

ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И ХИМИЯ СЛОЖНЫХ СИСТЕМ: ВВОДНЫЙ КУРС

Лекция 8. Молекулярная масса макромолекул и методы ее определения

И.В. Перминова

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова



Содержание

- Понятие о молекулярной массе и молекулярно-массовом распределении
- Способы описания распределений
- Методы определения молекулярных масс
- Проблемы определения молекулярных масс гуминовых веществ



ПОНЯТИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ

Молекулярная масса – это сумма масс атомов, входящих в состав данной молекулы, выраженная в атомных единицах массы (а.е.м.), или дальтонах (D).

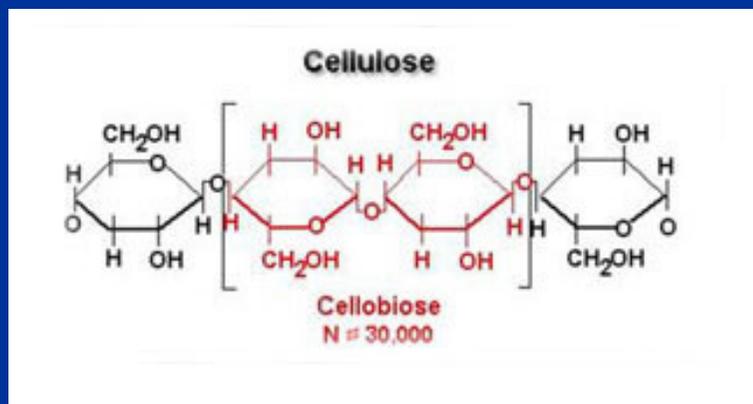
$$1 \text{ а.е.м.} = 1 \text{ D} = 1/12 \text{ массы атома } ^{12}\text{C} = 1,66057 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$$

Абсолютная масса молекулы H_2O (ед. СИ):

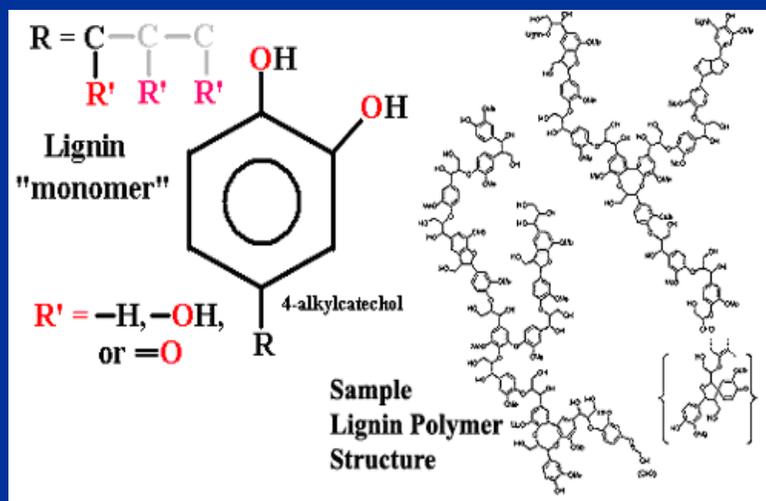
$$(1 \times 2 + 1 \times 16) \times 1,66057 \cdot 10^{-27} \text{ kg} = 29,89026 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$$



МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА МАКРОМОЛЕКУЛ



Понятие макромолекулы ввел Герман Штаудингер в 1920 г. – Лауреат Нобелевской премии 1953 г. за создание макромолекулярной химии

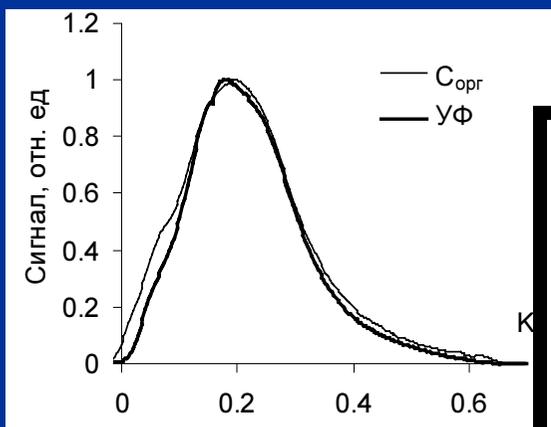


Все синтетические полимеры и многие природные полимеры (за исключением белков) представляют собой смесь молекул разного размера

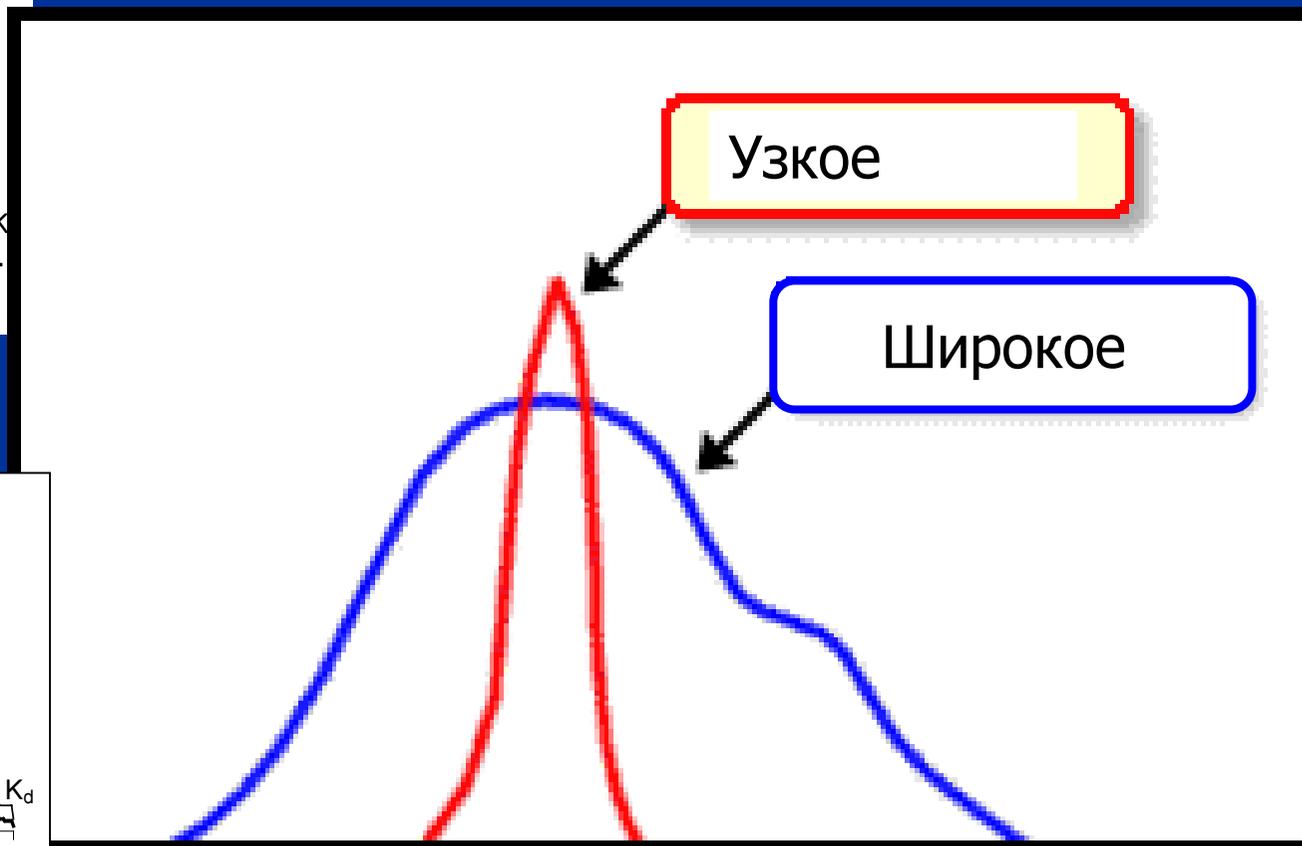
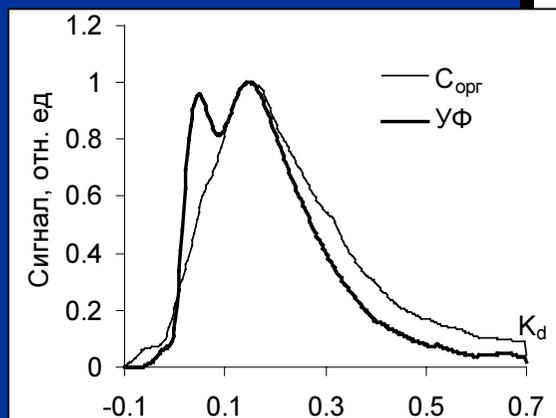
↓

Полимерам присуща полидисперсность

МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ (ММР) ПОЛИМЕРОВ



ГВ



ОПИСАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЙ – СТАТИСТИЧЕСКИЕ МОМЕНТЫ

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_1^N x_i$$

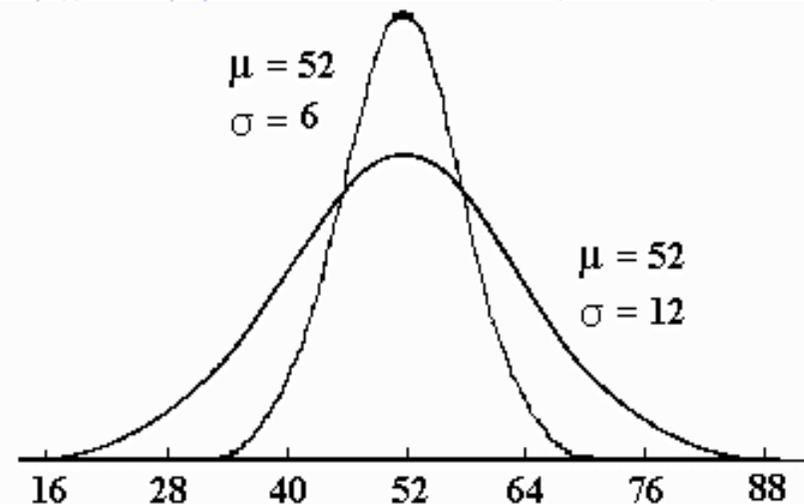
$$\sigma^2 = \frac{1}{N-1} \sum_1^N (x_i - \mu)^2$$

μ – медиана,
 N – число измерений,
 x_i – значение измерения,
 σ^2 – дисперсия

$$k\text{-й момент} = \sum_i f_i (x_i - x_s)^k$$

f_i – доля измерений с
величиной x_i , то есть N_i/N ,
 x_s – основание момента и
 k – порядок момента

<http://www.psychstat.missouristate.edu/IntroBook/sbk11.htm>



μ – первый момент ($k = 1$)
относительно начала координат
($x_s = 0$).
 σ^2 – второй момент ($k = 2$)
относительно медианы ($x_s = \mu$).



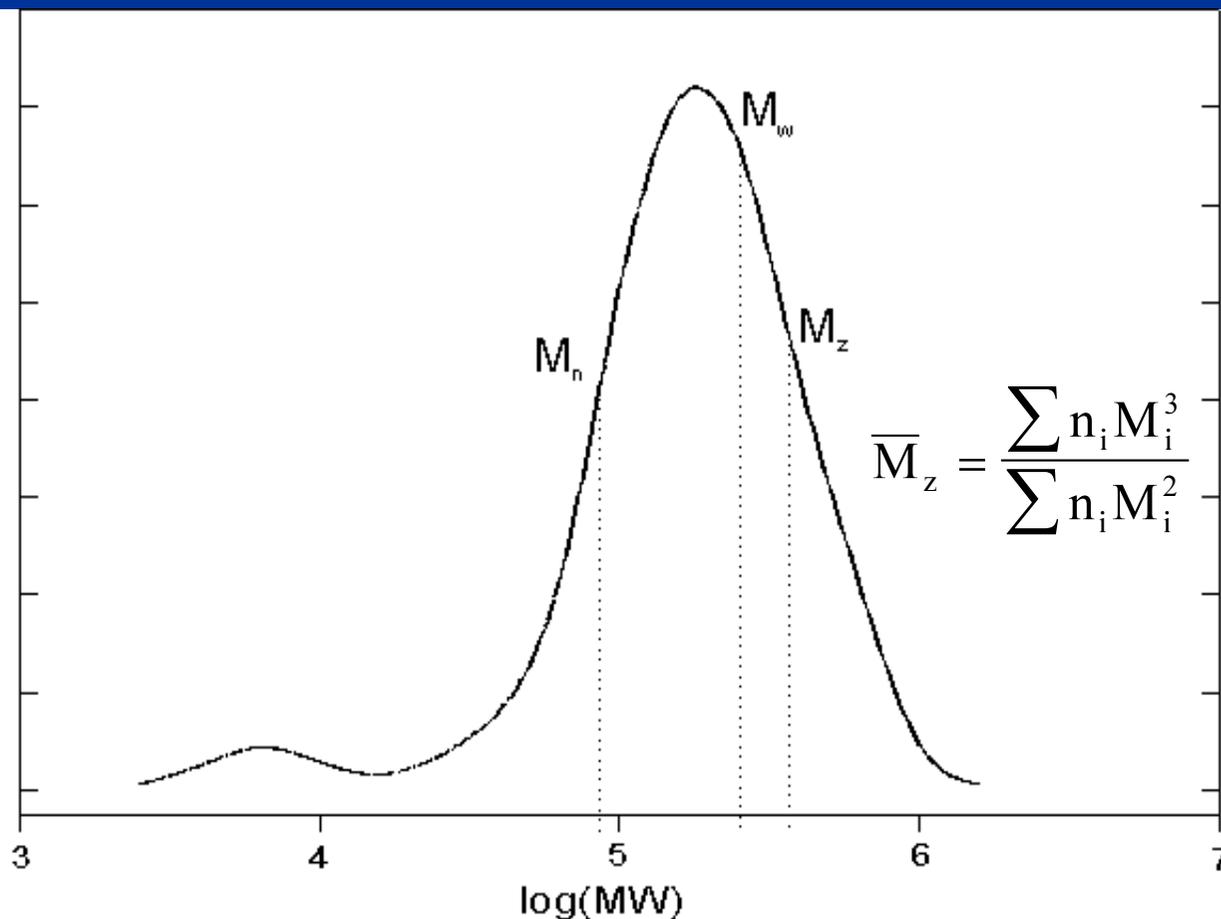
СТАТИСТИЧЕСКИЕ МОМЕНТЫ И СРЕДНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАССЫ

$$\bar{M}_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i} = k_1$$

$$\bar{M}_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i} = \frac{k_2}{k_1}$$

$$P = \frac{M_w}{M_n}$$

n_i – число i -тых
молекул с массой M_i



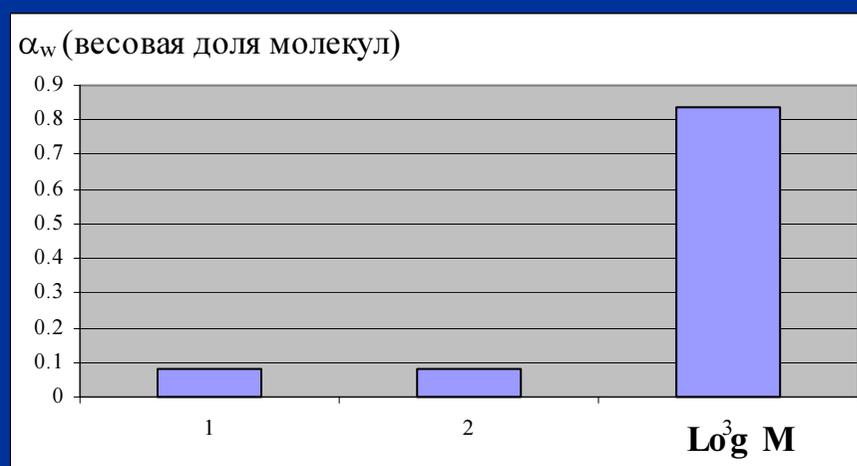
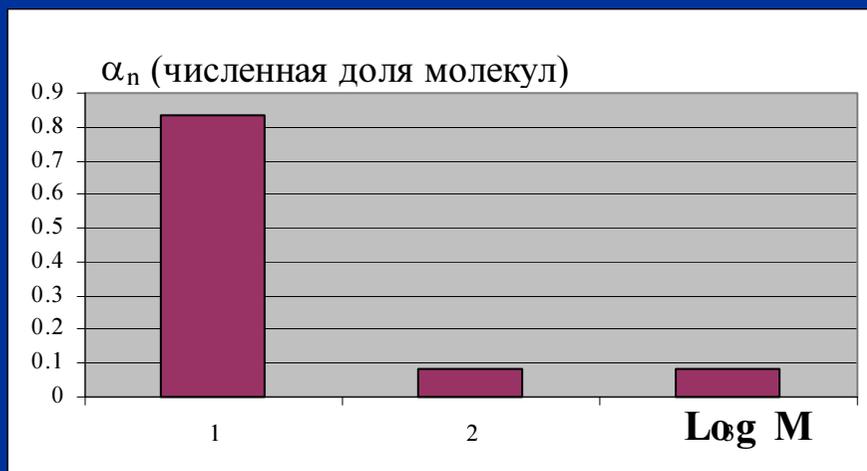
ПРИМЕРЫ РАСЧЕТА СРЕДНИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС



$$n_1 = 10; M_1 = 10$$

$$n_2 = 1; M_2 = 100$$

$$n_3 = 1; M_3 = 1000$$



ПРИМЕРЫ РАСЧЕТА СРЕДНИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС



$$n_1 = 10; M_1 = 10$$

$$n_2 = 1; M_2 = 100$$

$$n_3 = 1; M_3 = 1000$$

Среднечисленная молекулярная масса (M_n):

$$\bar{M}_n = \frac{10 \times 10 + 1 \times 100 + 1 \times 1000}{10 + 1 + 1} = 100$$

$$\bar{M}_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i}$$

Средневесовая молекулярная масса (M_w):

$$M_w = \frac{10 \times 10^2 + 1 \times 100^2 + 1 \times 1000^2}{10 \times 10 + 1 \times 100 + 1 \times 1000} = 842.5$$

$$\bar{M}_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i}$$



ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕЧИСЛЕННОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ

M_n : зависит от общего числа молекул, а не от их размера =>
очень чувствительна к присутствию низкомолекулярных молекул

M_n : определяют путем измерения *КОЛЛИГАТИВНЫХ СВОЙСТВ*

Коллигативные свойства: http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/PCC/Solutions_2.htm

Зависят от количества частиц в растворе

Используются для определения M_n

Методы, основанные на законах Рауля и Вант-Гоффа:

По давлению пара насыщенных растворов

По температуре замерзания (*Криоскопия*)

По температуре кипения (*Эбулиоскопия*)

По осмотическому давлению (*Осмометрия*)



ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕЧИСЛЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС

Измерение давления насыщенного пара

✶ (справедливо для неэлектролитов и разбавленных растворов)

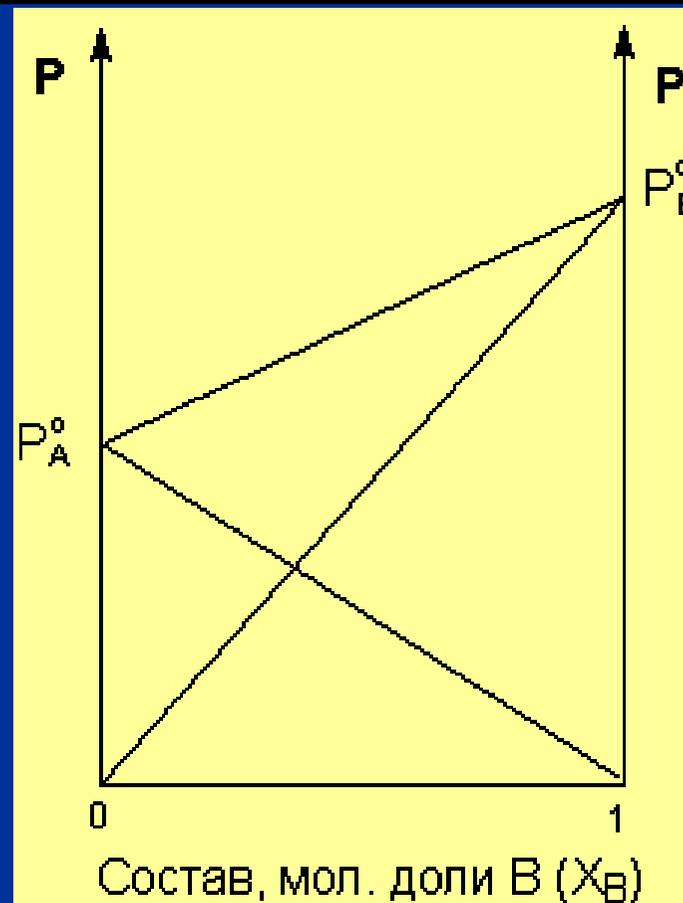
Первый закон Рауля:

Относительное понижение давления пара растворителя над раствором равно мольной доле растворенного вещества и не зависит от природы растворенного вещества

$$\frac{p_A^0 - p_A}{p_A^0} = x_B$$

Для 2-хкомпонентных растворов:

$$P = p_A^0 x_A + p_B^0 x_B = p_B^0 x_B + p_A^0 (1 - x_B) = p_A^0 - x_B (p_A^0 - p_B^0)$$



ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ КРИОСКОПИИ

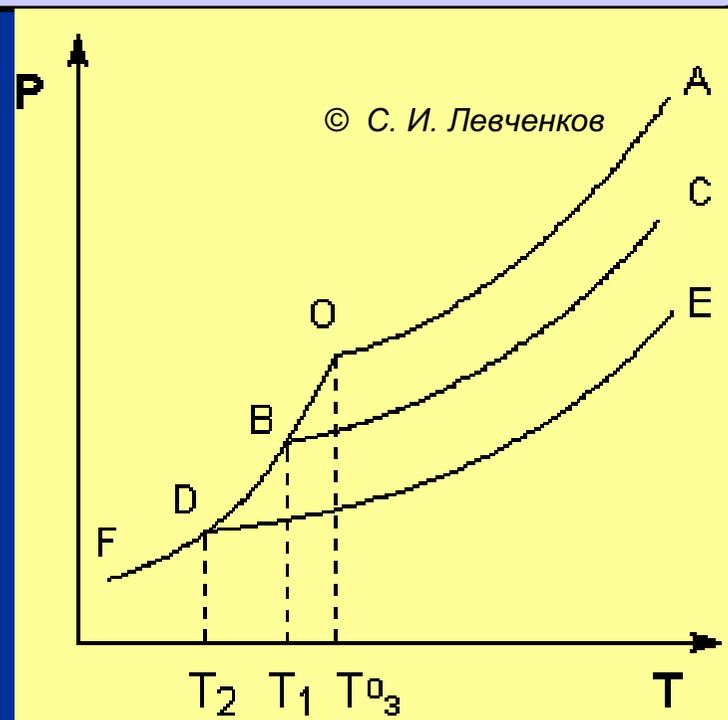
Измерение понижения температуры замерзания растворов

Второй закон Рауля:

Понижение температуры замерзания раствора $\Delta T_{\text{зам}}$ прямо пропорционально моляльной концентрации раствора

$$\Delta T_{\text{зам}} = K m$$

$$M = \omega_1 \cdot K \cdot 1000 / \omega_2 \Delta T_{\text{зам}}$$



K – криоскопическая константа растворителя;
m – моляльная концентрация раствора;
 ω_1 и ω_2 – масса растворенного вещества и растворителя, г

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ ЭБУЛИОСКОПИИ

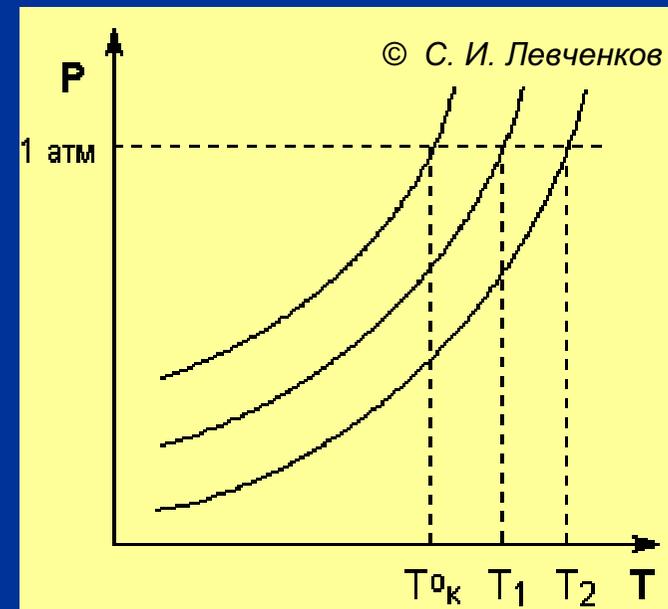
Повышение температуры кипения растворов

Второй закон Рауля:

Понижение температуры замерзания и повышение температуры кипения разбавленного раствора нелетучего вещества прямо пропорционально моляльной концентрации раствора

$$\Delta T_K = T_K - T_K^\circ = E m$$

E – эбулиоскопическая константа растворителя;
 m – моляльная концентрация раствора



K и E имеют физический смысл повышения $T_{\text{кип}}$ и понижения $T_{\text{зам}}$ растворов с моляльной концентрацией $m = 1$ моль/кг

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ ОСМОМЕТРИИ

Измерение осмотического давления разбавленных растворов

Давление, которое необходимо приложить к раствору, чтобы предотвратить перемещение растворителя в раствор через мембрану, разделяющую раствор и чистый растворитель, есть осмотическое давление π .

Осмотическое давление идеальных растворов линейно зависит от температуры и молярной концентрации раствора C и может быть рассчитано по уравнению:

$$\lim_{C \rightarrow 0} \frac{\pi}{C} = \frac{RT}{M_n}$$

ДЛЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ ВВОДИТСЯ ПОПРАВКА – изотонический коэфф.:

$$i = \frac{\pi^{\text{эксп}}}{\pi^{\text{теор}}} = \frac{\Delta T_{\text{кип}}^{\text{эксп}}}{\Delta T_{\text{кип}}^{\text{теор}}} = \frac{\Delta T_{\text{зам}}^{\text{эксп}}}{\Delta T_{\text{зам}}^{\text{теор}}}$$

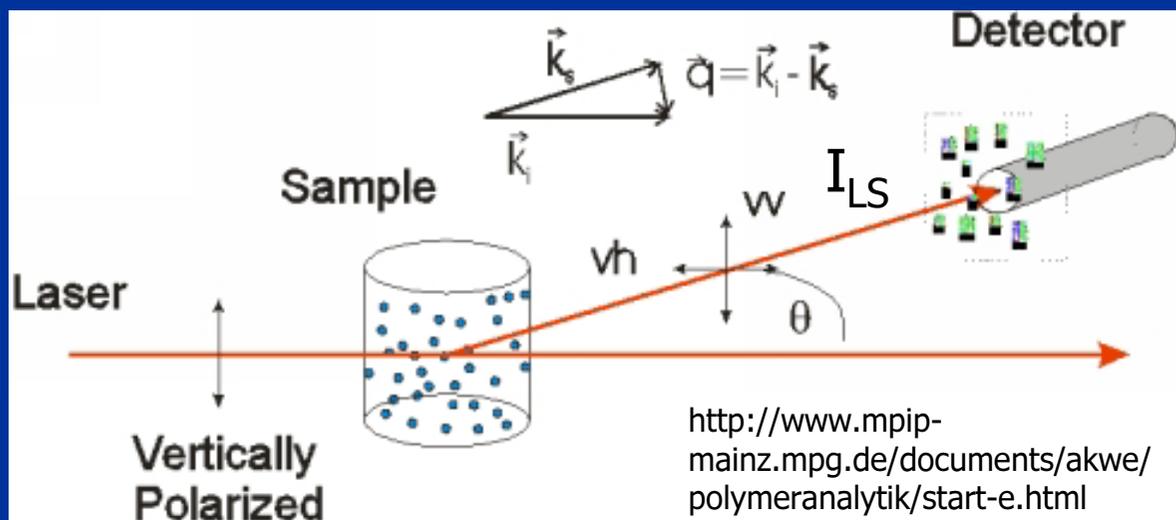
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕВЕСОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС

Для определения средневесовых ММ используются методы светорассеяния и ультрацентрифугирования

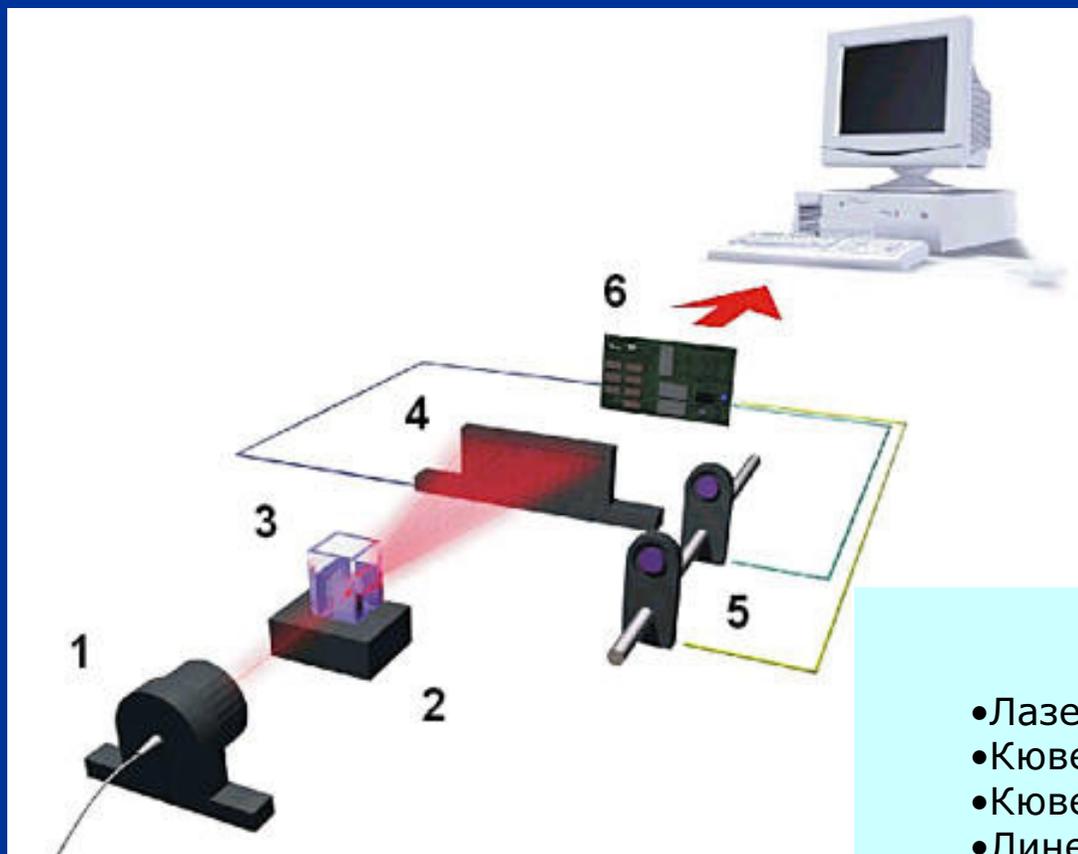
«Статическое» или «Рэлеевское» светорассеяние (MALLS) позволяет напрямую измерять молекулярные массы. Интенсивность рассеянного света (I_{LS}) пропорциональна произведению концентрации рассеивающих частиц (C) и их молекулярной массы (M_w): $I_{LS} \propto C \cdot M_w$

Метод работает до ~ 10 нм, потом - нужны измерения под разными углами. Очень чувствителен к присутствию больших молекул

$$20000 < M_w < 500000$$



ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ СВЕТОРАССЕЯНИЯ



Лазерный
анализатор
размера частиц
«ЛАСКА-1К»
(Люмекс, Россия)

<http://www.lumex.ru/rus/products/41.html>

- Лазерный диод (670 нм)
- Кюветное отделение
- Кювета с магнитным волчком
- Линейка фотодиодов (малые углы рассеяния)
- Фотодиоды (большие углы рассеяния)
- Контроллер



ДИНАМИЧЕСКОЕ СВЕТОРАССЕЯНИЕ

«Динамическое» светорассеяние (DLS), известное как **PCS** – фотонно-корреляционная спектроскопия, основано на использовании рассеянного света для измерения скорости диффузии частиц.

Основное достоинство – возможность анализа очень широкодисперсных образцов.

На выходе измеряются:

коэффициент диффузии D_z

гидродинамический радиус R_{hz}

весьма удобен для изучения агрегационных процессов

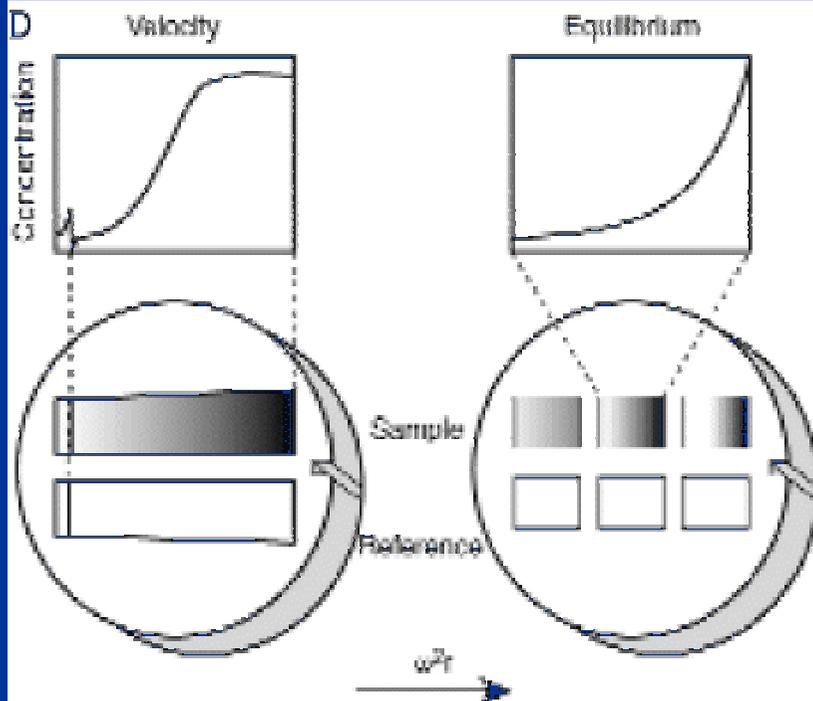


ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

Скоростное УльтраЦентрифугирование (СУЦ) и Равновесное УльтраЦентрифугирование (РУЦ)

Слева:

Двухсекторная ячейка для скоростного УЦ эксперимента. Образец загружают в верхний отдел, и раствор сравнения (буфер) – в нижний. Центрифугируют при высокой скорости, создавая границу, которая двигается ко дну.



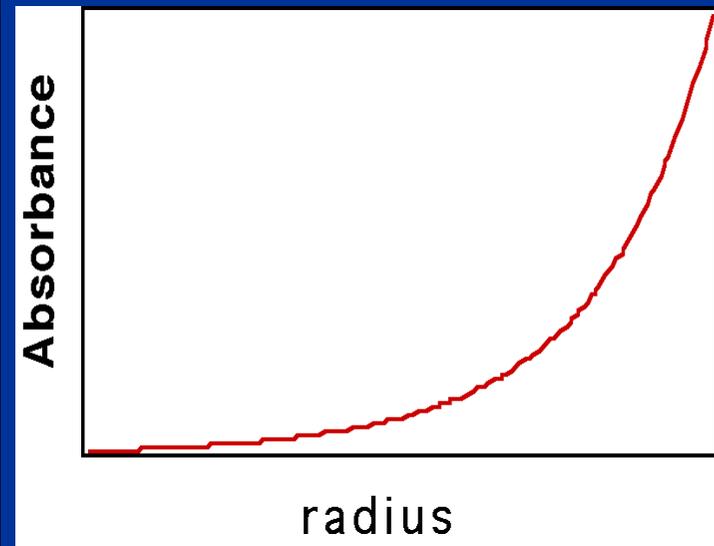
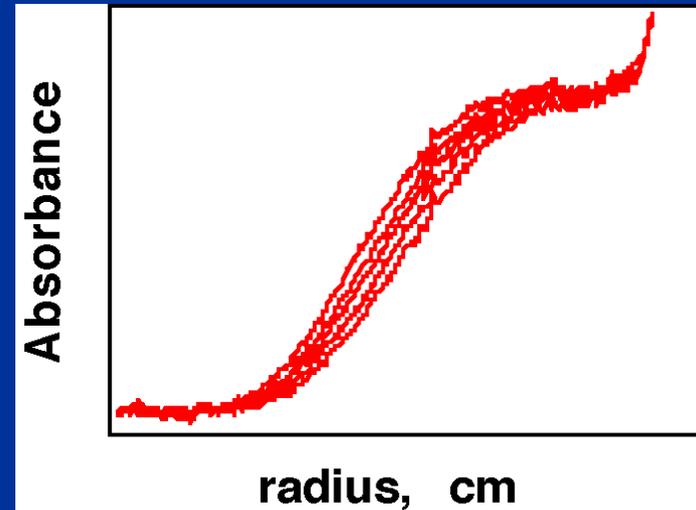
Справа:

6-канальная ячейка для равновесного УЦ эксперимента. Загружают три пары раствор-буфер и центрифугируют при средних скоростях, что приводит к созданию концентрационного градиента в каждом канале

ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

Метод СУЦ позволяет определять гидродинамические свойства: коэффициент седиментации s , константу диффузии D и гидродинамический радиус, R_h , иногда – молекулярную массу, M

Метод РУЦ позволяет определять т/д параметры: M_w константы ассоциации. Достоинство РУЦ: найденные значения M_w не зависят от формы молекул: в состоянии сед. равновесия силы седиментации и диффузии уравновешены и молекулы не двигаются!



ВИСКОЗИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС

Relative viscosity:

$$\eta_r = \frac{t}{t_0} = \frac{\eta}{\eta_0}$$

Specific viscosity

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} = \eta_r - 1$$

Reduced viscosity

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}$$

- The intrinsic viscosity $[\eta]$: $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$

Уравнение Марка-Куна-Хаувинка:

$$[\eta] = KM^\alpha$$

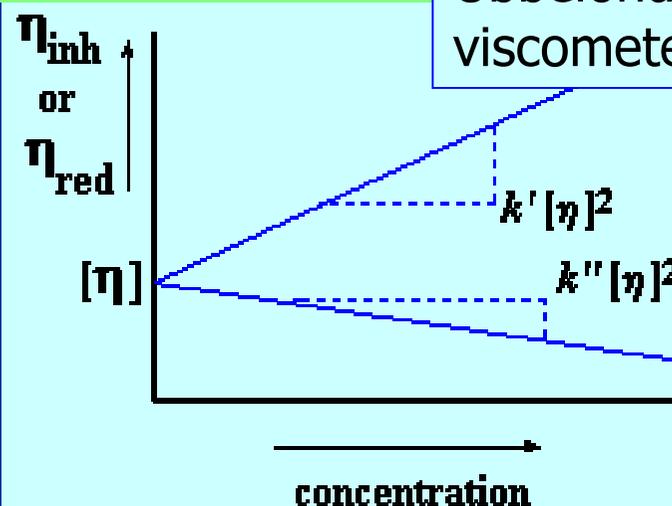
где K и α - константы Марка-Куна-Хаувинка,
Для каждого сочетания полимер—
растворитель - свои константы.

Наличие характеристической вязкости -
это иногда единственный способ сказать,
является ли полученное вещество
полимером или нет

$$M_v = \left[\frac{\sum_i N_i M_i^{1+a}}{\sum_i N_i M_i} \right]^{\frac{1}{a}}$$

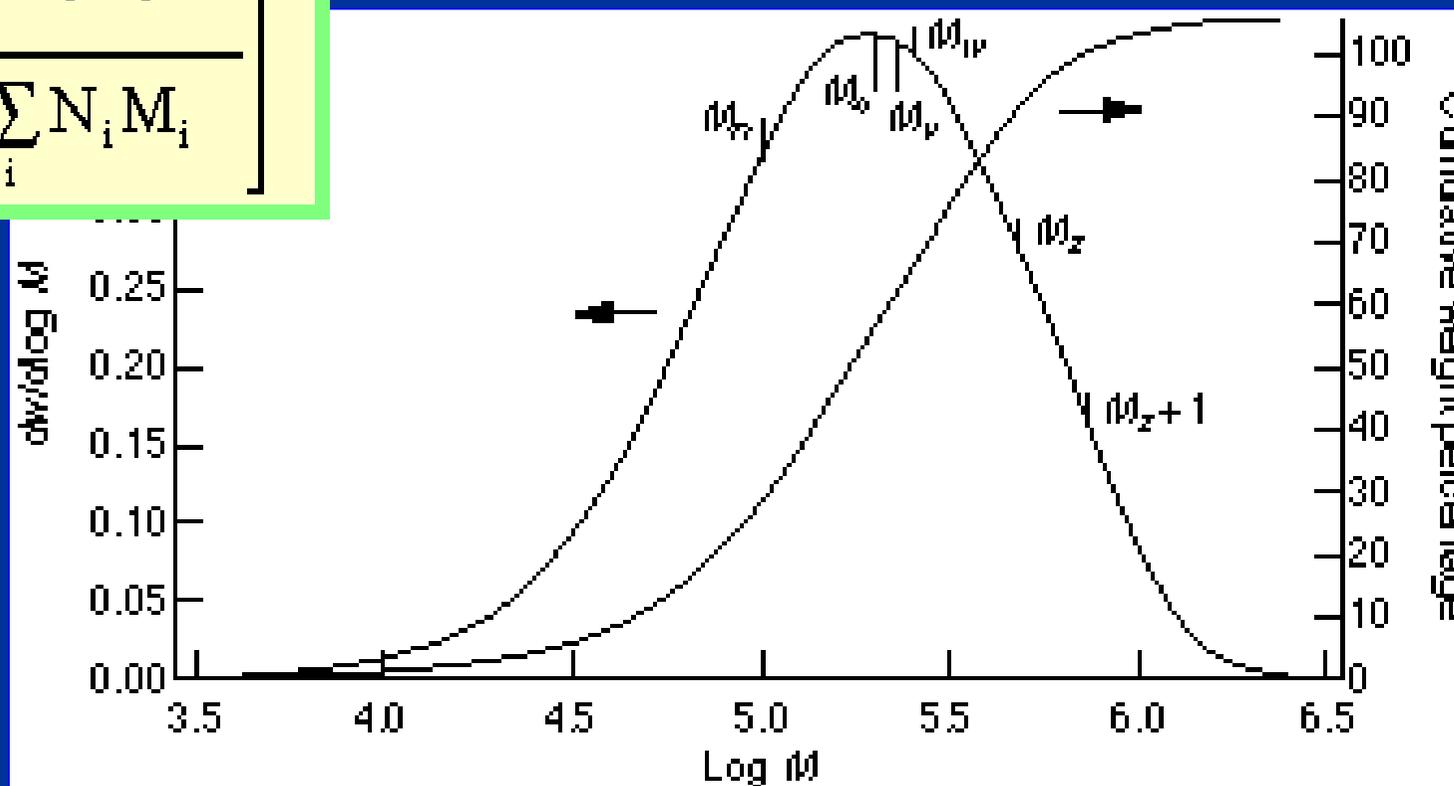


Ubbelohde
viscometer



ВИСКОЗИМЕТРИЧЕСКАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА

$$M_v = \left[\frac{\sum_i N_i M_i^{1+a}}{\sum_i N_i M_i} \right]^{\frac{1}{a}}$$

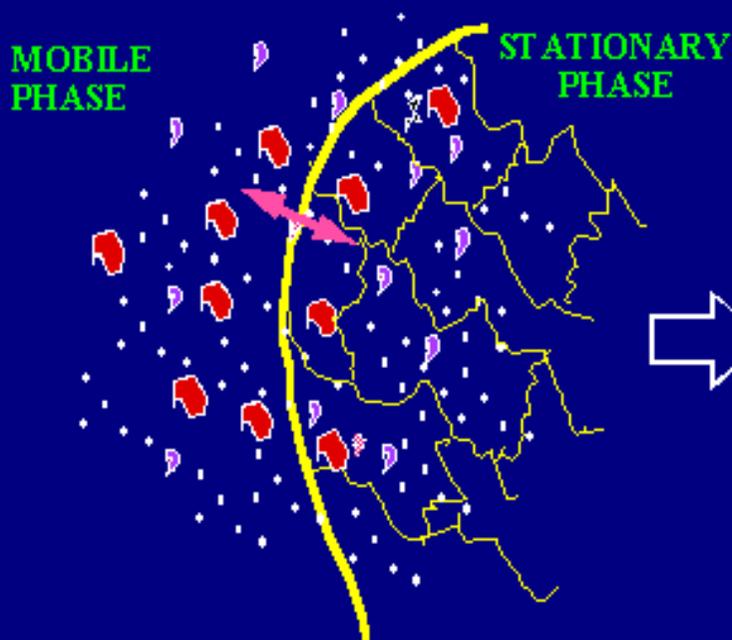


**Для определения вискозиметрической ММ
необходимо знать – или определить из значений
гидродинамических радиусов –
K и α - константы Марка-Куна-Хаувинка**

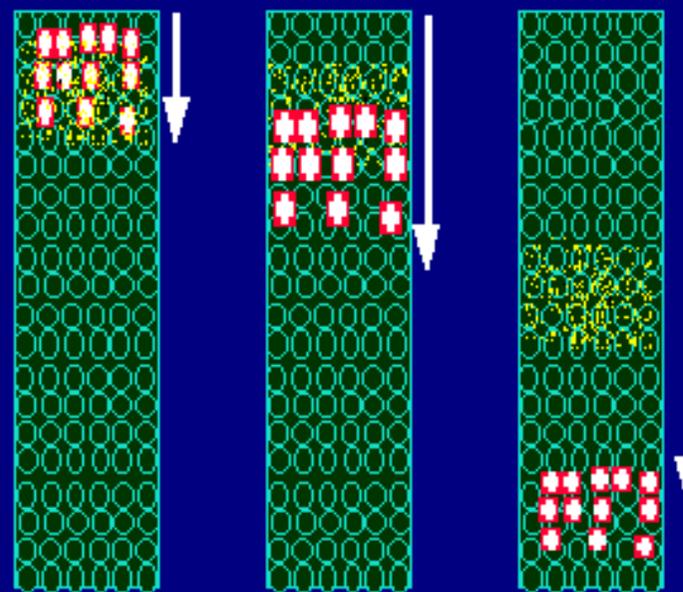
ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС

SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

PRINCIPLE OF SEPARATION

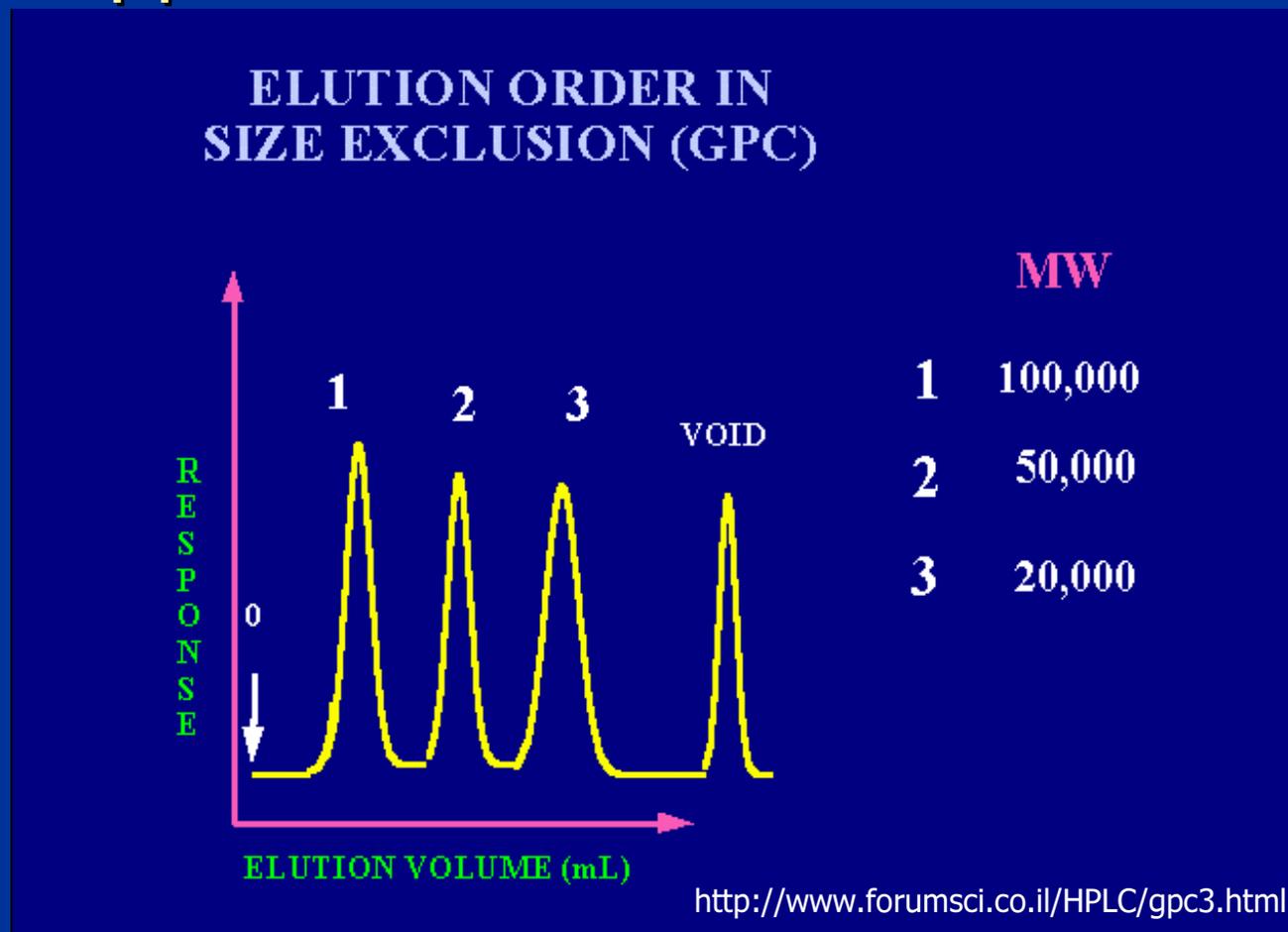


SEPARATION PROCESS:



Молекулярная масса вычисляется по гидродинамическому объему с использованием калибровочных веществ

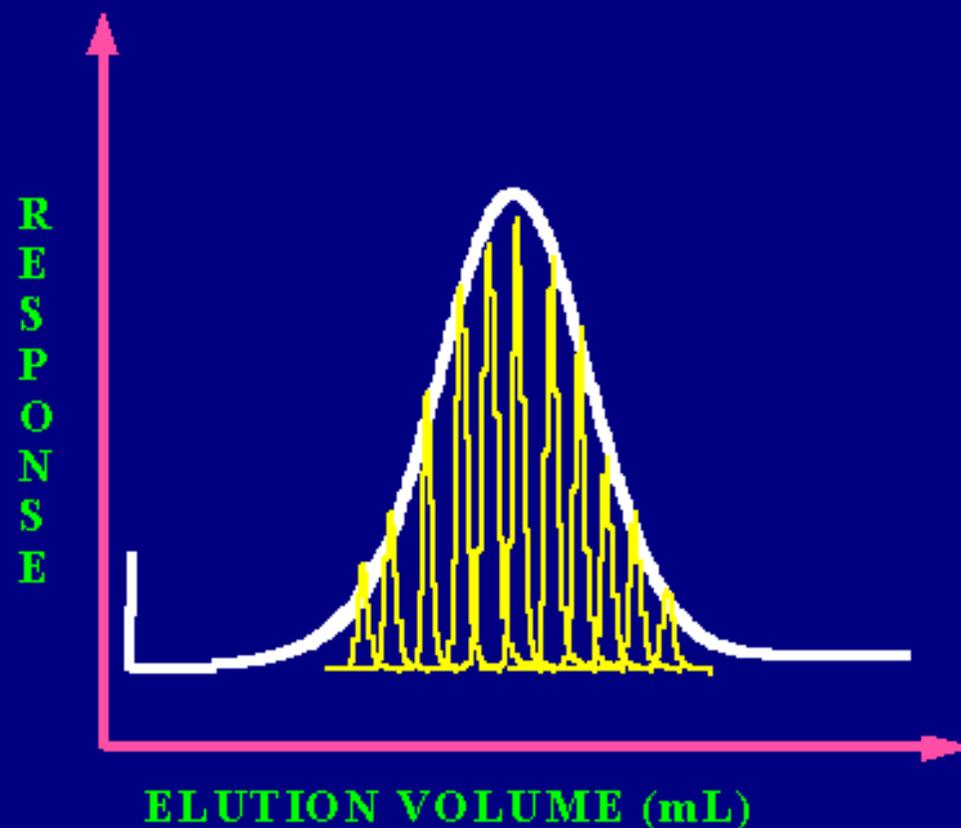
ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ



Порядок эксклюзии: сначала выходят большие молекулы, затем - маленькие



MOLECULAR WEIGHT DISTRIBUTION



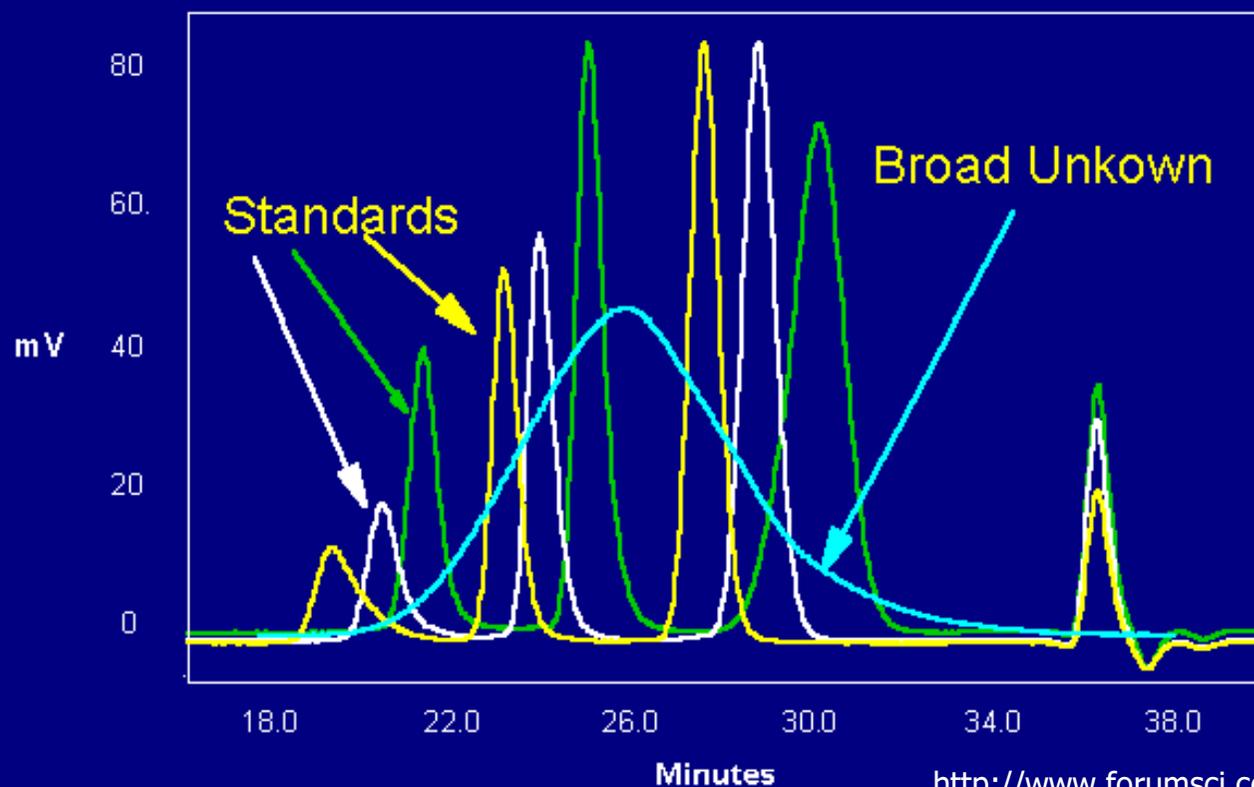
<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>

Сложная смесь молекул дает перекрывающиеся пики
- образуется ММ распределение (ММР)



КАЛИБРОВКА КОЛОНКИ УЗКИМИ СТАНДАРТАМИ

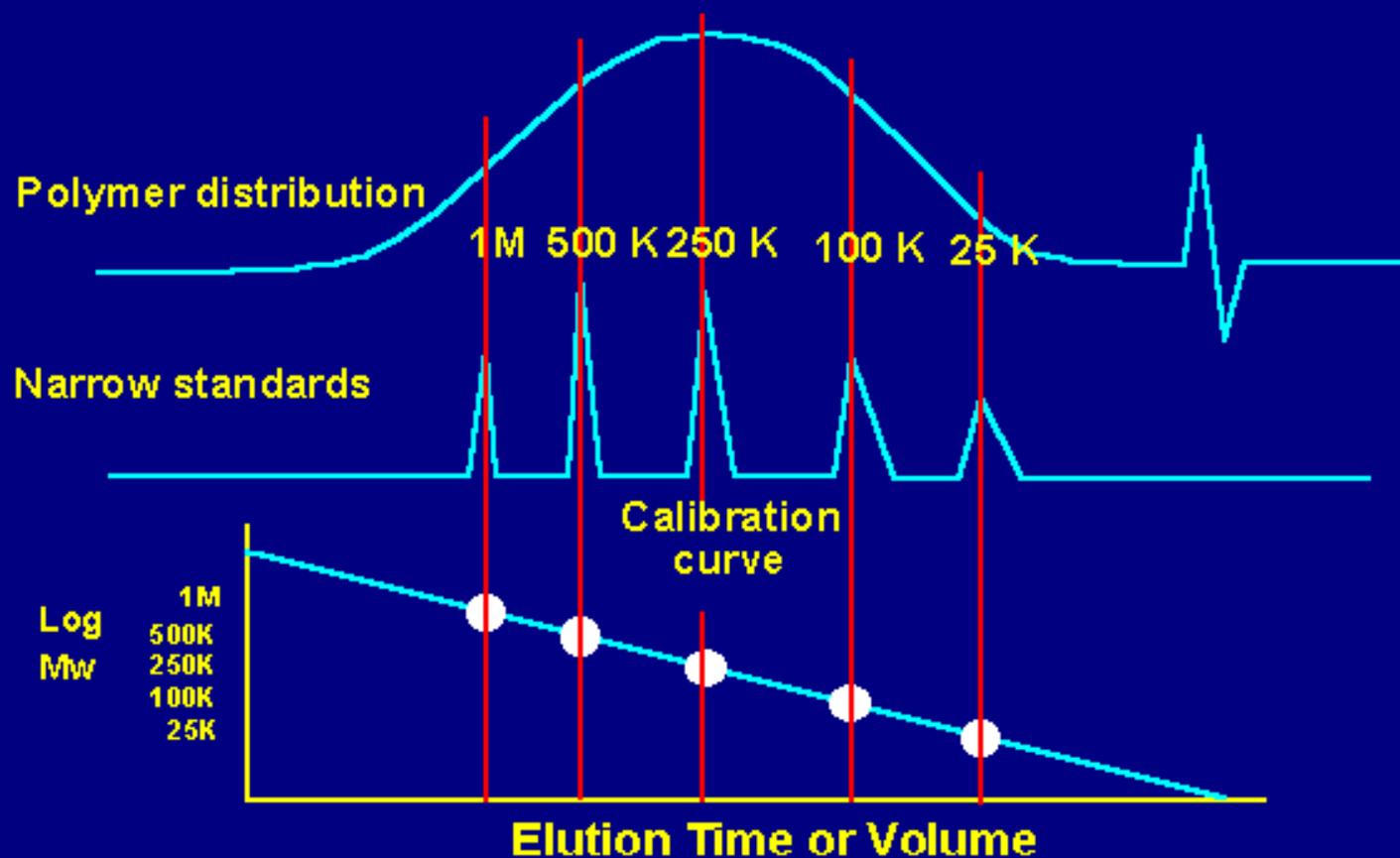
GPC Narrow Standards + Broad Sample



Пример: калибровка колонки полистиролами в диапазоне 2.8 млн - 2800 дальтон

ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

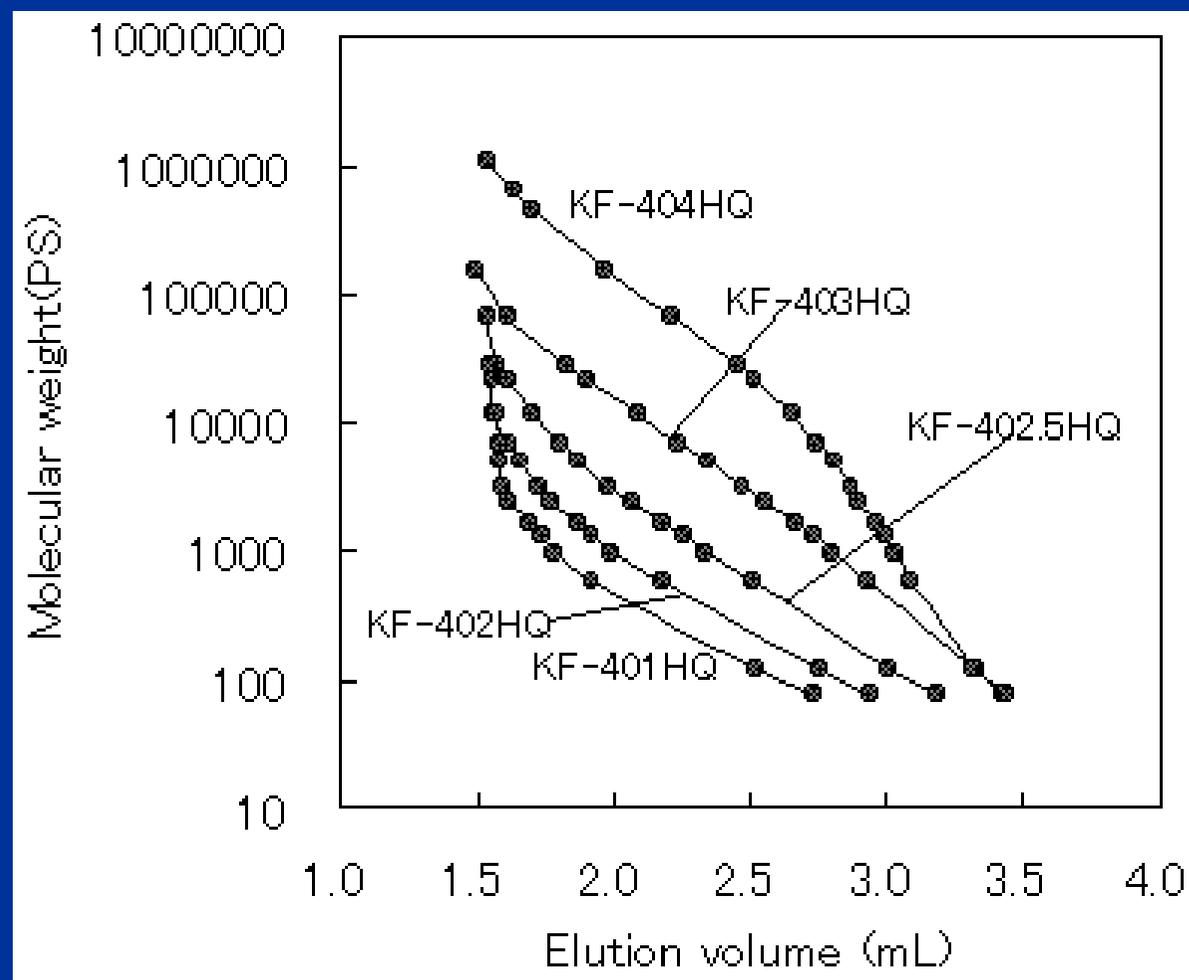
Creation of a Calibration Curve



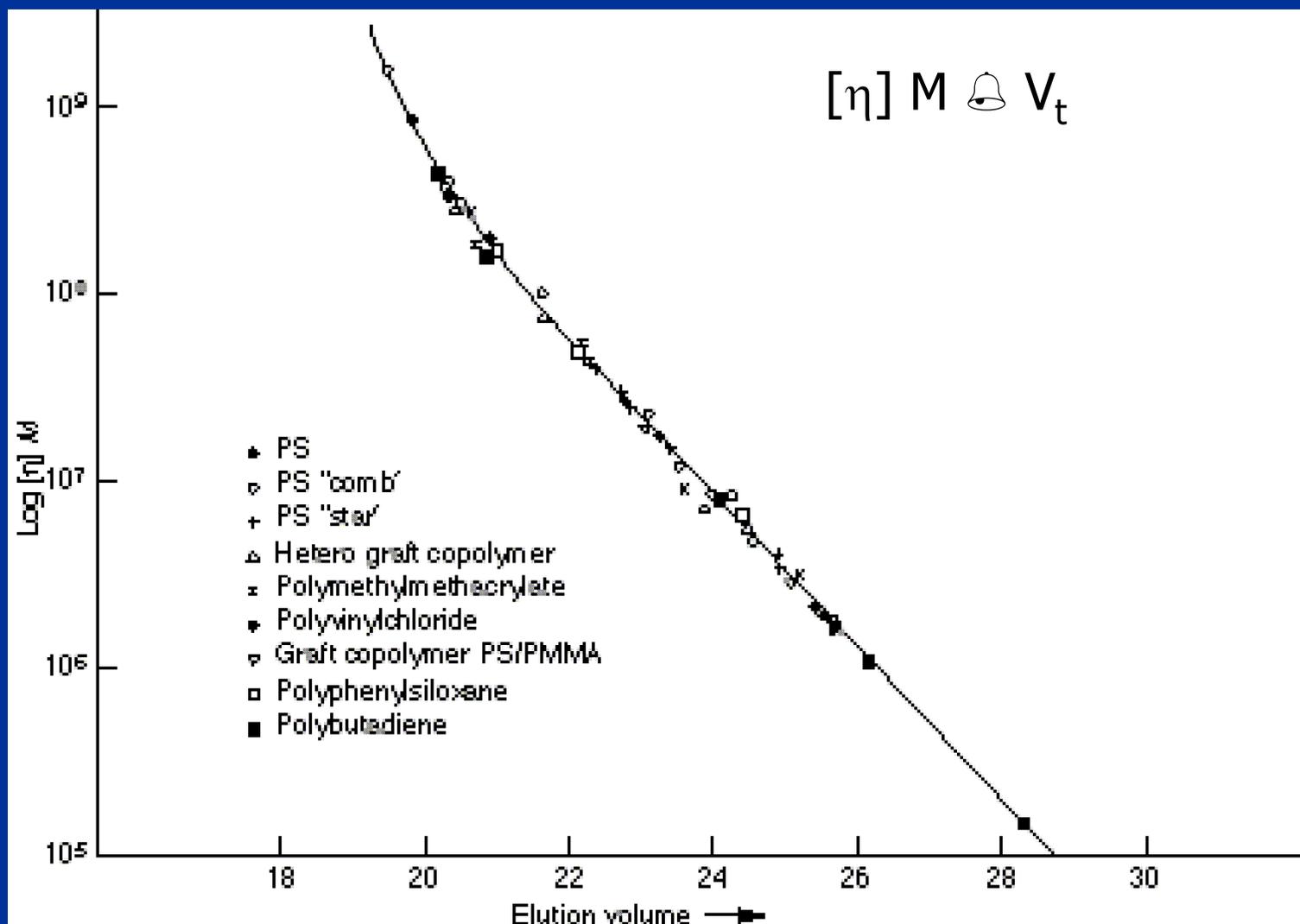
<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>



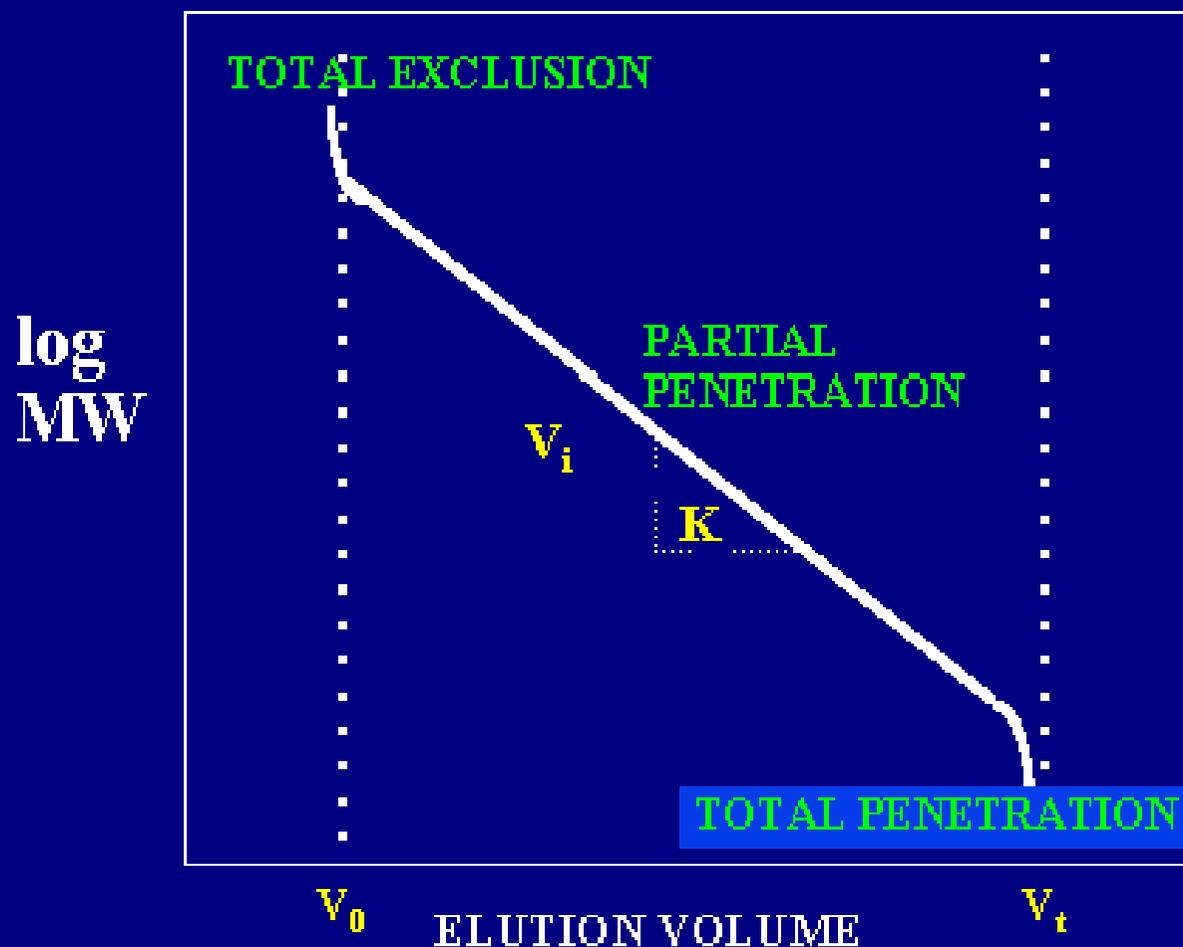
РЕАЛЬНЫЕ КАЛИБРОВОЧНЫЕ КРИВЫЕ



УНИВЕРСАЛЬНАЯ КАЛИБРОВОЧНАЯ КРИВАЯ



THEORETICAL CURVE OF THE STERIC EXCLUSION



$$\frac{V_i - V_0}{V_t - V_0} = K$$

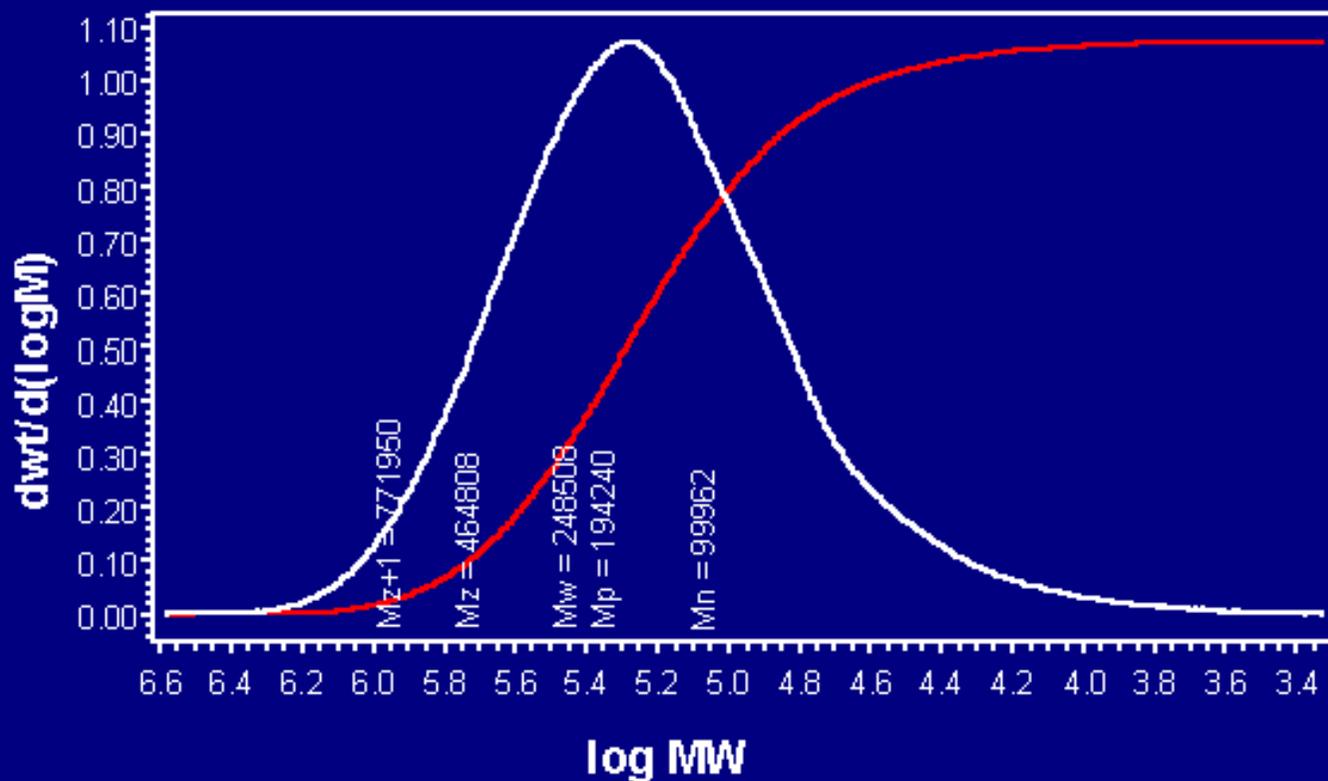
$$0 < K_d < 1$$

<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>



ПОСТРОЕНИЕ КРИВОЙ ММР

Molecular Weight Distribution



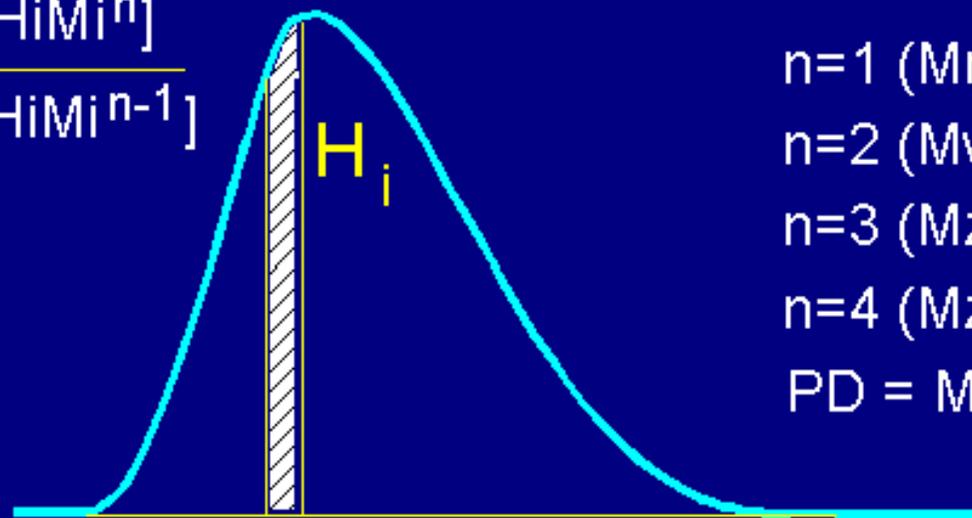
<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>



РАСЧЕТ СРЕДНИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС

Calculation of MW Averages

$$M_x = \frac{\sum [H_i M_i^n]}{\sum [H_i M_i^{n-1}]}$$



n=1 (Mn)

n=2 (Mw)

n=3 (Mz)

n=4 (Mz+1)

PD = Mw/Mn

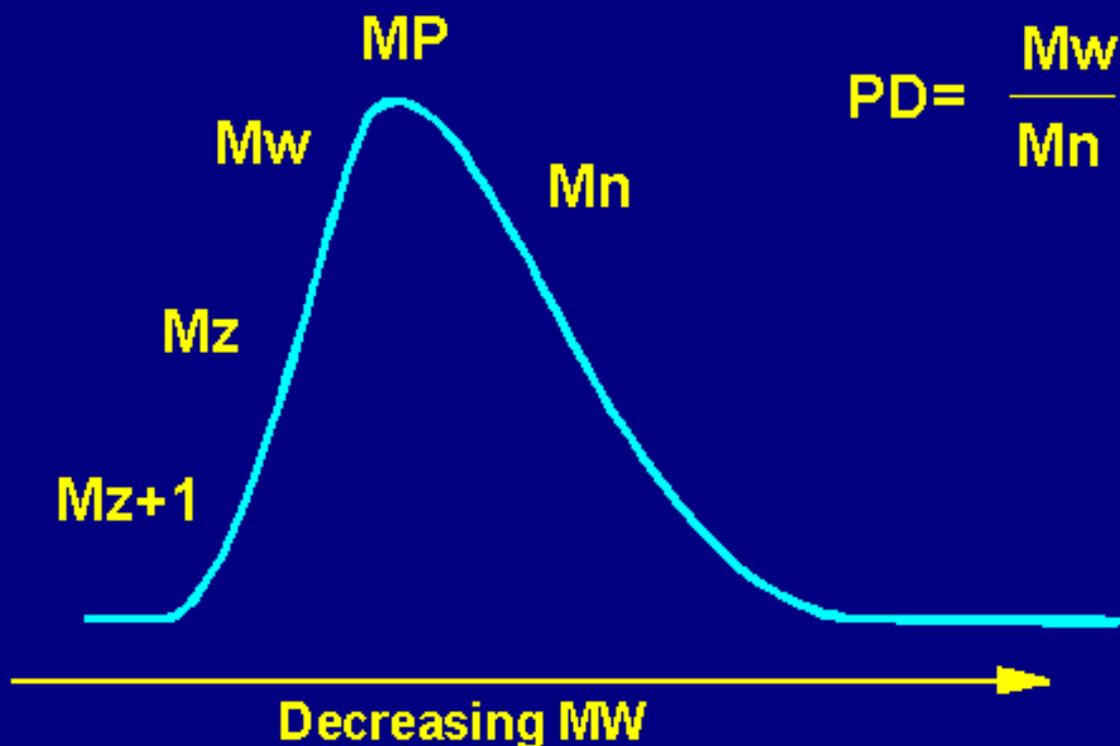
Retention Time (or Volume)

<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>



ПОЛОЖЕНИЕ СРЕДНИХ НА КРИВОЙ ММР

Molecular Weight Distribution

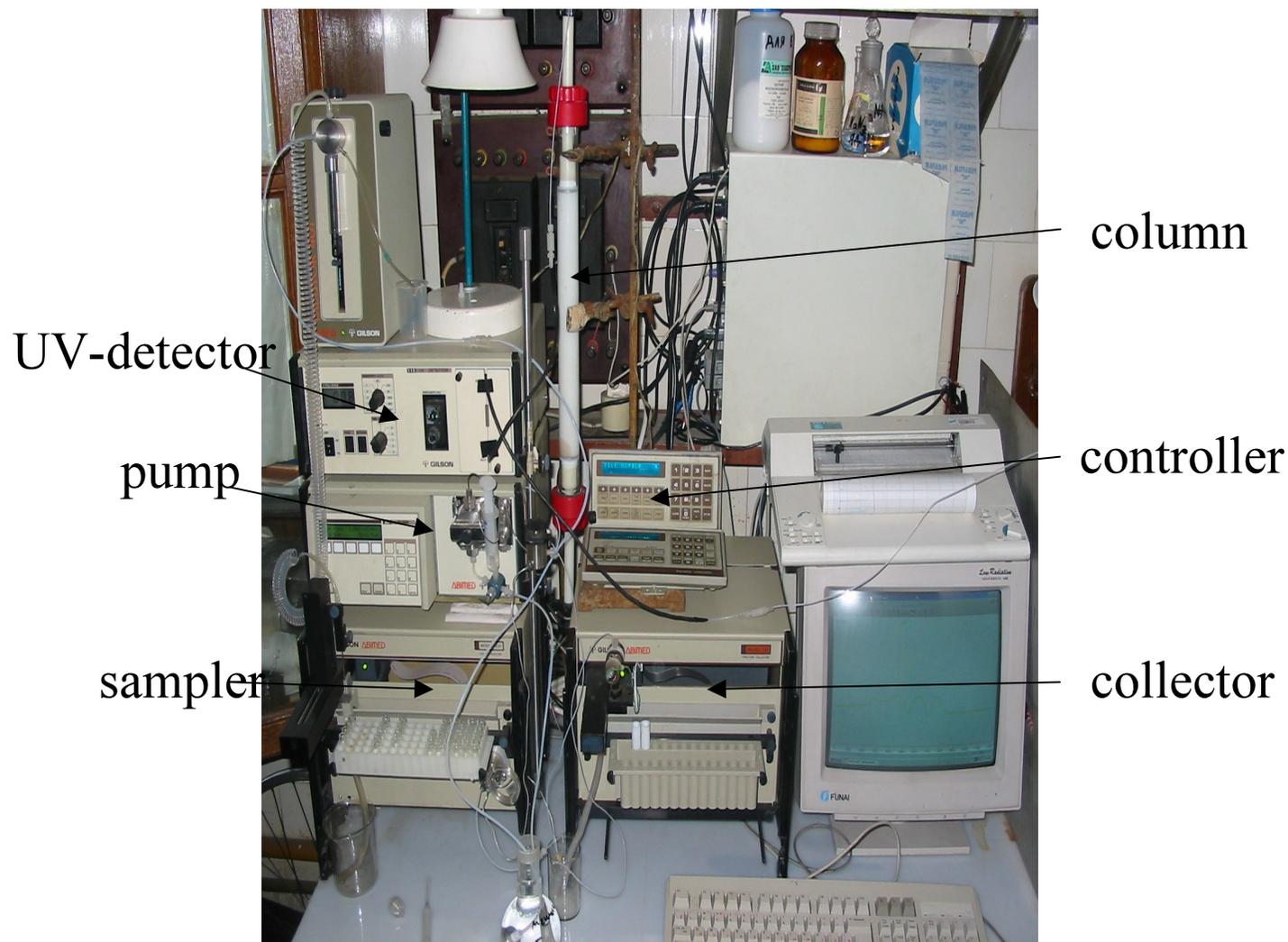


<http://www.forumsci.co.il/HPLC/gpc3.html>



НАШ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФ

ABIMED-HPLC-system



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
ДАННЫХ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАСС
ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ –
СУПЕРЗАДАЧА
СОВРЕМЕННОЙ НАУКИ



ВЫВОДЫ

1. Определение молекулярных масс полимерных соединений представляет собой сложную, многоуровневую проблему.
2. Залогом получения правильной информации о молекулярной массе полимера является выбор адекватного экспериментального метода.
3. При интерпретации результатов по определению молекулярных масс особое внимание должно уделяться ограничениям и диапазонам применимости метода.
4. Определение молекулярных масс гуминовых веществ осложнено их высокой полидисперсностью и отсутствием адекватных стандартов.
5. Необходимо применение комплекса различных методов определения молекулярных масс.



СПАСИБО ВСЕМ!



LOMONOSOV MOSCOW STATE UNIVERSITY

Следующая лекция:

*Молекулярно-массовый состав гуминовых
веществ - 2*

30.03.2006, 15:30, ком. 429

 Обсуждение статьи:

R.Sutton and G. Sposito:

**“Molecular structure in soil humic substances:
the new view”**

**Environ. Sci. Technol. 2005: Vol. 39(23), 9009-
9015**

