширение.

Таким образом, выражение (2) можно использовать в качестве модели функции приборного уширения в ГПХ наравне с функцией Гаусса, так как все имеющиеся в литературе приемы решения уравнения (1), использующие свойства функции Гаусса, применимы и в случае выражения (2). При этом выражение (2) обладает одним якобы преимуществом: оно позволяет учитывать асимметрию приборного уширения.

Универсальная градуировочная зависимость, связывающая логарифм произведения молекулярной массы на характеристическую вязкость с элюентным объемом, что зависит от природы полимера, что делает ГПХ почти абсолютным методом определения ММР полимеров. Действительно, построив каким-либо способом (например, с помощью набора полистирольных стандартов фирмы «Waters») универсальную градуировочную зависимость, можно с ее помощью определять градуировочные зависимости для любого полимерного вещества, не обращаясь каждый раз к абсолютным методам охарактеризования ММР градуировочных образцов. Достаточно лишь определить их характеристическую вязкость.

Запишем универсальную градуировочную зависимость следующим образом:

$$M[\eta] = G_1 \exp\{-G_2 v\}, \quad (10)$$

где G_1 и G_2 – ее коэффициенты. Искомая градуировочная зависимость для исследуемого полимера описывается уравнением (5). Таким образом, задача сводится к определению значений коэффициентов D_1 и D_2 по известным значениям коэффициентов универсальной градуировочной зависимости G_1 и G_2 , параметрам q и h модели (2) функции приборного уширения и значениям характеристической вязкости набора градуировочных образцов, полученным в тех же условиях, в которых проводится гель-хроматографический анализ (растворитель, температура).

Подставив в уравнение (10) выражение для характеристической вязкости по уравнению Марка – Куна – Хаувинка [15] и M из уравнения (5) и приравняв коэффициенты при различных степенях v , можно получить следующие соотношения между коэффициентами универсальной градуировочной зависимости и искомой

$$G_1 = KD_1^{\alpha+1} \quad (11)$$

$$G_2 = (\alpha+1)D_2, \quad (12)$$

где K и α – коэффициенты уравнения Марка – Куна – Хаувинка для исследуемого полимера при тех же условиях, при которых проводится гель-хроматографический анализ.

Определяя характеристическую вязкость образцов исследуемого полимера и проводя их гель-хроматографический анализ, можно сопоставить экспериментальные значения $[\eta]$ этих образцов с их значениями, полученными из гель-хроматограмм, т. е. теоретическими функциями, описывающими характеристическую вязкость полимерного образца исходя из его гель-хроматограммы

$$[\eta]_i = KD_1^\alpha \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} w_i(y) e^{-\alpha D_2 y} dy}{\int_{-\infty}^{+\infty} w_i(y) dy}, \quad i=1, 2, \dots, N, \quad (13)$$

где i – порядковый номер полимерного образца, $w_i(y)$ – скорректированная на приборное уширение гель-хроматограмма. Используя уравнения (3), (4) и подставляя вместо K и α их выражения из уравнений (11), (12), можно переписать уравнение (13) следующим образом:

$$[\eta]_i^r = \frac{G_1}{D_1} \left(1 + \frac{G_2 - D_2}{q} \right) \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} F_i(v) e^{-(G_2 - D_2)v} dv}{\int_{-\infty}^{+\infty} F_i(v) dv} \exp \left\{ - \frac{(G_2 - D_2)^2}{4k} \right\} \quad (14)$$

Таким образом, $[\eta]_i^r$ является функцией только параметров D_1 и D_2 искомой градуировочной зависимости. Эти параметры могут быть определены минимизацией следующего функционала:

$$\Phi(D_1, D_2) = \sum_{i=1}^N (1 - [\eta]_i^r / [\eta]_i^e)^2, \quad (15)$$

где $[\eta]_i^e$ – экспериментальные значения характеристической вязкости образцов полимера, используемых для градуировки.

Минимизацию этого функционала проводили по итерационной схеме, описанной в работах [16, 17]

$$x_{m+1} = x_m - (B_m + pC_m)^{-1}z_m, \quad (16)$$

где m – номер приближения; x – вектор с координатами $x_1 = D_1$ и $x_2 = D_2$ соответственно; B – матрица второго порядка с элементами: $B_{ij} = \sum_{k=1}^N \frac{\partial f_k}{\partial x_i} \frac{\partial f_k}{\partial x_j}$; C – диагональная матрица, получаемая из B заменой недиагональных элементов нулями;

z – вектор с координатами: $z_i = \sum_{k=1}^N f_k \frac{\partial f_k}{\partial x_i}$; $f_i = 1 - [\eta]_i^r / [\eta]_i^e$; p – фактор сходимости [17]. Производные $\partial f_k / \partial x_i$ в рассматриваемой задаче вычисляли по следующим формулам:

$$\frac{\partial f_k}{\partial D_1} = \frac{1 - f_k}{D_1}, \quad (17)$$

$$\frac{\partial f_k}{\partial D_2} = \left[\frac{G_2 - D_2}{2h} - \frac{1}{q + G_2 - D_2} + \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} v F_k(v) e^{-(G_2 - D_2)v} dv}{\int_{-\infty}^{+\infty} F_k(v) e^{-(G_2 - D_2)v} dv} \right] (f_k - 1) \quad (18)$$

Составленная по этой схеме программа для ЭЦВМ вычисляет параметры градуировочной зависимости по набору из 5–10 образцов исследуемого полимера с определенной характеристической вязкостью по известным параметрам универсальной градуировочной зависимости для рабочих условий гель-хроматографического анализа. Время счета составляет 20–60 мин.

В случае использования функции Гаусса в качестве модели функции приборного уширения в описанной выше градуировочной процедуре необходимо изменить уравнения (14), (18), произведя в них предельный переход при $q \rightarrow \infty$.

Таким образом, используя описанную выше процедуру, можно проводить градуировку гель-хроматографа для любого исследуемого полимера без привлечения таких трудоемких методик, какими являются препаративная хроматография, свето-рассеяние, ультрапентрифугирование или осмометрия. Кроме того, с помощью получаемых значений D_1 и D_2 по уравнениям (11), (12) можно определять коэффициенты уравнения Марка – Кюна – Хаувинка.

ЛИТЕРАТУРА

1. L. H. Tung, J. Appl. Polymer Sci., 10, 375, 1966.
2. K. S. Chang, R. Y. M. Huang, J. Appl. Polymer Sci., 13, 1459, 1969.
3. W. N. Smith, J. Appl. Polymer Sci., 11, 639, 1967.
4. T. Ishige, S.-I. Lee, A. E. Hamielec, J. Appl. Polymer Sci., 15, 1607, 1971.
5. A. E. Hamielec, W. H. Ray, J. Appl. Polymer Sci., 13, 1391, 1969.
6. T. Proverb, E. M. Rosen, Separation Sci., 5, 437, 1970.
7. Н. Г. Таганов, Д. Д. Новиков, Г. В. Коровина, Высокомолек. соед., Б13, 537, 1971.
8. Н. Г. Таганов. В сб. Гель-проникающая хроматография, Черноголовка, ОИХФ АН СССР, 1974, стр. 106.
9. S. T. Bulke, A. E. Hamielec, J. Appl. Polymer Sci., 13, 1381, 1969.
10. L. H. Tung, J. C. Moore, G. W. Knight, J. Appl. Polymer Sci., 10, 1261, 1966.
11. N. G. Taganov, D. D. Novikov, G. V. Korovina, S. G. Entelis, J. Chromatogr., 72, 1, 1972.
12. J. C. Moore, J. Polymer Sci., A2, 835, 1964.
13. A. E. Hamielec, Preceedings of the Eighth International Seminar on Gel Permeation Chromatography, Praga, 1970, p. A1.
14. Z. Grubisic, P. Rempf, H. Benoit, J. Polymer Sci., B5, 753, 1967.
15. Цвет Жанъ-Юанъ, Определение молекулярных весов полимеров, Изд-во иностр. лит., 1962, стр. 45.
16. J. Meiron, J. Opt. Soc. America, 55, 1105, 1965.
17. J. Pitha, J. R. Jones, Canad. J. Chem., 44, 3031, 1966.

A CALIBRATION OF GEL-CHROMATOGRAPH WITH RESPECT OF MOLECULAR MASS OF POLYMER TAKING INTO ACCOUNT THE INSTRUMENT WIDENING

Taganov N. G., Korovina G. V., Entelis S. G.

Summary

A new calibrating procedure in gel-permeating chromatography based on the universal calibrating Benoit's dependence, has been elaborated. The calibration is carried out following the gel-chromatograms for the set of specimens of polymer under study that has an arbitrary distribution characterized by just the values of intrinsic viscosity. Moreover, the influence of an instrument widening on the results of gel-chromatographical analysis is taken into account. The instrument widening is given by a two-parameter model that allows to account an assymetry of function of instrument widening.
