Аналитика 5/2013(12)

МУЛЬТИДЕТЕКТОРНАЯ ГЕЛЬ-ПРОНИКАЮЩАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

ДЛЯ АНАЛИЗА ПОЛИМЕРОВ

К.Свирский, Agilent Technologies,
konstantin.svirskiy@agilent.com

Гель-проникающая хроматография – единственная хроматографическая методика, с помощью которой можно определить распределение молекулярной массы полимера. Применение специализированных детекторов увеличивает производительность, точность и информативность эксперимента. Детекторы по светорассеянию и вискозиметрические детекторы позволяют не только узнать более точную молекулярную массу, но и изучать поведение полимеров в растворе. Мультидетекторная система Agilent 1260 Infinity Multi Detector Suite (MDS) представляет собой систему со встроенными детекторами и рассчитана на применение с любым жидкостным хроматографом для получения исчерпывающей информации об исследуемых полимерах.

Традиционная гель-проникающая хроматография (ГПХ) с применением одного концентрационного детектора фактически представляет сравнительную методику. Во время анализа с помощью концентрационного 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, применяя калибровочную кривую молекулярной массы. Если использованные при калибровке стандарты и проба имеют одинаковый химический состав, то получаются точные молекулярные массы. Однако в случае различающихся химических составов стандартов и пробы получают только сравнительные результаты. Почему это так? Вспомним, что при прохождении имеющих шарообразную форму полимерных клубков по специальной колонке для ГПХ происходит разделение молекул в растворе по размеру, но не по молекулярной массе (см. врезку 1). 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 разные типы полимеров с отличающимися химическими составами образуют в растворах шарообразные клубки разных размеров. В результате, если химический состав используемых для калибровки стандартов значительно отличается от состава исследуемых проб, функциональная зависимость размера от молекулярной массы для стандартов 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 крупней, чем молекула полистирола с такой же молекулярной массой (рис.1). 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 причина широкого разнообразия стандартов 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 достаточно получить только относительное распределение молекулярной массы, поскольку тогда можно заметить различия между партиями продукции. Однако для прочих случаев отсутствие точных молекулярных масс может представлять серьезное ограничение традиционной ГПХ.

Мультидетекторная ГПХ с применением концентрационного детектора с вискозиметром, детектором по светорассеянию или всех трех детекторов одновременно позволяет преодолеть

ограничения традиционной ГПХ. Мультидетекторная ГПХ позволяет вычислять молекулярные массы независимо от химического состава используемых для калибровки стандартов, а также определять другие свойства полимеров, которые невозможно измерить средствами традиционной ГПХ.

Наиболее распространенная разновидность мультидетекторной ГПХ включает 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 помогает понять поведение молекул полимеров в растворе. Применяемый в ГПХ вискозиметр представляет собой средство измерений вязкости раствора, содержащего пробу полимера, относительно вязкости растворителя. В большинстве стандартных конструкций исследуемый раствор и растворитель принудительно пропускают через узкие капилляры и измеряют перепад давления. Затем перепад давления преобразуют в вязкость по закону Пуазейля, связывающему перепад давления с вязкостью текучей среды в капиллярах. Преимущество измерения характеристической вязкости в ГПХ заключается в том, что можно определять молекулярные массы путем универсальной калибровки. Такой подход обеспечивает вычисление точных молекулярных масс полимеров независимо от химического состава используемых для калибровки стандартов.

Статическое (рэлеевское) рассеяние света в ГПХ предусматривает освещение элюирующего из колонки вещества лучом лазера и измерение интенсивности рассеянного света (рис.2). Отношение Рэлея определяется как отношение интенсивности рассеянного света от комбинации пробы и растворителя к интенсивности света, рассеянного растворителем. Отношение Рэлея прямо пропорционально молекулярной массе рассеивающих свет молекул растворенного вещества. Более сложная, чем вискозиметрия, методика со статическим рассеянием света имеет некоторые практические ограничения. Тем не менее, комбинирование концентрационного детектора с детектором по светорассеянию может дать много информации о молекулах полимеров в растворе. Существует много способов анализа данных рассеяния света в зависимости от конструкции средства измерений и числа используемых в анализе углов. Проблема в том, что интенсивность рассеянного света может зависеть от направления. Все методы анализа пытаются учесть тот факт, что чем более точные значения интенсивности и, следовательно, молекулярных масс достигаются, тем ближе угол измерений к нулевому, но тем выше уровень шума. При больших значениях углов влияние шума меньше, но вследствие несимметричности точность результата может быть меньшей. Явление несимметричности возникает для больших молекул, когда их размер сравним с длиной волны лазера. Из-за отражения света лазера от разных частей молекулы возникает интерференция, ослабляющая интенсивность отраженного света. В результате значения молекулярных масс при больших углах занижаются с возрастанием размера исследуемых молекул.

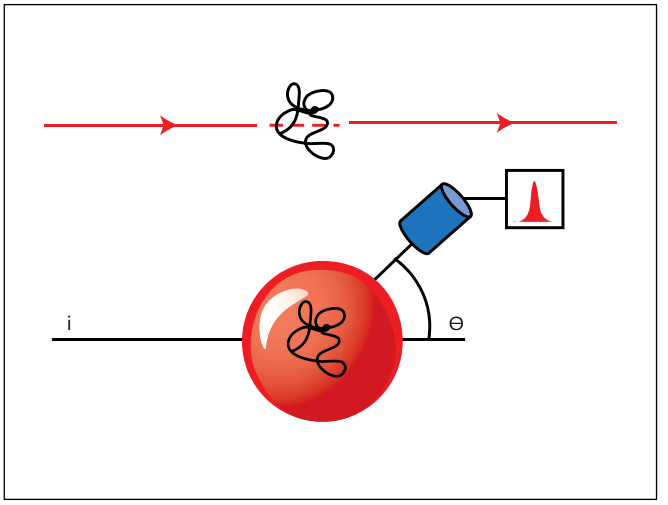

Рис.2. Эксперимент с рассеянием света

В мультидетекторной ГПХ ветвление в полимерах оценивается посредством исследования изменений размера молекул или характеристической вязкости как функции возрастания молекулярной массы. Во всех случаях для полимеров одинакового химического состава молекулы с разветвленной цепочкой всегда имеют меньшие значения радиуса инерции и характеристической вязкости, чем линейные аналоги, из-за наличия точек ветвления. Вычисления степени разветвления можно выполнять во всех методиках по данным характеристической вязкости (измеряемой или вычисляемой) или радиусу инерции (измеряемому или вычисляемому). Качество

Зависимость Марка–Хаувинка

Применение вискозиметра 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 [η] – характеристическая вязкость, M – молекулярная масса, а α и K – постоянные Марка–Хаувинка.

Преобразование в логарифмический вид дает $\log [\eta] = \log K + \alpha \cdot \log M$.

Графическое представление этой зависимости – прямая линия с точкой пересечения с осью ординат logK и тангенсом угла наклона α. Это полезное соотношение, так как значения K и α представляют константы для заданной комбинации растворителя и полимера, а значение α дает информацию о динамическом поведении молекул полимера в растворе. Для большинства полимеров значение α 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".

Соотношение Марка–Хаувинка представляет хороший способ исследования поведения молекул полимеров в растворе.

результатов вычислений ветвлений зависит от качества исходных данных (характеристическая вязкость или радиус инерции).

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. ГПХ с использованием определения вязкости вместе с концентрационным детектором с помощью универсальной калибровки позволяет вычислять точную молекулярную массу. Этот метод помогает понять поведение молекул полимеров в растворе благодаря зависимости Марка-Хаувинка (см. врезку 2), 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. Тройное детектирование считается наиболее современным видом мультидетекторной ГПХ.

Мультидетекторная система Agilent 1260 Infinity MDS (рис.3) представляет собой систему со встроенными детекторами, разработанную в качестве простого дополнения к любой системе жидкостной хроматографии, и позволяет выполнять любые виды анализа ГПХ. Универсаль-

Рис.3. Система Agilent 1260 Infinity Multi Detector Suite

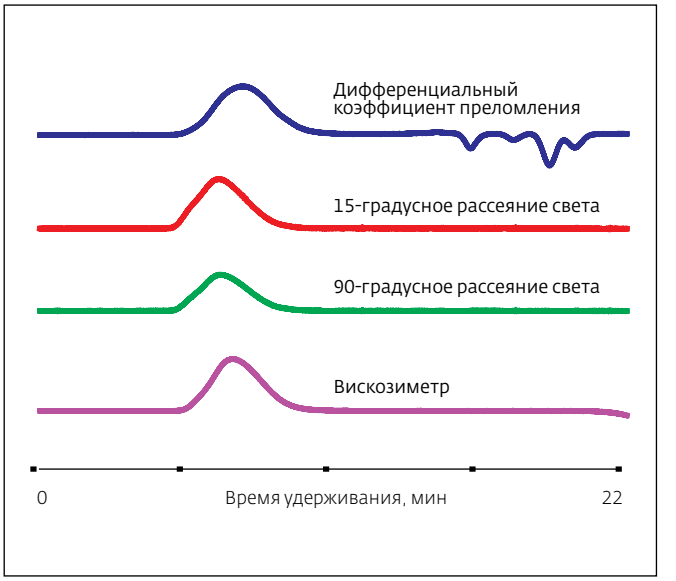

Рис.4. Хроматограммы пробы полибутадиена, полученные с помощью разных детекторов

ное средство измерений с рядом возможностей дополнительного выбора детекторов Agilent 1260 Infinity MDS представляет новейший инструмент для анализа полимеров. Независимо от предъявляемых к ГПХ требований, систему можно настраивать в соответствии с нуждами пользователя:

- к имеющемуся жидкостному хроматографу легко добавить Agilent 1260 Infinity MDS с вискозиметром, детектором по светорассеянию или обоими вместе, чтобы получить исчерпывающую информацию об анализируемых полимерах;
- при наличии ряда различных систем, работающих со множеством растворителей, система Agilent 1260 Infinity MDS может легко настраиваться, а при необходимости переключаться между системами;
- если требуется только один детектор, систему Agilent 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.

Система Agilent 1260 Infinity MDS с тройным детектированием определяет точные молекулярные массы таких полимеров, для которых нет точных стандартов с узким распределением, например для полибутадиена. Приведем результаты анализа полибутадиена с помощью тройного детектирования.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Пробы ..... полибутадиены
Колонки ..... 2 × PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 × 7,5 мм
Элюент ..... тетрагидрофуран (стабилизированный)
Объем пробы ..... 100 мкл
Расход ..... 1,0 мл/мин
Температура детекторов ..... 40°C
Детекторы ..... рефрактометр + вискозиметр + + детектор по светорассеянию Agilent 1260 Infinity MDS

Полибутадиен представляет собой эластомер – полимер, который обладает упругостью. Упругость определяет способность материала деформироваться под действием внешней силы и принимать исходную форму после прекращения усилия. Полибутадиен – это синтетический эластомер, получаемый 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 изготовления шин. Его часто комбинируют с другими материалами для получения резиновых смесей с различными свойствами.

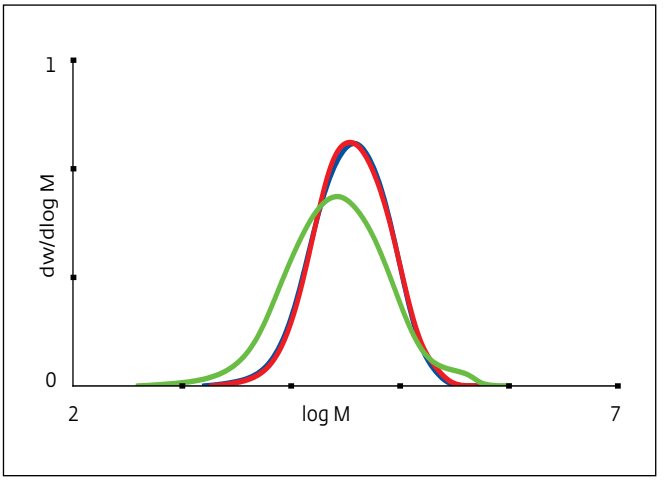

Рис.5. Распределения молекулярной массы, полученные трехдетекторным методом для трех проб полибутадиена

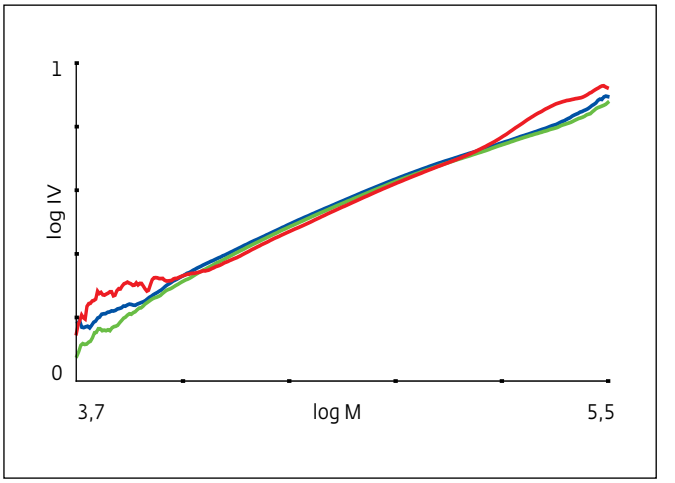

Рис.6. Зависимости Марка–Хаувинка для трех проб полибутадиена

Полибутадиен растворим в тетрагидрофуране (ТГФ) и, будучи синтетическим эластомером, не имеет гель-фракций с поперечными связями, которые обнаруживаются в натуральных каучуках. Поэтому ТГФ – идеальный растворитель для анализа.

На рис.4 показаны хроматограммы пробы полибутадиена, полученные с помощью трех детекторов. Этот полимер дает уверенные, достаточно широкие сигналы у всех детекторов, что означает высокую полидисперсность материалов. На рис.5 изображены распределения молекулярной массы трех проб полибутадиена. Две из них показали одинаковые молекулярные массы с незначительными различиями между распределениями. Однако для третьей пробы распределение молекулярной массы заметно отличается от других, особенно при высоких величинах молекулярной массы, где наблюдается небольшой выброс. Предположительно это отличие связано с качеством обработки материала.

На рис.6 представлены зависимости Марка–Хаувинка логарифма характеристической вязкости от логарифма молекулярной массы для трех образцов. Все пробы дали одинаковые соотношения между возрастанием логарифма характеристической вязкости и возрастанием логарифма молекулярной массы. Это означает, что исследованные полимеры структурно идентичны, а наблюдаемое различие в молекулярной массе (см. рис.5) – результат применяемых методик синтеза и не связано с изменениями в характере самих полимеров.

Приведенный пример с уверенностью доказывает необходимость применения мультидетекторного анализа. Чтобы получить исчерпывающую информацию и полностью охарактеризовать исследуемый полимер, необходимо сочетать вискозиметр и детектор по светорассеянию с уже имеющимся рефрактометрическим детектором. Для решения самых сложных современных задач прекрасно подходит система Agilent 1260 Infinity MDS.