

УДК 541.64 : 543.544

© 1990 г. Л. С. Литвинова, Э. С. Ганкина, О. И. Куренбин,
Б. Г. Беленький

ОСОБЕННОСТИ ЭКСКЛЮЗИОННОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ПОЛИМЕРОВ

Рассмотрены особенности эксклюзионной ТСХ полимеров на сухих пластинах. Показано, что увеличение наносимого количества полимера p вызывает удлинение, а затем и нарушение целостности движущихся с фронтом элюента хроматографических зон. Для полимеров с коэффициентом распределения $k_d > 0$ длина зоны наряду с зависимостью от p и характеристической вязкости $[\eta]$ определяется также хроматографическим размыванием. Увеличение размера зерна сорбента d_p приводит к появлению ложных зон — пятен на старте и «хвостов». Полнота вымывания полимера из стартовой зоны зависит от соотношения размеров макромолекул и пор сорбента, скорости элюции, а также в случае, когда $k_d = 0$, условий нанесения пробы (с высушиванием или без высушивания в стартовой зоне). Элюирование пластин раствором полимера приводит к концентрированию макромолекул с $k_d < 1$ на фронте элюента.

TCX — простой и доступный метод анализа разных классов соединений. В то время как TCX низкомолекулярных веществ хорошо изучена и широко используется, в TCX полимеров имеется много неясных моментов, обусловленных специфическими особенностями взаимодействия растворов макромолекул с пористыми сорбентами [1]. Эти особенности связаны со значительной вязкостью полимерного раствора в хроматографической зоне, близостью размеров макромолекул и пор сорбента и с замедленностью у макромолекул диффузионных процессов, кинетики растворения, сорбции и десорбции.

Как показано в настоящей работе, эти особенности хроматографии полимеров в отсутствие адсорбции, т. е. в условиях эксклюзионной TCX (ЭТСХ), проявляются в концентрировании растворов полимеров на фронте элюента, приводят при увеличении размера зерна сорбента d_p к появлению ложных зон: пятен на старте и «хвостов». Они приводят также к удлинению движущихся с фронтом элюента хроматографических зон из-за вязкостных эффектов и хроматографического размывания, а при значительном увеличении содержащегося в них полимера — к разрыву, искашению формы зон.

Использовали ПС фирмы «Waters Ass. Inc.» (США), характеристики которых приведены в таблице. Элюентом служил толуол квалификации х. ч. Методика приготовления тонкослойных пластин на основе силикателя KCKG с силикатным связующим описана в работе [4]. Эту же методику применяли для приготовления пластин на основе сферических сорбентов Lichrospher Si 300 и Si 4000 фирмы «Merck». Распределение частиц сорбентов по размерам определяли с помощью счетчика частиц «Coulter Counter TA II» фирмы «Coultronics» (Франция).

Растворы ПС в CCl_4 квалификации х. ч. с концентрациями 0,5–8 мг/мл наносили калиброванным капилляром емкостью 1 мкл на расстоянии 1 см от нижнего края пластины и хроматографировали восходящим способом на высоту 4 см. После высушивания в термостате при 100–120° пластины опрыскивали 1,6%-ным раствором $KMnO_4$ в H_2SO_4 (конц.) и нагревали при 180° в течение 10–15 мин. При этом хроматографические зоны проявлялись в виде черных пятен на белом фоне. Длину хроматографических зон определяли с помощью измерительной лупы с ценой деления 0,1 мм. Для каждой точки рассчитывали среднее арифметическое из 18 определений (по шесть пятен на трех пластинах). Коэффициент вариации не превышал 5–7%.

Характеристики используемых образцов ПС

$M_w \cdot 10^{-3}$	M_w/M_n	$M_\eta^* \cdot 10^{-3}$	$[\eta]^{**}$ (толул), дл/г	$M_w \cdot 10^{-3}$	M_w/M_n	$M_\eta^* \cdot 10^{-3}$	$[\eta]^{**}$ (толул), дл/г
20,8	1,04	20	0,15	867	1,12	853	2,18
111	1,00	111	0,51	2145	1,20	2088	4,11
200	1,04	199	0,77	2610	1,31	2509	4,58
498	1,23	483	1,45				

* Рассчитана по формуле работы [2]: $M_\eta = \sqrt{M_n^{(1-\alpha)} \cdot M_w^{(1+\alpha)}}$.

** Для ПС в толуоле рассчитана по формуле работы [3]: $[\eta] = 13,4 \cdot 10^{-5} M_\eta^{0,71}$.

В ТСХ эксклюзионный механизм с разделением макромолекул по размеру реализуется только при условии заполнения элюентом порового пространства сорбента [5]. В этом случае скорость фронта растворителя будет соответствовать линейной скорости элюента u_0 в межчастичных каналах. Скорость движения хроматографической зоны u для полимеров с $k_d=0-1$ (k_d – коэффициент распределения, связанный с соотношением размера макромолекул D и пор сорбента D_p) определяется уравнением

$$u = u_0 / (1 + v_p k_d / v_0), \quad (1)$$

где v_0 и v_p – удельные объемы межчастичного пространства и пор сорбента.

Если же элюент движется по сухой пластине, то поток растворителя в каналах между частицами сорбента расходуется не только на заполнение межчастичного пространства v_0 , но и на заполнение пор сорбента v_p . Легко показать, что скорость фронта элюента будет в этом случае определяться выражением

$$u_i = u_0 / (1 + v_p / v_0) \quad (2)$$

При этом молекулы с $k_d=1$, для которых доступны все поры, движутся со скоростью фронта элюента, а макромолекулы с $k_d < 1$ за счет эксклюзии будут накапливаться вблизи него в межчастичных каналах, причем количество сконцентрировавшегося полимера будет тем больше, чем меньше k_d . Действительно, если опустить ТСХ-пластину в очень разбавленный (~0,01%) раствор полимера, то при подъеме раствора на высоту 1–2 см на фронте появляется узкая полоса сконцентрированного полимера. При дальнейшем увеличении высоты подъема раствора полоса приобретает форму фестона (зубчатой каймы). Далее происходит удлинение, а затем уширение зубцов за счет их слияния (рис. 1). Таким образом, видно, что существует некая максимальная концентрация полимера в области концентрирования, при достижении которой «прифронтовая зона» начинает деформироваться и разрушаться.

Определим концентрацию полимера c_m , накопившегося в «прифронтовой зоне» шириной Δx при движении полимерного раствора с концентрацией c_0 по сухому слою на расстояние L от линии погружения пластины в раствор. После окончания эксперимента на пластине с сечением слоя S и с плотностью слоя d , заполненной полимерным раствором, будет находиться масса полимера Q

$$Q = (v_p + v_0) L c_0 S d \quad (3)$$

При этом количество полимера в «прифронтовой зоне» Q_1 и количество не попавшего в область концентрирования полимера Q_2 составят

$$Q_1 = (v_0 + k_d v_p) \Delta x c_m S d \quad (4)$$

$$Q_2 = (v_0 + k_d v_p) (L - \Delta x) c_0 S d \quad (5)$$

Очевидно, что

$$Q = Q_1 + Q_2 \quad (6)$$

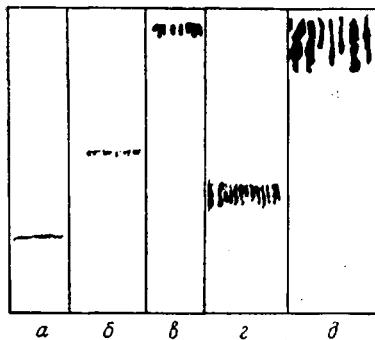


Рис. 1

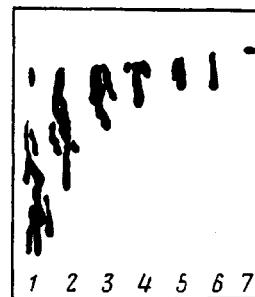


Рис. 2

Рис. 1. Концентрирование полимера на фронте при элюировании ТСХ-пластин на разную высоту растворами ПС с $M_w \cdot 10^{-3} = 20$ (*a*–*e*) и 2700 (*г*, *д*) в толуоле с концентрацией 1 мг/мл, сорбент – силикагель КСКГ, $d_p = 9,3$ мкм

Рис. 2. Зависимость формы хроматографической зоны от количества полимера в ней для ПС с $M_w \cdot 10^{-3} = 200$ при $p = 40$ (1), 30 (2), 20 (3), 15 (4), 10 (5), 5 (6) и 0,25 мкг (7). Здесь и на рис. 3 и 4 хроматография в толуоле на слое силикагеля КСКГ толщиной 140 мкм, $d_p = 6,5$ мкм

Из уравнений (3)–(6) получим

$$c_m = c_0 \left[1 + \frac{L}{\Delta x} \left(\frac{1 - k_d}{v_0/v_p + k_d} \right) \right] \quad (7)$$

Таким образом, c_m зависит от соотношений v_0/v_p , $L/\Delta x$ и k_d . Если $k_d = 1$, то $c_m = c_0$, и концентрирования не происходит. Уравнение (7) позволяет, в принципе, зная $c_m(L, c_0)$ и v_0/v_p , определить k_d узкодисперсного полимера на сорбенте с узким распределением пор по размерам.

Вязкостные эффекты («вискозиметрическая» ТСХ). Ранее было установлено, что основной причиной удлинения пятен при хроматографии в режиме ЭТСХ на сухой пластине (при условии нанесения пробы полимера в точку) является вязкое течение неадсорбирующегося полимера в хроматографической зоне [6]. В соответствии с уравнением Дарси [1] скорость движения жидкости в пористой среде обратно пропорциональна ее вязкости. Очевидно, что скорость движения элюента в промежутках между хроматографическими зонами будет больше его скорости внутри полимерных зон, где вязкость раствора выше. В результате поток элюента обтекает зону, деформируя ее. Это воздействие потока элюента, а также концентрирование полимера в «прифронтовой зоне» приводит к значительному увеличению вязкости раствора в зоне и обуславливает резкость ее границ.

При увеличении количества полимера в хроматографической зоне наблюдается постепенное изменение ее формы. Вначале это узкая полоска на фронте элюента, затем она приобретает вид обращенного вниз зубца. Далее боковые границы пятна соединяются в тонкий жгут, связанный с фронтом элюента. Дальнейшее увеличение наносимого количества приводит к нарушению целостности пятна, и оно распадается на отдельные зоны прорывающимся сквозь него потоком чистого элюента (рис. 2).

Явление разрыва вязких зон невязким растворителем в ячейке Геле – Шоу хорошо известно [7], подобные эффекты описаны и для жидкостной хроматографии [8]. Как указано в работе [7], это явление имеет много общего с движением воды в горных породах при вытеснении нефти путем законтурного обводнения нефтяных скважин. Представляется, что обнаруженные нами концентрирование полимера в «прифронтовой зоне» движущегося по ТСХ-пластине полимерного раствора и разрыв полимерных зон могут служить более близкой моделью поведения вязких зон при движении воды и нефти в горных породах, чем эффекты в ячейке Геле – Шоу, поскольку они происходят в пористой среде.

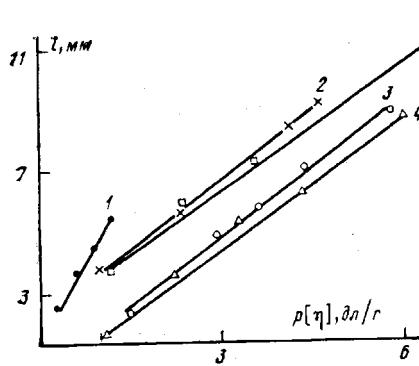


Рис. 3

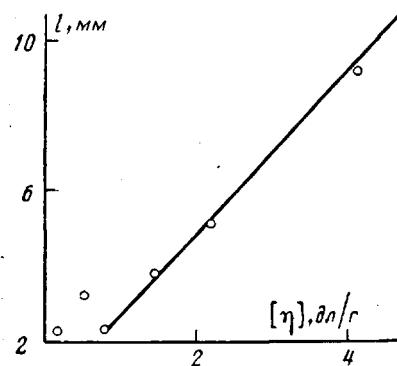


Рис. 4

Рис. 3. Зависимость длины зоны l от произведения $p[\eta]$ для ПС с $M_w \cdot 10^{-3} = 20$ (1), 200 (2), 498 (3), 867 (4) и 2600 (5)

Рис. 4. Зависимость длины зоны l от $[\eta]$ для ПС при фиксированном $p = 1,5 \text{ мкг}$

Если не доходить до стадии разрушения хроматографической зоны, то ее длина l (расстояние конца зоны от фронта элюента) оказывается пропорциональной характеристической вязкости $[\eta]$ и количеству p находящегося в ней полимера. В работе [6] установлена универсальная зависимость l от $[\eta]$ при фиксированном p , независимая от природы полимера, и получена формула, связывающая l с $[\eta]$ и p , которая для малых значений p $[\eta]$ может быть записана в виде

$$l = A + B[\eta]p, \quad (8)$$

где A и B — коэффициенты.

Формула (8) указывает на эквивалентность влияния p и $[\eta]$ на l (при фиксированных d_p , толщине слоя сорбента и степени насыщения слоя парами элюента).

На рис. 3 представлена зависимость l от произведения $p[\eta]$ для ПС, характеристики которых представлены в таблице. Видно, что зависимости для высокомолекулярных и низкомолекулярных полимеров не совпадают с зависимостями для ПС со средними значениями ММ. Отсутствие единой зависимости, предсказываемой теорией [6], указывает на существование дополнительных причин удлинения хроматографических зон, которые рассматриваются ниже. Каждая зависимость (за исключением зависимости для образца ПС с $M_w = 2 \cdot 10^4$) оканчивается в точке, за которой начинается область неустойчивости границ хроматографических зон. С увеличением ММ значение произведения $p[\eta]$, при котором начинается искажение формы зон, возрастает.

Хроматографическое размывание полимерных зон. Наряду с зависимостью l от p и $[\eta]$ дополнительное увеличение длины хроматографических зон наблюдается в случае, когда поры сорбента доступны для макромолекул. На рис. 4 изображена зависимость l от $[\eta]$ для ПС. Видно, что точки для ПС с $M_w = 2 \cdot 10^4$ и $1,1 \cdot 10^5$ не укладываются на зависимость, причем длины пятен для этих ПС значительно больше величин, которые можно получить экстраполяцией зависимости к малым значениям $[\eta]$. Методом ГПХ в толуоле для силикагеля КСКГ показано, что ПС с $M_w > 2 \cdot 10^4$ ($k_d = 0$) полностью исключаются из пор сорбента, а ПС с $M_w = 2 \cdot 10^4$, $1,1 \cdot 10^5$ и $2 \cdot 10^5$ ($k_d = 0,3$; $0,06$; $0,03$ соответственно) исключаются из пор только частично. Это позволяет предположить, что аномальное увеличение длины хроматографических зон обусловлено явлениями равновесного межфазного массообмена. Дисперсия зон, связанная с этим видом хроматографического размывания, определяется уравнением [9]

$$\sigma_m^2 = \frac{k\xi}{D_s} d_p^3, \quad (9)$$

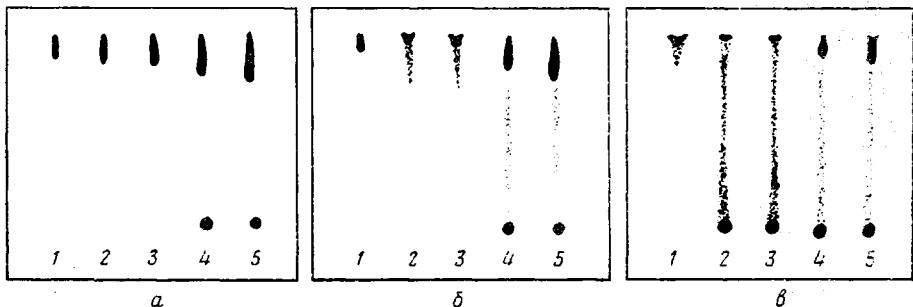


Рис. 5. Хроматограммы ПС с $M_w \cdot 10^{-3} = 20$ (1), 111 (2), 200 (3), 498 (4) и 867 (5) на ТСХ-пластинках с $d_p = 6,5$ (а), 9,3 (б) и 19 мкм (в); $p = 2$ мкг; элюент — толуол

где $k = 1,39[(1+0,65k')/30] [k'/(1+k')^3]$; k' — коэффициент емкости, равный $k_d(v_p/v_0)$; D_s — коэффициент диффузии макромолекул в порах сорбента; ξ — константа, связанная со свойствами элюента. Поскольку D_s и отношение $k'/(1+k')^3$ убывают с увеличением ММ полимера, то σ_{mt}^2 может иметь существенное значение даже при малых k_d ; однако при $k_d = 0$ $\sigma_{mt}^2 = 0$.

При увеличении размера зерна сорбента, а следовательно, и скорости элюции, межфазный массообмен становится сильно неравновесным, что приводит к появлению «хвостов» и «треков» и вследствие потери вещества в порах сорбента к значительному уменьшению длины хроматографических зон на фронте элюента. Характерный вид хроматограмм в «равновесной» области и с ярко выраженным явлениями неравновесного массообмена ($d_p = 19$ мкм) представлены на рис. 5. Проследим, как изменяется вид хроматограмм при увеличении d_p .

Для исключающих из пор макромолекул как при больших, так и при малых d_p видны слабо окрашенные стартовые пятна и едва заметные «треки» по пути следования пятна независимо от размера зерна сорбента. Причем для ПС с $M_w = 2,6 \cdot 10^6$ «треки» почти не видны. Для ПС с маленькими k_d (образцы с $M_w = 1,1 \cdot 10^5$ и $2 \cdot 10^5$) при малых скоростях элюции ($d_p = 6,5$ мкм) стартовые пятна и «треки» отсутствуют. Увеличение скорости элюции ($d_p = 19$ мкм) приводит к «размыванию» хроматографических зон этих полимеров от старта к фронту и появлению интенсивно-окрашенных стартовых пятен, в то время как у хроматографических зон ПС с $M_w = 2 \cdot 10^6$ появляются лишь незначительные «хвосты». При нанесении пробы контактным способом [10] (не прибегая к высушиванию ее в стартовой зоне) стартовые пятна исчезают при всех значениях d_p и ММ, а «хвосты» сохраняются в верхней половине пластины. Таким образом, появление «хвостов» обусловлено неравновесностью массообмена, а не только медленным вымыванием полимера из стартовой зоны.

Следует отметить, что «хвосты» для ПС с $M_w = 2 \cdot 10^6$ при $d_p = 9,3$ мкм отсутствуют на слоях с гипсом, в то время как на слоях с силикатным связующим, модифицированных триметилхлорсиланом (содержание углерода в слое 3,1%), «хвосты» появляются уже для ПС с $M_w = 1,1 \cdot 10^5$. Возможно, это связано в последнем случае с уменьшением размера пор при силилировании сорбента. Усиление размывания при переходе от слоев, закрепленных гипсом, к слоям, закрепленным силиказолем, дает основание предположить, что силиказолевое связующее создает дополнительные затруднения межфазному массообмену, что особенно сильно проявляется при больших скоростях элюции.

Феномен стартового пятна. Как правило, пробу в ТСХ наносят на сухой слой сорбента из растворителя, в котором анализируемые соединения имеют $R_f = 0$, причем растворитель из слоя стараются удалить как можно быстрее, используя для этого поток теплого воздуха. Таким образом, нанесение пробы в ТСХ сопровождается пропитыванием слоя наносимым раствором (при этом заполняется как межчастичное пространство, так и поры сорбента) и концентрированием раствора в слое сорбента вплоть до полного высушивания полимера.

При таком способе нанесения пробы полимер на стадии хроматографирования в режиме ЭТСХ в ряде случаев не полностью вымывается из стартовой зоны, при этом появление пятен на старте связано как с величиной k_d , анализируемого полимера, так и со скоростью элюции. В том случае, когда скорость элюции невелика ($d_p \leq 9,3$ мкм), стартовые пятна обнаруживаются только для полимеров, у которых в используемом элюенте $k_d=0$ (рис. 5, а). При больших скоростях элюции ($d_p \geq 12$ мкм) стартовые зоны появляются и для макромолекул с $k_d > 0$ (рис. 5, б), когда размеры макромолекул приближаются к размерам пор. Пятна на старте для макромолекул с $k_d=0$ при малых d_p обнаруживаются как при нанесении пробы из растворителя, в котором ПС адсорбируется (например, из CCl_4), так и при использовании растворителя, в котором из разбавленных растворов ПС адсорбция отсутствует (например, в толуоле). В последнем случае если скорость удаления растворителя из слоя не увеличивать (например, используя струю теплого воздуха), то размеры стартового пятна заметно растут, и большая часть полимера остается в стартовой зоне, а длина хроматографической зоны на фронте уменьшается. При нанесении пробы на смоченный элюентом участок слоя сорбента контактным способом пятна на старте после хроматографии практически отсутствуют.

Эти факты позволяют предположить, что появление пятен на старте при нанесении пробы на сухую пластину связано с попаданием макромолекул в поры в процессе высушивания пробы и медленным вымыванием макромолекул с $k_d=0$ из пор при последующей элюции в режиме ЭТСХ, что проявляется также в виде треков, тянущихся от стартовой зоны вверх.

При использовании широкопористого сорбента Si 4000 ($d_p=9,6$ мкм) пятна на старте и «треки» исчезают, в том числе и для ПС с $M_w=2,6 \cdot 10^6$. На сорбente Si 300 ($d_p=7,9$ мкм) пятна на старте практически не заметны и для других образцов ПС. Этот эксперимент доказывает, что пятна на старте не связаны с адсорбцией макромолекул на внешней поверхности сорбента.

Таким образом, при ТСХ полимеров во избежание артефактов желательно использовать широкопористые сорбенты, такие чтобы выполнялось условие $k_d > 0$ для всех исследуемых образцов, либо применять ТСХ-пластини с предадсорбционным слоем макропористого ($D_p \approx 200$ нм) сорбента. При хроматографии на обычно используемых в ТСХ крупнопористых ($D_p \approx 10$ нм) сорбентах появление ложных пятен на старте можно избежать путем нанесения пробы на смоченный элюентом участок слоя сорбента. Размер зерна сорбента не должен превышать 6–7 мкм. Исследованные закономерности концентрирования раствора полимера на фронте элюента и искажение формы хроматографических зон проливают свет на особенности движения вязких растворов в пористых телах.

Авторы благодарят В. Д. Красикова за предоставление данных ГПХ для ПС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленький Б. Г., Виленчик Л. З. // Хроматография полимеров. М., 1978. 343 с.
2. Куренбин О. И. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1984. 153 с.
3. Baum C. E. H., Freeman R. F. J., Kamaliddin A. R. // Trans. Faraday Soc. 1950. V. 46. P. 1107.
4. Беленький Б. Г., Ганкина Э. С., Литвинова Л. С., Ефимова И. И., Васильковский В. Г., Хотимченко С. В., Дикарев В. П. // Биоорганская химия. 1984. Т. 10. № 2. С. 244.
5. Ганкина Э. С., Беленький Б. Г. // Успехи химии. 1978. Т. 47. № 7. С. 1293.
6. Литвинова Л. С., Ганкина Э. С., Беленький Б. Г. // Высокомолек. соед. А. 1984. Т. 26. № 4. С. 857.
7. Уолкер Д. // В мире науки. 1988. № 2. С. 82.
8. Janca J., Pokorný S., Vilenchik L. Z., Belenki B. G. // J. Chromatogr. 1981. V. 211. P. 39.
9. Belenki B. G., Kolegov V. I., Nesterov V. V. // J. Chromatogr. 1975. V. 107. P. 265.
10. Fenimore D. C., Meyer C. J. // J. Chromatogr. 1979. V. 186. P. 555.

L. S. Litvinova, Ye. S. Gankina, O. I. Kurenbin, B. G. Belen'kit

**FEATURES OF EXCLUSION THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY
OF POLYMERS**

S u m m a r y

The main features of exclusion thin-layer chromatography (ETLC) of polymers on a dry plate have been considered. It is shown that an increase of the amount of the polymer applied p results in the elongation and subsequent partial destruction of the chromatographic zone moving with the eluent front. For polymers having the distribution coefficient $k_d > 0$ the length of the zone depends not only on p and intrinsic viscosity $[\eta]$ but also on chromatographic spreading. An increase of the size of sorbent grains d_p leads to the appearance of artificial zones: «tails» and spots at the start. The completeness of polymer elution from the starting zone depends on the ratio of the size of macromolecules to that of sorbent pores and on the elution rate as well as on conditions of sample application in the case when $k_d = 0$ (with or without drying at the starting zone). Elution of plates with a polymer solution results in an increase of the concentration of macromolecules having $k_d < 1$ at the eluent front.