



EWA
GŁOWIŃSKA



PATRYCJA JUTRZENKA
TRZEBIATOWSKA



JANUSZ
DATTA



JACEK
NAMIEŚNIK

Chromatografia żelowa/wykluczania (GPC/SEC) jest powszechnie stosowana do wyznaczenia średniej wagowo i liczbowo masy cząsteczkowej i stopnia polidispersyjności.

Zastosowanie chromatografii żelowej (chromatografii wykluczania)

W BADANIACH POLIMERÓW

W charakterystyce polimerów technika GPC/SEC stała się standardowym sposobem określania średnich mas cząsteczkowych i ich rozkładu. Powszechnie chromatografia żelowa, znana pod skrótem GPC (ang. *Gel Permeation Chromatography*) lub jako chromatografia wykluczania SEC (ang. *Size Exclusion Chromatography*), to technika, która bazuje na rozmiarze cząsteczek, według którego rozdzielane są molekuly. Technika ta jest odmianą kolumnowej chromatografii cieczowej, podstawą której rozdzielanie badanej substancji następuje poprzez niejonowy mechanizm sita molekularnego (wykluczanie molekularne) i polega na rozdzieleniu składników mieszanin na podstawie rozmiarów cząstek w roztworze. W przypadku polimerów do separacji łańcuchów makrocząsteczek dochodzi również na podstawie różnic w ich rozmiarach, jednakże sam mechanizm rozdzielania wynika z szybkości dyfuzji cząsteczek polimeru w kolumnie chromatograficznej. Dzięki zastosowaniu kolumn chromatograficznych z wypełnieniem w postaci ziaren charakteryzujących się określonym rozkładem wartości objętości hydrodynamicznych, technika ta znalazła szerokie zastosowanie w badaniach różnych polimerów, w tym polimerów naturalnych i syntetycznych, a także ich pochodnych.

Rozdzielanie

Rozdzielanie cząsteczek zachodzi na podstawie ograniczeń dostępności molekuł do wnikania wewnątrz porów (o zróżnicowanych średnicach) ziaren kolumny chromatograficznej. Zatem droga i czas dyfuzji cząsteczek o coraz mniejszym rozmiarze będzie dłuższa niż większych. Dlatego też czas przebywania cząsteczek polimeru w kolumnie skorelowany jest z ich masą cząsteczkową. Największe cząsteczki, to jest o dużych masach cząstecz-

kowych, nie będą w stanie wniknąć do wnętrza porów złoza kolumny chromatograficznej i będą szybko transportowane przez przestrzeń międzyziarnową wraz z eluentem, dlatego też będą opuszczać kolumnę chromatograficzną jako pierwsze (przy krótkim czasie retencji). Jednakże, coraz mniejsze cząsteczki będą mogły przedostawać się do porów wypełnienia (lub tylko do części porów), zatem ich czas przebywania w kolumnie będzie się wydłużał odwrotnie proporcjonalnie do ich wielkości, ze względu na penetrację porów wypełnienia kolumny będą wmywane w późniejszym czasie retencji. Należy pamiętać, że czas retencji poszczególnych składowych makrocząsteczki i odniesienie do wzorca nie jest tożsame z wyznaczeniem wartości absolutnej masy cząsteczkowej, lecz swego rodzaju jej przybliżeniem.

Ze względu na łatwość i szybkość analizy oraz możliwość łączenia tej techniki z innymi technikami pomiarowymi (pomiar refraktometryczny oraz wiskozymetryczny), technika GPC/SEC wypiera inne techniki, takie jak osmometria (masowa, parowa) czy ultrawirowanie. Wynikiem pomiaru jest chromatogram przedstawiający krzywą rozrzutu mas cząsteczkowych poszczególnych homologów polimerowych.

Analiza chromatograficzna polimerów, w tym oligomerów, niesie za sobą wiele kluczowych pytań dotyczących sposobu wykonania pomiaru w odniesieniu do doboru odpowiedniej fazy stacjonarnej i ruchomej (eluent). Obie fazy powinny być ze sobą kompatybilne, ponieważ ma to wpływ na oddziaływania dyfuzyjne i jednocześnie na dokładniejszą analizę badanego polimeru, co odpowiednio związane jest z siłą elucyjną fazy ruchomej. Wypełnienie kolumny stanowi faza stacjonarna, która może być utworzona z porowatych wewnętrznie ziarn

Tabela 1. Dobór fazy stacjonarnej i ruchomej w zależności od typu badanych polimerów

Polimer	PS, PP, PE, PVC, żywice	PU, poliimidy, skrobia, PC	PEG, PEO
Faza stacjonarna	SDVB	Akrylowa/metakrylowa, poliestrowa	Akrylowa
Faza ruchoma	THF, toluen, TCB, ksylen, dichlorobenzen	DMF, DMSO, NMP, metanol, acetonitryl	Woda (pH 1,5–13)

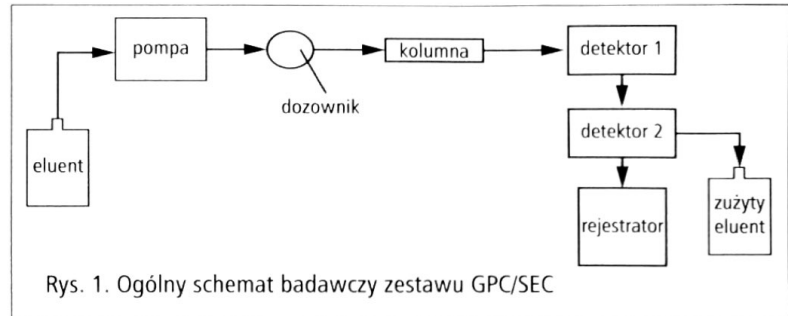
PS – polistyren, PP – polipropylen, PE – polietylen, PVC – polichlorek winylu, PU – poliuretan, PC – poliwęglan, PEG – glikol polietylenowy, PEO – poli(tlenek etylenu)

(tzw. żel), tworzących pory międzyziarnowe, przez które płynie eluent transportujący rozpuszczony w nim analit. Zazwyczaj jako fazę stacjonarną stosuje się silnie usieciowane kopolimery (kopolimer styrenu i diwinylobenzenu, SDVB), żel krzemionkowy, szkło porowate, tlenek cyrkonu. W przypadku polimerów eluent musi być dobrym rozpuszczalnikiem polimeru w celu uniknięcia efektów wykluczania. Informacje o doborze fazy stacjonarnej i ruchomej w zależności od typu badanego polimeru zestawiono w tabeli 1, natomiast uproszczony schemat rozkładu urządzeń wykorzystywanych w technice GPC/SEC zaprezentowano na rysunku 1.

Technika GPC/SEC w analizie materiałów polimerowych wykorzystywana jest do wyznaczenia średniej wagowo i liczbowo masy cząsteczkowej i stopnia polidispersyjności. Są to kluczowe informacje na etapie planowania syntezy polimeru, w tym także modelowania zespołu właściwości użytkowych wyrobów otrzymywanych z ich udziałem. Praktyczne zastosowanie wyników badań chromatograficznych, w tym średniej masy cząsteczkowej oligomeroli, przejawia się szczególnie podczas określenia właściwości przetwórczych, a tym samym parametrów procesu i wymagań aparaturowych. Odnosząc się do polimerów, badania chromatograficzne służą do określenia dystrybucji homologicznych łańcuchów makrocząsteczek, co również związane jest z właściwościami materiału polimerowego jako całości. Możliwość zastosowania techniki GPC/SEC skorelowana jest ze zróżnicowaną strukturą polimerów (struktura liniowa, rozgałęziona lub usieciowana). Technikę tę stosuje się również do oznaczenia lub wykrycia dodatków uszlachetniających lub zanieczyszczeń polimerów, badania produktów chemicznej dekompozycji polimerów, a także do otrzymywania frakcji polimerów o mało zróżnicowanej lub jednakowej wielkości (niskodispersyjnych).

Przykłady detektorów stosowanych w badaniach polimerów

Polimery ze względu na duży rozrzut średnich mas cząsteczkowych, w tym złożoność w ich budowie chemicznej, nie należą do „łatwych” analitów. Oprócz doboru kompatybilnej fazy stacjonarnej i ruchomej kluczowe do analizy polimerów jest wybranie odpowiednich detektorów. W chromatografii GPC/SEC wykorzystywane są różne detektory, które rejestrują sygnał proporcjonalny zarówno do stężenia badanych składników eluatu, jak i do ich masy cząsteczkowej. W takim przypadku odpowiedź detektora rejestrującego stężenie składników jest określana przez stężenie substancji rozpuszczonej w fazie ruchomej lub wartości masy molowej substancji rozpuszczonej i jej stężenia. Jednakże, ich prawidłowość



Rys. 1. Ogólny schemat badawczy zestawu GPC/SEC

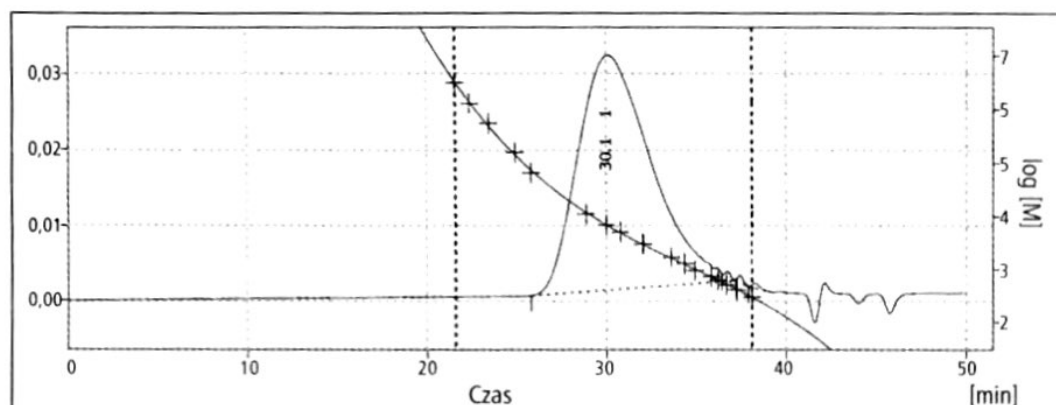
stosowania w przypadku materiałów polimerowych jest często obciążona dużym błędem pomiarowym i sprawia trudności. Do powszechnie stosowanych detektorów w analityce polimerów należą: detektor refraktometryczny RID (ang. *Refractive Index Detector*), detektor UV Vis, detektor wiskozymetryczny DVD (ang. *Differential Viscosity Detector*) oraz detektor laserowy światła rozproszonego LLS (ang. *Laser Light Scattering Detector*). Detektory te w większości pozwalają na wyznaczenie względnej średniej masy cząsteczkowej z wyjątkiem detektora LLS, za pomocą którego wyznaczana jest bezwzględna wartość masy cząsteczkowej polimeru. LLS ponadto stosowany jest w oznaczaniu próbek polimerów nieliniowych, na przykład polietylenu niskiej gęstości (LDPE). Można wyróżnić następujące modyfikacje tego typu detektorów laserowych: małokątowe rozpraszanie światła laserowego (LALS), rozpraszanie światła laserowego o wielu kątach (MALLS) i rozpraszanie światła laserowego pod kątem prostym (RALLS).

Wśród wymienionych detektorów w badaniach polimerów detektor RID jest powszechnie stosowany i umożliwia wyznaczenie rozrzutu względnej masy cząsteczkowej w odniesieniu do użytych wzorców kalibracyjnych. Detektor UV Vis natomiast identyfikuje grupy absorbujące promieniowanie UV w polimerach. Dlatego też wykazuje znaczącą przydatność w badaniach polimerów zawierających wiązanie podwójne, w tym między innymi pierścienie aromatyczne, grupy karbonylowe lub nitylowe. W przypadku detektorów lepkościowych poprzez pomiar granicznej liczby lepkościowej polimeru wyznaczana jest gęstość molekularna polimeru, która jest odwrotnie proporcjonalna do rejestrowanego parametru. Pomiar lepkości w GPC/SEC można przeprowadzić przez rejestrację spadku ciśnienia na kapilarze, który jest proporcjonalny do lepkości płynnej cieczy. Najdokładniejsze wyniki analizy osiągane są poprzez zastosowanie połączonych szeregowo detektorów RID, pomiaru lepkości oraz LLS, co pozwala na uniknięcie konieczności stosowania standardów polimerowych i tym samym wyznaczenia krzywych kalibracyjnych, a wyznaczana jest bezwzględna średnia masa cząsteczkowa.

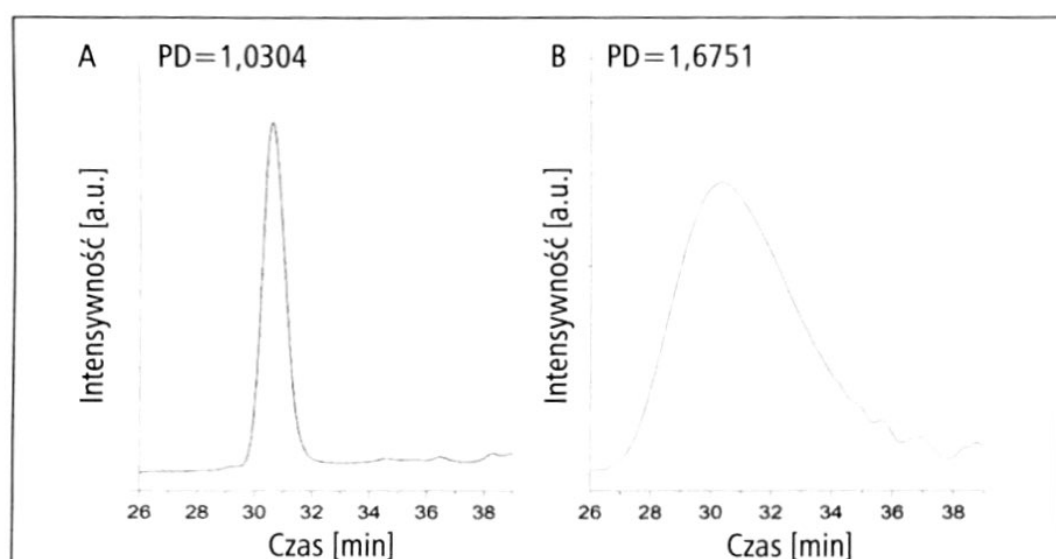
Tabela 2. Wyznaczone parametry M_n , M_w i PD

$T_{r,max}$	M_n	M_w	PD
30,14	3440	6542	1,9019

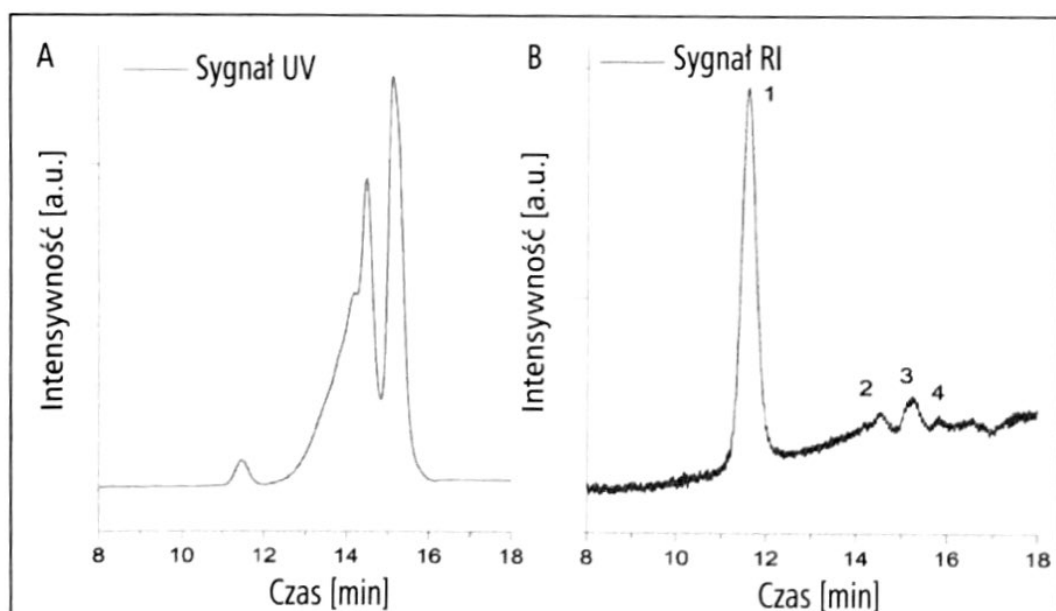
$T_{r,max}$ – czas retencji w maksimum pików



Rys. 2. Krzywa kalibracyjna i krzywa rozrzutu mas cząsteczkowych oligoeterolu (PTMG)



Rys. 3. Chromatogramy polioli o różnym stopniu polidispersyjności. A – kopolimer blokowo-statystyczny tlenku etylenu i tlenku propylenu na bazie gliceryny $M_n \sim 3600$, B – α,ω -dihydroksyoligo(adypinian etylenowo-butylenowy), $M_n \sim 2000$.



Rys. 4. Chromatogramy glicerolizatu otrzymanego w wyniku dekompozycji pianki poliuretanowej za pomocą gliceryny technicznej. A – z zastosowaniem detektora UV-Vis, B – z zastosowaniem detektora RI.

Wyniki badań własnych

Na podstawie wyników z badań własnych przeprowadzono analizę chromatograficzną polioli komercyjnych i polioli otrzymywanych w wyniku termochemicznej

dekompozycji poliuretanów. Na rysunku 2 przedstawiono wyniki analizy chromatograficznej oligoeterolu oligo(oksytetrametyleno)diolu (PTMG, $M_n \sim 2000$ g/mol), wyznaczając jego średnią wagową (M_w) i średnią molową (M_n) masę cząsteczkową, a także stopień polidispersyjności (PD) (tab. 2). Poprzedzając pomiary chromatograficzne, sporządzono krzywą kalibracyjną (rys. 2) z wykorzystaniem wzorców polistyrenowych. Odpowiedni dobór wzorca pod względem struktury chemicznej, a także masy cząsteczkowej, warunkuje dokładność w wyznaczeniu średniej masy cząsteczkowej badanej substancji, w tym przypadku oligomerolu. Masa cząsteczkowa standardów polistyrenowych wynosiła odpowiednio: 3 150 000 Da, 1 290 000 Da, 552 500 Da, 156 000 Da, 66 000 Da, 11 300 Da, 7000 Da, 5050 Da, 3050 Da, 2960 Da, 1700 Da, 1280 Da, 970 Da, 580 Da. Wyznaczony na podstawie krzywej z punktów kalibracyjnych współczynnik korelacji wyniósł 0,9998.

Na rysunku 3 zestawiono krzywe rozrzutu mas cząsteczkowych dwóch powszechnie stosowanych polioli (estrowego i eterowego) do syntezy elastomerów i pianek poliuretanowych: α,ω -dihydroksyoligo(adypinian etylenowo-butylenowy) i kopolimer blokowo-statystyczny tlenku etylenu i tlenku propylenu na bazie gliceryny. Oligomery te są zróżnicowane pod kątem struktury chemicznej i średniej masy cząsteczkowej. Na podstawie analizy chromatogramów badanych oligomeroli zauważono różnicę w stopniu polidispersyjności, znacznie wyższy (1,6751) jest dla polioli estrowego. Może mieć to związek z metodą otrzymywania α,ω -dihydroksyoligo(adypinianu etylenowo-butylenowego), to jest w wyniku polikondensacji glikolu etylenowego i butylenowego z kwasem adypinowym. W związku z tym, w próbce polioli może występować zawartość frakcji o różnej średniej masie cząsteczkowej łańcuchów. Na obu chromatogramach widoczne są niewielkie piki wskazujące na zanieczyszczenia lub śladowe ilości pochodzące od substratów wykorzystywanych w syntezie.

Na rysunku 4 przedstawiono różnice w chromatogramach związane z użyciem detektorów UV i RI w analizie glicerolizatu. Półprodukt otrzymano w wyniku termochemicznej dekompozycji pianki poliuretanowej za pomocą gliceryny technicznej, w stosunku masowym gliceryny do pianki równym 3:1 oraz w obecności katalizatora. Dzięki zastosowaniu detektora UV możliwe było potwierdzenie obecności pierścieni aromatycznych w strukturze glicerolizatu. Natomiast na podstawie obu chromatogramów można stwierdzić, że glicerolizat stanowi mieszaninę związków o zróżnicowanej masie cząsteczkowej. Poszczególne piki zinterpretowano jako: pik 1 – odzyskany polioli, pik 2 – karbaminiany, pik 3 – pochodne aminy, pik 4 – gliceryna.

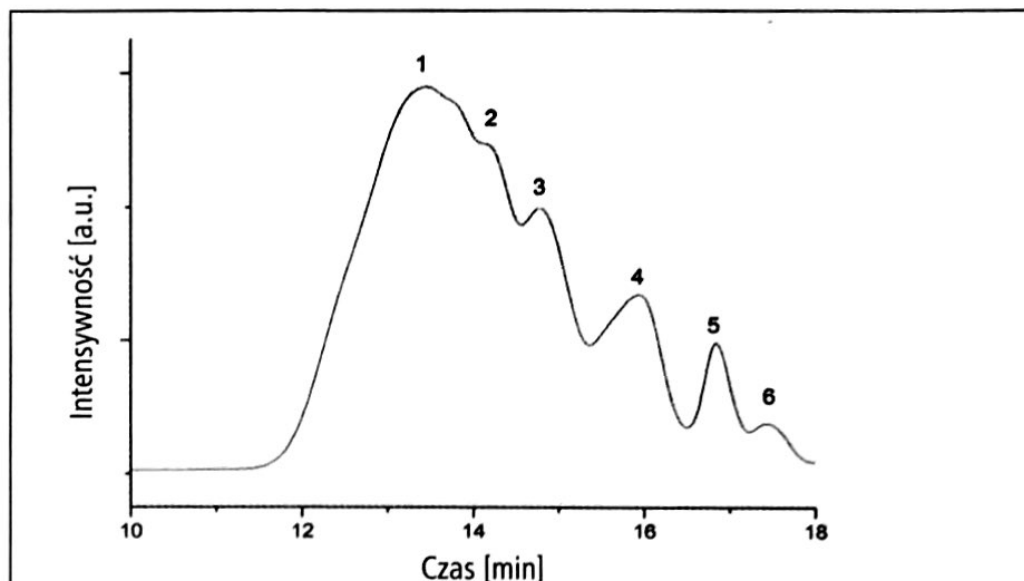
Chromatografia GPC/SEC, jak już wspomniano, jest przydatną techniką w badaniach produktów recyklingu chemicznego poliuretanów. Na rysunku 5 przedstawiono chromatogram glicerolizatu otrzymanego z elastomeru poliuretanowego poddanego glicerolizie

za pomocą gliceryny technicznej. Stosunek masowy reagentów wynosił 6:1, a proces realizowano w obecności katalizatora.

Na podstawie analizy krzywej rozrzutu średnich mas cząsteczkowych glicerolizatu stwierdzono heterogeniczną strukturę glicerolizatu oraz zidentyfikowano produkty termochemicznej dekompozycji elastomeru poliuretanowego.

Podsumowanie

Chromatografia żelowa/wykluczania (GPC/SEC) jest powszechnie stosowana do wyznaczenia średniej wagowo i liczbowo masy cząsteczkowej i stopnia polidispersyjności. Jednakże zastosowanie tej techniki niejednokrotnie sprawia trudności w badaniu polimerów o nieznannej strukturze. Niezbędne jest odpowiednie dobranie metodyki, w tym elementów kluczowych, takich jak: dobór fazy ruchomej i stacjonarnej, detektorów, a także prawidłowe przeprowadzenie kalibracji z możliwie dużą ilością wzorców o wąskim rozkładzie masy cząsteczkowej. Przykładowo, dzięki zastosowaniu detektorów MLAS taka analiza obarczona jest niewielkim procentem błędów. Jak wykazano na przykładzie badań własnych, chromatografia GPC/SEC jest niezmiernie przydatna w analizie składu chemicznego oligomeroli stosowanych jako składniki polioliowe w syntezie poliuretanów, a także w badaniach produktów recyklingu chemicznego.



Rys. 5. Chromatogram glicerolizatu na bazie elastomeru poliuretanowego i gliceryny technicznej. Zaznaczone piki odpowiadają następującym związkom chemicznym: pik 1 – odzyskany polioliol, pik 2 – karbaminiany o wyższej masie cząsteczkowej, piki 3, 4 – karbaminiany o niższej masie cząsteczkowej (produkty uboczne), pik 5 – aminy, pik 6 – gliceryna.

Ewa Głowińska^{*1}, Patrycja Jutrzenka Trzebiatowska*,
Janusz Datta^{*2}, Jacek Namieśnik^{**}

^{*}Katedra Technologii Polimerów, Wydział Chemiczny,
Politechnika Gdańska

^{**}Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny,
Politechnika Gdańska

¹E-mail: ewa.glowinska@pg.edu.pl

²E-mail: janusz.datta@pg.edu.pl

MS **Spektrum**

XXV Jubileuszowe Symposium Spe

26–29 maja 2019 roku
Ślesin koło Konina

zapraszamy



e-mail: slesin@msspektrum.pl
msspektrum.pl