

# ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том (A) XXVIII

1986

№ 9

УДК 541.64:543.544

## АДСОРБИОННО-ЭКСКЛЮЗИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ МАКРОМОЛЕКУЛ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛА ПРИ ХРОМАТОГРАФИИ

Горбунов А. А., Соловьева Л. Я., Пасечник В. А., Лукьянов А. Е.

Исследованы закономерности хроматографии полиэтиленгликолей на сшитых сополимерных сорбентах Солоза К с варьируемыми гидрофобно-гидрофильными свойствами. Совокупность экспериментальных данных описывается теоретическими зависимостями коэффициента распределения от ММ. Предложено характеризовать хроматографический режим параметром адсорбционного взаимодействия  $\tau$ , являющимся мерой отклонения системы от критических условий. Найдены критические условия, разграничивающие режимы эксклюзионной и адсорбционной хроматографии. Показано, что переход от эксклюзии к адсорбции осуществляется при увеличении содержания в сорбенте гидрофобного компонента, а для сорбентов с фиксированным составом — при уменьшении pH или с ростом температуры. Сделан вывод об определяющей роли гидрофобных эффектов при адсорбции в системе полиэтиленгликоль — Солоза К.

Исследования хроматографического поведения полимеров, интенсивно ведущиеся в последнее время, представляют большой научный и практический интерес. Знания о механизмах взаимодействия макромолекул с пористыми сорбентами важны для целенаправленного проведения хроматографических анализов и процессов разделения полимеров [1, 2], необходимы для интерпретации результатов хроматографического зондирования пористых сред [3, 4].

Экспериментально [5, 6] и теоретически [7—11] установлено, что в зависимости от условий взаимодействия полимера с сорбентом хроматографическое поведение макромолекул может быть трех типов. При эксклюзионной (гель-проникающей) хроматографии на сорбционно-нейтральных пористых материалах коэффициент распределения  $K_d$  уменьшается с ростом молекулярной массы, а для адсорбционной хроматографии характерно резкое увеличение  $K_d$  с ростом ММ. В «критической» хроматографии, которая реализуется при слабых силах притяжения полимера к сорбенту [12], зависимость коэффициента распределения от ММ отсутствует.

Экспериментально переход от эксклюзии к адсорбции при варьировании температуры и состава смешанного растворителя наблюдался в ряде работ [5, 6, 12]. Критические условия были найдены при хроматографии ПС [5, 6] и олигобутадиенов [12] на силикагелях.

Критическая хроматография применена в работе [12] для эффективного разделения олигобутадиенов по функциональности.

В работе представлены результаты систематических экспериментальных исследований хроматографии водорастворимых полимеров — ПЭГ на сорбентах для биомолекулярной хроматографии Солоза К [13, 14] с варьируемыми гидрофобно-гидрофильными составами. В рассматриваемой системе имеются широкие возможности для варьирования условий взаимодействия полимера с сорбентом, что обуславливает применимость сорбентов данного типа для анализа и разделения различных классов биополимеров. Из сопоставления экспериментальных хроматографических данных с теоретическими зависимостями будут определены параметры адсорбционного взаимодействия и проанализированы условия, при кото-

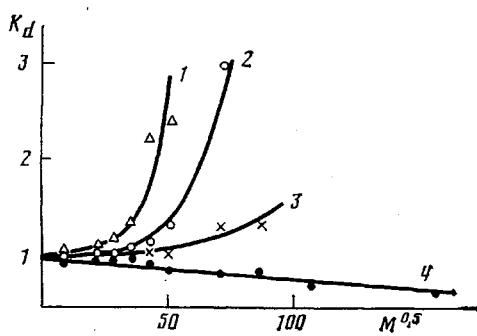


Рис. 1

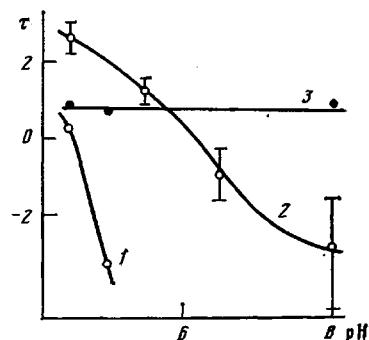


Рис. 2

Рис. 1. Зависимости коэффициента распределения ПЭГ от его ММ при хроматографии на сорбенте Солоза К 33 : 27 (БМА : МАК) со средним диаметром пор 27 нм при 22° и значениях pH 5 (1); 5,5 (2); 6 (3); 6,5 (4). Кривые рассчитаны с использованием формул (2) и (3) при значениях  $\varepsilon/kT = -0,56$  (1);  $-0,41$  (2);  $-0,27$  (3) и  $0$  (4)

Рис. 2. Зависимость параметра взаимодействия  $\tau$  от pH при 22° при хроматографии молекул ПЭГ на сорбентах Солоза К при БМА : МАК = 0 : 60 (1); 33 : 27 (2); 60 : 0 (3)

рых реализуются режимы эксклюзионной, адсорбционной и критической хроматографии.

Изучали хроматографическое поведение 11 фракций ПЭГ производства фирм «Fluka», «Loba», «Merck», «Ferak» с ММ в интервале от 62 ( этиленгликоль) до  $4 \cdot 10^4$ . Использовали также ряд фракций декстранов фирм «Loba», «Farmacia», «Serva» с ММ от 180 (глюкоза) до  $5 \cdot 10^6$ .

Использовали набор сорбентов Солоза К [13, 14], представляющих собой сшитые сополимеры на основе метакриловой кислоты (МАК) и бутилметакрилата (БМА) с постоянным содержанием сшивателя (40%), достаточным для образования прочной пространственной структуры, и варьируемым процентным соотношением БМА : МАК, определяющим гидрофобно-гидрофильные свойства сорбентов. Размеры пор этих сорбентов, измеренные методом ГПХ-порометрии [4], находились в пределах 20–30 нм.

Эксперименты проводили на колонке (4×120) мм при скорости потока 0,2 мл/мин в 0,1 м. фосфатном буфере. В колонку вводили пробы объемом 30 мкл, концентрация ПЭГ в пробах составляла 0,3 вес. %.

Регистрацию хроматограмм осуществляли с помощью проточного рефрактометра «Waters Associates». Элюционные объемы  $V_e$  определяли по максимумам хроматографических пиков, коэффициенты распределения  $K_d$  рассчитывали по формуле

$$K_d = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}, \quad (1)$$

где  $V_0$  – объем подвижной фазы, а  $V_t$  – общий объем жидкости в колонке. Объемы  $V_0$  и  $V_t$  определяли по максимумам хроматограмм не удерживающегося в порах высокомолекулярного декстрина и глюкозы.

При адсорбции ПЭГ на сополимерных сорбентах на основе МАК и БМА можно ожидать нескольких типов взаимодействия. Известно, что при образовании поликомплексов ПЭГ с полиметакриловой кислотой значительную роль играют водородные связи между атомами кислорода оксиэтиленовой цепи и карбоксильными группами поликислоты, существенными оказываются также и гидрофобные взаимодействия между углеводородными радикалами, входящими в состав ПЭГ и ПМАК [15, 16]. Можно ожидать, что введение БМА в матрицы сорбентов Солоза К должно привести к увеличению роли гидрофобных взаимодействий при адсорбции ПЭГ, а варьирование состава сорбентов и условий адсорбции (рН, температура) – к изменению величин и относительных вкладов взаимодействий различных типов, а следовательно, и к вариации суммарного адсорбционного взаимодействия.

Рассмотрим закономерности хроматографии в системе ПЭГ – Солоза К при изменении рН и температуры. На рис. 1 представлены полученные при 22° и различных рН зависимости  $K_d(M^{0.5})$  для ПЭГ на Солозе К 33 : 27 (БМА : МАК). Видно, что  $K_d$  существенно зависит от рН раствора, причем можно выделить две области хроматографического поведения ПЭГ – адсорбционную (для кислых значений рН) и эксклюзионную (для

нейтральных и щелочных рН). Возможность реализации различных механизмов хроматографии на одном сорбенте и вид полученных зависимостей  $K_d$  от ММ качественно согласуется с теоретическими представлениями.

Из работ [7–11] следует, что коэффициент распределения является функцией числа звеньев в полимерной цепи  $N$ , диаметра поры  $D$  и энергии  $\varepsilon$  взаимодействия звена цепи с поверхностью пор сорбента. Согласно работе [9], для решеточной модели гибкоцепной макромолекулы без объемных эффектов и щелевидных пор эта зависимость дается следующей формулой:

$$K_d = D^{-1} \sum_{m,l=1}^D (A^N)_{m,l}, \quad (2)$$

где  $A$  – квадратная матрица размера  $D \times D$ , имеющая вид

$$A = \begin{pmatrix} bq & aq & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ a & b & a & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & a & b & a & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & aq & bq \end{pmatrix} \quad (3)$$

Элементы матрицы  $A$  выражены через коэффициенты  $a=1/6$ ,  $b=4/6$ ,  $q=\exp(-\varepsilon/kT)$ .

По формулам (2) и (3) можно рассчитать зависимости  $K_d$  от числа звеньев  $N$  (или от  $M$ ) для пор с известными размерами  $D$  при различных значениях параметра  $\varepsilon$  и сравнить эти зависимости с экспериментальными данными. Такое сравнение показано на рис. 1. Как видно, экспериментальные зависимости  $K_d$  от  $M$  при всех значениях рН хорошо аппроксимируются теоретическими кривыми при соответствующем подборе значений  $\varepsilon$  в уравнениях (2) и (3). Следовательно, рассмотренная модель может служить не только для качественного описания реальных хроматографических систем. Из сравнения теории и эксперимента могут быть получены параметры взаимодействия полимера с сорбентом.

Параметр адсорбционного взаимодействия  $\tau=(\varepsilon-\varepsilon_0)/\varepsilon_0$ , характеризующий отклонение системы от критических условий ( $\varepsilon_0$  – энергия критического взаимодействия [17]), определяет многие макро- и микроскопические свойства полимеров в порах и на границе раздела фаз: концентрации полимера в подвижной и неподвижной хроматографических фазах, степень связности цепи с поверхностью и толщину приповерхностного полимерного слоя, конформации и структуру адсорбированных молекул и т. д. Положительные значения параметра  $\tau$  отвечают области адсорбционной хроматографии, значения  $\tau<0$  – области эксклюзии (ГПХ), а  $\tau=0$  – критическим условиям.

Из сопоставления эксперимента и теории для каждого значения рН получены значения параметра  $\tau$ , обеспечивающие наилучшую аппроксимацию экспериментальных данных теоретическими зависимостями (2) и (3). Эту задачу решали на ЭВМ, минимизируя сумму квадратов отклонений экспериментальных точек от расчетных кривых.

На рис. 2 представлены зависимости параметра взаимодействия от рН для сорбентов Солова К различного состава. Видно, что для сорбента, не содержащего МАК, хроматография молекул ПЭГ происходит по адсорбционному механизму во всей области исследованных рН. Для сорбента, не содержащего БМА, а также для сорбента с соотношением компонентов БМА : МАК = 33 : 27 при изменении рН меняется знак  $\tau$ , что соответствует переходу от адсорбционной хроматографии к ГПХ. Из условия  $\tau=0$  для этих двух сорбентов найдены критические значения рН<sub>0</sub> 4,6 (Солова К 0 : 60) и рН<sub>0</sub> 6,2 (Солова К 33 : 27).

Зависимости, подобные приведенным на рис. 1, получены и при постоянном рН, но при варьировании температуры. Путем аппроксимации

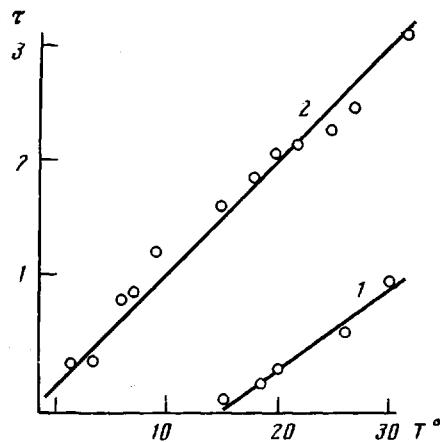


Рис. 3

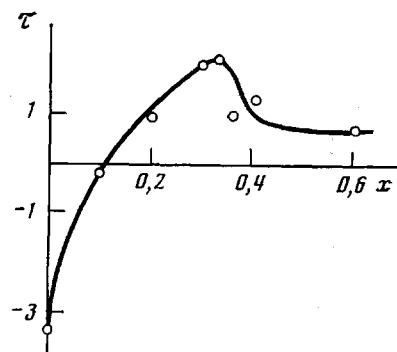


Рис. 4

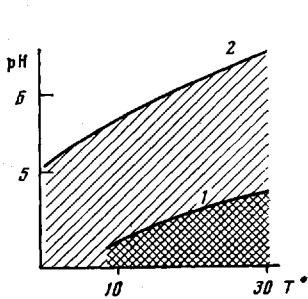


Рис. 5

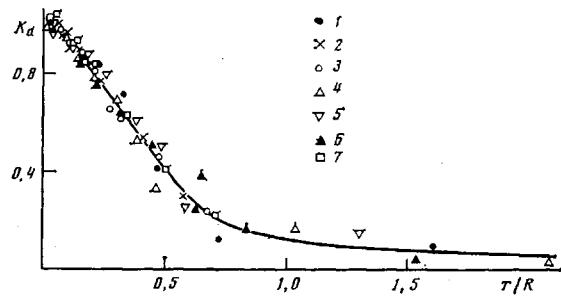


Рис. 6

Рис. 3. Температурная зависимость параметра взаимодействия ПЭГ с сорбентами Солоз К при pH 5. БМА : МАК = 0 : 60 (1) и 33 : 27 (2)

Рис. 4. Зависимость параметра взаимодействия  $\tau$  от доли БМА  $x$  в сорбентах Солоз К для молекул ПЭГ при  $22^\circ$  и pH 5

Рис. 5. Взаимосвязь критических значений pH и температуры в системе ПЭГ : Солоз К = 0 : 60 (1) и 33 : 27 (2)

Рис. 6. Зависимость коэффициента распределения  $K_d$  от отношения радиуса молекул  $r$  к радиусу пор  $R$  в условиях подавленной адсорбции. 1 – декстран : Солоз К = 33 : 27, pH 8,  $22^\circ$ ; 2 – декстран – Солоз К = 33 : 27, pH 5,  $22^\circ$ ; 3 – декстран : Солоз К = 0 : 60, pH 8,  $22^\circ$ ; 4 – декстран – спиватель, pH 5,  $22^\circ$ ; 5 – ПЭГ – Солоз К = 33 : 27, pH 8,  $8^\circ$ ; 6 – ПЭГ : Солоз К = 0 : 60, pH 5,  $22^\circ$ ; 7 – ПЭГ – Солоз К = 33 : 27, pH 5,  $22^\circ$  при добавлении 0,5 м. тритона X-100

этих данных теоретическими кривыми для каждого значения температуры были определены значения параметра взаимодействия и построены зависимости  $\tau$  от температуры (рис. 3). Видно, что и при изменении температуры происходит переход от ГПХ к адсорбционной хроматографии. Интересно, что адсорбционные взаимодействия усиливаются с ростом температуры, что свидетельствует об определяющей роли гидрофобных взаимодействий. На это же указывает тот факт, что добавление в элюент значительных количеств мочевины (агента, разрушающего водородные связи) не приводит к существенному ослаблению адсорбции и переходу в режим ГПХ, в то время как при добавлении небольших концентраций Тритона X-100 (агента, ослабляющего гидрофобные взаимодействия) такой эффект действительно имеет место [14].

Можно ожидать, что в ряду сорбентов Солоз К, отличающихся содержанием гидрофобного компонента БМА, также должно наблюдаться изменение хроматографического поведения ПЭГ. Полученная для такого ряда зависимость параметра взаимодействия  $\tau$  от доли БМА в сорбенте  $x$  (рис. 4) действительно свидетельствует о переходе от ГПХ к адсорбции при повышении содержания бутилметакрилата. Однако увеличение  $\tau$  с ростом  $x$  наблюдается только в области небольших  $x < 0,3$ , а при  $x > 0,3$  зависимость  $\tau(x)$  приобретает немонотонный характер (рис. 4). Такой вид

зависимости  $\tau(x)$  может быть связан с отсутствием прямой корреляции между средним составом сорбента и содержанием компонентов на его адсорбционно-активных поверхностях. Выяснение причин этого эффекта требует проведения детальных исследований структуры сорбентов Солоза К.

Полученные сведения о критических условиях можно представить в виде фазовых диаграмм. На рис. 5 приведен пример фазовой диаграммы, отражающей взаимосвязь между критическими значениями pH и температуры в системе ПЭГ – Солоза К. Линии на фазовых диаграммах разделяют области изменения условий, в которых реализуется режим адсорбционной хроматографии (заштриховано) и режим ГПХ. Руководствуясь такими диаграммами, можно целенаправленно выбирать значения pH и температуры, обеспечивающие желаемые режимы проведения хроматографических процессов, и определять области использования синтезируемых сорбентов. Отметим, в частности, что гидрофобные сорбенты Солоза К могут быть использованы и как нейтральные сорбенты для ГПХ. Из проведенного анализа следует, что это можно сделать по крайней мере четыремя способами: путем уменьшения содержания БМА в сорбенте, понижением температуры ниже критического значения, увеличением  $pH > pH_0$  или добавлением десорбирующих агентов. Как видно из рис. 6, все способы приводят к универсальной зависимости коэффициента распределения от отношения радиуса хроматографируемых молекул к радиусу пор, характерной для режима ГПХ [18] и совпадающей в пределах погрешности для молекул с различным химическим строением.

Хроматография в системе ПЭГ – Солоза К может рассматриваться как модель поведения биополимеров на данных сорбентах. Результаты экспериментов по хроматографии ацетилхолинэстеразы и белков сыворотки крови человека, проведенных на этих сорбентах [14], качественно согласуются с результатами настоящей работы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький Б. Г., Виленчик Л. З. Хроматография полимеров. М.: Химия, 1978. 342 с.
2. Нефедов П. П., Лавренко П. Н. Транспортные методы в аналитической химии полимеров. Л.: Химия, 1979. 231 с.
3. Виленчик Л. З., Куренбин О. Н., Жмакина Т. П., Беленький Б. Г. Докл. АН СССР, 1980, т. 250, № 2, с. 381.
4. Горбунов А. А., Соловьев Л. Я., Пасечник В. А. Высокомолек. соед. А, 1984, т. 26, № 5, с. 967.
5. Беленький Б. Г., Ганкина Э. С., Тениников М. Б., Виленчик Л. З. Докл. АН СССР, 1976, т. 231, № 5, с. 1147.
6. Тениников М. Б., Нефедов П. П., Лазарева М. А., Френкель С. Я. Высокомолек. соед. А, 1977, т. 19, № 3, с. 657.
7. Di Marzio E. A., Rubin R. J. Chem. Phys., 1971, v. 55, № 9, p. 4318.
8. Скворцов А. М., Горбунов А. А., Жулина Е. Б., Бирштейн Т. М. Высокомолек. соед. А, 1978, т. 20, № 4, с. 816.
9. Горбунов А. А., Скворцов А. М. Высокомолек. соед. А, 1980, т. 22, № 5, с. 1137.
10. Gorbunov A. A., Zhulina E. B., Skvorcov A. M. Polymer, 1982, v. 23, № 7, p. 1133.
11. Lecourtier J., Audebert R., Quivoron C. Pure Appl. Chem., 1979, v. 51, № 7, p. 1483.
12. Горшков А. В., Евреинов В. В., Энтелис С. Г. Журн. физ. химии, 1983, т. 57, № 11, с. 2665.
13. Пасечник В. А., Болдырев А. Г., Думпис Ю. Я., Болдырев А. Г., Виноградов Е. А., Малько Е. И., Писаревский Ю. С., Соловьев Л. Я., Федорова Н. М. В кн.: Хроматографические и фильтрационные методы очистки и концентрирования биологических препаратов. М., 1983, с. 19.
14. Пасечник В. А., Соловьев Л. Я., Антикова Т. О., Зайцева Л. А. В кн.: Хроматографические и фильтрационные методы очистки и концентрирования биологических препаратов. М., 1983, с. 5.
15. Паписов Й. М. Дис. на соискание уч. ст. докт. хим. наук. М.: МГУ, 1975.
16. Бектуров Е. А., Бимендина Л. А. Интерполимерные комплексы. Алма-Ата: Наука, 1977.
17. Rubin R. J. Chem. Phys., 1965, v. 43, № 7, p. 2392.
18. Casassa E. F. J. Polymer Sci. B, 1967, v. 5, № 9, p. 773.

**ADSORPTION-EXCLUSION BEHAVIOUR OF POLYETHYLENE  
GLYCOL MACROMOLECULES DURING CHROMATOGRAPHY**

**Gorbunov A. A., Solov'eva L. Ya., Pasechnik V. A., Luk'yanov A. Ye.**

**S u m m a r y**

The regularities of chromatography of polyethylene glycols on crosslinked copolymer Solose sorbents having variated hydrophobic-hydrophilic properties have been studied. The experimental data are described by theoretical dependences of the distribution coefficient on MM. The chromatographic regime is proposed to be characterized by the parameter of adsorptional interaction  $\tau$  being the measure of discrepancy of a system from the critical conditions. The critical conditions differing the regimes of exclusion and adsorption chromatography have been found. The transition from exclusion to adsorption is shown to occur when increasing of content of the hydrophobic component in a sorbent and for sorbents with fixed composition when decreasing of pH or enhancing of temperature. The predominant role of hydrophobic effects for adsorption in the system under study is concluded.