



Руководство по  
мультидетекторной  
гель-проникающей  
хроматографии



# Содержание

<b>Введение</b> .....	<b>3</b>	<b>Применение мультidetекторной системы 1260 Infinity Multi Detector Suite (MDS) в реальных условиях</b> .....	<b>16</b>
<b>Преимущества мультidetекторной ГПХ</b> .....	<b>4</b>	Анализ полистирола посредством вискозиметрии .....	17
Традиционная ГПХ с одним концентрационным детектором .....	4	Анализ эпоксидных смол посредством вискозиметрии .....	20
Сравнительная методика .....	5	Анализ бутвара посредством тройного детектирования .....	21
Недостаточность информации .....	5	Анализ полибутадиена посредством тройного детектирования .....	22
Что предоставляет мультidetекторная ГПХ .....	5	Анализ бромстирола посредством тройного детектирования .....	23
<b>ГПХ с вискозиметрией</b> .....	<b>6</b>	<b>Заключение</b> .....	<b>24</b>
О вискозиметре .....	6	<b>Для дополнительного чтения</b> .....	<b>24</b>
Вискозиметр с четырехкапиллярным мостом .....	6		
Калибровка средства измерений .....	7		
Характеристическая вязкость в ГПХ .....	7		
Зависимость Марка — Хаувинка .....	8		
Вискозиметрия на практике .....	8		
Краткая сводка по вискозиметрии .....	8		
<b>ГПХ с детектором по светорассеянию и тремя детекторами одновременно</b> .....	<b>9</b>		
Сложная схема светорассеяния .....	9		
Статический детектор по светорассеянию .....	9		
Приращение показателя преломления — $dn/dc$ .....	10		
Зависимость рассеяния света от угла .....	11		
Несимметричность и радиус инерции .....	11		
Анализ данных рассеяния света .....	12		
График соответствия .....	14		
Тройное детектирование .....	15		
Светорассеяние на практике .....	15		
Краткая сводка по светорассеянию .....	15		
Разветвление полимерной цепи .....	15		

## Введение

Настоящее руководство представляет переработанные материалы публикации An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography (Введение в гель-проникающую и эксклюзионную хроматографию) компании Agilent Technologies.

В предыдущей публикации рассматривались вопросы развития, теории и практики гель-проникающей хроматографии ГПХ с использованием одного детектора, обычно рефрактометра. Такую хроматографию в общем называют традиционной ГПХ. В этом руководстве рассматривается расширенный расширенные методики ГПХ с использованием специализированных детекторов для осуществления мультidetекторной ГПХ.

Традиционная ГПХ с использованием одного концентрационного детектора, например рефрактометрического детектора, и калибровочной кривой, получаемой на стандартах полимеров с узким молекулярно-массовым распределением, представляет достаточно простую методику. Однако мультidetекторная ГПХ является намного более сложной, и в самой ее основе используются гораздо большие объемы математических выкладок. Здесь приводится общий обзор методов мультidetекторной ГПХ. В приведенном в конце руководства списке ссылок указана литература для дополнительного чтения, которое может потребоваться при более подробном рассмотрении этих методов.

### Замечание относительно названий

В настоящем руководстве термин ГПХ используется для обозначения ГПХ и ЭХ. Так называемая традиционная ГПХ означает любой анализ с применением только одного концентрационного детектора, когда молекулярные массы вычисляются на основании калибровочных данных десятичного логарифма молекулярной массы в зависимости от времени удерживания. Мультidetекторная ГПХ везде в руководстве означает ГПХ-анализ с использованием концентрационного детектора вместе с вискозиметром или детектором по светорассеянию либо всех трех детекторов одновременно. Этот термин не используется здесь для обозначения анализа методом ГПХ с применением более одного концентрационного детектора.

Для наглядности механизм ГПХ в кратком виде показан ниже.



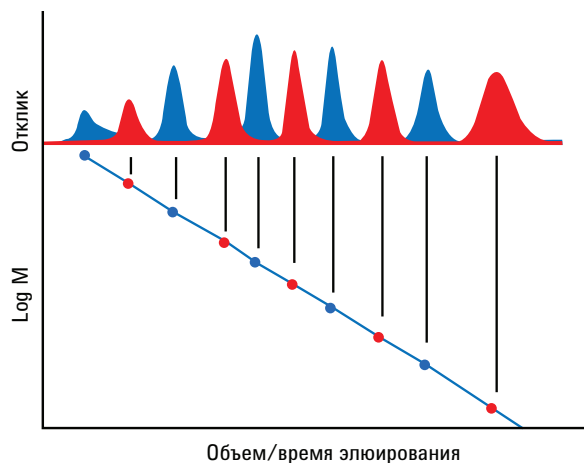
## Преимущества мультidetекторной ГПХ

Рассмотрим вначале ограничения традиционной ГПХ, накладываемые на анализ молекулярных масс полимеров.

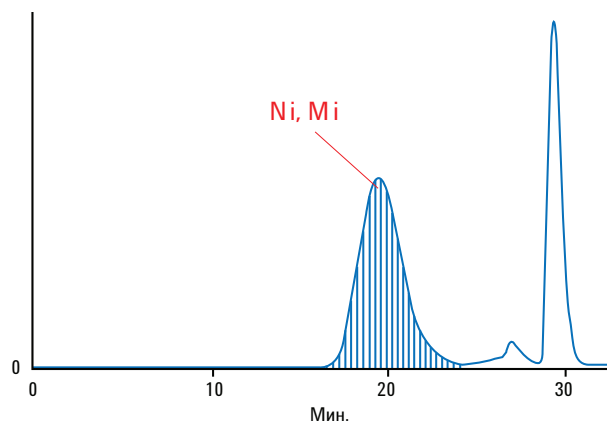
### Традиционная ГПХ с одним концентрационным детектором

В традиционной ГПХ чаще всего используется дифференциальный рефрактометрический детектор, но также возможно применение УФ или испарительных детекторов по светорассеянию. Во время анализа колонка ГПХ разделяет молекулы полимера по их размеру в растворе, и детектор определяет количество элюируемого из колонки вещества в зависимости от времени удерживания. Это количество преобразуется в значение молекулярной массы с помощью калибровочной кривой — графика, отражающего связь времени удерживания (время элюирования из колонки) с молекулярной массой полимера. Саму калибровочную кривую получают по анализу калибровочных стандартов полимеров известной молекулярной массы. При вычислениях пик элюирующей из колонки пробы разделяют на «срезы» и соответствующее каждому срезу время удерживания используют для определения молекулярной массы по калибровочной кривой. Площадь или высота среза дает содержащуюся в срезе искомую долю процента от всей пробы, и по данным доли в процентах и молекулярной массы вычисляют распределение молекулярной массы.

Будучи очень распространенным методом определения молекулярной массы и распределения молекулярной массы полимеров, традиционная ГПХ имеет некоторые ограничения; они рассмотрены далее.



Типичные хроматограммы для двух смесей стандартов и результирующая калибровочная кривая



Пик, разделенный на срезы при вычислениях в процессе ГПХ

## Сравнительная методика

Традиционная ГПХ с применением одного концентрационного детектора фактически представляет сравнительную методику. Во время анализа посредством детектора получают информацию о количестве вещества, элюирующего из колонки за некоторое данное время. Это количество затем преобразуют в молекулярную массу и далее в распределение молекулярной массы, пользуясь калибровочной кривой молекулярной массы. Если использованные при калибровке стандарты и проба имеют одинаковый химический состав, то получаются точные молекулярные массы. Однако в случае различающихся химических составов стандарты и пробы результаты являются только сравнительными.

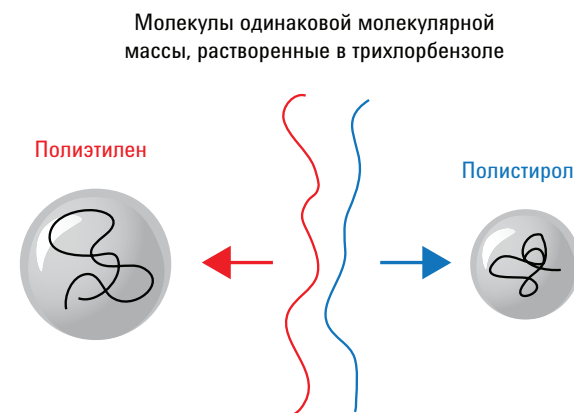
Почему это так? Вспомним, что при прохождении имеющих шарообразную форму полимерных клубков по колонке ГПХ происходит разделение по размеру молекул в растворе, но не по молекулярной массе. При выполнении вычислений традиционной ГПХ принимается, что определенный размер в растворе соответствует определенной молекулярной массе, установленной в процессе калибровки, и время удерживания соответствует этому молекулярному размеру. Однако различные типы полимеров с различными химическими составами образуют в растворах шарообразные клубки с различным размером. В результате, если химический состав используемых для калибровки стандарты значительно отличается от состава исследуемых проб, функциональная зависимость размера от молекулярной массы для стандарты и пробы будет различной и, следовательно, для пробы будут вычислены неверные значения молекулярной массы.

Например, в трихлорбензоле полиэтилен с клубками любой заданной молекулярной массы образует в растворе шар намного более крупный, чем молекула полистирола с такой же молекулярной массой.

Вследствие этого, если при анализе полиэтилена для калибровки системы традиционной ГПХ используются стандарты полистирола, все вычисленные для пробы полиэтилена результаты будут завышенными, поскольку молекула элюируется из колонки так, как если бы это была молекула полистирола с намного большей молекулярной массой.

Правильная молекулярная масса получается посредством традиционной ГПХ, только если стандарты и проба имеют одинаковый химический состав. В этом заключается причина существования широкого разнообразия стандарты с узким распределением. К сожалению, для большинства пользователей ГПХ невозможно (или экономически нецелесообразно) иметь стандарты с химическим составом, соответствующим их собственным пробам.

Для некоторых анализов является достаточным получение только относительного распределения молекулярной массы, поскольку различия между партиями продукции можно заметить. Однако для прочих случаев отсутствие точных молекулярных масс может представлять серьезное ограничение традиционной ГПХ.



Сравнение размеров двух полимеров в распространенном растворителе

## Недостаточность информации

Традиционная ГПХ предоставляет относительно ограниченную информацию. Колонка разделяет молекулы полимера по их размеру в растворе, и детектор определяет концентрацию молекул, элюирующих из колонки. Больше никакой информации относительно поведения полимеров в растворе получить нельзя; их размер, несмотря на его важную роль в механизме разделения, в процессе анализа не измеряется. Сравнительно говоря, традиционная ГПХ не является информационно насыщенной методикой.

## Что предоставляет мультidetекторная ГПХ

Мультidetекторная ГПХ с применением концентрационного детектора с вискозиметром, детектором по светорассеянию или всех трех детекторов одновременно позволяет преодолеть ограничения традиционной ГПХ. Мультidetекторная ГПХ позволяет:

- вычислять молекулярные массы независимо от химического состава используемых для калибровки стандарты и
- определять другие свойства полимеров, которые невозможно измерить средствами традиционной ГПХ.

## ГПХ с вискозиметрией

В наиболее распространенной разновидности мультидетекторной ГПХ используется концентрационный детектор вместе с вискозиметром. Вискозиметр измеряет вязкость веществ в растворе во время элюирования их из колонки. Комбинирование его данных с получаемой от другого детектора информацией о концентрации обеспечивает важное понимание поведения молекул полимеров в растворе.

### О вискозиметре

Применяемый в ГПХ вискозиметр представляет собой средство измерений вязкости раствора, содержащего пробу полимера, относительно вязкости растворителя в отдельности. В большинстве стандартных конструкций измерение осуществляется посредством принудительного пропускания раствора и растворителя через узкие капилляры и измерения перепада давления. Перепад давления преобразуется в вязкость по закону Пуазейля, который связывает перепад давления в капиллярах с вязкостью текучей среды в капиллярах.

$$\Delta P = \frac{128\mu L Q}{\pi d^4}$$

или

$$\Delta P = \frac{8\mu L Q}{\pi r^4},$$

где

$\Delta P$  — перепад давления

$L$  — длина капилляров

$\mu$  — динамическая вязкость

$Q$  — объемный расход

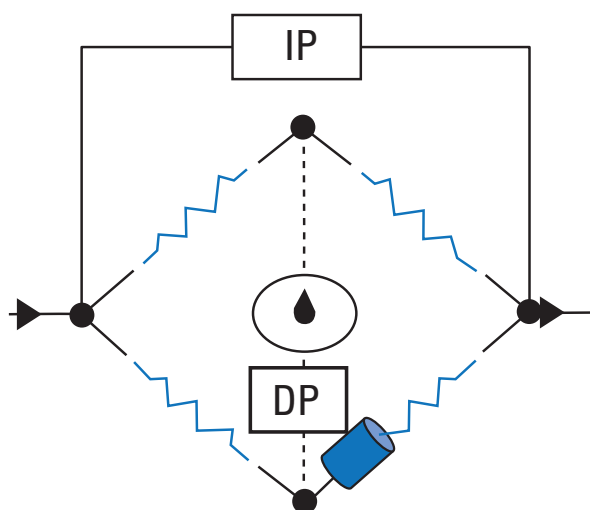
$r$  — радиус

$d$  — диаметр и

$\pi$  — математическая постоянная.

### Вискозиметр с четырехкапиллярным мостом

Стандартной промышленной конструкцией вискозиметров для ГПХ является конструкция с так называемым четырехкапиллярным мостом. Эта конструкция представляет собой эквивалент электрической цепи, называемой мостом Уитстона, для текучей среды.



Вискозиметр состоит из четырех связанных капилляров в двух протоках, ответвляющихся от выходящей из колонок ГПХ линии текучей среды. Две поточных линии являются независимыми, но после двух капилляров соединяются для сброса. Оба потока одинаковы, за исключением расположения задерживающей колонки после первого капилляра в одном из протоков. Это колонка с большим внутренним объемом, наполненная стеклянными микросферами. Давление, измеряемое на всем мосте, называют входным давлением (IP). Второе давление, измеряемое между двумя протоками, называют дифференциальным давлением (DP).

Во время работы поток из колонки или других детекторов достигает точки разветвления и разделяется для движения по двум путям, протекая равно через первые капилляры на каждом протоке. Затем проба движется ко второму комплекту капилляров. С этого места начинает иметь значение асимметрия моста. По одному из протоков проба перемещается в следующий капилляр, а во втором протоке она поступает в расположенную перед капилляром задерживающую колонку, в которой замедляется. Таким образом мост становится неуравновешенным — с одной стороны проба перемещается через капилляр, а с другой стороны капилляр содержит только растворитель, поскольку проба остается в задерживающей колонке. В результате возникает разность давлений, измеряемая в виде значения DP, которое зависит от вязкости пробы. Значения IP и DP далее используют для измерения удельной вязкости пробы с помощью простейшего соотношения

$$\eta_{sp} = 4DP / (IP - 2DP).$$

Измеряемое с помощью вискозиметра значение представляет удельную вязкость пробы. Однако в ГПХ концентрации пробы в колонке очень низкие, поэтому их могут преобразовывать в характеристическую вязкость

$$[\eta] = \eta_{sp} / \text{концентрация}$$

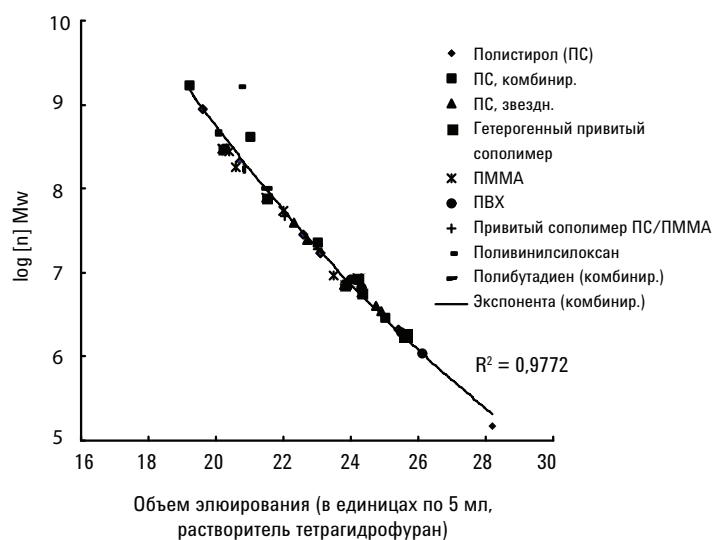
при стремлении концентрации к нулю.

### Калибровка средства измерений

Первым этапом выполнения анализа любой пробы является калибровка средства измерений или детектора. На этом этапе отклик детекторов калибруют по известным свойствам, используя стандарт с узким распределением. В ГПХ с вискозиметрией калибруют отклик концентрационного детектора на известную концентрацию и вискозиметра на известную характеристическую вязкость. На этой стадии также определяют временные задержки между детекторами, называемые междетекторными задержками (IDD).

### Характеристическая вязкость в ГПХ

Преимущество измерения характеристической вязкости в ГПХ заключается в том, что она позволяет определять молекулярные массы путем универсальной калибровки. Такой подход обеспечивает вычисление точных молекулярных масс полимеров независимо от химического состава используемых для калибровки стандартов.



*A Universal Calibration for Gel Permeation Chromatography, Polymer Letters, Vol.5. Z. Grubisic, P. Rempp, и H. Benoit. © 1967. Воспроизведено с разрешения изд. John Wiley & Sons, Inc.*

Иллюстрация универсальной калибровки

Универсальная калибровка использует тот факт, что характеристическая вязкость и молекулярная масса связаны с размером молекул в растворе уравнением

гидродинамический объем =  $k \times$  молекулярная масса  $\times$  характеристическая вязкость.

Гидродинамический объем является мерой размера молекул;  $k$  есть константа. Соответственно, если калибровочную кривую получают для набора стандартов построением  $\log$  (характеристическая вязкость  $\times$  молекулярная масса) в зависимости от времени удерживания, то это равносильно построению зависимости логарифма размера от времени удерживания. И поскольку колонка разделяет молекулы по размеру в растворе, то независимо от применяемых стандартов будет получена одинаковая кривая — универсальная калибровка, как показано выше.

Значит, для калибровки можно использовать любые калибранты при условии, что они производят в колонке чистую эксклюзионную хроматографию и не задерживаются в результате взаимодействий.

В процессе анализа проб концентрация и удельная вязкость среза пика определяются по отклику концентрационного детектора и вискозиметра соответственно. Удельную вязкость преобразуют в характеристическую вязкость, и это значение наряду с временем удерживания сравнивают по калибровочной кривой для получения истинной молекулярной массы пробы.

### Зависимость Марка — Хаувинка

Применение вискозиметра также позволяет выполнять оценку зависимости Куна — Марка — Хаувинка — Сакурады (часто называемой просто зависимостью Марка — Хаувинка). Это соотношение описывает зависимость между молекулярной массой и характеристической вязкостью, которая в общем виде выражается уравнением

$$[\eta] = K M^{\alpha},$$

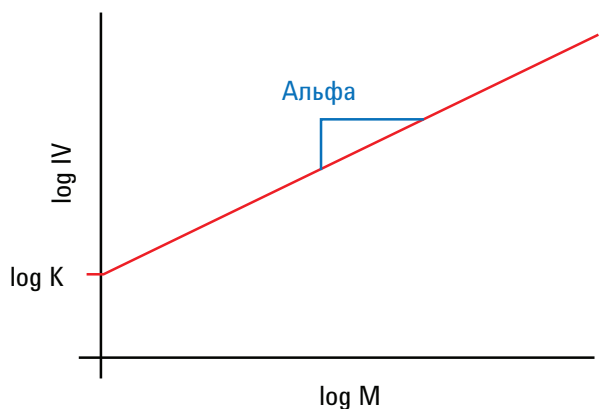
где  $[\eta]$  — характеристическая вязкость,  $M$  — молекулярная масса, а  $\alpha$  и  $K$  — постоянные Марка — Хаувинка.

Преобразование в логарифмический вид дает

$$\log [\eta] = \log K + \alpha \log M.$$

Графическое представление этой зависимости дает прямую линию с точкой пересечения с осью ординат  $\log K$  и тангенсом угла наклона  $\alpha$ .

Это полезное соотношение, так как значения  $K$  и  $\alpha$  представляют константы для заданной комбинации растворителя и полимера, а значение  $\alpha$  дает информацию о динамическом поведении молекул полимера в растворе. Для большинства полимеров значение  $\alpha$  располагается между 0,5 и 0,8; меньшие значения указывают на более компактную плотную структуру (следуя модели «твердого шара»), при 0,7–0,8 в хорошем растворителе следует ожидать полимер со случайным клубком, и повышенные значения указывают на крупную, более сольватированную структуру (предельное значение 2,0 показательно для модели «жесткий стержень», в которой большая часть составляющих молекулы находится далеко от центра тяжести, подобно тому, что ожидается в растворе для структуры «вращающийся стержень»).



$\alpha < 0,5$  для «твердого шара»

$\alpha = 0,7$  для случайных клубков в хорошем растворителе

$\alpha \sim 2,0$  для «жестких стержней»

Пример зависимости Марка — Хаувинка

Соотношение Марка — Хаувинка представляет, следовательно, превосходный способ исследования поведения молекул полимеров в растворе.

### Вискозиметрия на практике

Вискозиметрия представляет относительно простую методику. Растворители и пробы не требуют подготовки каким-либо специальным образом, при условии, что средство измерений тщательно промыто. Вискозиметры обычно достаточно хорошо работают в большинстве рабочих условий без необходимости специального внимания. Однако следует проявлять осторожность, при работе вискозиметра с различными растворителями, особенно с растворителями с высокой вязкостью, когда может потребоваться промывка при значительно повышенных расходах.

ГПХ с вискозиметрией хорошо работает для большинства проб с существенной молекулярной массой и может использоваться для анализа сополимеров и прочих смесей при условии, что концентрации точно известны.

### Краткая сводка по вискозиметрии

ГПХ с использованием вискозиметрии является превосходной методикой для измерения молекулярных масс проб, химический состав которых неодинаков с доступными калибровочными стандартами. Она также хорошо применима для сополимеров и может использоваться для исследования поведения молекул полимеров в растворе посредством зависимости Марка — Хаувинка.

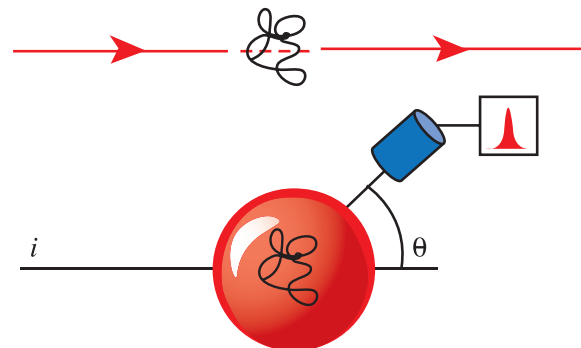


## ГПХ с детектором по светорассеянию и тремя детекторами одновременно

Статическое рассеяние света в ГПХ предусматривает освещение элюирующего из колонки вещества лучом лазера и измерение интенсивности результирующего рассеянного света. Являясь более сложной, чем вискозиметрия, методика со статическим рассеянием света имеет некоторые практические ограничения. Тем не менее комбинирование концентрационного детектора с детектором по светорассеянию может предоставлять много информации о молекулах полимеров в растворе.

### Сложная схема светорассеяния

Словосочетание «рассеяние света» используют в описании любого детектора, работа которого основана на рассеянии излучения с целью выполнения измерений. К сожалению, для начинающих в этой области аналитиков существует множество очень различных детекторов, в основе работы которых лежит измерение основного рассеяния света, в том числе такие средства измерений, как статические детекторы по светорассеянию, динамические детекторы по светорассеянию и испарительные детекторы по светорассеянию. Несмотря на общее наименование, эти средства измерений фактически выполняют очень различающиеся измерения и используются для различных видов анализа. Здесь под термином «рассеяние света» понимается статическое или классическое рассеяние света, известное также как рэлеевское рассеяние света.



Эксперимент с рассеянием света

### Статический детектор по светорассеянию

Статический детектор по светорассеянию состоит из ячейки для пробы, луча лазера и одного или более детекторов для сбора рассеянного света лазера. Детекторы устанавливают под некоторым углом к падающему лучу в зависимости от конструкции детектора.

Во время работы луч лазера освещает пробу, и детектор принимает результирующий свет, рассеянный вследствие молекулярной релаксации. Интенсивность рассеянного света измеряется в качестве отношения Рэля  $R_{\theta}$ , то есть отношения избыточного рассеяния комбинации пробы и растворителя к избыточному рассеянию растворителя в отдельности. Отношение Рэля прямо пропорционально молекулярной массе рассеивающих свет молекул растворенного вещества.

Уравнение, связывающее  $R_{\theta}$ , является комплексным и имеет следующий вид.

$$\frac{K^*c}{R_{\theta}} = \underbrace{\left(\frac{1}{Mw}\right)}_{\text{Р}_q, \text{ функция}} P_{\theta} + \underbrace{+2A_2c + 3A_3c^2 + \dots}_{\text{вириальное разложение}}$$

$$\text{Where } K^* = 4\pi^2 n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 \lambda_0^{-4} N^{-1} = K \left(\frac{dn}{dc}\right)^2$$

$$P_{\theta} = \left(\frac{16\pi^2}{3\lambda^2}\right) \langle s^2 \rangle_z \sin^2 \left(\frac{\theta}{2}\right)$$

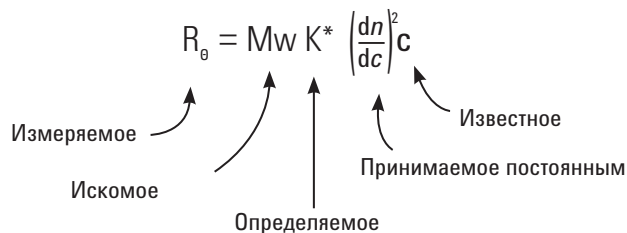
$M_w$  — средняя взвешенная молекулярная масса,  $\lambda$  — длина волны света,  $\theta$  — угол приема,  $\langle S^2 \rangle$  — среднеквадратическое значение расстояния между концами цепи полимера,  $n_0$  — показатель преломления растворителя,  $N$  — число Авогадро и  $(dn/dc)$  — приращение показателя преломления.  $A_2$  и  $A_3$  — вторые и третьи вириальные коэффициенты.

Вид этого уравнения можно значительно упростить. Для любой комбинации полимера и растворителя приращение показателя преломления  $(dn/dc)$  считается постоянным. Вириальное разложение относится к межмолекулярным взаимодействиям и при условиях разбавления в ГПХ может быть принято равным нулю.  $R_\theta$ , функция рассеяния, равна единице, если размер молекулы ниже определенного основного значения, приблизительно равного 10 нм. При этих условиях уравнение принимает вид

$$R_q = M_w K^* c,$$

где  $K^* = (dn/dc)^2 K$ .

Итак, отклик от детектора прямо пропорционален молекулярной массе, постоянной  $K$  и концентрации.



Из уравнения видно, что значение  $dn/dc$  очень важно в вычислениях рассеяния света. Также очевидно, что отклик прямо пропорционален молекулярной массе, поэтому пробы с низким молекулярным весом или комбинации проб и растворителя с низким  $dn/dc$  приводят к недостаточным данным рассеяния света.

### Приращение показателя преломления — $dn/dc$

Приращение показателя преломления  $dn/dc$  — степень изменения показателя преломления раствора в зависимости от изменения концентрации растворенного вещества. Приращение показателя преломления представляет очень важный член в вычислениях рассеяния света, так как интенсивность рассеянного света прямо пропорциональна квадрату  $dn/dc$ . В общем случае  $dn/dc$  комбинации полимера и растворителя считается постоянным (хотя оно может изменяться при низких молекулярных массах). Данные рассеяния света хорошего качества обычно получаются в растворителях, в которых значение  $dn/dc$  поддается оценке. Значение  $dn/dc$  может быть равным нулю (в этом случае отклик рассеяния света не наблюдается) или отрицательным.

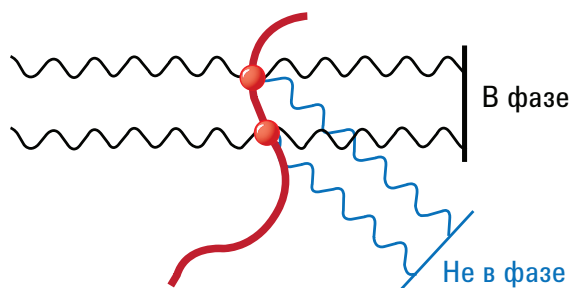
Полимер	Растворитель	Приращение показателя преломления $dn/dc$ (г/мл)
Эпоксидная смола	Тetraгидрофуран	0,1869
Полибутадиен	Тetraгидрофуран	0,1295
Поликарбонат	Тetraгидрофуран	0,1855
Полиметилметакрилат	Тetraгидрофуран	0,0830
Полистирол	Тetraгидрофуран	0,1845
Поливинилхлорид	Тetraгидрофуран	0,1010
Полиуретан	Тetraгидрофуран	0,1469
Декстран	Водяные буферы	0,1470
Гидроксипропилированный крахмал	Водяные буферы	0,1354
Полиакриламид	Водяные буферы	0,1420
Полиэтиленоксид	Водяные буферы	0,1350

Источник: Корпорация американских стандартов полимеров (APS)

При вычислениях рассеяния света принимается, что значение  $dn/dc$  для пробы остается постоянным. Рассеяние света, следовательно, не является подходящим методом для анализа сополимеров или смесей, в которых состав пробы и, следовательно,  $dn/dc$  могут варьировать по распределению молекулярной массы.

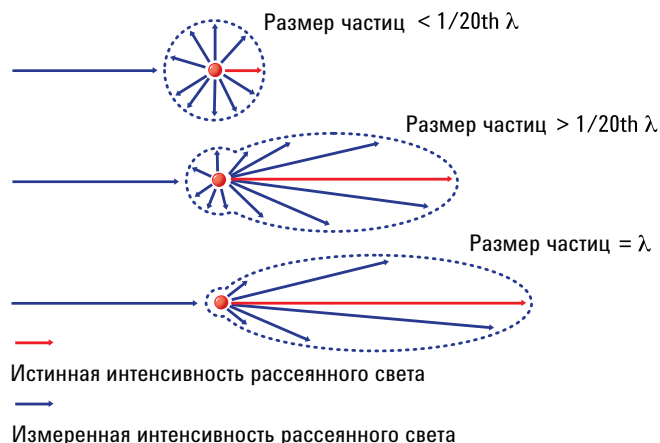
### Зависимость рассеяния света от угла

Интенсивность рассеянного света не обязательно одинакова во всех направлениях. Если исследуемая молекула мала, меньше  $1/20$  длины волны падающего света лазера, она действует подобно точке и рассеивает свет равномерно во всех направлениях. Однако по мере возрастания размера молекулы относительно длины волны света лазера молекула начинает действовать как собрание точек, каждая из которых рассеивает свет отдельно. В результате при высоких значениях угла ослабляющая интерференция снижает количество рассеянного света, вызывая падение значения функции рассеяния  $R\theta$  ниже единицы.



Интерференция в рассеянии света крупных молекул

В результате снижения интенсивности отраженного света значения молекулярных масс при высоких значениях угла занижаются с возрастанием размера исследуемых молекул.



Объемы рассеяния молекул различных размеров

Это явление называют несимметричностью. Истинное значение интенсивности, независимо от молекулярного размера, можно получить только при нулевом угле (то есть при угле падения), но его невозможно измерить из-за наличия луча лазера, большая часть которого молекулой не рассеивается. Существуют различные способы решения вопроса несимметричности с целью получения точных молекулярных масс, как описано ниже.

### Несимметричность и радиус инерции

Единственным преимуществом влияния несимметричности является то, что если регистрировать рассеянный свет одновременно под более чем одним углом, то снижение рассеяния при высоких значениях угла по сравнению со значениями при меньших углах можно использовать для оценки размера молекулы. Измеряемое значение есть радиус инерции  $R_g$ , усредненное среднеквадратическое значение расстояния составляющих молекулы от центра тяжести. Значение  $R_g$  обычно одного порядка с гидродинамическим радиусом. Для целей получения  $R_g$  из данных рассеяния света требуются измерения под более чем одним углом, а исследуемая молекула должна быть достаточно велика для возникновения угловой несимметричности, что в общем означает необходимость иметь  $R_g$  более 10 нм. Эти требования соответствуют молекуле полистирола в хорошем растворителе с  $M_w$  приблизительно 200 000 г/моль.

## Анализ данных рассеяния света

Существует много способов анализа данных рассеяния света в зависимости от конструкции средства измерений и числа используемых в анализе углов. Все методы анализа пытаются учесть тот аспект, что чем более точные значения интенсивности и, следовательно, молекулярных масс достигаются, тем ближе угол измерений к нулевому, но тем больше шум в данных. При больших значениях углов данные меньше зашумлены и, следовательно, более прецизионны, но вследствие несимметричности точность результата может быть меньше.

Следующие подходы обычно применяют с целью разрешить эти вопросы.

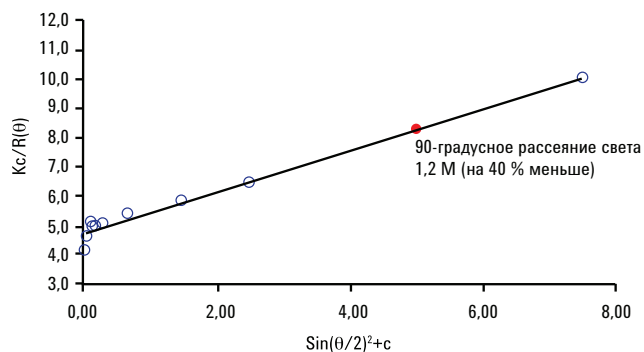
### Калибровка средства измерений

Первым этапом выполнения анализа любой пробы является калибровка средства измерений или детектора. Отклик детекторов калибруют по известным свойствам, используя стандарт с узким распределением. В ГПХ с рассеянием света калибруют отклик концентрационного детектора на известную концентрацию и детектора по светорассеянию на известную молекулярную массу. На этой стадии также определяют временные задержки между детекторами, называемые междетекторными задержками (IDD).

### Рассеяние света под прямым углом — RALS

В этом подходе используется только один детектор, расположенный под углом  $90^\circ$  к падающему лучу, и эффективно игнорируется аспект несимметричности. Точные молекулярные массы получают, если молекулы не создают несимметричности, но при больших размерах молекул имеет место возрастающее занижение оценки молекулярной массы. Например, для стандарта полистирола 2 000 000 г/моль в тетрагидрофуране (ТГФ) имеются следующие данные.

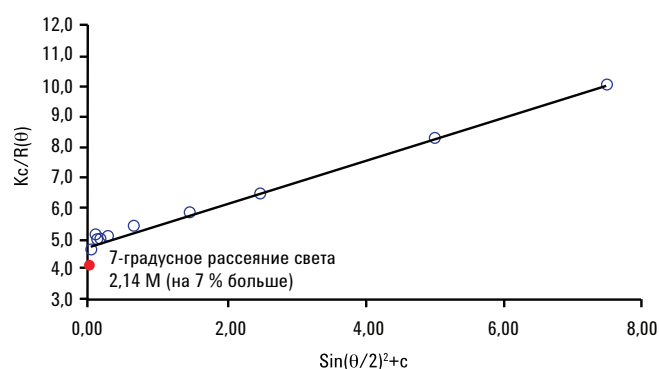
Измерение интенсивности только под углом  $90^\circ$  (в красной точке), имеется значительное занижение оценки молекулярной массы вследствие несимметричности.



Данные рассеяния света для анализа эталона 2 000 000 г/моль под единственным углом

### Рассеяние света под малым углом — LALS

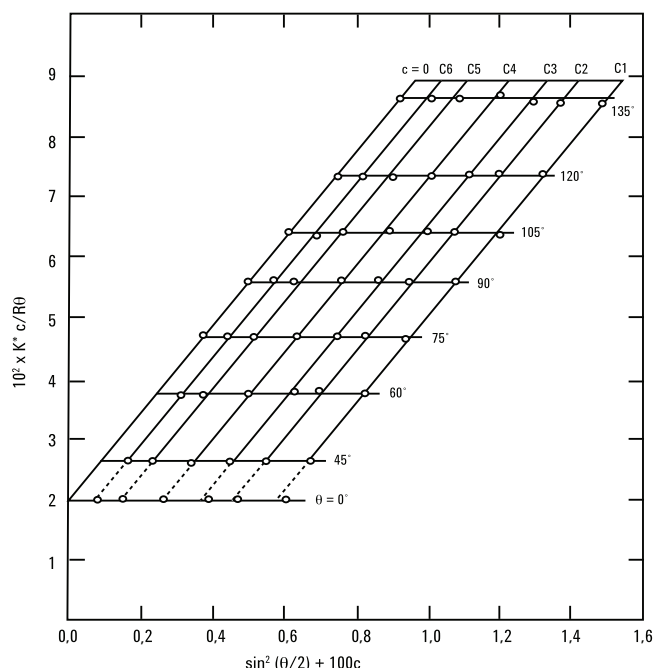
В этом методе используется сбор данных рассеяния света под углом насколько можно более близким к нулевому. В теории этот подход дает наиболее точный результат, однако он страдает низкой прецизионностью результатов измерений при малых углах вследствие присутствия падающего луча и чувствительности малых углов к пыли и другим загрязняющим веществам. Например, для стандарта полистирола 2 000 000 г/моль в ТГФ имеются следующие данные. Измерения интенсивности под углом всего  $7^\circ$  (красная точка), имеется значительная погрешность молекулярной массы вследствие прецизионности результатов измерений.



Данные рассеяния света для анализа стандарта 2 000 000 г/моль под малым углом

### Измерение рассеяния света — подходы по методу Зимма и частичному методу Зимма

Классическим способом анализа данных рассеяния света является «групповой» подход, называемый методом Зимма. Этот метод связан с получением зависимости  $K^*c/R\theta$  от  $\sin^2(\theta/2) + c$  и выполнением затем двойной экстраполяции к нулевому углу и нулевой концентрации. По этой зависимости получают молекулярную массу из точки пересечения с осью ординат и радиус инерции из тангенса угла наклона.

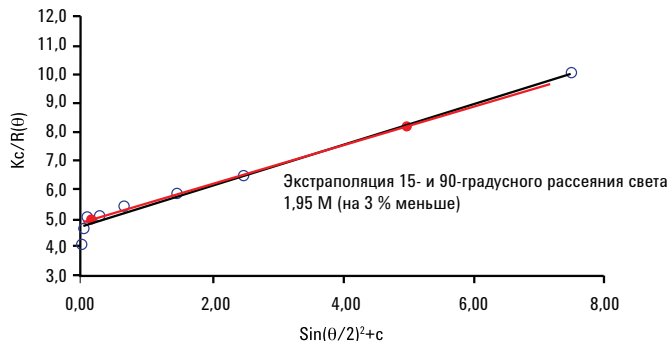


Типичная зависимость Зимма

Этот метод требует выполнения измерений при нескольких значениях угла и концентрации и поэтому является методом групповых вычислений. В применении метода на потоке невозможно измерить рассеяние при различных концентрациях, поэтому вместо вышеописанного метода используют анализ по частичному методу Зимма. Для анализа по частичному методу Зимма используют несколько значений угла, но только при одной концентрации. Препятствием для измерений при нескольких углах может быть необходимость наличия в системе достаточно большой проточной кюветы, что может приводить к расширению зоны вследствие внеколоночного размытия.

Выполнение анализа с использованием частичного метода Зимма возможно с любым количеством углов получения данных, до тех пор пока используются хотя бы два, и во многих случаях для пробы по-прежнему возможно получение точных результатов. Например, для стандарта полистирола 2 000 000 г/моль в ТГФ имеются следующие данные.

Измерения интенсивности при нескольких углах (черная линия) дают молекулярную массу 2 000 000 г/моль. Измерения только при двух углах,  $15^\circ$  и  $90^\circ$  (красная линия), дают молекулярную массу 1 950 000 г/моль, которая находится в пределах хроматографической погрешности, нормально связанной с разделением методом ГПХ (приблизительно 3% для результатов измерений  $M_w$ ).

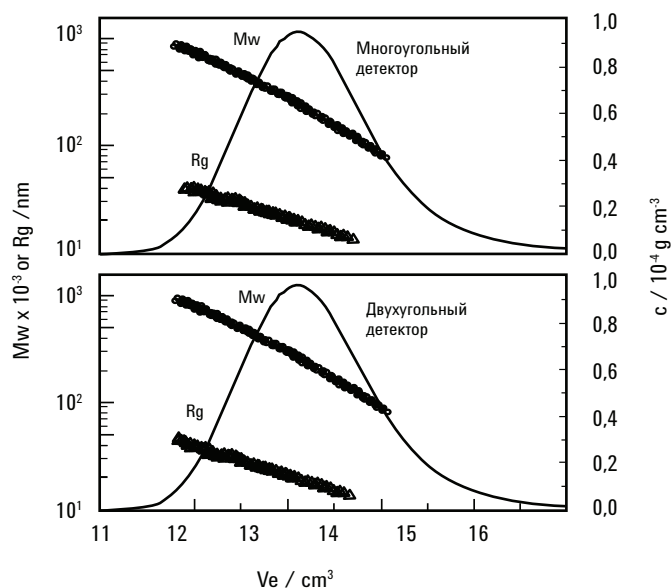


Данные измерений рассеяния света под двумя углами для экстраполирующего анализа стандарта 2 000 000 г/моль

### Измерение рассеяния света — несимметричный подход

Несимметричный метод представляет другой способ анализа данных, получаемых при двух или трех углах, когда один из углов равен 90°. При таком подходе сравнивают отклики для различных углов и получают отношение интенсивностей. На основе этой информации оценивают размер рассеивающей свет молекулы и вычисляют значение функции рассеяния  $R\theta$ . Эту функцию далее используют в целях коррекции отклика при одном из углов (обычно равном 90°) для получения истинной интенсивности рассеянного света.

Во многих случаях полученные по несимметричному методу результаты достаточно близки к получаемым в системе с несколькими углами с использованием подхода с частичным методом Зимма, при условии правильного расположения углов, достаточно малого значения одного из них, а также хорошего качества данных. Приведенный ниже график для полистирола в ТГФ показывает, насколько близко совпадают данные системы с несколькими углами и системы с двумя углами со значениями 15° и 90°.



Воспроизводится с разрешения изд. Elsevier Ltd из «Данные измерений молекулярной массы и радиуса инерции полистирола в хорошем растворителе и в тета-растворителе в пинши, измеряемые детектором по светорассеянию с двумя углами». European Polymer Journal, 40(8), 2004; разрешение передано через Copyright Clearance Center, Inc.

Сравнение анализа частичным методом Зимма и анализа при двух углах

#### График соответствия

Аналогичным соотношению Марка — Хаувинка в вискозиметрии способом можно построить график соответствия соотношения между размером молекул ( $R_g$ ) и молекулярной массой, используя следующее уравнение

$$R_g = KM^\nu,$$

где  $R_g$  — радиус инерции,  $M$  — молекулярная масса, а  $\nu$  и  $K$  — константы.

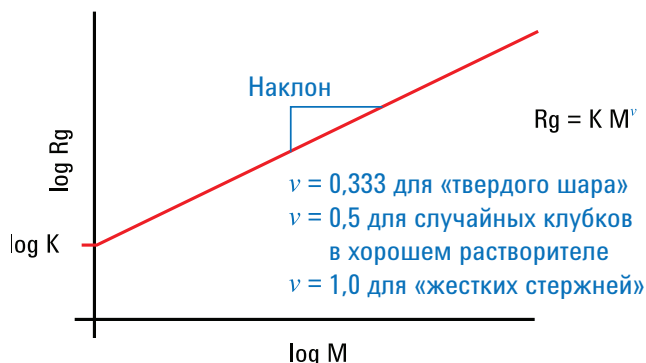
Преобразование в логарифмический вид дает

$$\log R_g = \log K + \nu \log M.$$

Вычерчивание этой зависимости дает прямую линию с точкой пересечения с осью ординат  $\log K$  и тангенсом угла наклона  $\nu$ .

Это полезное соотношение, так как значения  $K$  и  $\nu$  представляют константы для заданной комбинации растворителя и полимера, а значение  $\nu$  дает информацию о динамическом поведении молекул полимера в растворе. Значение  $\nu$  должно располагаться между 0,3 и 1,0; меньшие значения указывают на более компактную плотную структуру (следующую модели «твердого шара»), при 0,5 в хорошем растворителе следует ожидать полимер со случайным клубком. Повышенные значения указывают на крупную, более сольватированную структуру (предельное значение 1,0 показательно для модели «жесткий стержень», в которой большая часть составляющих молекулы находится далеко от центра тяжести, подобно тому, что ожидается в растворе для структуры «вращающийся стержень»).

График соответствия подобен зависимости Марка — Хаувинка, несмотря на то что значение  $\nu$  отличается от значения  $\alpha$ , так как одно представляет член, зависящий от размера, а другое — член, зависящий от плотности. К тому же график соответствия менее применим для проб с умеренным числом цепочек размера ниже 10 нм, так как в этой области невозможно выполнить измерения  $R_g$  с использованием статического рассеяния света вследствие недостаточной угловой несимметричности. Однако обе зависимости представляют прекрасный способ изучения поведения молекул полимеров в растворе.



Пример графика соответствия

### Тройное детектирование

Тройным детектированием называют ГПХ-анализ полимеров с применением концентрационного детектора, вискозиметра и детектора по светорассеянию. При таком подходе молекулярные массы вычисляют так же, как в ГПХ с рассеянием света, но при этом еще определяют характеристическую вязкость. Преимущество этого метода заключается в наличии всех данных, раскрывающих исследование пробы использованием зависимости Марка — Хаувинка или графика соответствия. Характеристическую вязкость можно использовать для оценки размера анализируемых молекул и, следовательно, корректирования молекулярной массы. Тройное детектирование считается наиболее современным видом мультидетекторной ГПХ.

### Светорассеяние на практике

Рассеяние света требует более строгого подхода по сравнению с прочими видами ГПХ. Растворители и пробы должны быть тщательно очищенными от пыли и нерастворимых веществ, так как эти частицы крайне сильно рассеивают свет, особенно при малых углах. Фильтрование растворителей с помощью фильтров 0,02 мкм является требованием для получения данных хорошего качества.

Рассеяние света хорошо пригодно для полимеров с высокими значениями молекулярных масс и комбинаций полимеров и растворителей, дающих существенные значения  $dn/dc$ . При вычислениях значение  $dn/dc$  принимается постоянным во всем объеме элюирования полимера, поэтому рассеяние света наиболее часто применяется для анализа гомополимеров. Огромным преимуществом использования рассеяния света является то, что этот метод дает молекулярные массы независимо от калибровки колонки, и поэтому получаемые данные для анализа можно быстро сопоставлять с данными прочих методик.

### Краткая сводка по светорассеянию

ГПХ с применением светорассеяния представляет превосходный метод для измерений молекулярных масс проб и не требует никакой калибровки колонок. Однако получение данных светорассеяния хорошего качества требует строгого лабораторного выполнения, а отклик детектора сильно зависит от молекулярной массы и  $dn/dc$ . Вследствие сказанного выше, рассеяние света недостаточно эффективно для сополимеров. Тем не менее ГПХ по светорассеянию можно использовать для многих проб с целью исследования поведения молекул полимеров в растворе с помощью графика соответствия. Одновременное детектирование тремя детекторами имеет много преимуществ и считается наиболее современным видом мультидетекторной ГПХ.

### Разветвление полимерной цепи

В мультидетекторной ГПХ ветвление в полимерах оценивается посредством исследования изменений размера молекул или характеристической вязкости в функции возрастания молекулярной массы. Во всех случаях для полимеров одинакового химического состава молекулы с разветвленной цепочкой всегда имеют меньшие значения  $Rg$  и  $IV$ , чем линейные аналоги, из-за наличия точек ветвления.

Вычисления степени разветвления можно выполнять во всех методиках по данным характеристической вязкости (измеряемая или вычисляемая) или радиусу инерции (измеряемый или вычисляемый). Качество результатов вычислений ветвлений зависит от качества исходных данных (характеристическая вязкость или радиус инерции). Коэффициенты сужения определяют из зависимости Марка — Хаувинка (логарифм характеристической вязкости в зависимости от  $\log MW$ ) или графика соответствия (логарифм радиуса инерции в зависимости от  $\log MW$ ), используя следующие соотношения.

$$g = \left( \frac{Rg \text{ ветвл.}}{Rg \text{ лин.}} \right)_{MW} \quad g' = \left( \frac{IV \text{ ветвл.}}{IV \text{ лин.}} \right)_{\text{сужения}}$$

где  $g = g'^{(1/\varepsilon)}$

$$\varepsilon \text{ (структурный множитель) = } 0,5\text{--}1,5, \text{ обычно } 0,75$$

Значение  $g$  (непосредственно или полученное из  $g'$  и оценка структурного множителя, обычно 0,75) используется наряду с единицей повтора ветвления (молекулярная масса мономера, умноженная на 1000) для получения количеств ветвлений с использованием модели ветвления. Примером является среднечисловая модель с тернарным взаимодействием и ветвлением.

$$g = [(1 + V_n / 7)^{1/2} + 4V_n / 9 \pi]^{-1/2}$$

где  $n$  — количество ветвлений на 1000 атомов углерода.

Количества ветвлений выражены в виде ветвлений на 1000 атомов углерода вследствие того факта, что эти вычисления проводились для проб полиолефина, который содержит углерод только в главной цепи. Если исследуемый полимер не является полиэтиленом, то действительное число ветвлений может не быть непосредственно значимым. Тем не менее возможность сравнения проб сохраняется.

## Применение мультidetекторной системы 1260 Infinity Multi Detector Suite (MDS) в реальных условиях

Модель 1260 Infinity MDS представляет собой систему со встроенными детекторами, разработанную в качестве простого дополнения к любой системе жидкостной хроматографии, которое позволяет выполнять любые виды анализа ГПХ. Универсальное средство измерений с рядом возможностей дополнительного выбора детекторов, система 1260 Infinity MDS представляет новейший инструмент для анализа полимеров. Независимо от предъявляемых к ГПХ требований систему 1260 Infinity MDS можно настраивать в соответствии с нуждами пользователя.

- При наличии ЖХ просто добавьте 1260 Infinity MDS с вискозиметром, детектором по светорассеянию или обоими вместе в существующую систему, чтобы максимально анализировать свои полимеры
- При наличии ряда различных систем, работающих со множеством растворителей, система 1260 Infinity MDS является универсальной и подстраиваемой, при необходимости возможно удобное переключение между системами.
- Если требуется только один детектор, систему 1260 Infinity MDS можно сконфигурировать в качестве автономного вискозиметра для получения информации о структуре полимеров или детектора по светорассеянию для исследования абсолютных значений молекулярной массы и ветвлений.

Для законченной системы просто сочетайте вискозиметр и детектор по светорассеянию с уже имеющимся рефрактометрическим детектором с целью получения богатой информации и полной характеристики полимеров.



Система 1260 Infinity Multi Detector Suite — выполнение ГПХ с любой системой ЖХ



## Анализ полистирола посредством вискозиметрии

Интерес к синтезу полимеров со звездным ветвлением растет благодаря их необычным поточным и вязкостным свойствам по сравнению с линейными аналогами. Полимеры со звездным ветвлением состояются из нескольких ветвей, исходящих из центральной цепи, или путем подготовки отдельных ветвей и присоединением их к центральной молекуле — подход «исходные ветви», или путем выращивания ветвей полимера из центральной цепи — подход «исходная цепь». Синтез многих коммерческих полимеров со звездными формированиями относительно прост, однако их характеристика остается сложной задачей анализа. ГПХ с применением концентрационного детектора (обычно рефрактометрический детектор) вместе с вискозиметром можно использовать для измерений не только молекулярной массы веществ, но также для исследований структур со звездным ветвлением.

Проанализированы последовательности полистирольных полимеров со звездным ветвлением, которые были синтезированы с использованием подхода «исходная цепь», дающего теоретические структуры с количеством ветвей 5, 14 и 21.

### Условия

Пробы:	Полистирольные полимеры со звездным ветвлением
Колонки:	2 x PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 x 7,5 мм
Элюент:	Тетрагидрофуран (ТГФ)
Расход:	1,0 мл/мин
Температура:	40 °С
Температура детектора:	Все детекторы настроены на 40 °С
Последовательность детекторов:	1260 Infinity MDS с вискозиметром и рефрактометрическим детекторомDRI

Пробы предоставлены проф. Хэддлтоном (Haddleton), Уорвикский университет

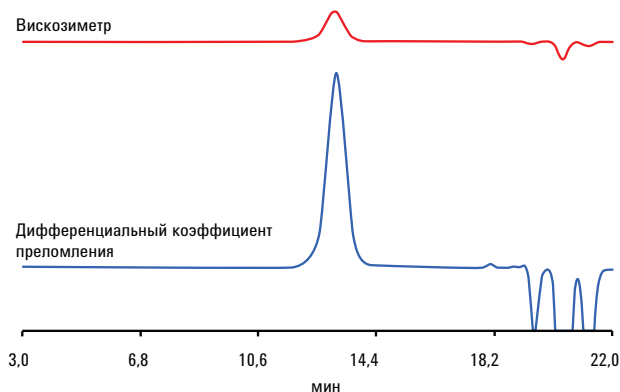


Рис. 1. Вискозиметрическое и рефрактометрическое детектирование полистирола со звездным ветвлением, 14 ветвей.

На рис. 1 показана хроматограмма полимера с 14 ветвями, выполненная методом двойного детектирования.

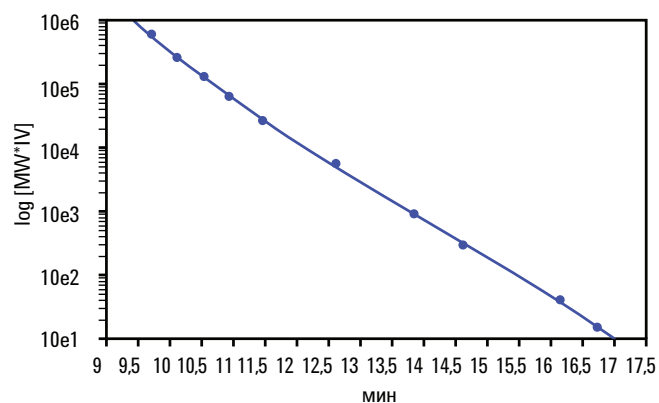


Рис. 2. Универсальная калибровочная кривая с использованием стандартов полистирола

Подход с использованием универсальной калибровки использовался для вычисления средних взвешенных молекулярных масс для полимеров со звездным ветвлением. Универсальная калибровочная кривая получена с использованием стандартов линейных полистирольных полимеров с узкой полидисперсностью и показана на рис. 2.

**Таблица 1.** Средние взвешенные молекулярные массы и взвешенные средние вязкости полимеров со звездным ветвлением

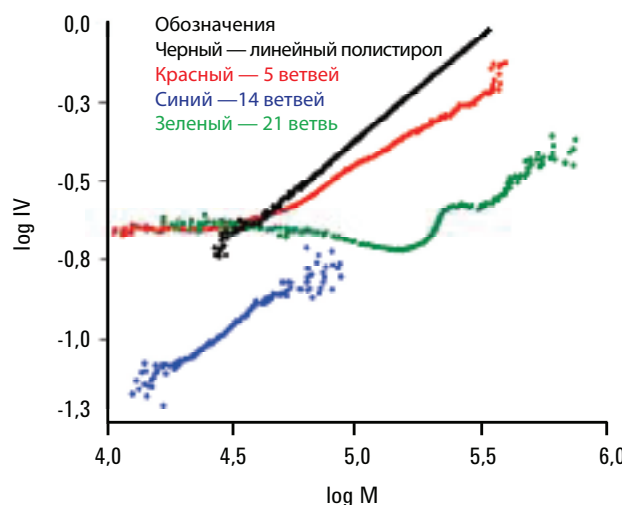
Проба	Средняя взвешенная молекулярная масса (г/моль)						PD	IVw
	Mp	Mn	Mw	Mz	Mz+1	Mv		
5 ветвей	56,120	10,460	64,856	98,594	134,877	46,292	6,20	0,28
14 ветвей	27,436	26,812	29,310	32,425	36,542	28,687	1,10	0,10
21 ветвь	149,752	111,377	157,884	201,225	256,977	141,293	1,42	0,21

Исходя из линейных участков в зависимостях Марка — Хаувинка для звезд, вычислен характеристический коэффициент сужения  $g'$ .

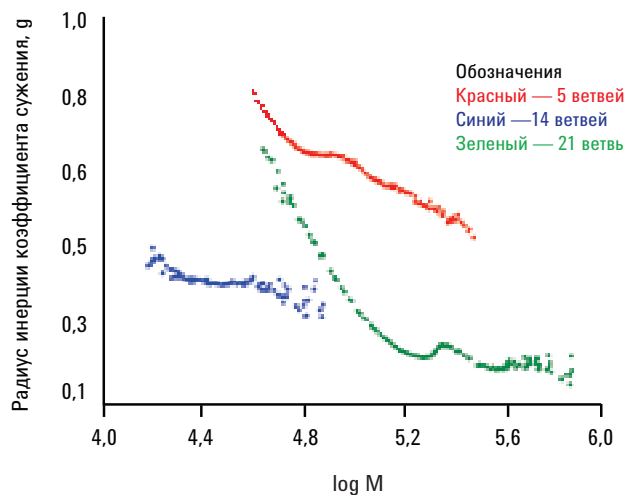
На основании этой калибровки вычислены средние значения молекулярной массы и характеристической вязкости (IVw) для полистирольных полимеров со звездным ветвлением, приведенные в таблице 1.

Зависимости Марка — Хаувинка для логарифма характеристической вязкости в функции от логарифма молекулярной массы вычислены для полистирольных полимеров со звездным ветвлением и для ряда полистирольных материалов, известных отсутствием ветвлений. На рис. 3 приведено наложение полученных зависимостей Марка — Хаувинка, показывающее, что увеличение числа ветвей в полистирольных полимерах со звездным ветвлением при любой заданной молекулярной массе приводит в результате к уменьшению характеристической вязкости по сравнению с рядом линейных полистирольных полимеров. Однако для полистирольного полимера со звездным ветвлением с 21 ветвью изменение характеристической вязкости относительно ряда линейных полистирольных полимеров значительно варьирует в зависимости от молекулярной массы.

По данным  $g'$  был вычислен коэффициент сужения  $g$  радиуса инерции, где  $a = 1,104$ ,  $p = 7$  и  $b = 0,906$  (Weissmüller и др., 1997).



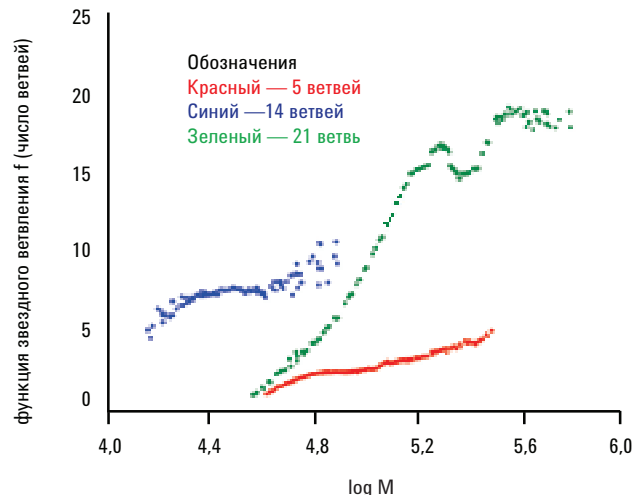
**Рис. 3.** Наложенные зависимости Марка — Хаувинка для различных полимеров со звездным ветвлением



**Рис. 4.** Наложение зависимостей сужения  $g$  радиуса  $R_g$  для различных полимеров со звездным ветвлением

На рис. 4 приведено наложение зависимостей сужения  $g$  радиуса  $R_g$  для полимеров со звездным ветвлением с количеством ветвей 5, 14 и 21. На основании вычисленных значений  $g$  и функциональной зависимости  $f$  для звезд было вычислено теоретическое число ветвей; использована модель по уравнению 1 с допущением «случайного», то есть полидисперсного распределения ветвей в молекулярной массе (Burchard, 1977, 1983).

$$g = \frac{3f}{(f+1)^2}$$



**Рис. 5.** Графики функциональной зависимости  $f$  для различных полимеров со звездным ветвлением

На рис. 5 приведено наложение функциональной зависимости  $f$  для звезд в виде функции от логарифма молекулярной массы. Случайная модель дала прогностическую оценку  $f$ , числа ветвей, хорошо согласующуюся с ожидаемым значением синтеза. Однако для всех полимеров со звездным ветвлением, особенно для полистирольного полимера с 21 ветвью, вычисленное значение  $f$  резко возрастает с молекулярной массой, указывая на наличие в значительной части пробы с малой молекулярной массой компонентов с числом ветвей меньше ожидаемого.

Вариации функциональной зависимости  $f$  в зависимости от молекулярной массы дают важное понимание механизма в подходе «исходная цепь», используемом для синтеза веществ.

#### Литература

Burchard, W. (1977) Particle scattering factors of some branched polymers. *Macromols*, 10, 919–927.

Burchard, W. (1983) Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers. *Adv. Polym. Sci.*, 48, 1–124.

Weissmüller, M. and Burchard, W. (1997) Molar mass distributions of end-linked polystyrene star molecules. *Polymer Internat.*, 44, 380–390.

## Анализ эпоксидных смол посредством вискозиметрии

Эпоксидные смолы представляют собой композиционные материалы, изготавливаемые с использованием реакции смолы и отвердителя. Эта реакция дает полимер с поперечными связями, обладающий чрезвычайной прочностью и сопротивлением хрупкому излому; его можно использовать для склеивания материалов. Представляющий смолу компонент смеси является эпоксидным предполимером, получаемым обычно посредством реакции эпоксиды с бисфенолом-А. Результирующий материал с короткой цепью содержит концевые функциональные группы —ОН и эпоксидные соединения и является дипольным по характеру. Молекулярная масса эпоксидных цепей в смоле является важной, поскольку она влияет на скорость отверждения конечной композиции эпоксидной смолы при смешивании с отвердителем; однако точные молекулярные массы трудно получить в силу композитной, неоднородной природы цепей эпоксидного полимера.

ГПХ позволяет оценить распределение молекулярной массы полимеров; эта характеристика влияет на многие физические свойства, например время отверждения эпоксидных смол. Преимущество применения вискозиметра вместе с дифференциальным рефрактометрическим детектором заключается в возможности определения точных молекулярных масс полимеров для структурно сложных полимеров и сополимеров, используя подход на основе универсальной калибровки. С использованием этой методики для проб определяются одинаковые молекулярные массы независимо от стандартов, применяемых для калибровки.

### Условия

Пробы:	Эпоксидные предполимеры
Колонки:	2 x PolarGel-L, 300 x 7,5 мм
Элюент:	Диметилформамид + 0,1 % LiBr
Объем пробы:	200 мкл
Расход:	1,0 мл/мин
Температура детектора:	Все детекторы настроены на 60 °C
Последовательность детекторов:	1260 Infinity MDS с вискозиметром и рефрактометрическим детектором RID

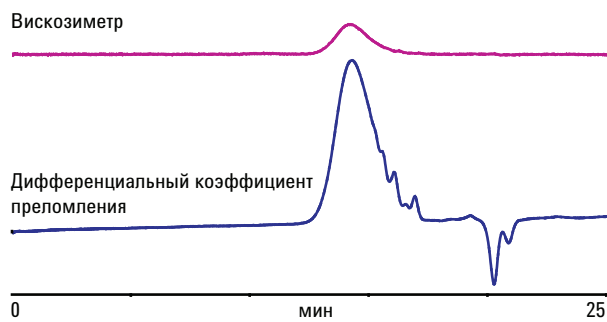


Рис. 6. Наложенная многодетекторная хроматограмма для примера с эпоксидным предполимером

Эпоксидные предполимеры являются дипольными по характеру; с ними можно работать в полярных растворителях, например диметилформамиде, используя комплект колонок PolarGel-L. В качестве части системы была выбрана 1260 Infinity MDS, так как она позволяет выполнять мультidetекторную ГПХ в полярных растворителях.

На рис. 6 показан пример наложения многодетекторной хроматограммы для пробы одного из эпоксидных предполимеров. Присутствие олигомеров, обнаруживаемых посредством колонок PolarGel-L, вполне ясно.

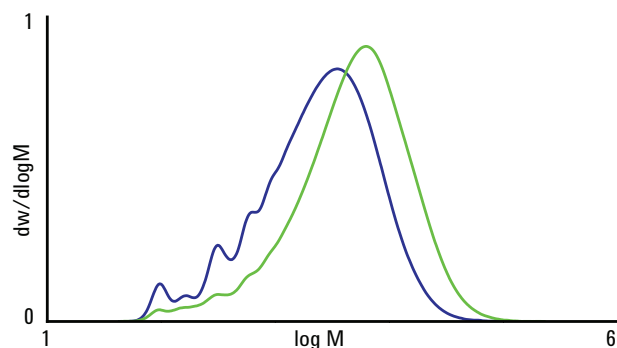


Рис. 7. Наложенные распределения молекулярной массы, полученные мультidetекторным методом для двух проб эпоксидного предполимера

На рис. 7 приведено наложение точных распределений молекулярных масс двух исследуемых проб. Видно, что они имеют различные распределения, указывающие на материалы двух разных сортов эпоксидного предполимера, обнаруживающие различающиеся скорости отверждения при смешивании с отвердителем смеси эпоксидной смолы.

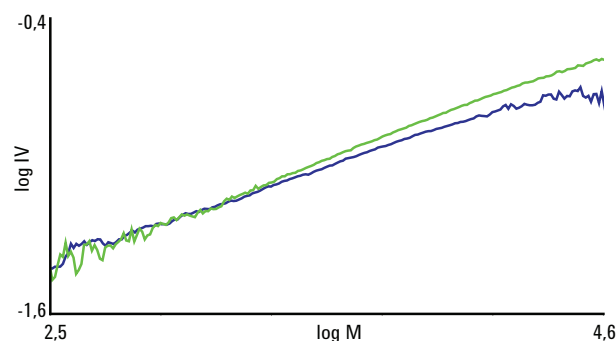


Рис. 8. Наложенные зависимости Марка — Хаувинка для двух проб эпоксидного предполимера

На рис. 8 показана наложенная зависимость Марка — Хаувинка для логарифма характеристической вязкости в функции от логарифма молекулярной массы для двух проб. Оба сорта эпоксидного предполимера показывают одинаковые соотношения, обнаруживая отклонение только при высокой молекулярной массе.

Оно должно показывать, что размеры молекул этих двух веществ практически одинаковы при малой молекулярной массе; однако с ростом молекулярной массы наблюдается структурное расхождение между этими двумя веществами, вероятно, вследствие изменения химического состава проб.

## Анализ бутвара посредством тройного детектирования

Поливинилбутираль (бутвар) представляет собой смолу, получаемую из поливинилового спирта посредством реакции с бутиральдегидом. Бутвар является важным материалом, имеющим широкий ряд применений, когда требуются прочное связывание, оптическая прозрачность, превосходная поверхностная адгезия, сопротивление хрупкому излому и универсальность. Наиболее известно применение бутвара в ламинированном безопасном стекле, например для лобовых стекол транспортных средств. В таких изделиях бутвар используется в качестве граничного слоя между двумя слоями закаленного стекла. Граничный слой поглощает энергию ударов, удерживая осколки разбитого стекла вместе и распределяя усилие удара по значительной площади. Применение ламинированного стекла позволило значительно сократить травмы вследствие автомобильных катастроф. Поскольку характеристики бутвара в качестве ламината для стекла связаны с вязкоупругими свойствами, в целях получения оптимальных характеристик необходимо тщательно контролировать распределение молекулярной массы материала.

Гель-проникающая хроматография (ГПХ) с тройным детектированием и с использованием детектора по светорассеянию и вискозиметра может применяться для определения точных молекулярных масс полимеров, подобных бутвару. Был выполнен анализ трех видов бутвара с применением этих методов, один из которых не показал ожидаемых характеристик в прикладном испытании.

### Условия

Пробы:	Поливинилбутираль
Колонки:	2 x PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 x 7,5 мм
Элюент:	Тетрагидрофуран (стабилизированный)
Объем пробы:	100 мкл
Расход:	1,0 мл/мин
Температура детектора:	Все детекторы настроены на 40 °C
Последовательность детекторов:	1260 Infinity MDS с измерением рассеяния света под двумя углами, вискозиметром и рефрактометрическим детектором

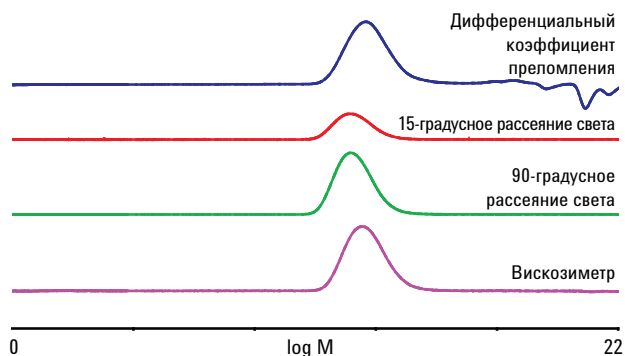


Рис. 9. Наложенная многодетекторная хроматограмма для примера с поливинилбутиралем

На рис. 9 показан пример наложения многодетекторной хроматограммы для пробы бутвара. Все пробы демонстрируют уверенные сигналы, достаточно широкие у всех детекторов, что означает высокую полидисперсность материалов.

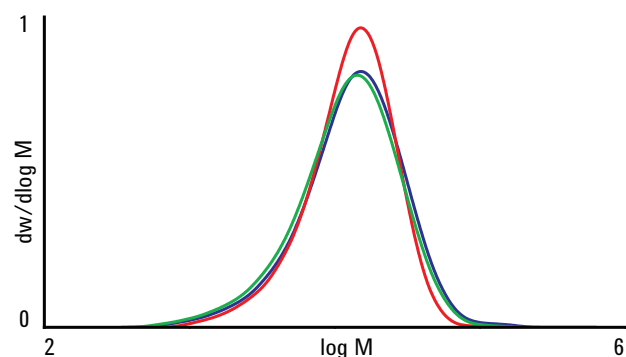


Рис. 10. Наложенные распределения молекулярных масс трех поливинилбутиралей, полученные трехдетекторным методом

Рис. 10 показано наложение распределений молекулярной массы трех видов бутвара. Две из проб показали одинаковые молекулярные массы только с незначительными различиями между распределениями. Однако третья проба показала заметное отличие в распределении молекулярной массы, особенно в области высокой молекулярной массы, где было представлено меньше вещества, чем у других проб. Предположительно это отличие может отвечать за отличие в характеристиках материала по сравнению с другими полимерами.

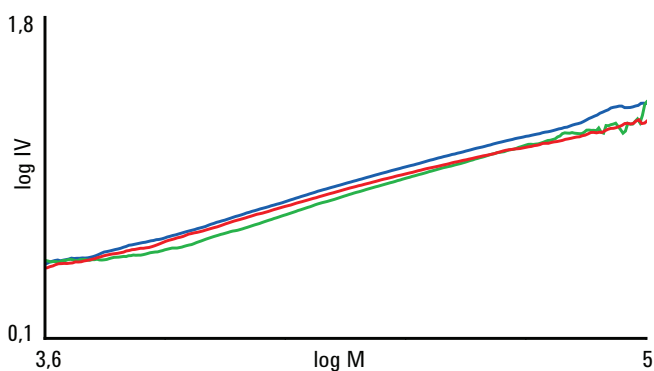


Рис. 11. Наложенные зависимости Марка — Хаувинка для трех проб поливинилбутирала

На рис. 11 показана наложенная зависимость Марка — Хаувинка для логарифма характеристической вязкости в функции от молекулярной массы. Все пробы имеют одинаковые соотношения между возрастанием молекулярной массы и возрастанием характеристической вязкости, указывающие на совместимость структур трех видов бутвара. Следовательно, наблюдаемое различие в молекулярной массе является результатом методик синтеза, но не каких-либо изменений в характере самих полимеров.

## Анализ полибутадиена посредством тройного детектирования

Полибутадиен представляет собой эластомер — полимер, который обладает упругостью. Упругость заключается в способности материала деформироваться под воздействием внешнего усилия, но принимать исходную форму после снятия усилия. Полибутадиен является синтетическим эластомером, получаемым из мономера 1,3-бутадиена. Он обладает 80-процентным восстановлением после воздействия, это одно из самых высоких значений для синтетических материалов. Этот материал обычно применяют для покрытий электронных узлов, благодаря его крайне высокому электрическому сопротивлению. Полибутадиен обладает высокой износоустойчивостью, низким теплообразованием при повторяющемся изгибании и низким сопротивлением качению, что делает его подходящим для применения в изготовлении шин. Его часто применяют в комбинации с другими материалами с целью получения резиновых смесей с различными свойствами.

Система 1260 Infinity MDS с тройным детектированием определяет точные молекулярные массы для таких полимеров, для которых не имеются точные стандарты с узким распределением, например для полибутадиена.

### Условия

Пробы:	Полибутадиены
Колонки:	2 x PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 x 7,5 мм
Элюент:	Тetraгидрофуран (стабилизированный)
Объем пробы:	100 мкл
Расход:	1,0 мл/мин
Температура детектора:	Все детекторы настроены на 40 °C
Последовательность детекторов:	1260 Infinity MDS с измерением рассеяния света под двумя углами, вискозиметром и рефрактометрическим детектором

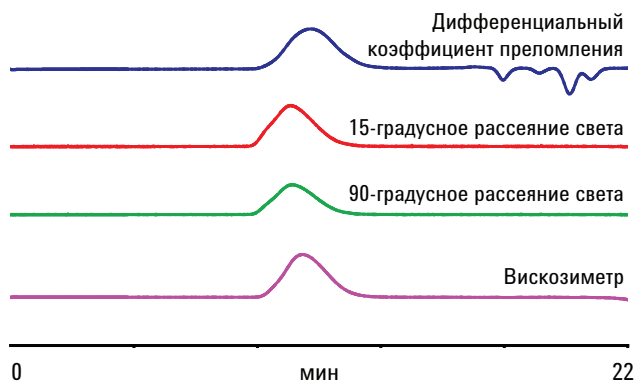


Рис. 12. Наложенная многодетекторная хроматограмма для пробы полибутадиена.

Полибутадиен растворим в тетрагидрофуране (ТГФ) и, не являясь синтетическим эластомером, не имеет гель-фракций с поперечными связями, которые обнаруживаются в натуральных каучуках. ТГФ поэтому является идеальным растворителем для этого анализа.

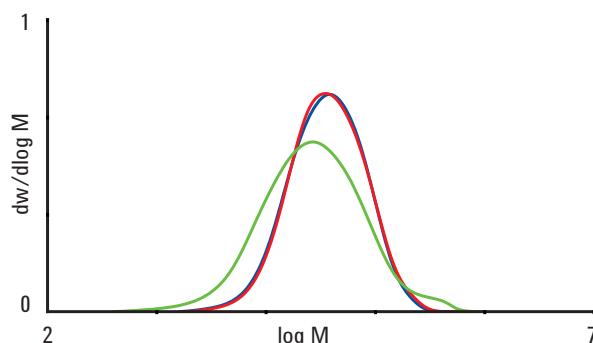


Рис. 13. Наложенные распределения молекулярной массы, полученные трехдетекторным методом для трех проб полибутадиена

На рис. 12 показана наложенная многодетекторная хроматограмма для пробы полибутадиена. Этот полимер дает уверенные, достаточно широкие сигналы у всех детекторов, что означает высокую полидисперсность материалов.

На рис. 13 показано наложение распределений молекулярной массы трех проб полибутадиена. Две из проб показали одинаковые молекулярные массы только с незначительными различиями между распределениями. Однако третья проба показала заметное отличие в распределении молекулярной массы, особенно при высокой молекулярной массе, где у пробы

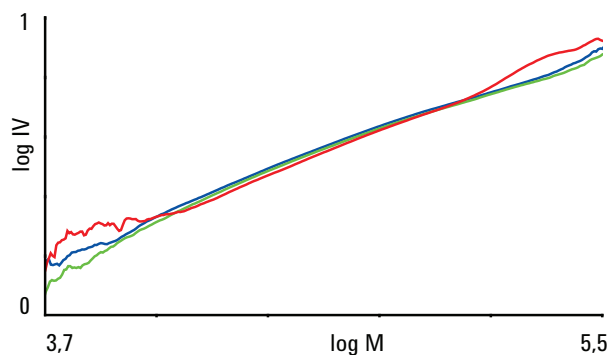


Рис. 14. Наложенные зависимости Марка — Хаувинка для трех проб полибутадиена

наблюдался небольшой выброс. Предположительно это отличие может отвечать за трудности обработки этого материала.

На рис. 14 показана наложенная зависимость Марка — Хаувинка для логарифма характеристической вязкости в функции от молекулярной массы. Все пробы дали одинаковые соотношения между возрастанием логарифма характеристической вязкости и возрастанием логарифма молекулярной массы. Это означает, что полимеры были структурно идентичными и, следовательно, наблюдаемое различие в молекулярной массе является результатом применяемых методик синтеза, но не каких-либо изменений в характере самих полимеров.

## Анализ бромстирола посредством тройного детектирования

Структуру большинства распространенных типов полимера можно модифицировать или посредством реакции постполимеризации или путем применения модифицированных мономеров, получая материалы с новыми и неизвестными свойствами. Понимание и оценка влияния этих модифицированных структур на поведение полимеров в различных применениях важны для разработки новых применений таких материалов. Полистирол является одним из наиболее часто встречающихся полимеров, используемых в основном для изготовления упаковочных материалов. Модифицированные виды полистирола можно производить, используя неизвестные мономеры стирола.

Тройное детектирование можно использовать для определения точных молекулярных масс таких полимеров, для которых не имеются точные стандарты с узким распределением, а также для оценки их сольватационных свойств.

### Условия

Пробы:	Полистирол и полибромстирол
Колонки:	2 x PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 x 7,5 мм
Элюент:	Тетрагидрофуран (стабилизированный)
Объем пробы:	100 мкл
Расход:	1,0 мл/мин
Температура детектора:	Все детекторы настроены на 40 °C
Последовательность детекторов:	1260 Infinity MDS с измерением рассеяния света под двумя углами, вискозиметром и рефрактометрическим детектором

На рис. 15 показан пример наложения многодетекторной хроматограммы для пробы полибромстирола. Полимер дал у всех детекторов уверенный сигнал, который был достаточно широким, что означает высокую полидисперсность материала.

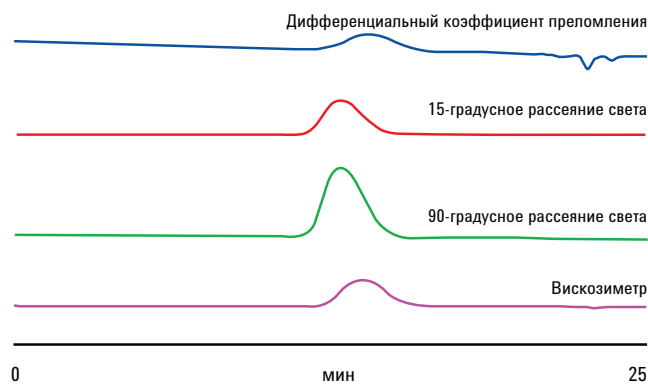


Рис. 15. Наложенная многодетекторная хроматограмма для примера с полибромстиролом

На рис. 16 показано наложение распределений молекулярной массы двух исследуемых проб. На рисунке видно, что полибромстирол имел значительно большую молекулярную массу, чем проба полистирола.

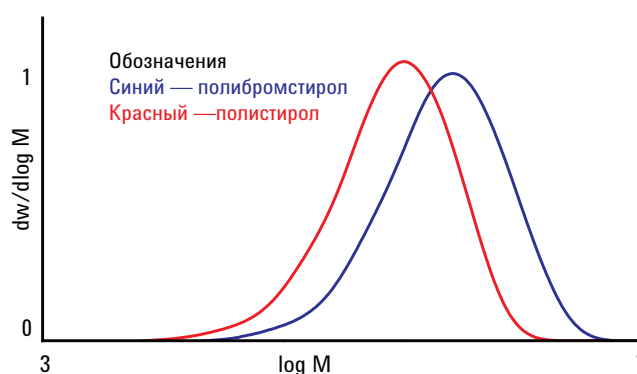


Рис. 16. Наложенные распределения молекулярной массы, полученные трехдетекторным методом для двух проб

На рис. 17 показана наложенная зависимость Марка — Хаувинка для логарифма характеристической вязкости в функции от молекулярной массы для двух проб. По сравнению с полистиролом полибромстирол показывает заметный сдвиг зависимости Марка — Хаувинка к более низким значениям характеристической вязкости при любой заданной молекулярной массе. Этот сдвиг указывает на то, что в диапазоне молекулярной массы полибромстирол в растворе меньше, чем полистирол, в результате изменений в уровне взаимодействия между клубками полимера и растворителем. Его график параллелен графику полистирола, что указывает на идентичность структуры в диапазоне молекулярной массы, как ожидалось при использовании модифицированного мономера для создания нового полимера.

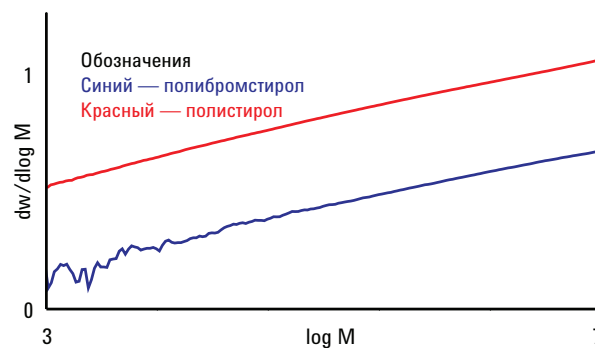


Рис. 17. Наложенные зависимости Марка — Хаувинка для двух проб

## Заключение

Мультидетекторная ГПХ вместе с вискозиметром или детектором по светорассеянию (или с обоими вместе) представляет мощный метод для улучшения как точности, так и информационного содержания эксперимента. Включение вискозиметрии или светорассеяния также направлено на преодоление ограничений традиционной ГПХ, использующей один концентрационный детектор.

ГПХ с использованием определения вязкости вместе с концентрационным детектором посредством универсальной калибровки позволяет вычислять точную молекулярную массу. Этот метод также обеспечивает важное понимание поведения молекул полимеров в растворе благодаря зависимости Марка — Хаувинка, выявляя подробности структурных изменений в главной цепи полимера. Вискозиметрия представляет собой простую в выполнении методику, обеспечивает данные хорошего качества в рутинных лабораториях и поэтому является превосходным выбором для анализа при необходимости улучшения точности и качества результатов ГПХ с минимальными трудозатратами.

ГПХ с детектором по светорассеянию и концентрационным детектором представляет очень мощный метод анализа полимеров и позволяет получать молекулярные массы независимо от какого-либо вида калибровки колонок. В дополнение к этому методика с рассеянием света обеспечивает понимание структурных свойств молекул полимеров, в особенности их размеров в растворе. Несмотря на большую экспериментальную строгость, чем у ГПХ с использованием определения вязкости, применение методики с рассеянием света получает все большее распространение благодаря ценности информации, получаемой посредством этой методики.

ГПХ с тройным детектированием, использующая вискозиметр и детектор по светорассеянию с концентрационным детектором, представляет наиболее многогранный вид анализа. Тройное детектирование выигрывает благодаря преимуществам вискозиметрии и методики с рассеянием света и представляет собой предпочтительную методику для серьезного анализа полимеров.

Продукция Agilent  
для ГПХ:

[www.agilent.com/chem/gpcsec](http://www.agilent.com/chem/gpcsec)

Офис или дистрибьютор Agilent  
в вашей стране:

[www.agilent.com/chem/contactus](http://www.agilent.com/chem/contactus)

## Для дополнительного чтения

*Modern HPLC for Practicing Scientists*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, U.S.

Houlgate, P. and Lee, E. (1999) *Guide to Improving Analytical Quality in Chemistry*. LGC, Teddington, UK.

Huglin, M.B. (1972) *Light scattering from polymer solutions. Серия монографий в Physical Chemistry, 27*.

Lewis, G.F. (1985) *Analytical Chemistry, An Introduction (2nd Ed.)*. Macmillan, London, UK.

Mori, S. & Barth, H. (1999) *Size Exclusion Chromatography*. Springer Verlag, Berlin, Germany.

Striegel, A. (2004) *Multiple Detection in Size-Exclusion Chromatography*. American Chemical Society.

Wu, C-S. (2003) *Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques*. Marcel Dekker, New York, NY, U.S.

Yau, W. (2007) *Size Exclusion Chromatography*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, U.S.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

Информация, описания и технические характеристики в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies Inc., 2012.

Оригинал напечатан в Великобритании 26 апреля 2012 г.  
5990-7196RU

KAMPILAB  
Agilent Technologies  
Authorized Distributor  
<http://campilab.by>  
ООО "КАМПИЛАБ"

**Agilent Technologies**