

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 541.64 : 543.544

ТРЕБОВАНИЯ К ЭФФЕКТИВНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ АНАЛИЗЕ ПОЛИМЕРОВ*Виленчик Л. З., Куренбин О. И., Беленький Б. Г.*

Сформулированы требования, предъявляемые к высококачественной хроматографической системе при анализе полимеров. Найдены значения эффективности такой системы, удовлетворяющие заданной точности анализа и визуальному разделению интересующих компонентов. Сделана оценка допустимой асимметрии хроматографических пиков.

При анализе полимеров методом эксклюзационной хроматографии эффективность хроматографической системы в зависимости от поставленной задачи должна удовлетворять одному из следующих двух требований. Если результатом анализа является определение ММР и средних молекулярных масс (СММ) полимерных образцов, то эффективность системы должна быть такой, чтобы обеспечивать приемлемую точность при расчете этих величин. Если же необходимо определить наличие в образце двух (или нескольких) компонентов, то желательно, чтобы они наблюдались визуально на хроматограмме. В данной работе мы рассмотрим, какой эффективность должна обладать хроматографическая система, удовлетворяющая каждому из этих требований.

Требования к эффективности при определении ММР и СММ полимеров. Известно, что точность при измерении СММ полимеров классическими методами (седиментацией, светорассеянием, осмометрией) обычно не превышает 5% [1], т. е. $(\Delta M/M)_{\text{кп}} \geq 5\%$. Используемые в хроматографии для калибровки хроматографических систем. Применение систем с линейной калибровкой по логарифму молекулярной массы $\lg M$ [2] позволяет при высокой воспроизводимости хроматографических данных (в пределах 0,5% по временем удерживания) снизить погрешность калибровочной зависимости $(\Delta M/M)_{\text{кп.к.}}$, идущую от абсолютных методов, до 1–1,5%

$$\left(\frac{\Delta M}{M_{\text{кп.к.}}} \right) = \left(\frac{\Delta M}{M} \right)_{\text{кп.к.}} \cdot \frac{1}{\gamma n}, \quad (1)$$

где n – число стандартов, по которым строится калибровочная зависимость в хроматографии. Поэтому основная неточность в определении СММ хроматографическим путем обусловлена размыванием образцов при хроматографировании, т. е. так называемым приборным уширением [3]. Повышение эффективности хроматографической системы уменьшает размывание и снижает эту погрешность. Хроматографическую систему целесообразно считать достаточно эффективной (высококачественной), если при определении СММ погрешность, связанная с приборным уширением хроматограмм, не превышает ~5%. Для оценки эффективности высококачественной системы можно воспользоваться полученной в работе [4] связью средних молекулярных масс $M_k(0)$ и $M_k(\sigma)$, рассчитываемых соответственно из хроматограмм, скорректированных и нескорректированных на приборное уширение

$$M_k(\sigma) = M_k(0) \exp \left[(3-2k) \frac{\sigma^2 \ln^2 10}{C_2^2} \frac{1}{2} \right], \quad (2)$$

где подстрочный индекс k отражает вид усреднения ($k=1$ соответствует среднечисленной ММ, $k=2$ – средневесовой, $k=3-z$ – средней и т. д.), σ^2 – дисперсия хроматограммы.

Разложив экспоненту из уравнения (2) в ряд и ограничившись двумя первыми членами разложения, для $k=1$ и 2 получим

$$\frac{\Delta M_k}{M_k} = \frac{M_k(\sigma) - M_k(0)}{M_k(\sigma)} \approx \frac{1}{2} \ln^2 10 \frac{\sigma^2}{C_2^2} \quad (3)$$

Задаваясь 5%-ной погрешностью в определении величины M_k [5], найдем условие

$$\frac{\sqrt{N}}{C_1/C_2 - \lg M} \geq 7,3, \quad (4)$$

связывающее эффективность хроматографической системы $N = V^2/\sigma^2$ с коэффициентами линейной молекулярно-массовой калибровочной зависимости удерживаемых объемов V

$$V = C_1 - C_2 \lg M \quad (5)$$

Удовлетворение неравенства (4) является признаком высокого качества хроматографической системы.

Нетрудно убедиться, что отношение C_1/C_2 растет вместе с шириной диапазона $\lg M$. Следовательно, для удовлетворения неравенства (4) необходимо повышать эффективность N , при которой хроматографическая система может рассматриваться как высококачественная.

Построив зависимость коэффициента распределения K_d от $\lg M$ (как на рис. 1),

$$K_d = A - B \lg M, \quad (6)$$

найдем, что в широком диапазоне $2 \leq \lg M \leq 7$ отношение $C_1/C_2 = 12$, а соответствующая ему величина $N = 19000$. В более узком диапазоне $2 \leq \lg M \leq 6$ эти значения существенно другие: $C_1/C_2 = 10$, $N = 9500$. В обоих случаях значения N найдены для

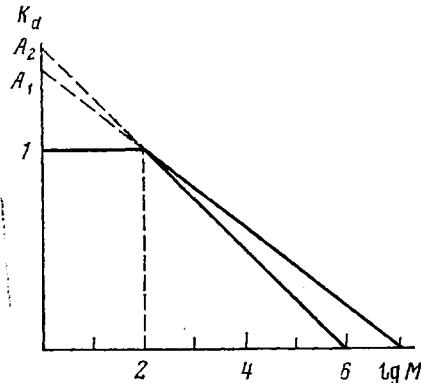


Рис. 1

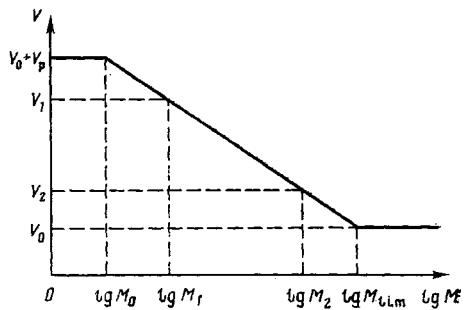


Рис. 2

Рис. 1. Линейная зависимость коэффициента распределения от $\lg M$ полимера в разных диапазонах MM

Рис. 2. Линейная зависимость объемов элюции от $\lg M$ полимера

высокомолекулярного вещества со значением $\lg M = 5$ и затем пересчитаны для вещества с $K_d = 1$. При этом на границах каждого из двух рассмотренных диапазонов MM величине K_d присваивались значения 1 и 0¹. Определяя коэффициент C_2 с помощью равенства

$$C_2 = \Delta V / \Delta \lg M, \quad (7)$$

где ΔV и $\Delta \lg M$ — малые приращения удерживаемых объемов и соответствующих им значений $\lg M$, нетрудно на основании неравенства (4) получить формулу

$$SN^{1/2} \geq 7,3 \frac{\Delta M}{M} \cdot \frac{1}{\ln 10}, \quad (8)$$

в которой $S = \Delta V / V$ и учтено, что

$$\Delta \lg M = \frac{\Delta M}{M} \cdot \frac{1}{\ln 10}$$

Полагая (как и выше) $\Delta M / M = 0,05$, найдем

$$SN^{1/2} \geq 0,365, \quad (9)$$

что для коэффициента разрешения системы K_R дает

$$K_R \cong \frac{\Delta V}{4\sigma} = \frac{1}{4} SN^{1/2} \geq 0,091 \quad (10)$$

Полученным неравенствам (9) и (10) должна удовлетворять хроматографическая система высокого качества. Это требование следует понимать следующим об-

¹ Этот расчет сделан в оптимальных условиях для низкомолекулярного вещества с $K_d = 1$, когда размывание его зоны, по данным работы [4], примерно в 7 раз меньше, чем для полимера с $M = 10^5$.

разом: компоненты с ММ, различающимися на 5% (т. е. на пределе погрешности), должны разделяться с разрешением не менее 0,09.

Таким образом, в ГПХ хроматографическая система высокого качества характеризуется линейной калибровочной зависимостью (5), ее эффективность удовлетворяет неравенству (4), а селективность и разрешение лимитируются неравенствами (9) и (10).

В качестве примера применения критерия (4) для выбора хроматографической системы нужной эффективности воспользуемся экспериментальными данными работы [6], приведенными в таблице. Видно, что погрешность определения средних молекулярных масс \bar{M}_w и \bar{M}_n , без коррекции хроматограмм на приборное уширение лежит в пределах 5%, если эффективность хроматографической системы удовлетворяет неравенству (4). В противном случае эта погрешность оказывается значительно выше.

Сравнение эффективностей хроматографической системы, наблюдаемых и требуемых для определения средних ММ с погрешностью, не превышающей 5%

$M_p \cdot 10^{-3}$	Маркировочные данные		Данные без коррекции хроматограмм		Погрешность, %		σ^2	C_1	C_2	Экспериментальная величина, N	N, требование по зависимости (6)
	$M_w \cdot 10^{-3}$	$M_n \cdot 10^{-3}$	$M_w \cdot 10^{-3}$	$M_n \cdot 10^{-3}$	$\Delta M_w / M_w$	$\Delta M_n / M_n$					
50,0	51	49,0	52,7	46,50	3,3	5,1	0,8	77,2	28,5	5000	1000
9,8	10	9,6	9,7	5,45	3,0	43,0	1,5	54,0	30,0	5000	10 500

Нелинейность калибровки по $\lg M$, характерная для хроматографической колонки, использованной в работе [6], привела к различной селективности разделения в разных диапазонах ММ. Образец с $M_p = \sqrt{M_w M_n} = 5 \cdot 10^4$ попал в более селективную область, чем образец с $M_p = 9,8 \cdot 10^3$. В результате для первого образца эффективность колонки оказалась достаточной, чтобы удовлетворить критерию (4), а для второго ее явно не хватило, что привело к большой погрешности в определении M_n .

Требование к эффективности системы при необходимости визуального разделения компонентов. Другим критерием качества хроматографической системы может служить визуальное наблюдение разделения двух заданных компонентов. Необходимым условием является наличие на хроматограмме трех экстремумов: двух максимумов и одного минимума между ними. Приводящее к этому разрешение K_R зависит от отношения амплитуд хроматографических пиков компонентов и их дисперсий. Вид такой зависимости далеко не тривиален. Его детальное исследование проведено в работе [7].

Оценка эффективности хроматографической системы, необходимой для достижения визуального разделения, может быть сделана на основании неравенства (10)

$$N \geq 16 (K_R^2 / S^0) (H_M / H) \quad (11)$$

Здесь множитель H_M / H представляет отношение значений высот, эквивалентных теоретическим тарелкам одного из исследуемых компонентов (выходящего из колонки последним) и вещества с $K_d = 1$. Введение этого множителя необходимо, чтобы охарактеризовать эффективность системы по отношению к веществу с $K_d = 1$.

Для системы с линейной калибровкой (5) можно записать

$$S^{-1} = \lg(M_{1\text{lim}}^{\alpha} / M_0^{\alpha-1} M_1) / \lg(M_2 / M_1), \quad (12)$$

где $\alpha = 1 + V_0 / V_p$, $M_{1\text{lim}}$ и M_0 – граничные точки линейной калибровки, а M_1 и M_2 – молекулярные массы полимеров, которые надо визуально разделить (рис. 2).

В случае компонентов с одинаковыми амплитудами хроматографических пиков требуемое для визуального разделения значение $K_R = 1/2$ и для ПС-образцов с $M_1 = 10^4$ и $M_2 = 10^5$ на колонке с линейной калибровкой в диапазоне $M = 10^2 - 10^6$ необходима эффективность $N \sim 1400$ т. т. (т. т. – теоретические тарелки) при отношении $H_M / H = 7$ и $V_p / V_0 = 0,8$. Для аналогичного разделения ПС с $M_1 = 10^5$ и $M_2 = 2 \cdot 10^5$ и $H_M / H = 7$ нужна уже гораздо большая эффективность $N \sim 11 200$ т. т.

Критерии (11), (12) визуального разделения компонентов смеси могут быть проверены по результатам фракционирования искусственно составленных полимерных смесей, полученным в работе [6] и представленным на рис. 3. В соответствии с уравнениями (11), (12) для разделения смеси 1 требуется эффективность порядка 15 000 т. т., а для разрушения смеси 2 – ~4500 т. т. по толуолу, в то время как эффективность колонки составляет ~5000 т. т. В итоге смесь 1 выходит одним пиком, а смесь 2 дает два визуально разделенных пика.

Требования к степени асимметрии хроматографических пиков. Все рассуждения, приведенные выше, основывались на симметричной форме хроматографич-

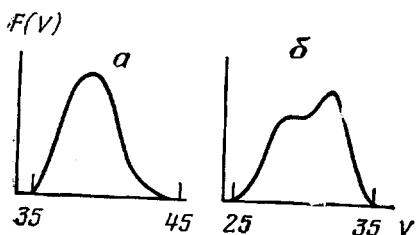


Рис. 3

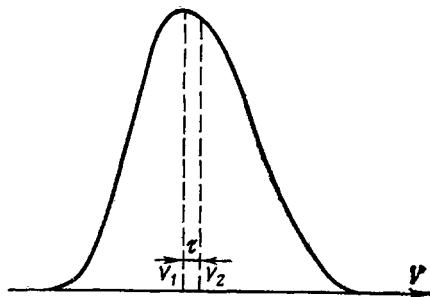


Рис. 4

Рис. 3. Хроматограммы полимерных смесей: a – 51% ПС=20 500+49% ПС=34 500; $б$ – 49,6% ПС=196 000+50,4% ПС=450 000

Рис. 4. Пример асимметричного хроматографического пика, V_1 – удерживаемый объем, соответствующий максимуму пика, V_2 – соответствующий математическому ожиданию пика

ских пиков (в частности, на гауссовой форме). Однако одним из факторов, влияющих на качество анализа и ухудшающим разделение, является асимметрия хроматографических пиков. Незначительность асимметрии – одно из требований, предъявляемых к колонкам высокого качества. Для количественного описания удобно пользоваться фактором асимметрии τ/σ , где τ – сдвиг математического ожидания хроматографического пика относительно положения его максимума (рис. 4) [7]. Этот сдвиг приводит к искажению калибровочной зависимости (5). В результате асимметрии пика возникает дополнительная погрешность $(\Delta M/M)_{ac}$ в определении ММ гомополимеров

$$\left(\frac{\Delta M}{M} \right)_{ac} = \frac{\Delta V}{C_2} = \frac{\tau}{C_2}, \quad (13)$$

которая для колонки высокого качества вместе с погрешностью, вызванной приборным уширением, не должна превышать 5%.

С учетом (4) это условие приводит к неравенству

$$\frac{\tau}{\sigma} \leq 0,4$$

Следовательно, основные характеристики хроматографической системы, и в первую очередь ее эффективность, селективность и разрешение, должны подбираться таким образом, чтобы она удовлетворяла критериям высокого качества и обеспечивала проведение анализа на требуемом уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворах. М.: Наука, 1964, с. 157.
2. Виленчик Л. З., Куренбин О. И., Жмакина Т. П., Беленький Б. Г. Высокомолек. соед. А, 1980, т. 22, № 12, с. 2801.
3. Hamielec A., Ray W. J. Appl. Polymer Sci., 1969, v. 13, № 6, p. 1319.
4. Guiochon G. J. Chromatogr., 1979, v. 185, № 1, p. 3.
5. Нефедов П. П. Дис. на соискание уч. ст. канд. физ.-мат. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1973. 150 с.
6. Виленчик Л. З., Куренбин О. И., Чубарова Е. В., Жмакина Т. П., Нестеров В. В., Беленький Б. Г. Высокомолек. соед. А, 1980, т. 22, № 12, с. 2804.
7. Snyder L., Kirkland J. Introduction to Modern Liquid Chromatography. N. Y.: Wiley – Intersci. Publ., 1979, p. 123.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
20.I.1983

DEMANDS TO EFFICIENCY OF A CHROMATOGRAPHIC SYSTEM DURING ANALYSIS OF POLYMERS

Vilenchik L. Z., Kurenbin O. I., Belen'kii B. G.

Summary

The demands to high-grade chromatographic system during analysis of polymers are formulated. The values of efficiency of such system fulfilling the given accuracy of analysis and visual separation of certain components are found. The possible asymmetry of chromatographic peaks is evaluated.