

Lichtstreuung an Polymeren, ohne Kenntnis von dn/dc ein Lotteriespiel?

Die Kenntnis der molekularen Struktur und Gestalt synthetischer oder biologischer Makromoleküle ist für die Struktur-Eigenschaftsbeziehung und somit für mögliche technische Anwendungen von großer Bedeutung. Eine der etabliertesten Methoden zur Bestimmung von Molmassen und Geometrie bzw. molekularer Struktur der Makromoleküle ist die statische Lichtstreuung. Die Lichtstreuungen können entweder im Batch also off-line oder im Durchfluss, also on-line durchgeführt werden. Am Beispiel von Polyelektrolyten soll gezeigt werden, welche Bedeutung das spezifische Brechungsindexinkrement dn/dc bei der Bestimmung der Molmasse hat und welche Randbedingungen beachtet werden müssen. Die Ergebnisse der Messungen der spezifischen Brechungsindexinkremente von Polyacrylsäuren werden gezeigt. Gegenübergestellt werden die Ergebnisse aus on- und off-line Messungen bei zwei unterschiedlichen Fremdsalzkonzentrationen und Fremdsalzen.

Grundlagen

Bei Kenntnis der Einwaagekonzentration der zu untersuchenden Probe gelingt aus Streulichtmessungen bei unterschiedlichen Streuwinkeln die Bestimmung der Molmasse und des Trägheitsradius $\langle Rg^2 \rangle^{1/2}$, gemäß [1]

$$\frac{K \cdot c_B}{R_\theta} = \frac{1}{M_w \cdot P(\theta)} + 2A_2 \cdot c_B \quad \text{Gleichung 1}$$

R_θ = Rayleigh Ratio, K = opt. Konstante, c_B = Polymerkonzentration, M_w = Gewichtsmittel der Molmasse, $P(\theta)$ = Formfaktor, A_2 = zweiter Virialkoeffizient wobei K die optische Konstante repräsentiert.

$$K = \frac{4\pi^2 n_0}{N_L \cdot \lambda_0^2} \left(\frac{\delta n}{\delta c} \right)^2 \quad \text{Gleichung 2}$$

N_L = Lohschmidtsche Zahl, λ_0 = Wellenlänge des Lichtes im Vakuum, n_0 = Brechungsindex des reinen Lösungsmittel

Diese Konstante und somit auch die gemessene Streuintensität der zu untersuchenden Probe ist Null, wenn das Brechungsindexinkrement $(\delta n/\delta c)$ Null ist, also das Brechungsindexinkrement von Lösungsmittel und Gelöstem übereinstimmen. Der Formfaktor $P(\theta)$ beinhaltet

die geometrische Information des Teilchens, den sog. Trägheitsradius $\langle Rg^2 \rangle$ (die hier angegebenen Gleichung gilt für kleine Teilchen d.h.: $q \cdot r_{ij} \ll 1$ und ist unabhängig von der Teilchengestalt) [1].

$$P(\theta) = 1 - \frac{1}{3} q^2 \langle r^2 \rangle \quad \text{Gleichung 3}$$

q = Streuvektor, $\langle r^2 \rangle$ = Trägheitsradius

Die Bedeutung des spezifischen Brechungsindexinkrements

Wie in Gleichung 1 dargestellt, ist die Streuintensität eines Teilchens eine Funktion der Molmasse der untersuchten Probe, der Konzentration und des Detektorresponsefaktors, so dass Gleichung 1 auch geschrieben werden kann als:

$$LS = RI \cdot M \cdot c \cdot \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \quad \text{Gleichung 4}$$

LS = gemessene Streuintensität (Excessstreuung), RI = Responsefaktor (Konzentrationsdetektor), M = Molmasse, c = Einwaagekonzentration, $(\delta n/\delta c)$ = spezifisches Brechungsindexinkrement des Polymeren in Lösung

Wie Gleichung 4 zeigt, ist die exakte Kenntnis des spezifischen Brechungsindexinkrements in Lösung für Lichtstreuuntersuchungen von großer Bedeutung, da diese Größe bei der Bestimmung der Molmasse quadratisch eingeht. Das spezifische Brechungsindexinkrement stellt hierbei keine universelle Konstante dar, sondern ist eine Funktion der Wellenlänge, der Temperatur und des verwendeten Lösungsmittels. Am nachfolgenden Beispiel soll die Bedeutung des spezifi-

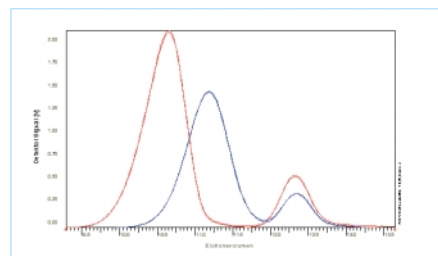


Abb. 1: rote Kurve: Polyacrylsäure Molmasse $M_w=2.000$ D, $0,007$ mol/l $NaNO_3$; Flussrate 1 ml/min; $c = 1,745$ g/l; blaue Kurve: Polyacrylsäure Molmasse $M_w = 2.000$ D, $0,1$ mol/l $NaNO_3$, Flussrate 1 ml/min; $c = 1,481$ g/l; jeweils $T = 22^\circ C$; Inj.vol. $100 \mu l$; RI-Detektor: PSS ScanRef 633 nm

schen Brechungsindexinkrements illustriert werden: Betrachtet man zwei Polymere mit gleichem Molekulargewicht $M_1 = M_2$ und $(\delta n/\delta c)_1 = 2(\delta n/\delta c)_2$ ergibt sich für die Excessstreuung der beiden Polymere aus Gleichung 4.

In Worten: Unterscheiden sich die spezifischen Brechungsindexinkremente zweier gleich großer Polymere bei gleicher Molmasse um einen Faktor zwei, so unterscheiden sich die resultierenden Streuintensitäten bei gleicher Molmasse um einen Faktor 4, d.h. je größer das spezifische Brechungsindexinkrement eines Polymeren ist, desto intensiver ist die resultierende Streustrahlung und desto kleiner sind die Molmassen die somit noch gemessen werden können. Polystyrol in THF hat bei 488 nm ein dn/dc von $0,2$ ml/g. Das dn/dc von Polymethylmethacrylat unter den gleichen Bedingungen beträgt nur $0,098$ ml/g.

Ein Polystyrol mit einer Molmasse von ca. 4.000 D besitzt die gleiche Streuintensität wie ein Polymethylmethacrylat mit ca. 16.000 D. Ist hingegen das spezifische Brechungsindexinkrement Null, so kann unabhängig von der Größe der zu untersuchenden Probe keine Excessstreuung gemessen werden.

Aus Gleichung 4 folgt außerdem, dass die quadratische Abhängigkeit des spezifischen Brechungsindexinkrements auch auf die Genauigkeit der Molmassenbestimmung einen großen Einfluss hat. In Tabelle 1 wird der Einfluss des Fehlers bei der Bestimmung des spez. Brechungsindexinkrements auf die Molmasse skizziert. Zusammenfassend lässt sich feststellen:

- Streuintensität steigt quadratisch mit dn/dc
- dn/dc geht quadratisch in die Molmassenbestimmung ein
- dn/dc muss über die gesamte Probe konstant sein
- Streuintensität für isorefraktive Teilchen ist Null

Das spezifische Brechungsindexinkrement für Polyelektrolyte

Im Rahmen dieser Arbeit wenden wir uns nun der Bestimmung der Brechungsindexinkremente von Polyelektrolyten in Salzlösung zu. Sollen Polyelektrolyte

Tab. 1: Einfluss des Fehlers bei der Bestimmung des spez. Brechungsindexinkrementes auf die Molmasse

dn/dc Unsicherheit	Molmassen Unsicherheit
± 2%	± 4%
± 5%	± 10%
± 7%	± 14,4%

mittels Lichtstreuung in wässriger Lösung untersucht werden, so geschieht dies in der Regel unter Fremdsalzzusatz. Das Fremdsalz dient dazu die intrinsischen Ladungen des Polyelektrolyten so abzuschirmen, dass der Polyelektrolyt in Lösung „ideal“ expandiert vorliegt und die Expansion nicht auf die Abstoßung der intrinsischen Ladungen zurückzuführen ist (ungestörte Dimension). Für den Fremdsalzzusatz lassen sich drei Grenzfälle unterscheiden [3]:

- 1) Anteil an Fremdsalz kleiner als die Ladungszahl des Polyelektrolyten
- 2) Fremdsalzanteil identisch mit der Polyelektrolytladung
- 3) Fremdsalzanteil viel größer als die Polyelektrolytladungen

Der erste Fall führt dazu, dass die Ladungen des Polyelektrolyten nicht vollständig abgeschirmt werden. Der Polyelektrolyt liegt in Lösung in gestreckter Form vor. Seine Dimension ist deutlich größer als die von vergleichbaren ungeladenen Teilchen. Im zweiten Fall ist der Polyelektrolyt „makroskopisch neutral“, d.h. alle Ladungen sind ideal abgeschirmt und das Polymer verhält sich wie ein neutrales Teilchen. Seine Dimension in Lösung entspricht der von ungeladenen Polymeren. Wird die Salzkonzentration weiter erhöht, verschlechtern sich die Lösungsmittelbedingungen für den Polyelektrolyten und seine Dimension in Lösung wird kleiner [3].

In Abbildung 1 werden zwei dieser Zustände illustriert. Die geringe Fremdsalzzugabe im Falle des NaN_3 führt dazu, dass einer Fremdsalzlading 2,5 Polyelektrolytladungen gegenüberstehen. Die Ladungen der Polyacrylsäuren sind somit nicht alle abgeschirmt, das Polymer liegt aufgrund der Repulsion der Ladungen gestreckt vor (Fall1). Im Fall der 0,1 m NaNO_3 Lösung stehen einer Polyelektrolytladung 12

Fremdsalzladingeinheiten gegenüber. Die Polyacrylsäure ist vollständig neutralisiert: Es findet keine Ladungsrepulsion statt. Die große Fremdsalzkonzentration führt zu verschlechterten Lösungsbedingungen, so dass die Polymerdimension in Lösung schrumpft (Fall 3). Das hydrodynamische Volumen der Polyacrylsäure sollte in der 0,007 m NaN_3 Lösung somit deutlich größer als in der 0,1 m NaNO_3 Lösung sein. Entsprechende GPC Messungen zeigen, dass sich die Peakmaxima um ca. 1,1 ml im Elutionsvolumen am Peakmaximum unterscheiden (Abb. 1). Dies läßt darauf schließen, dass die Polyacrylsäure in der 0,007m NaN_3 Lösung deutlich expandierter vorliegt als in der 0,1 m NaNO_3 Lösung, und steht somit im Einklang mit der Theorie [3].

Das Mikrokomponentensystem

Stellt der reine Polyelektrolyt in wässriger Lösung ein einfaches „Zwei-Komponentensystem“ dar, so ist die Polyelektrolytlösungen mit niedermolekularem Fremdsalzzusatz ein Multikomponentensystem aus schwer beweglichen Polyionen und relativ leicht beweglichen niedermolekularen Gegenionen. Aufgrund der großen Diffusionsunterschiede zwischen Polyelektrolyt und Fremdsalz, kann der diffusionsträge Polyelektrolyt in erster Näherung als semipermeable Wand betrachtet werden, durch die die niedermolekularen Fremdsalze diffundieren können.

Lichtstreuummessungen an Polyelektrolyten in diesen Multikomponentensystemen setzen die Kenntnis des spezifischen Brechungsindexinkrementes des Polyelektrolyten in der entsprechenden Salzlösung voraus. Die Bestimmung des dn/dc von Polyelektrolyten in Fremdsalzlösung gestaltet sich jedoch nicht so einfach. Aus der Literatur ist bekannt [4], dass die solvatisierte Polyelektrolythülle eine andere Fremdsalzzusammensetzung hat als die polymerfreie Salzlösung. Die Bestimmung des spezifischen Brechungsindexinkrementes einer nicht dialysierten Salzlösung entspricht somit nicht den wahren Bedingungen der Salzkonzentration um das polymere Streu-

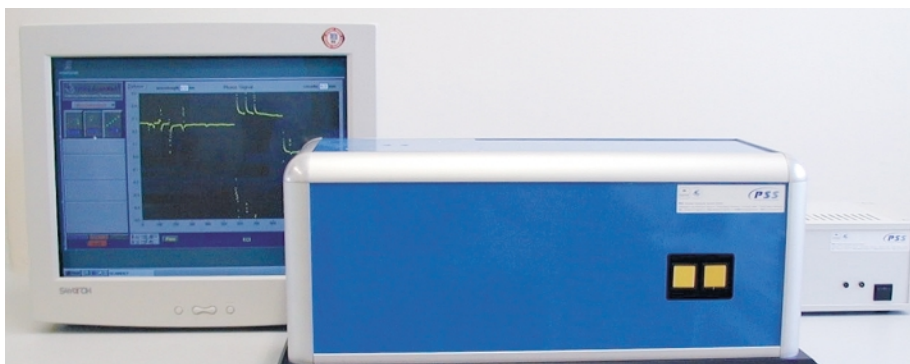


Abb.2 : PSS ScanRef-Detektor

zentrum. Preferentielle Solvatation führt dazu, dass sich um das Polyelektrolytzentrum eine andere, von der Umgebung unterschiedliche, Fremdsalzkonzentration einstellt [4]. Die zu untersuchenden Proben müssen daher dialysiert und dann das entsprechende spezifische Brechungsindexinkrement bestimmt werden.

Dialyse auf der GPC-Säule

Gibt man dem Polyelektrolyt – Fremdsalzsyste in Lösung jedoch genügend Zeit zu relaxieren und in einen Gleichgewichtszustand zu gelangen, so sollte es möglich sein, auch ohne externe Dialyse das entsprechende spezifische Brechungsindexinkrement zu bestimmen. Unter der Annahme das der Polyelektrolyt wie eine „starre semipermeable Wand“ betrachtet werden kann sollte sich während der Dif-

Tab. 2: Ergebnisse der dn/dc Messungen statisch und als Funktion der Flussrate

Bedingung		dn/dc [ml/g] in NaN ₃		dn/dc [ml/g] in NaNO ₃	
statisch (nicht dialysiert)		0,170 (100%)		0,161 (100%)	
Flussrate [ml/min]	Analysenzeit [min]				
1	12	0,160	-5,8%	0,156	-3,1%
0,5	24	0,156	-8,2%	0,146	-9,3%
0,2	60	0,149	-12,3%	0,141	-12,4%

fusion des Polyelektrolyten über eine GPC - Säule das o.g. Gleichgewicht einstellen können, indem die Fremdsalzmoleküle aus der Polyelektrolythülle in die freie Lösung herausdiffundieren [3].

Das spezifische Brechungsindexinkrement stellt somit eine Funktion der Verweilzeit des Polyelektrolyten in der Fremdsalzlösung auf der GPC-Säule dar. Das so gemessene spezifische Brechungsindexinkrement sollte sich letztendlich asymptotisch dem Wert einer dialysierten Probe nähern, je mehr Zeit der Polyelektrolyt hat den Gleichgewichtszustand zu erreichen. Dieser Sachverhalt soll an repräsentativen Messungen des spezifischen Brechungsindexinkrementes verdeutlicht werden.

Mit Hilfe des PSS ScanRef-Detektors (Abb. 2) können die spezifischen Brechungsindexinkremente sowohl on-line (GPC-mode) als auch off-line (batch-mode) ermittelt werden. Nachfolgend werden die Ergebnisse der on- und off-line Messungen von Polyacrylsäure unter Fremdsalzeinfluss dargestellt. Im on-line mode wurde das spezifische Brechungsindexinkrement einer Polyacrylsäure bei drei verschiedenen Flussraten und zwei unterschiedlichen Fremdsalzen mittels GPC gemessen. Die Retentionszeit der Polymere, d.h. die Verweildauer der Polyacrylsäure auf der

GPC-Säule wurde dabei zwischen 10 und ca. 60 Minuten variiert.

Experimentelle Bedingungen

- Probe: Polyacrylsäure von PSS; Molmasse $M_w = 2.000$ D; Fremdsalze: NaNO₃ und NaN₃
- on-line Messung: GPC Anlage: Agilent 1100'er Serie; Autosampler und Pumpe; Detektor: PSS ScanRef on/of-line dn/dc Detektor, 632,8 nm Fremdsalzkonzentrationen: NaNO₃ 0,1 mol/l und NaN₃ 0,007 mol/l; Flussraten 1 ml/min, 0,5 ml/min; 0,2 ml/min; Injektvolumen 100 µl; Säule: PSS Suprema 10 µm, 1.000 Å; 8x300 mm
- off line Messungen: 5 Konzentrationen; 0,5–9g/l
- Detektor: PSS ScanRef on/of-line dn/dc Detektor, 632,8 nm

Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt. Die spezifischen Brechungsindexinkremente, bestimmt aus statischen Messungen an nicht dialysierten Proben, liegen deutlich oberhalb derer, die im Durchfluss gemessen werden. Für die Durchflussmessungen ist eine Abhängigkeit der Brechungsindexinkremente von der Retentionszeit, also der Verweilzeit des Polyelektrolyten auf der GPC-Säule, erkennbar. Die in batch Messungen bestimmten Brechungsindexinkremente für Polyacrylsäuren können somit nicht einfach für entsprechende on-line Messungen (o. GPC-Lichtstreuungskopplungen) eingesetzt werden. Je länger die Retentionszeit des Polyelektrolyten gewählt wird, desto kleiner ist das in der Durchflusszelle gemessene dn/dc. Unter der Annahme der preferentiellen Solvatation des

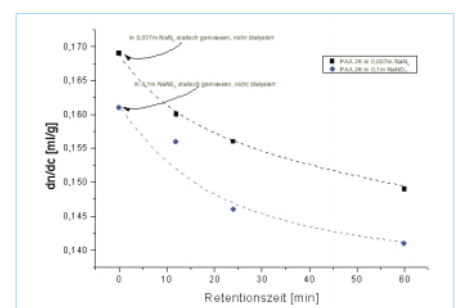


Abb.3: Abhängigkeit des dn/dc von PAA als Funktion der Retentionszeit

Fremdsalzes um und innerhalb der Polyelektrolythülle ist die Fremdsalzkonzentration am oder im Polyelektrolyt größer als in der umgebenden polymerfreien wässrigen Salzlösung. Diese preferentielle Solvation führt zu anderen optischen Eigenschaften des Polyelektrolyten.

Die Zusammensetzung der Polymerhülle und der polymerfreien Salzlösung im Unterschied zur Originallösung ist aber nicht bestimmbar [4]. Im bulk wird für dieses System immer nur ein mittleres spezifisches Brechungsindexinkrement gemessen, das aber nicht identisch ist mit dem Brechungsindexinkrement des solvatisierten Polyelektrolyten. Zwischen Polyelektrolyt und Salzlösung besteht innerhalb des chromatographischen Systems aufgrund der Konzentrationsdifferenz an Fremdsalz ein Potentialunterschied $\delta\mu$.

$$\delta\mu = \mu_{\text{Polyelektrolyt}} - \mu_{\text{freieSalzls}} \quad \text{Gleichung 5}$$

Betrachtet man nun diese Polyelektrolythülle in erster Näherung als semipermeable Wand, durch die die niedermolekularen Fremdsalzmoleküle hindurch diffundieren können, so erfolgt während der Wanderung des Polyelektrolyten über die Säule ein Potentialausgleich. Aus der Polymerhülle diffundieren niedermolekulare Fremdsalzmoleküle in die „polymerfreie“ Salzlösung. Das Polymer wird ständig von polymerfreier Salzlösung umspült, hierdurch wird ein unendliches Volumen an Salzlösung simuliert. Der durch den Potentialunterschied hervorgerufene osmotische Druck π führt zum Fremdsalzkonzentrationsausgleich zwischen Polyelektrolyt und freier Salzlösung, solange bis das System im osmotischen Gleichgewicht ist und die Potentialdifferenz $\delta\mu=0$ beträgt. Diese Potentialunterschiede können indirekt über die Bestimmung des dn/dc mit dem ScanRef gemessen werden.

Wie in Abbildung 3 zu sehen, nähert sich für beide eingesetzten Fremdsalze unabhängig von der vorgegebenen Salzkonzentration das dn/dc als Funktion der Verweildauer auf der GPC-Säule asymptotisch einem Grenzwert. Der Grenzwert sollte dem spezifischen Brechungsindexinkrement der entsprechenden dialysierten Salzlösung entsprechen. Unabhängig von der Ausgangssalzkonzentration nimmt das spezifische Brechungsindexinkrement bezogen auf den nicht dialysierten Wert um ca. 12 % ab. Wie in der Einleitung gezeigt, führt dies bei der Bestimmung der Molmasse zu Fehlern von 100% und mehr. Bei einer Retentionszeit von 60min scheint der Grenzwert fast erreicht. Brüssau et.al. [4] konnte zeigen, dass die spezifischen Brechungsindexinkremente nicht dialysierter Polyacrylsäuren unabhängig von Salzkonzentration

oder -art bei ca. 0,17–0,18 ml/g liegen. Im Fall der vollständigen Dialyse sind laut Brüssau et. al. die spezifischen Brechungsindexinkremente Salzart- und Konzentration abhängig und liegen zwischen 0,17 ml/g für 0,3 m NaF und 0,144 ml/g für 0,3 m NaJ, bzw. 0,159 ml/g für 0,3 m NaCl und 0,147 ml/g für 0,5 m NaCl.

Die Ergebnisse von Brüssau unterstützen die Befunde dieser Arbeit.

Fazit

Die Messung exakter spezifischer Brechungsindexinkremente ist von entscheidender Bedeutung für die Molmassenbestimmung von Polymeren insbesondere bei komplexen Systemen wie Copolymeren oder Polyelektrolyte mit Fremdsalzzusatz. In diesem Artikel konnte am Beispiel der Polyacrylsäuren gezeigt werden, dass mit Hilfe des PSS ScanRef, einem interferometrischen Refraktometers die spezifischen Brechungsindexinkremente dieser komplexen Systeme online und off line bestimmt werden können. Die online ermittelten spezifischen Brechungsindexinkremente nähern sich mit zunehmender Retentionszeit den dialysierten Werten an. Auf der GPC-Säule stellt sich ein Dialysegleichgewicht ein. Spezifische Brechungsindexinkremente z.B. aus batch Messungen mit nicht dialysierten Polyelektrolyten können in der Lichtstreuung zu Fehlern von weit über 100 % bei der Bestimmung der Molmasse führen. Die online Bestimmung des dn/dc führt zu exakten spezifischen Brechungsindexinkrementen. Diese bilden die Grundlage für die saubere Bestimmung der Molmassen von Polymeren. Auch der Einfluss der Salzkonzentration auf die Polymerknäufaufweitung bei Polyelektrolyten konnte gezeigt werden.

Literatur

- [1] Müller, A.: Polymer Charakterisierung, Hanser Verlag 1996
- [2] Huglin, M.B. (Ed): LS from Polymer Solutions; Part2
- [3] Dautzenberg, H.: Polyelectrolytes, Hanser Verlag 1994
- [4] Brüssau, R.: Tenside Surf. Det. 28 (1991) 6:396–496

Die Autoren

Dr. Thorsten Hofe, PSS GmbH Mainz
Postfach 3368, 55023 Mainz
Fax : 06131/96239-11
thofe@polymer.de, www.polymer.de

Dr. Herbert Königsmann,
Macromol Services & Consulting
Josef Traxel Weg 2, 55128 Mainz
hk@mm-sc.de