

отыскивать линейную калибровочную зависимость, но и регулировать ее эффективность (наклон). При этом часто оказывается, что увеличение мультимодальности распределений по размерам пор сорбентов приводит к менее эффективной калибровке. Поэтому при выборе сорбента надо стремиться удовлетворить требованиям калибровки, связанным не только с ее линейностью, но и с эффективностью.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
30 VII 1979

Литература

1. H. Benoit, Z. Grubisic, P. Rempp, D. Decher, I. Zilliox, J. chim. phys. et phys.-chim. biol., 63, 1507, 1966.
2. E. Casassa, J. Polymer Sci., B5, 773, 1967.
3. W. Yau, C. Malone, H. Suchan, Sep. Sci., 5, 259, 1970.
4. П. П. Нefедов, Кандидатская диссертация, Ленинград, ИВС АН СССР, 1973.
5. Б. Г. Белен'кий, Л. З. Виленчик, Хроматография полимеров, «Химия», 1978, стр. 185.
6. W. Yau, G. Ginnard, J. Kirkland, J. Chromatogr., 149, 465, 1978.
7. Л. З. Виленчик, О. И. Куренбин, Т. П. Жмакина, Б. Г. Белен'кий, Докл. АН СССР, 250, 381, 1980.

THE CHOICE OF A SORBENT WITH LINEAR CALIBRATING DEPENDENCE IN THE GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY

Vilenchik L. Z., Kurenbin O. I., Zhmakina T. P., Belen'kit B. G.

Summary

On the basis of an universal dependence for distribution coefficient Kd upon the relation between dimensions of macromolecules and of sorbent pores the approach to sorbent choice has been proposed, which guarantees the choice of the closest to linear unique calibrating dependence Kd on logarithm of polymer molecular mass within the given interval of the later.

УДК 541.64:543.544

НОВЫЙ МЕТОД КОРРЕКЦИИ ХРОМАТОГРАММ НА ПРИБОРНОЕ УШИРЕНИЕ

Виленчик Л. З., Куренбин О. И., Чубарова Е. В.,
Жмакина Т. П., Несторов В. В., Белен'кий Б. Г.

Предложен машинный метод коррекции хроматограмм на приборное уширение. В его основе лежит калибровка хроматографа по четырем первым моментам хроматографических пиков и выбор в качестве функции приборного уширения распределений из семейства Пирсона.

В настоящее время одним из наиболее распространенных методов анализа ММР полимеров является ГПХ. Получаемые в ней элюционные кривые, хроматограммы, содержат исчерпывающую информацию о ММР, ММ, размерах молекул и полидисперсности исследуемых полимерных образцов.

Однако интерпретация получаемых данных далеко нетривиальна, ее сложность заключается в том, что хроматограммы отражают не истинное распределение по ММ, а искаженное, поскольку при хроматографическом анализе наряду с разделением полимергомологов происходит размывание их зон, называемое приборным уширением.

В зависимости от задач, стоящих перед анализом, интерпретацию хроматографических данных проводят на разных уровнях точности. Так в промышленном анализе чаще всего важно знать область средних ММ и полидисперсность 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 ин-

терпретации. Он может быть легко и быстро осуществлен без привлечения электронно-вычислительной техники. Допускаемая при этом погрешность на 5–30% (в зависимости от эффективности хроматографической системы и 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 коррекции. Дело в том, что при такой интерпретации приходится решать интегральное уравнение Фредгольма первого рода, ядро которого $G(V, V')$ (его часто называют функцией приборного уширения) описывает размытие зон полимергомологов в хроматографической системе

$$F(V) = \int_{V_1}^{V_2} f(V') G(V, V') dV' \quad (1)$$

Здесь $F(V)$ – экспериментальная хроматограмма, записанная как функция удерживаемого объема V . Решение уравнения (1) (функцию $f(V')$) можно рассматривать как хроматограмму, откорректированную на приборное уширение. При этом очевидно, что за диапазон $[V_1, V_2]$ изменения V' может быть взят интервал, на котором хроматограмма $F(V)$ не равна нулю.

Аналитический вид ядра уравнения (1) $G(V, V')$ в ряду 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 «нижнем уровне», в качестве $G(V, V')$ обычно используют функцию Гаусса, которая с точки зрения математики «удобна» в обращении, а с точки зрения хроматографии достаточно близка к «истинной» [1]. Это второй уровень интерпретации, более высокий, чем первый, при котором вообще не делается коррекция на приборное уширение. На втором уровне значения средних ММ определяются на 5–20% точнее, по сравнению с первым.

В прецизионных случаях, когда требуются предельно точные определения ММР и средних ММ полимеров, практикуется третий, более 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 (его склонность – skewing) [2–4]. Учет склонности и связанная с ней дополнительная коррекция средних ММ приводят к повышению точности в их определении еще на 3–7%, по сравнению со вторым уровнем интерпретации [5]. При этом следует подчеркнуть, что коррекция хроматограмм на симметрию, проводимая на третьем уровне интерпретации, обычно проводится не в отношении ММР, а только средних ММ.

В связи с этим представляют интерес 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. Поиску таких функций посвящен ряд работ, вышедших в последнее время [6–11]. Этот же вопрос рассмотрен и в настоящей работе. Достигнутый здесь успех позволяет говорить о четвертом, более высоком, уровне интерпретации данных хроматографического анализа.

В данной работе предлагается принципиально новая интерпретационная методика, позволяющая получать результаты в пределах воспроизводимости хроматографического эксперимента, полностью исключая погрешности, связанные с приборным уширением.

В основе предлагаемой методики лежит доказанный ранее [7] цирсоновый характер хроматографического размытия, в соответствии с которым каждый полимергомолог, проходя через хроматографическую колонку, размывается, образуя кривую, представляющую собой одно из распределений семейства Пирсона. Это семейство распределений наиболее часто встречается при описании физических явлений и может быть полностью охарактеризовано своими первыми четырьмя статистическими моментами. Поэтому, отыскав четыре момента хроматографического размытия во всем диапазоне удерживаемых объемов V , можно для каждого значения V найти распределение Пирсона, характеризующее соответствующее хроматографическое размытие.

Для получения моментов распределения сделано предположение, что узкодисперсные полимерные стандарты, используемые для калибровки хроматографа, в пределах погрешности ГПХ можно рассматривать как логарифмически нормальные (в наших экспериментах использовали полистирольные стандарты фирмы «Waters»).

$$W(M) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} \sigma_M} \cdot \frac{1}{M} \exp \left[-\frac{(\ln M - \mu)^2}{2\sigma_M^2} \right] \quad (2)$$

Параметры этого распределения $\mu = \ln M$ (среднее значение $\ln M$) и дисперсия σ_m^2 связаны со средновесовой и среднечисленной ММ следующими соотношениями:

$$\bar{M}_w = \exp[\mu + \sigma^2/2] \quad (3)$$

$$\bar{M}_n = \exp[\mu - \sigma^2/2] \quad (4)$$

Таким образом, зная маркировочные значения стандартов \bar{M}_w и \bar{M}_n , легко найти μ и σ_m^2

$$\mu = \frac{1}{2} \ln(\bar{M}_w \cdot \bar{M}_n) \quad (5)$$

$$\sigma_m^2 = \ln(\bar{M}_w / \bar{M}_n) \quad (6)$$

и, следовательно, ММР (2). Используя калибровку данной хроматографической системы и найденное ММР, можно при помощи стандартной операции замены переменной M на V получить хроматограмму, которая соответствовала бы данному стандарту в отсутствие хроматографического размывания. Сравнивая эту хроматограмму, лишенную размывания, с реальной, можно найти разности их статистических моментов μ_i ($i=2, 3, 4$), каждый из которых можно рассматривать как соответствующий момент μ_i функции $G(V, V')$, описывающей размывание в колонке полимергомологов, хроматограммы которых в отсутствие размывания представляются δ -функциями. Проделав эту процедуру со всеми калибровочными стандартами, можно получить значения высших моментов размывания во всем диапазоне удерживаемых объемов. В результате, наряду с обычной калибровкой хроматографа по максимумам хроматографических пиков, мы получаем калибровку по их первым четырем моментам. В соответствии с результатами работы [12], эта калибровка (по высшим моментам) является универсальной для данной хроматографической системы, т. е. пригодной для любых, исследуемых методом ГПХ, полимеров. Точность определения высших моментов меньше, чем для первого момента. Однако появляющиеся при определении моментов относительные погрешности Δ связаны с погрешностью в определении как абсциссы Δ_x , так и ординаты Δ_y соответствующих точек хроматографических пиков

$$\Delta = \Delta_x + \Delta_y, \quad \Delta_x = 0,1\Delta_y \quad (7)$$

Погрешность Δ_y общая для всех моментов, а Δ_x увеличивается вместе с номером момента. Для второго момента она вдвое больше, чем для первого, для третьего – втрое и т. д. Но из уравнений (7) видно, что даже для четвертого момента вклад Δ_x в Δ меньше половины. А если учесть, что в современном хроматографическом эксперименте Δ_y порядка 2–3%, становится ясным, что погрешность в определении значений высших моментов не превышает допустимых норм (как и погрешность в определении первого момента). Поскольку статистические моменты μ_i функции $G(V, V')$ являются разностями моментов реальной хроматограммы и «лишенной» приборного уширения, погрешность $\tilde{\Delta}$ в их определении может быть выше Δ

$$\tilde{\Delta} = \tilde{\Delta}\mu_i / \mu_i = 2\Delta\mu_i / \mu_i \cdot \mu_i / \tilde{\mu}_i = 2\mu_i / \tilde{\mu}_i \cdot \Delta \quad (8)$$

Тем не менее строгий анализ показывает, что ввиду малости поправок, связанных с коррекцией на приборное уширение (для ММ они не превышают 10%), вклад погрешности $\tilde{\Delta}$ в ММР и средние ММ мал. Его оценка дает $\Delta M/M < 0,1\tilde{\Delta}$.

Таким образом, коррекция хроматограммы на размывание может быть проведена на основе решения уравнения (1), где в качестве ядра используют распределения из семейства Пирсона. При такой трактовке реальная хроматограмма рассматривается как суперпозиция распределений Пирсона, которые восстанавливаются по значениям их моментов, взятых из калибровочных зависимостей при определенных значениях удерживаемых объемов в пределах промтограммы. Аппроксимация хроматограмм этой суперпозицией осуществляется на ЭВМ по специально разработанной программе. Найденные таким образом статистические веса распределений Пирсона, входящих в данную суперпозицию, являются ординатами хроматограмм, скорректированных на хроматографическое размывание. При этом следует ограничить абсциссы распределений Пирсона пороговыми значениями, определяемыми чувствительностью приборов и погрешностью эксперимента, что и делалось в наших расчетах.

Будем искать решение уравнения (1) в метрическом пространстве непрерывных функций $C[V_1, V_2]$ с чебышевской метрикой [13]. Необходимо отметить, что в общем случае постановка задачи о решении интегрального уравнения Фредгольма первого рода не является корректной [14]. Однако ее можно сделать корректной, если показать, что для точного значения $F(V)$ существует единственное решение $f(V')$, принадлежащее компактному множеству \mathfrak{M} из $C[V_1, V_2]$.

Существование единственности решения $f(V')$ докажем следующим образом. Предположим, что существуют два решения уравнения (1): $f_1(V')$ и $f_2(V')$. Тогда

функция $f_3 = f_1 - f_2$ является решением однородного уравнения

$$\int_{V_1}^{V_2} f_3(V') G(V, V') dV' = 0 \quad (9)$$

Поскольку функция $G(V, V')$ неотрицательна, то чтобы удовлетворить уравнению (9), функция $f_3(V')$ должна быть либо нулем, либо знакопеременной функцией. Пусть $[V_1, V_2]$ – область, в которой функция $f_3(V')$ знакопостоянна (например, неотрицательна). Выберем в качестве V такой удерживаемый объем V^* , для которого функция $G(V^*, V')$, как функция от V' , равна нулю в области $[V_2, V_3]$ и

Рис. 1. Калибровка хроматографа по первому моменту хроматограмм μ_1

Рис. 2. Калибровка хроматографа по высшим моментам μ_i ; $i: 2 (1)$, $3 (2)$, $4 (3)$

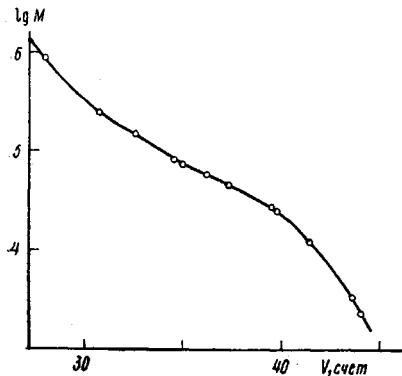


Рис. 1

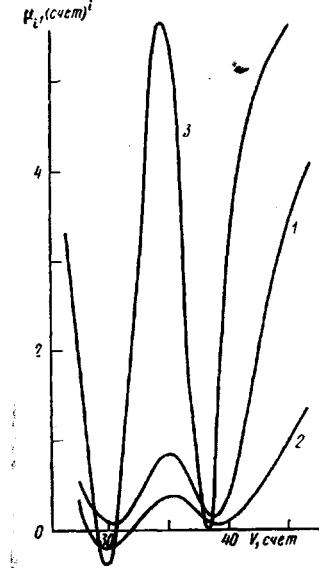


Рис. 2

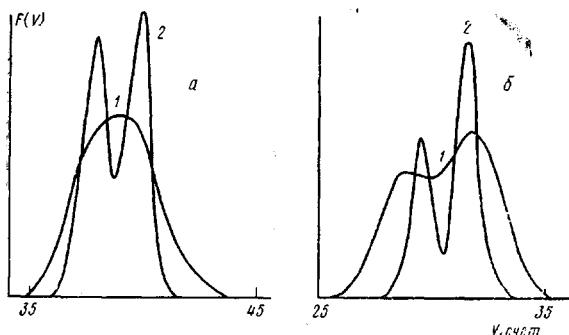


Рис. 3. Хроматограммы смеси I (таблица) (a) и смеси II (б); 1 – экспериментальная, 2 – откорректированная

положительна в области $[V_1, V_3]$. Тогда, поскольку равенство (9) должно выполняться тождественно при всех V , т. е. в том числе и для V^* , можно записать

$$\int_{V_1}^{V_2} f_3(V') G(V^*, V') dV' = \int_{V_1}^{V_2} f_3(V') G(V^*, V') dV' + \int_{V_3}^{V_2} f_3(V') G(V^*, V') dV' \quad (10)$$

Второе слагаемое в уравнении (10) обращается в нуль, так как в области $[V_3, V_2]$ функция $G(V^*, V')=0$. В первом же слагаемом подынтегральное выражение неотрицательно. Следовательно, в области $[V_1, V_3]$ должно выполняться условие: $f_3(V')=0$. Продолжая эти рассуждения, можно показать, что $f_3(V')=0$ во всей области $[V_1, V_2]$. Таким образом, единственность решения уравнения (1) доказана. Численное решение уравнения (1) осуществляли на ЭВМ методом перебора функ-

ций $f(V')$ в некотором множестве \mathfrak{M} , выбор которого основывали на физических соображениях, накладывающих ограничения на вид функций $f(V') \in C[V_1, V_2]$. Этот метод заключается в решении прямой задачи для данного класса корректности \mathfrak{M} с последующей минимизацией невязки [14], т. е. модуля разности величин, стоящих в левой и правой частях уравнения (1).

Описанную методику применяли для характеристики хроматографической системы, состоящей из четырех колонок, и анализа на ней ряда стандартных полимеров и их механических смесей. Эксперименты проводили на жидкостном хроматографе ХЖ-1304 при скорости элюции 50 мл/час. В качестве элюента использовали ТГФ. Колонки длиной 60 см и внутренним диаметром 0,4 см из нержавеющей стали были упакованы макропористыми стеклами со средним диаметром частиц 25-

Результаты обсчета хроматограмм стандартов и их смесей

Анализируемые образцы	Стандартные средние ММ		Рассчитанные средние ММ								
	M_w	\bar{M}_n	без коррекции				с учетом коррекции				
			\bar{M}_w	\bar{M}_w	\bar{M}_n	$u = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} \cdot \frac{u_0}{u_0 - 100\%}$	\bar{M}_w	\bar{M}_n	$u = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} \cdot \frac{u_0}{u_0 - 100\%}$		
ПС-9 800	10 000	9600	1,042	9700	5450	1,780	70,9	10 300	9550	1,078	3,5
ПС-20 500	20 800	20 000	1,040	18 500	15 000	1,233	18,6	21 050	20 300	1,037	0,3
ПС-50 000	51 000	49 000	1,041	52 700	46 450	1,135	9,0	50 050	48 050	1,042	0,1
ПС-193 000	200 000	193 000	1,036	188 500	167 750	1,124	8,5	197 350	188 300	1,048	1,2
ПС-450 000	498 000	404 000	1,233	491 600	400 100	1,229	0,3	492 000	401 000	1,227	0,5
Смесь I*	28 300	24 800	1,141	28 600	22 600	1,265	10,3	29 900	28 000	1,159	1,6
Смесь II*	350 200	261 950	1,337	336 200	226 000	1,488	11,3	350 200	256 500	1,365	2,1

* 51,0% ПС-20 500 + 49,0% ПС-34 500; ** 49,6% ПС-193 000 + 50,4% ПС-450 000.

32 мкм. Диаметр пор стекол в каждой из колонок был следующим: 180, 120, 45, 26 мкм. Концентрация пробы составляла 1 мг/мл.

На рис. 1 и 2 показаны калибровочные зависимости первых четырех моментов, найденные для этой системы. Сложный вид зависимости для высших моментов вызван нелинейным характером, изгибами калибровки $\lg M$ по первому моменту. Обсчет хроматограмм стандартов и их смесей привел к результатам, которые представлены в таблице.

На рис. 3 показаны хроматограммы механических смесей стандартных ПС, дающие соответственно унимодальный и бимодальный пики, а также их вид после проведения коррекции на приборное уширение. Характеристики компонентов первой смеси: $\bar{M}_w=20 800$, $\bar{M}_n=20 000$ и $\bar{M}_w=36 000$, $\bar{M}_n=33 000$. Характеристики компонентов второй смеси: $\bar{M}_w=200 000$, $\bar{M}_n=193 000$ и $\bar{M}_w=498 000$, $\bar{M}_n=404 000$. Весовые соотношения компонентов в смесях: $q_1=0,51$, $q_2=0,49$; $q_1=0,496$ и $q_2=0,504$ соответственно. Как видно из рисунка, нескорректированные на размытие хроматограммы не дают правильной информации о составе смесей. Данные таблицы также показывают, что значения \bar{M}_w , \bar{M}_n , \bar{M}_w/\bar{M}_n искажаются на 20–40% независимо от полидисперсности. В то же время из рис. 3 и данных таблицы видно, что скорректированные на размытие хроматограммы правильно отражают состав анализируемых смесей и дают для них значения молекулярно-массовых характеристик \bar{M}_w , \bar{M}_n , \bar{M}_w/\bar{M}_n (таблица), отличаются от заранее рассчитанных, т. е. истинных, не более чем на 2–3%.

В заключение отметим, что слишком большое отклонение полидисперсности от заданной для ПС-9800 объясняется выходом соответствующей ему хроматограммы в области удерживаемых объемов, в которой резко ухудшается селективность хроматографической системы (область, близкая пределу проницаемости хроматографической системы). По этой же причине для ПС-9800 наблюдается наибольшее отклонение и для скорректированной полидисперсности от заданной.

Институт высокомолекулярных соединений АН СССР

Поступила в редакцию
13 VIII 1979

Литература

1. L. H. Tung, J. Appl. Polymer Sci., 10, 375, 1966.
2. A. Hamielec, W. Ray, J. Appl. Polymer Sci., 13, 1319, 1969.
3. K. Chahg, R. Huang, J. Appl. Polymer Sci., 16, 329, 1972.
4. D. D. Novikov, N. G. Taganov, G. V. Korovina, S. G. Entelis, J. Chromatogr., 53, 117, 1970.
5. S. Balke, A. Hamielec, J. Appl. Polymer Sci., 13, 1381, 1969.
6. E. Rosen, T. Proder, Separation Sci., 5, 485, 1970.
7. Л. З. Виленчик, Б. Г. Беленький, М. А. Александров, Л. С. Рейфман, Высокомолек. соед., А18, 946, 1976.
8. R. V. Mehta, R. L. Merson, B. J. Mc'Coy, J. Chromatogr., 88, 1, 1974.

9. J. J. Kirkland, W. W. Jau, H. J. Stoklosa, C. H. Dilks, J. Chromatogr. Sci., 15, 303, 1977.
10. E. Grushka, Anal. Chem., 44, 1733, 1972.
11. Б. Г. Беленъкий, Л. З. Виленчик, Хроматография полимеров, «Химия», 1978.
12. Л. З. Виленчик, В. И. Колегов, Б. Г. Беленъкий, Ж. физ. химии, 46, 114, 1972.
13. Л. А. Люстерник, В. И. Соболев, Элементы функционального анализа, «Наука», 1965.
14. А. Н. Тихонов, В. И. Иванов, М. М. Лаврентьев, В кн. Дифференциальные уравнения с частными производными, «Наука», 1970, стр. 224.
-

A NEW METHOD OF CHROMATOGRAPHY CORRECTION
ON THE INSTRUMENTAL WIDENING

Vilenchik L. Z., Kurenbin O. I., Chubarova Ye. V., Zhmakina T. P.,
Nesterova V. V., Belen'kit B. G.

Summary

The computer method of chromatogram correction on the instrumental widening has been proposed. Its basic conception consists in a chromatograph calibration according to four first moments of chromatographic peaks and the choice of a distribution from the Pearson's functions family as the function of the instrumental widening.
