



## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

# Ενότητα : Χρωματογραφία πηκτώματος(GPC)

Διδάσκων : Κων/νος Τσιτσιλιάνης, Καθηγητής  
Ουρανία Κούλη, Ε.ΔΙ.Π.

Πολυτεχνική Σχολή  
Τμήμα Χημικών Μηχανικών

# Σκοπός

Η εξοικείωση των φοιτητών με την πειραματική τεχνική της χρωματογραφίας πηκτώματος, μέσω του προσδιορισμού των μέσων μοριακών βαρών και της κατανομής του μοριακού βάρους των μακρομορίων.

# Εισαγωγή

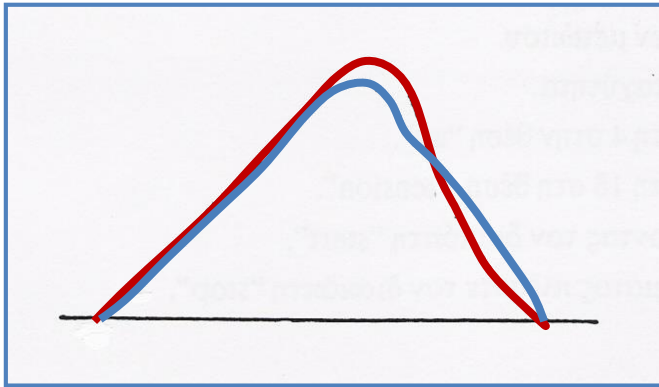
- Η χρωματογραφία μέσω πηκτώματος (Gel Permeation Chromatography, GPC) είναι ένα είδος υγρής χρωματογραφίας και είναι μία από τις πιο χρήσιμες αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία των πλαστικών.
- Βασίζεται στον διαχωρισμό των μακρομοριακών αλυσίδων βάσει του μεγέθους τους και για τον λόγο αυτόν η τεχνική ονομάζεται και χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (Size Exclusion Chromatography, SEC).
- Με την GPC προσδιορίζονται τα μέσα μοριακά βάρη των πολυμερών αλλά και η κατανομή του μοριακού βάρους (μοριακή διασπορά) που είναι υπεύθυνη για πολλές ιδιότητες που χαρακτηρίζουν ένα πολυμερές, όπως ελαστική αντοχή, ευθραστότητα, σκληρότητα, ιξώδες κ.λ.π.)

# Μοριακή διασπορά

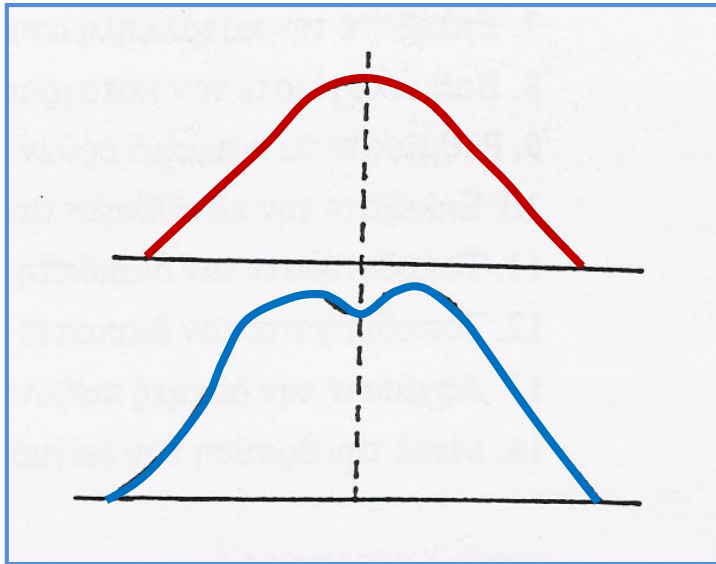
Οι αλυσίδες ενός δείγματος πολυμερούς δεν περιέχουν τον ίδιο αριθμό μονομερών στοιχείων. Ο αριθμός των μονομερών στοιχείων από τα οποία αποτελείται μια αλυσίδα, ο οποίος καθορίζει το μήκος και τη μοριακή της μάζα, ονομάζεται βαθμός πολυμερισμού. Ο διαφορετικός βαθμός πολυμερισμού των αλυσίδων ονομάζεται μοριακή διασπορά.

# Διαφορές στην κατανομή του ΜΒ

Η λεπτή διαφορά κατανομής μοριακού βάρους δύο ίδιων υλικών θα μπορούσε να διαφύγει την προσοχή μας με συνέπεια να έχουμε διαφορετικά τελικά προϊόντα.



Τα δύο αυτά δείγματα του ίδιου πολυμερούς ενώ έχουν ίδια ελαστική αντοχή και ιξώδες τήγματος, διαφέρουν σημαντικά στην ικανότητά τους να κατασκευασθούν σε εύχρηστα ανθεκτικά προϊόντα.

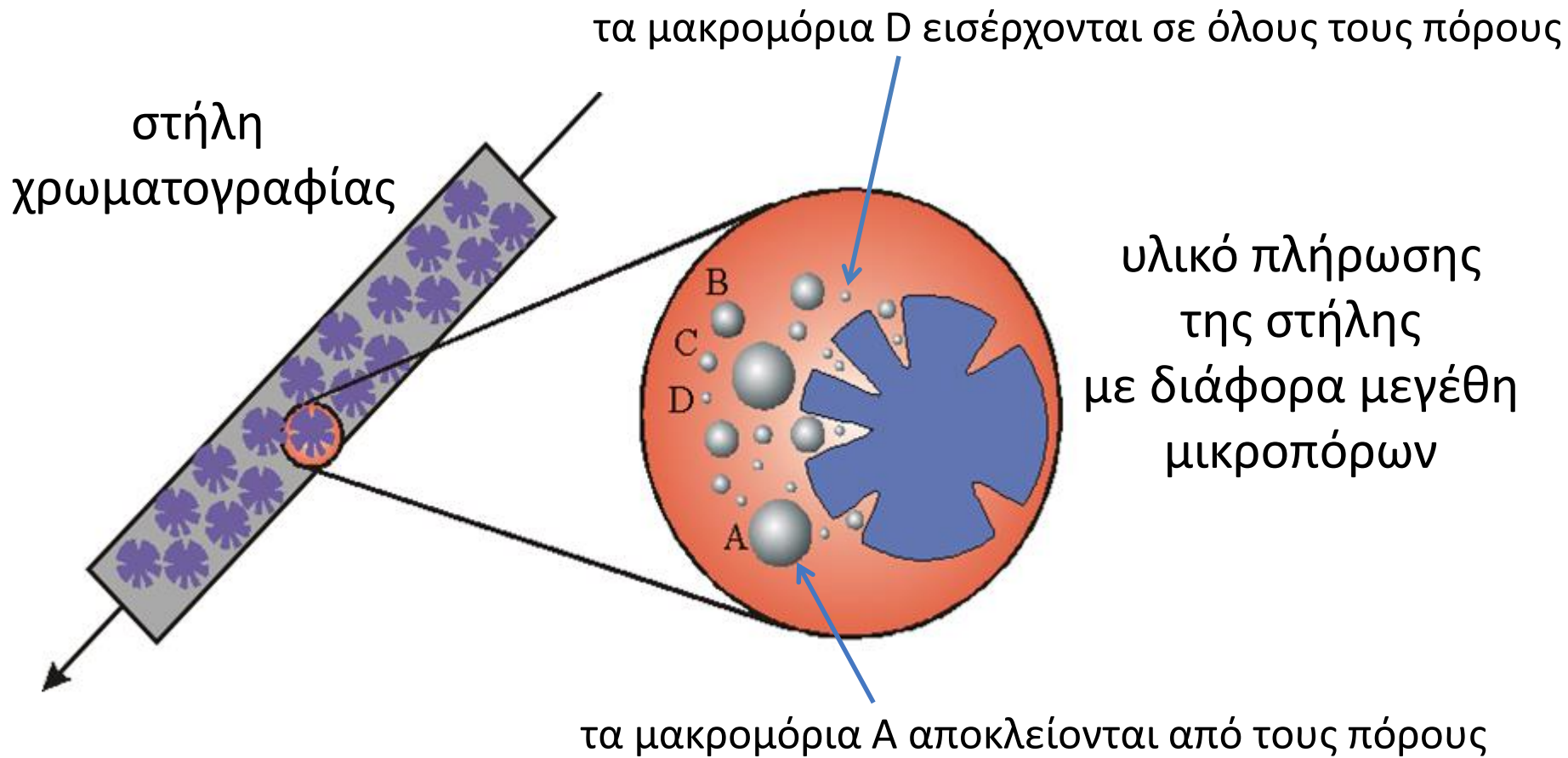


Τα δύο αυτά πολυμερή έχουν ίδιο μέσο μοριακό βάρος αλλά διαφέρουν σημαντικά στη κατανομή του μοριακού βάρους.

Αν χρησιμοποιηθούν σαν ίδια θα προκύψουν προϊόντα τελείως διαφορετικά μεταξύ τους.

# Μηχανισμός διαχωρισμού

- Το διάλυμα του πολυμερούς διαβιβάζεται στην αρχή μιας στήλης στην οποία υπάρχει συνεχής ροή διαλύτη υπό σταθερή πίεση και παροχή (συνήθως 1 mL/min). Ο διαλύτης είναι ο ίδιος με τον διαλύτη στον οποίο έχει διαλυθεί το πολυμερές.
- Η στήλη έχει πληρωθεί με ένα υλικό με διαφορετικό μέγεθος μικροπόρων το οποίο είναι μεν αδιάλυτο αλλά διογκώνεται επαρκώς στον χρησιμοποιούμενο διαλύτη. Το υλικό αυτό είναι συνήθως ένα πολυστυρένιο απείρου μάζας (gel) το οποίο έχει προέλθει από αντίδραση δικτύωσης.
- Τα μεγαλύτερα μακρομόρια αποκλείονται από τους περισσότερους πόρους και εξέρχονται πρώτα από τη στήλη. Ακολουθούν τα μικρότερα με συνεχώς μειούμενο μοριακό βάρος. Είναι προφανές ότι τα μικρότερα μόρια έχουν τη δυνατότητα να εισέρχονται σε περισσότερους μικροπόρους, δαπανούν περισσότερο χρόνο καθώς μετακινούνται από πόρο σε πόρο κατά μήκος της στήλης και εξέρχονται τελευταία από τη στήλη.



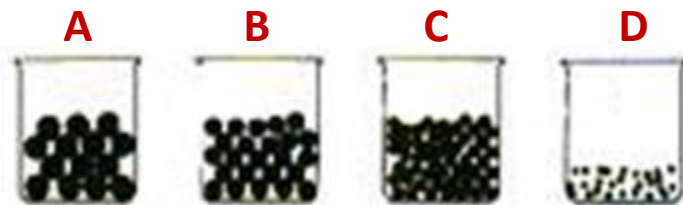
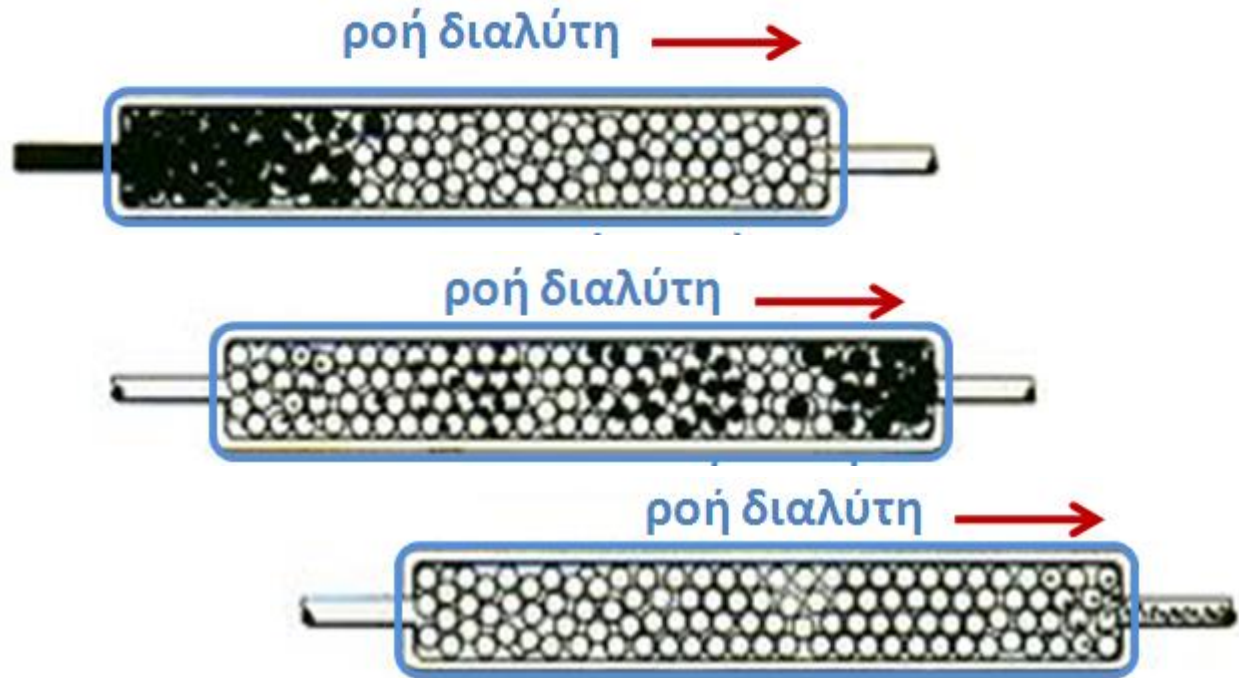
A, B, C, D μακρομόρια διαφορετικών μεγεθών που διέρχονται από τους μικροπόρους του υλικού πλήρωσης της στήλης



# Στήλες χρωματογραφίας



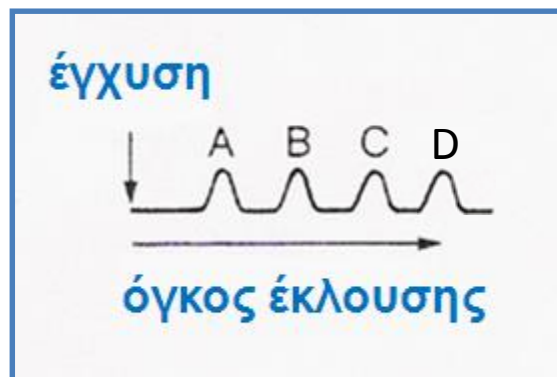
Μίγμα A, B, C, D  
μακρομορίων



# Όγκος έκλυσης

Ο όγκος του υγρού ο οποίος έχει περάσει από τη στήλη από την έγχυση ως την εμφάνιση των αλυσίδων ονομάζεται και όγκος έκλυσης, ο οποίος αντιστοιχεί στις αλυσίδες αυτές.

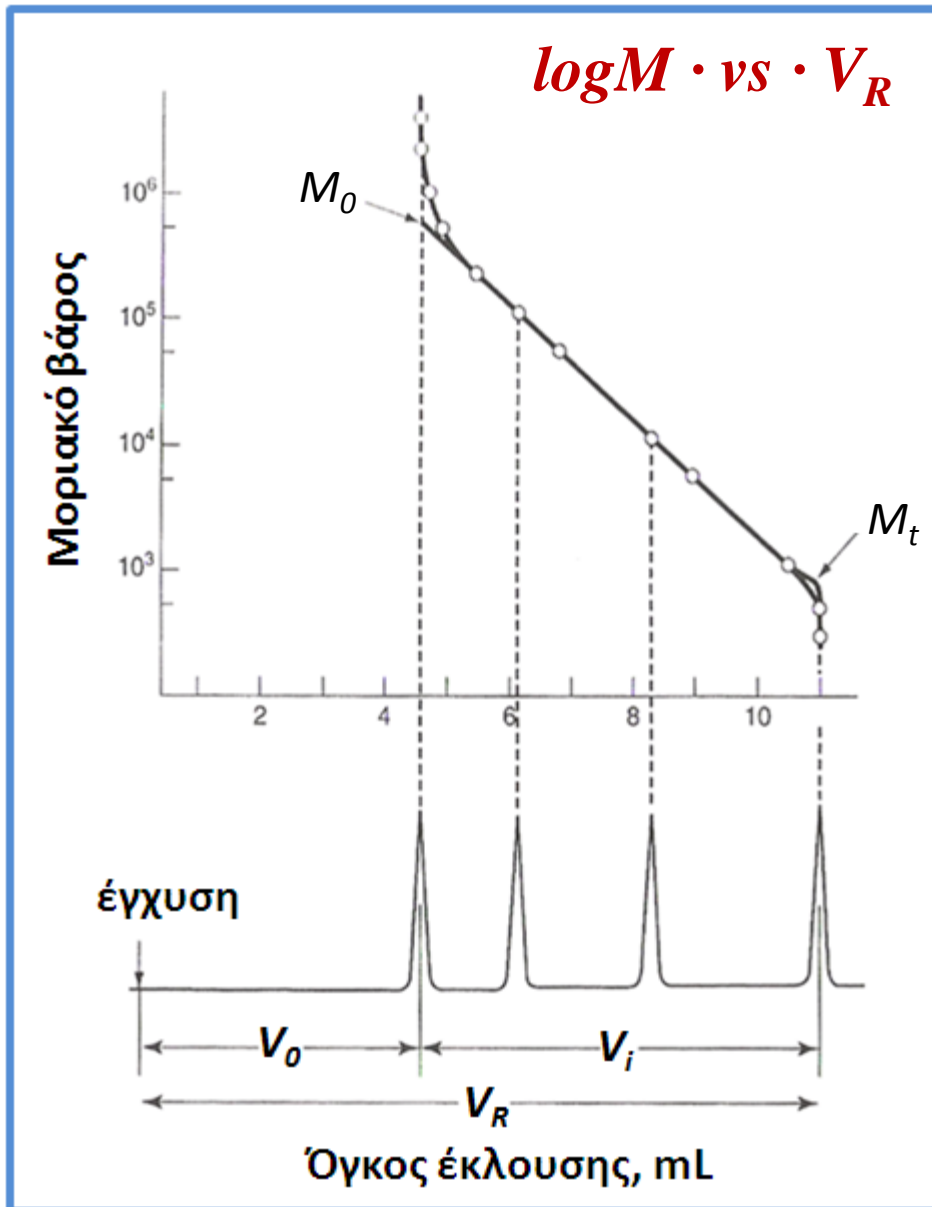
Είναι προφανές ότι ο όγκος έκλυσης που αντιστοιχεί στις αλυσίδες που εξέρχονται τελευταίες(μικρότερες, D) από τη στήλη είναι μεγαλύτερος από τον όγκο έκλυσης που αντιστοιχεί στις αλυσίδες που εξέρχονται πρώτες(μεγαλύτερες, A) από τη στήλη.



# Διεργασία χρωματογραφίας

Η GPC είναι μια έμμεση μέθοδος προσδιορισμού των ΜΒ των πολυμερών, διότι χρειάζεται βαθμονόμηση της στήλης, δηλ. την εγκαθίδρυση σχέσεως μεταξύ του ΜΒ των προτύπων πολυμερών (στενής μοριακής κατανομής και γνωστού ΜΒ που βρίσκεται από άλλες τεχνικές, όπως π.χ. με την τεχνική της σκέδασης του φωτός) και του όγκου έκλουσης.

# Καμπύλη βαθμονόμησης



$$V_R = V_0 + K_d V_i$$

$V_i$  : ο όγκος των πόρων

$V_0$  : κενός όγκος , έχει σχέση με το μέγεθος των πιο μεγάλων πόρων - εκλούνται όλα τα μόρια αυτού του μεγέθους( $M_0$ ) και μεγαλύτερου

$V_R$  : όγκος ολικής διέλευσης εκλούνται όλα τα μόρια που είναι μικρότερα από ένα συγκεκριμένο μικρό μέγεθος( $M_t$ )

$K_d$  : συντελεστής κατανομής τιμές από 0 έως 1

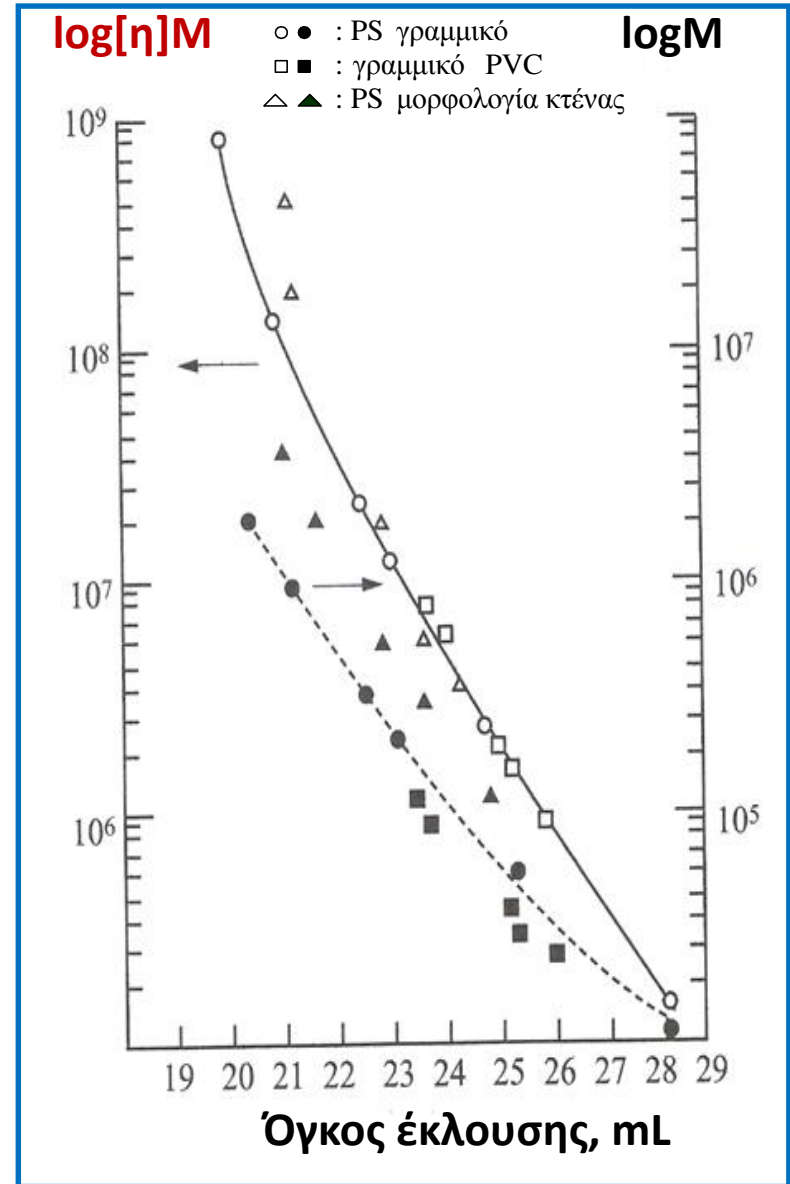
# Παγκόσμια βαθμονόμηση

Η καμπύλη βαθμονόμησης βασιζόμενη στο  $M_B$  των πολυμερών ισχύει αποκλειστικά για μια ομόλογη σειρά γραμμικών πολυμερών σε συγκεκριμένο διαλύτη έκλυσης και αυτό διότι το πραγματικό μέγεθος ενός μακρομορίου στο διάλυμα εκφράζεται από τον υδροδυναμικό του όγκο ο οποίος εξαρτάται επίσης από την ποιότητα του διαλύτη (καλός, μέτριος, θήτα) καθώς και την αρχιτεκτονική του μακρομορίου (γραμμικά, διακλαδισμένα).

Αν η καμπύλη βαθμονόμησης γίνει με γραμμικά δείγματα και υπολογισθεί η μοριακή μάζα ενός *αστεροειδούς δείγματος*, δεν θα προκύψει σωστή τιμή διότι ένα αστεροειδές ίδιας μοριακής μάζας με το γραμμικό, δεν παρουσιάζει στο διάλυμα τον ίδιο *υδροδυναμικό όγκο*. Συγκεκριμένα το αστεροειδές λόγω της πιο συμπυκνωμένης δομής του από ένα γραμμικό πολυμερές ίδιας μοριακής μάζας, καταλαμβάνει μικρότερο όγκο όταν βρίσκεται σε διάλυμα .

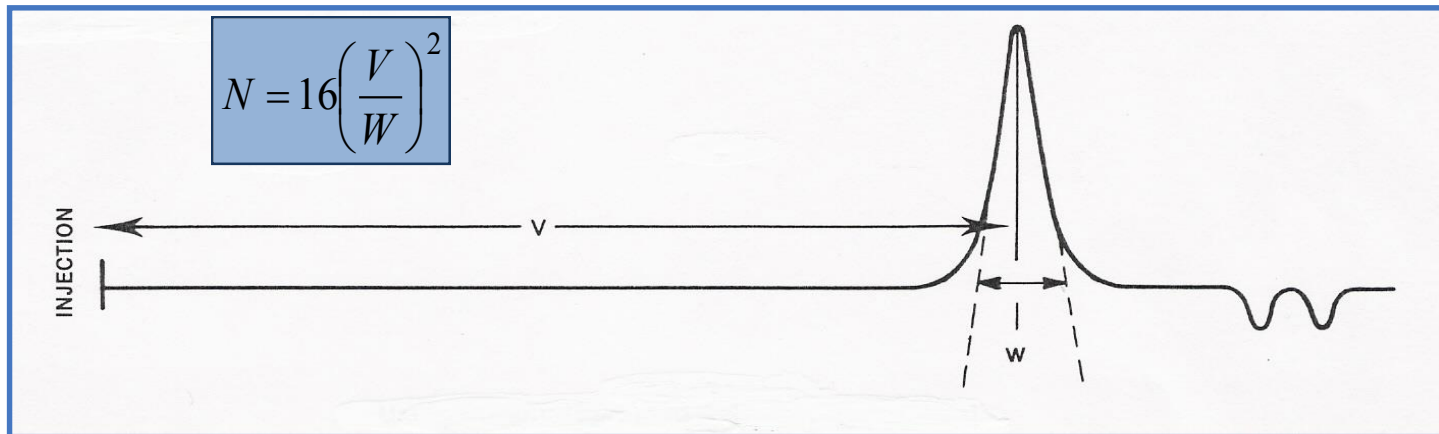
# Παγκόσμια καμπύλη βαθμονόμησης

- Η καμπύλη βαθμονόμησης παρουσιάζεται με το γινόμενο  $[\eta]M$  (όπου  $[\eta]$ , το εσωτερικό ιξώδες και  $M$  η μοριακή μάζα δειγμάτων πολυμερών διαφορετικής χημικής φύσης και μορφολογίας) έναντι του όγκου έκλυσης, εκφράζει την πραγματική σχέση μεγέθους μακρομορίου - όγκου έκλυσης **ανεξαρτήτως είδους πολυμερούς και διαλύτη έκλυσης**.
- Με τον προσδιορισμό του όγκου έκλυσης ενός αγνώστου μάζας δείγματος, από την καμπύλη βρίσκεται το  $[\eta]M$  και αν προσδιορισθεί το  $[\eta]$  υπολογίζεται η  $M$ .
- Η ισχύς της παγκόσμιας βαθμονόμησης βασίζεται στη σχέση του Flory, όπου  $[\eta]M$ ,  
$$[\eta]M \sim \bar{R}^3$$
δηλαδή είναι ανάλογο με τον υδροδυναμικό όγκο του μορίου.



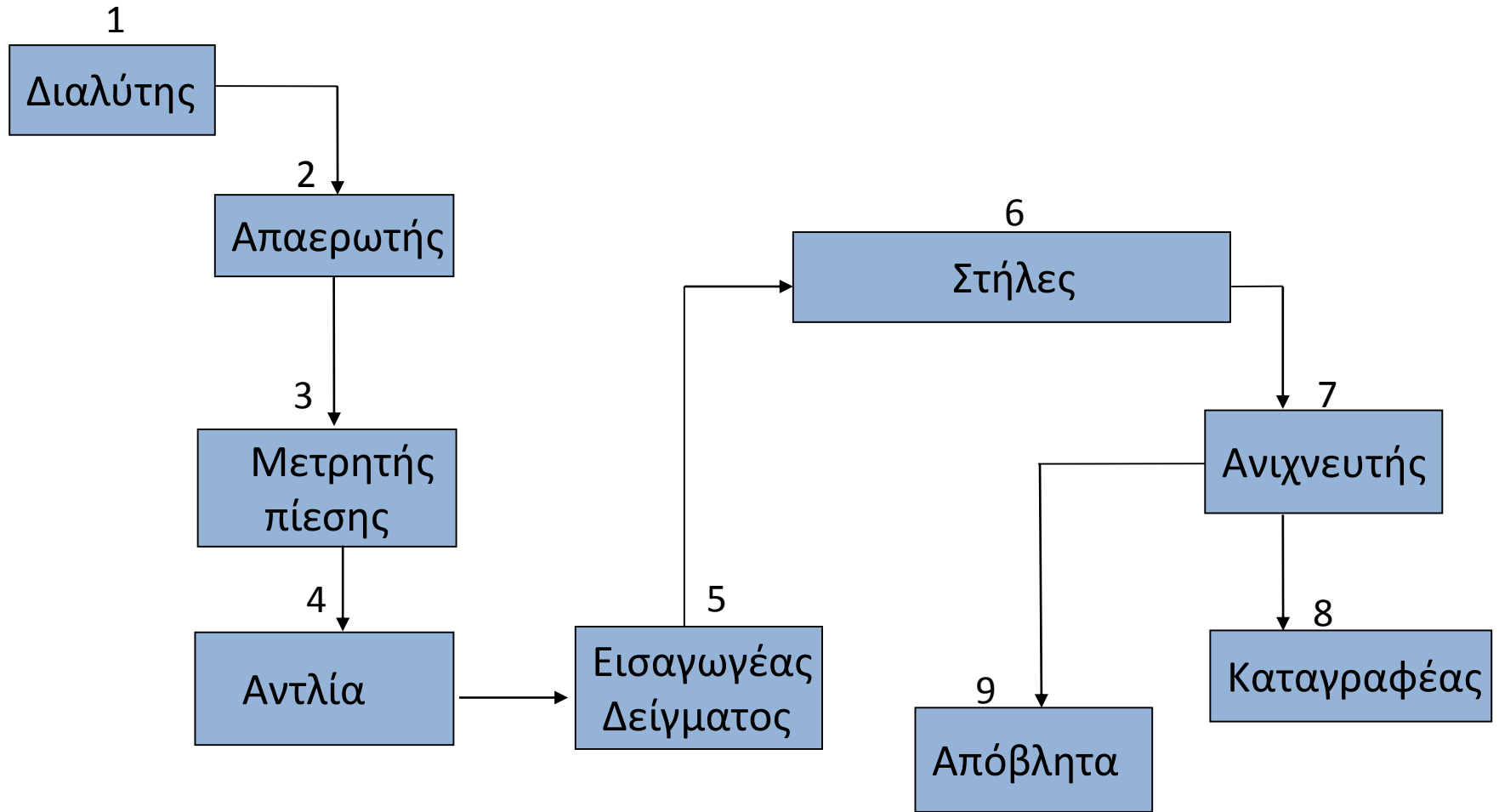
# Υπολογισμός θεωρητικών πλακών N

Στη χρωματογραφία, η ικανότητα διαχωρισμού μιας στήλης προσδιορίζεται από τον αριθμό πλακών,  $N$ , ο οποίος υπολογίζεται από το χρωματογράφημα μιας ουσίας μικρού μοριακού βάρους, όπως το ορθο-διχλωροβενζόλιο, το τολουόλιο κ.λ.π.

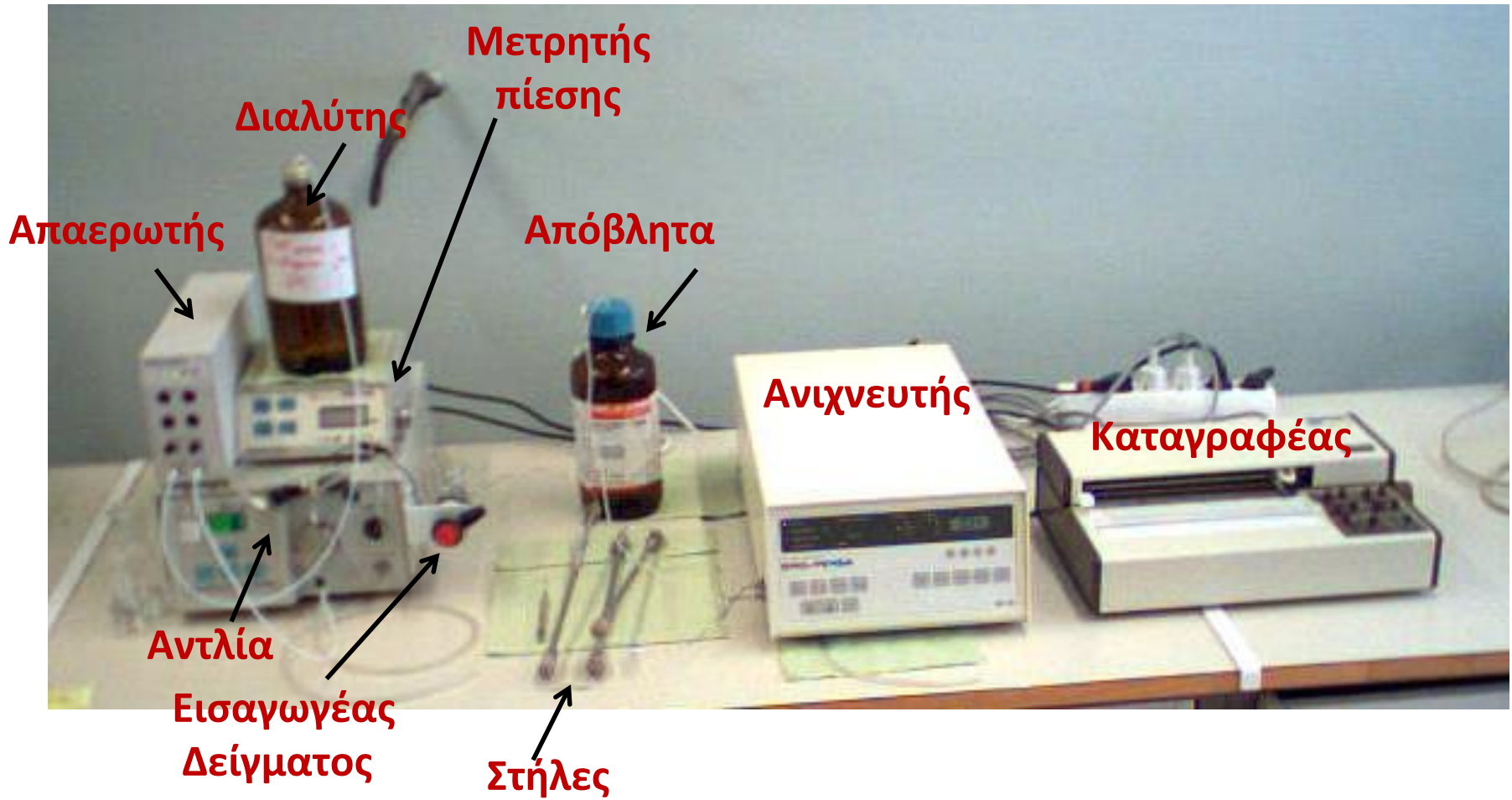


Ο  $N$  είναι μόνο ένας χρήσιμος προσεγγιστικός αριθμός που περιγράφει την **απόδοση μιας στήλης** (column efficiency).

# Πειραματική διάταξη







Η συσκευή GPC αποτελείται :

1. το **δοχείο διαλύτη** που περιέχει τετραϋδροφουράνιο, διηθημένο (με φίλτρο πολυτετραφθοροαιθυλενίου, PTFE, 0.45  $\mu\text{m}$ )
2. τον **απαερωτή** (degasser) για απομάκρυνση φυσαλίδων αέρα από τον διαλύτη
3. την **αντλία** (σύστημα παραλαβής του διαλύτη), η οποία αντλεί τον διαλύτη από το δοχείο του διαλύτη και τον σπρώχνει προς το σύστημα έγχυσης
4. τον **μετρητή πίεσης** για μέτρηση της πίεσης του συστήματος (ρυθμίζεται έτσι ώστε σε περίπτωση που η πίεση για κάποιο λόγο ξεπεράσει το ανώτατο όριο των στηλών, 150bar, αυτόματα σταματάει η άντληση του διαλύτη)
5. το **σύστημα έγχυσης** (injector) με το οποίο γίνεται η εισαγωγή του δείγματος στη στήλη

6. τις **στήλες** χρωματογραφίας με υλικό πλήρωσης styragel
7. τον **ανιχνευτή** (διαφορικό διαθλασίμετρο) που ανιχνεύει τις ουσίες που εξέρχονται από τις στήλες, συγκρίνοντας τον δείκτη διάθλασης τους με τον δείκτη διάθλασης του διαλύτη (τετραϋδροφουρανίου)
8. τον **καταγραφέα** που παραλαμβάνει το ηλεκτρικό σήμα του ανιχνευτή και γράφει το χαρακτηριστικό χρωματογράφημα
9. το **δοχείο συλλογής αποβλήτων** στο οποίο συλλέγονται τα απόβλητα της χρωματογραφίας όπου με απόσταξη καθαρίζονται και αξιοποιούνται

# Πειραματική διαδικασία

Για την ανάλυση με την συσκευή GPC δίδονται :

1. ο-διχλωροβενζόλιο,
  2. τέσσερα δείγματα γραμμικού πολυστυρολίου με μικρό συντελεστή διασποράς(  $I \sim 1$  ) και γνωστού μοριακού βάρους (πρότυπα). Τα διαλύματα έχουν γίνει σε διαλύτη τετραυδροφουράνιο (THF) σε συγκέντρωση 0.1 % περίπου.
  3. πολυστυρόλιο (άγνωστο)
- Το όργανο είναι εφοδιασμένο με τρεις στήλες PLgel , συνδεδεμένες στη σειρά. Σύμφωνα με τις προδιαγραφές των συγκεκριμένων στηλών το σύνολο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση δειγμάτων πολυστυρολίου μοριακού βάρους από 1.000 έως 2.000.000.
- Ελέγχουμε το όργανο για να βεβαιωθούμε ότι :
- (1) η ταχύτητα ροής είναι τοποθετημένη στο 0.5 ml/min,
  - (2) η γραμμή βάσεως είναι σταθερή και
  - (3) η ευαισθησία του διαθλασιμέτρου να είναι ικανοποιητική

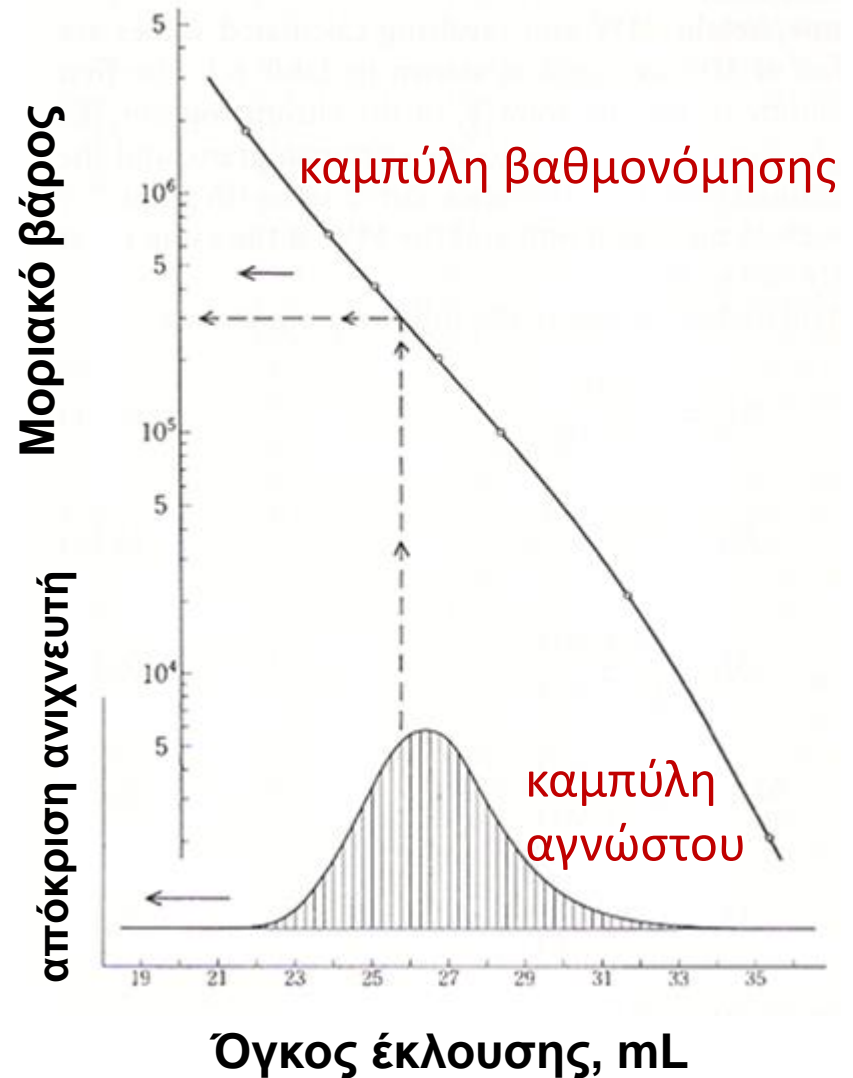
- Ρυθμίζουμε τον καταγραφέα σε ταχύτητα 1 cm/min.
- Ξεπλύνουμε την σύριγγα με λίγα ml διαλύματος και τραβάμε 50 ml περίπου του ιδίου διαλύματος στη σύριγγα. Βγάζουμε τον αέρα από την σύριγγα και εγχύουμε το διάλυμα στην βαλβίδα φορτώσεως του δείγματος. Κατόπιν στρέφουμε τον μοχλό σε θέση INJECT και αφού περάσουν 5 ml διαλύτη τον επαναφέρουμε στη θέση LOAD, σε αναμονή για την επόμενη φόρτωση.
- Η σύριγγα θα πρέπει να ξεπλυθεί τρεις φορές με THF και μία φορά με το διάλυμα πριν προχωρήσουμε. Τα επόμενα δείγματα θα εισαχθούν.

# Επεξεργασία μετρήσεων

- Να υπολογιστεί από το χρωματογράφημα του ο-διχλωροβενζολίου ο αριθμός των πλακών,  $N$ .
- Να κατασκευαστεί η καμπύλη βαθμονόμησης των στηλών της συσκευής GPC με μέτρηση των όγκων έκλουσης των προτύπων δειγμάτων. Η καμπύλη βαθμονόμησης να γραφεί σε ημιλογαριθμικό χαρτί σαν  $\log M$  έναντι του όγκου έκλουσης  $V_R$ .
- Να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος και η κατανομή των μοριακών βαρών του άγνωστου δείγματος γραμμικού πολυστυρολίου.

Τα  $\overline{M}_n$  και  $\overline{M}_w$  μέσα μοριακά βάρη μπορούν να υπολογισθούν από την χρωματογραφική καμπύλη του αγνώστου δείγματος σε συνδιασμό με την καμπύλη βαθμολόγησης του οργάνου.

Η χρωματογραφική καμπύλη υποδιαιρείται σε ίσα διαστήματα σημειούμενα επί της γραμμής βάσεως και καταγράφεται το ύψος  $h_i$  της καμπύλης που αντιστοιχεί σε κάθε υποδιαίρεση.



# Υπολογισμός μέσων μοριακών βαρών

κατ' αριθμό μέσο μοριακό βάρος,  $\overline{M}_n$

$$\overline{M}_n = \frac{\sum h_i}{\sum \left( \frac{h_i}{M_i} \right)}$$

κατά βάρος μέσο μοριακό βάρος,  $\overline{M}_w$

$$\overline{M}_w = \frac{\sum h_i M_i}{\sum h_i}$$

συντελεστής διασποράς,  $I$

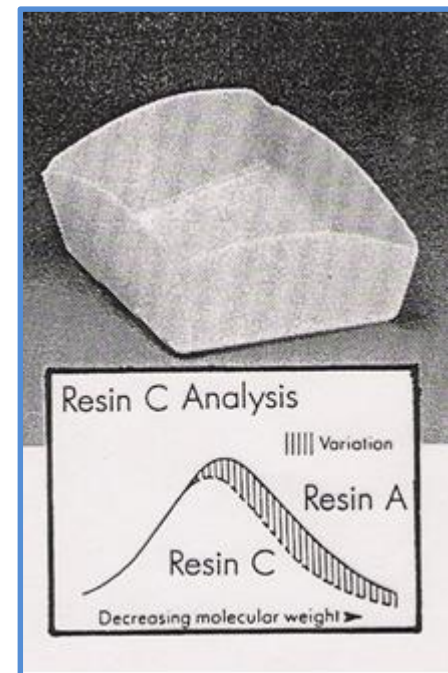
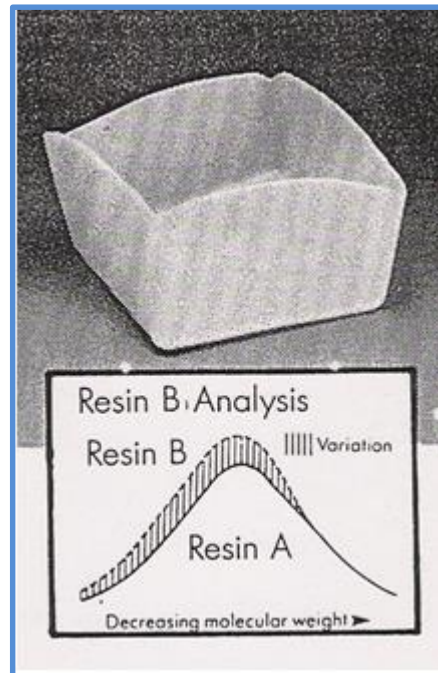
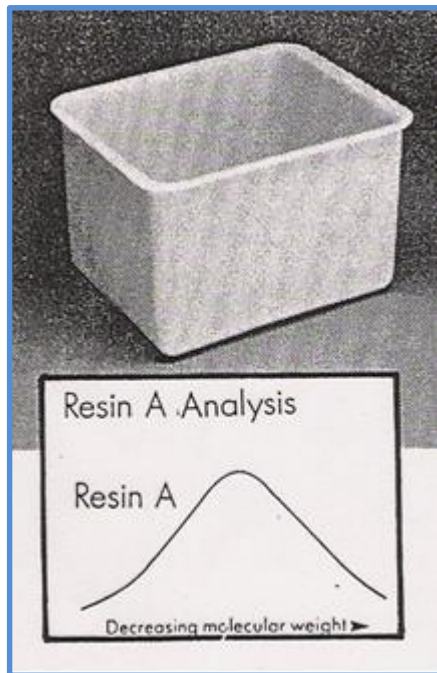
$$I = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$$



# Εφαρμογές

Η χρωματογραφία gel εφαρμόζεται από τους βιοχημικούς στο διαχωρισμό πρωτεϊνών, νουκλεϊνικών οξέων, πολυσακχαριτών, ενζύμων, ορμονών, και κυρίως από τους χημικούς που ασχολούνται με τα πολυμερή για τον καθορισμό της κατανομής του μοριακού βάρους των πολυμερών.

Στο παρακάτω σχήμα διακρίνονται τρία δοχεία πολυαιθυλενίου. Γνωρίζοντας εκ των προτέρων την κατανομή του μοριακού βάρους τους με τη χρωματογραφία πηκτώματος GPC, μπορούμε να επιλέξουμε το κατάλληλο δοχείο για χρήση (δοχείο A) και να απορρίψουμε τα άλλα δύο πριν καν προχωρήσουμε στην παραγωγή τους.



# Βιβλιογραφία

1. «Συνθετικά Μακρομόρια, Βασική Θεώρηση», Α.Ντόντος, Εκδ. Κωσταράκης, Αθήνα, 2012.

**ΤΕΛΟΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ**

# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



# Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.0.

# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιον Πατρών, Καθηγητής, Κωνσταντίνος Τσιτσιλιάνης . «Εργαστήριο Πολυμερών». Έκδοση: 1.0. Πάτρα 2015.

Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<https://eclass.upatras.gr/courses/CMNG2158/>

# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Ως Μη Εμπορική ορίζεται η χρήση:

- που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
- που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
- που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.