

## Dichtegradientenzentrifugierung synthetischer Hochpolymerer

Von HERBERT A. ENDE

Chemstrand Research Center, Inc., P. O. Box 731, Durham (North Carolina)

### 1. Einleitung

Seit Einführung der Ultrazentrifuge in den Jahren zwischen 1925 und 1927 durch THE SVEDBERG und Mitarbeiter<sup>1</sup> beschränkte sich deren Verwendung hauptsächlich auf die klassischen Sedimentationsgeschwindigkeits- und Sedimentationsgleichgewichtsmethoden. Die Sedimentationsgeschwindigkeitsmethode hat den Vorteil geringerer Versuchszeiten (1 bis 5 Stunden), erfordert aber für die Bestimmung des Molekulargewichtes die zusätzliche Bestimmung der Diffusionskonstanten in getrennter Apparatur. Die Bestimmung der Diffusionskonstanten bei Sedimentationsgleichgewichtsversuchen entfällt, aber die Versuchszeiten bei dieser Methode sind lang (bis zu drei Wochen). Dieser Nachteil wurde von VAN HOLDE und BALDWIN<sup>2</sup> in neuerer Zeit durch die Verwendung niedriger Flüssigkeitssäulen in der Zelle weitgehend behoben, wenn auch teilweise auf Kosten der Genauigkeit, so daß die Gleichgewichtsmethode wieder an Bedeutung gewinnt. Die Sedimentationsgeschwindigkeits- und Sedimentationsgleichgewichtsmethoden eigenen Vorteile sind vereint in der 1947 vorgeschlagenen «Archibald-Methode».<sup>3</sup> Dieses Verfahren beruht darauf, daß bei Annäherung an das Sedimentationsgleichgewicht am Meniskus und am Boden in der Zelle immer Gleichgewichtsbedingungen herrschen, so daß die Messung von Konzentration und Konzentrationsgradienten in diesen Bereichen das Molekulargewicht liefert.

Im Jahre 1957 veröffentlichten MESELSON, STAHL und VINOGRAD<sup>4</sup> eine Arbeit, in welcher sie eine neuartige Methode zur Untersuchung von natürlichen Hochpolymeren mit Hilfe der Ultrazentrifuge beschreiben. Bei dieser Methode wird innerhalb der Zentrifugierzelle mittels eines Lösungsmittels (Wasser) und eines Salzes (Cäsiumchlorid) ein Dichtegradient erzeugt, so daß die Salzlösung in Richtung des Radius in jedem Punkt der Zelle eine andere Dichte hat. Die Bedingungen werden so gewählt, daß sich das in der Salzlösung ge-

löste Polymere (Desoxyribonucleinsäure) in der Mitte der Zelle ansammelt und eine Bande bildet. Wie wir später sehen werden, kann man aus der Lage, der Konzentrationsverteilung, der Breite und der Form der Bande eine große Anzahl Informationen über die molekularen Parameter des gelösten Polymeren erhalten. Später haben BRESLER, PYRKOV und FRENKEL<sup>5</sup> und unabhängig BUCHDAHL, ENDE und PEEBLES<sup>6</sup> die Dichtegradientenmethode auch auf synthetische Polymere mit Erfolg angewandt. Wir wollen uns in diesem Artikel hauptsächlich mit der Anwendung der Dichtegradientenmethode auf synthetische Hochpolymere beschäftigen. Die Nützlichkeit der Methode für die Untersuchung von Biopolymeren ist in einigen Übersichtsartikeln ausführlich beschrieben<sup>7-9</sup>.

### 2. Qualitative Gesichtspunkte

Ein Dichtegradient läßt sich in einfachster Weise herstellen, indem man eine Anzahl von z. B. Salzlösungen unterschiedlicher Dichte in einem Standzylinder mit abnehmender Dichte übereinander aufschichtet. Es resultiert ein stufenartiger Dichtegradient, der sich durch Diffusion des niedrigmolekularen Salzes in die verdünnteren Schichten zu einem kontinuierlichen Gradienten ausglättet. Der Zylinder mit der Salzlösung ist die einfachste Form eines sogenannten Dichtegradientenrohres<sup>10</sup>. Die Schwerkraft sorgt für eine gewisse Stabilität des Gradienten; er wird aber mit zunehmender Zeit immer flacher, um schließlich nach relativ langer Zeit ( $t_{\infty}$ ) ganz zu verschwinden (Abb. 1). Bringt man einen Festkörper, dessen Dichte  $\rho_f$  zwischen  $\rho_0$  und  $\rho_n$  liegt, von oben in den Zylinder ein, so wird dieser in Richtung des Bereiches eigener Dichte sedimentieren; hätte man die Möglichkeit, den Körper von unten her in den Zylinder einzuführen, so würde dieser in Richtung des Bereiches

<sup>1</sup> THE SVEDBERG und K. O. PEDERSEN, *The Ultracentrifuge*, Reprint of Oxford at the Clarendon Press, 1940, by Johnson Reprint Corp., New York.

<sup>2</sup> K. E. VAN HOLDE und R. L. BALDWIN, *J. Physic. Chem.* 62 (1958) 734.

<sup>3</sup> W. J. ARCHIBALD, *J. Physic. Coll. Chem.* 51 (1947) 1204.

<sup>4</sup> M. MESELSON, F. W. STAHL und J. VINOGRAD, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 43 (1957) 581.

<sup>5</sup> S. E. BRESLER, L. M. PYRKOV und S. Y. FRENKEL, *Vysokomol. Soed.* 2 (1960) 216.

<sup>6</sup> R. BUCHDAHL, H. A. ENDE und L. H. PEEBLES, *J. Physic. Chem.* 65 (1961) 1468.

<sup>7</sup> C. DE DUVE, J. BERTHET und H. BEAUFY, *Progr. Biophys. Biophys. Chem.* 9 (1959) 325.

<sup>8</sup> J. VINOGRAD, in *Methods in Enzymology*, Band VI, S. P. COLOWICK und N. O. KAPLAN, Herausgeber, Academic Press, New York.

<sup>9</sup> J. VINOGRAD und E. HEARST, *Fortschr. chem. org. Naturstoffe* 20 (1962) 372.

<sup>10</sup> G. OSTER und M. YAMAMOTO, *Chem. Rev.* 63 (1963) 257.

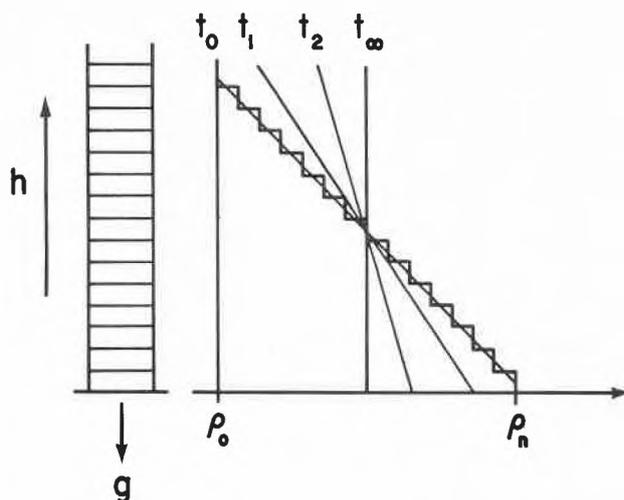


Abb. 1. Schematische Darstellung der Dichte in Abhängigkeit von Höhe  $h$  und Zeit  $t$  im Dichtegradientenrohr

eigener Dichte flotieren. Die Kraft  $K$ , die den Körper mit der Masse  $m$  in seine Gleichgewichtslage zwingt, ist gleich dem Produkt aus Masse und Erdbeschleunigung, vermindert um den Auftrieb, also

$$K = g m (1 - v_{sp} \rho_h), \quad (1)$$

worin  $v_{sp}$  = spezifisches Volumen des Festkörpers,  $\rho_h$  = Dichte der Lösung an der Stelle  $h$ . Für  $\rho_h < \rho_f$  ist  $K$  positiv, für  $\rho_h > \rho_f$  wird  $K$  negativ. Wenn  $\rho_h = \rho_f = 1/v_{sp}$ , dann ist  $K = 0$ , d. h. der Festkörper schwebt im Gleichgewicht. Das Dichtegradientenrohr kann zur Bestimmung von Dichten, zur Auftrennung von heterogenen Mischungen, zur Verfolgung von Reaktionen usw. verwendet werden.

Werden die zu untersuchenden Teilchen immer kleiner, dann reicht die Erdbeschleunigung wegen der ansteigenden Rückdiffusion nicht mehr aus, diese in ihre Gleichgewichtslage zu zwingen. Im molekularen Bereich, d. h. bei gelösten Polymeren, ist es daher notwendig, sehr hohe Beschleunigungskräfte anzuwenden, um die Polymermoleküle in ihrer Gleichgewichtsposition anzusammeln. Hohe Beschleunigungskräfte können mit Hilfe von Zentrifugen realisiert werden, und es ist mit den heutigen Ultrazentrifugen möglich, Zentrifugalbeschleunigungen bis zu 400 000  $g$  zu erzeugen. Die Verhältnisse in der (sektorförmigen) Zentrifugierzelle sind denen im Dichtegradientenrohr ähnlich. Sie werden noch dadurch vereinfacht, daß man von einer homogenen Lösung ausgehen kann, da bei den hohen Zentrifugalkräften schon das niedrigmolekulare «Additiv», d. h. das schwerere Salz, die Tendenz hat, in Richtung des Zellbodens zu sedimentieren. Ein «Aussedimentieren» wird verhindert durch die wegen des niedrigen Molekulargewichtes sofort einsetzende starke Rückdiffusion. Bei konstanter Geschwindigkeit bildet sich daher ein Gleichgewicht zwischen Sedimentation und Diffusion, so daß sich für die Dauer des Versuches ein konstanter Dichtegradient «automatisch» einstellt. Man kann zei-

gen, daß die Dichte des Lösungsmittel-Additiv-Gemisches in der Nähe der Zellmitte gleich der Dichte der Ausgangslösung vor der Zentrifugation ist. Hat man in der Ausgangslösung noch Polymeres gelöst, dessen Dichte in Lösung  $\rho_2^s$  (= scheinbare Dichte des Polymeren) gleich der Dichte dieser Lösung ist, so wird das Polymeres unter dem Einfluß der Zentrifugalkraft vom Boden her in Richtung der Zellmitte flotieren, während es vom Meniskus in diese Richtung sedimentiert.  $\rho_2^s$  ist die sogenannte Auftriebsdichte des Polymeren, die sich – wie wir später sehen werden – meist stark von der mittels statischer Methoden (Pyknometer, Differentialwaage) gemessenen Dichte unterscheidet.

Die Gleichgewichtslage in der Zelle ist, wie im Dichtegradientenrohr, die Stelle an der  $(1 - v_2^s \rho) = 0$  ist ( $v_2^s = 1/\rho_2^s$ ,  $\rho$  = Dichte der Lösung). Es ist leicht einzusehen, daß sich nicht das gesamte in der Lösung vorhandene Polymeres an genau dieser Stelle ansammelt, sondern daß es sich um diese Stelle herum mehr oder weniger symmetrisch verteilt. Das erklärt sich durch die Brownsche Bewegung der Polymermoleküle, die um so größer ist, je niedriger das Molekulargewicht des Polymeren ist. Wie später gezeigt wird, ist für monodisperse Polymere die Konzentrationsverteilung in der Zelle gaußisch, und die Standardabweichung (halbe Breite der Kurve an den Wendepunkten) ist der Quadratwurzel des Molekulargewichtes umgekehrt proportional.

Die heutzutage verwendeten quantitativen Ultrazentrifugen sind zur Beobachtung der Konzentrationsverteilung sowohl mit Interferenz als auch mit Philpot-Svensson-Optik (Schlierenoptik) ausgerüstet. Erstere ergibt ein  $n-r$ -, letztere ein  $dn/dr-r$ -Diagramm ( $n$  = Brechungsindex;  $r$  = Abstand von der Rotationsachse). Diagramme aus Dichtegradientenversuchen mit monodispersen Polymeren sind schematisch in Abb. 2a (Schlierenoptik) und 2b (Interferenzoptik) dargestellt. Für Schlierenoptik genügt oft eine Einfachsektorzelle, für Interferenzoptik verwendet man eine spezielle Doppelsektorzelle<sup>11</sup>. Verwendet man die Doppelsektorzelle auch bei Schlierenoptik, was manchmal von Vorteil ist, so erhält man noch die Basislinie (in Abb. 2a gestrichelt eingezeichnet).

Ein wesentlicher Vorteil der Dichtegradientenmethode, gegenüber den klassischen Verfahren und auch der Archibald-Methode, ist die Tatsache, daß sich das gesamte ursprünglich über die ganze Zelle verteilte Polymeres in einem begrenzten Bereich und in der Umgebung der Zellmitte ansammelt. Das vereinfacht einerseits die mathematische Auswertung der Konzentrationsverteilung, da diese Konzentration in Richtung Meniskus und Zellboden dem Wert Null zustrebt. Überdies konzentriert sich das vorher über die ganze Zelle verteilte Polymeres in einem engen Bereich in der Zellmitte, wodurch auch kleinste Mengen an Polymerem der Beobachtung bequem zugänglich sind. Konzentrationsbereiche, die vor-

<sup>11</sup> H. A. ENDE, *Makromol. Chem.* 78 (1964) 140.

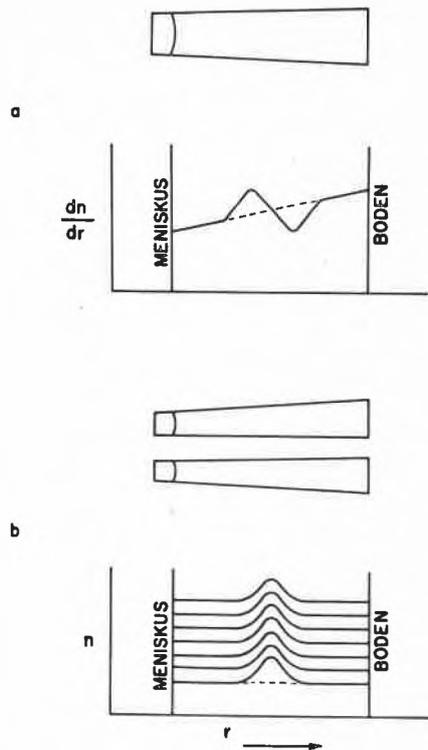


Abb. 2. Schematische Darstellung der Diagramme aus Dichtegradientenversuchen. a: Schlierendiagramm bei Verwendung von Philpot-Svensson-Optik. Diagramm mit Basislinie (gestrichelt eingezeichnet) erhält man bei Verwendung einer Doppelsektorzelle. b: Interferenzdiagramm bei Verwendung von Interferenzoptik

her mit den üblichen Methoden nur schwer oder überhaupt nicht faßbar waren, werden somit der Untersuchung zugänglich. Das gilt im besonderen auch für kleine Beimengungen von artverschiedenen Polymeren (z. B. Mikrogele) zur Hauptmasse des Polymeren.

Der Effekt der Konzentrationsanreicherung ist in Abb. 3 schematisch dargestellt. Die Abbildung zeigt den Verlauf eines Dichtegradientenversuches<sup>12</sup> bei vier verschiedenen Zeiten, mit Schlierenoptik (obere Kurven) und mit Inter-

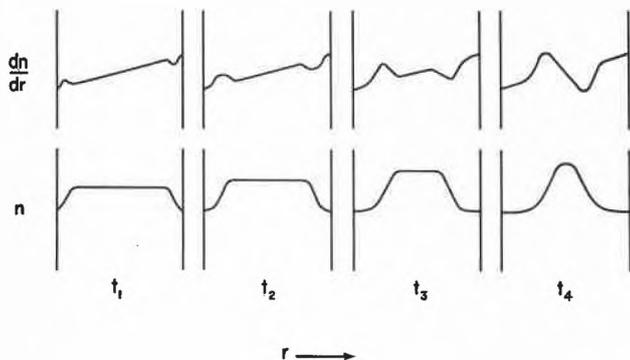


Abb. 3. Schematische Darstellung des Verlaufs eines Dichtegradientenversuchs in Abhängigkeit von der Zeit  $t$ . Obere Kurven zeigen Diagramme bei Verwendung von Philpot-Svensson-Optik. Die unteren Kurven sind (vereinfachte) Interferenzdiagramme des gleichen Versuchs

<sup>12</sup> R. BUCHDAHL, H. A. ENDE und L. H. PEEBLES, *J. Polymer Sci. C1* (1963) 143.

ferenzoptik (untere Kurven). Wir nehmen an, daß sich der Dichtegradient bei  $t_1$  schon vollständig ausgebildet hat, ab  $t_1$  also für die Dauer des Versuches konstant bleibt. Betrachten wir ein einzelnes Molekül in der Nähe des Meniskus, so wird seine Sedimentationsgeschwindigkeit immer geringer, je mehr es sich der Zellmitte nähert. Natürlich beginnen alle Moleküle im Bereich zwischen Zellmitte und Meniskus gleichzeitig zu sedimentieren, so daß jedes Molekül (Monodispersität vorausgesetzt) den Bereich der Bande in annähernd gleicher Zeitspanne erreicht. Die gleiche Interpretation gilt auch für die flotierenden Moleküle. Die den Sedimentationsgeschwindigkeitsversuchen analogen Grenzlinienkurven gehen bei Erreichen des Gleichgewichtes ( $t_4$ ) in eine Bande über. Während der Annäherung an das Gleichgewicht erhöht sich die Konzentration des Polymeren in jedem Punkt innerhalb des Bereiches zwischen der sedimentierenden und flotierenden Grenzlinienkurve um den gleichen Betrag. Den Effekt des Konzentrationsanstieges mit der Versuchsdauer ( $t_1, t_2, t_3$ ) ersieht man aus der Zunahme der Fläche unter der Grenzlinienkurve und dem Erhöhen des Plateauniveaus im Schlieren- und Interferenzdiagramm. Wenn die Polymerkonzentration sehr klein ist, sind wegen der Auflösungsgrenze der Optik die Grenzlinienkurven oft bis kurz vor Erreichung des Gleichgewichtes nicht sichtbar; in extremen Fällen macht sich das Vorhandensein von Polymerem nur durch das plötzliche Auftreten der Gleichgewichtsbande bemerkbar. Der Effekt der Konzentrationserhöhung ist um so größer, je höher das Molekulargewicht des Polymeren und die Umdrehungsgeschwindigkeit sind und je steiler der Dichtegradient ist.

Natürliche und synthetische Polymere kommen in verschiedenen Formen vor. *Monodisperse Homo-Polymer* (z. B. einige Proteine, Schwarz-Polymere [nahezu monodispers]) sind einheitlich in bezug auf Molekulargewicht und Zusammensetzung. Unter Zusammensetzung wollen wir den chemischen, strukturellen (Taktizität) und konformationellen (z. B. Helix, Knäuel) Aufbau des Polymeren verstehen. Verbreiteter sind die *polydispersen Homopolymere*, also Polymere mit einer merklichen Molekulargewichtsverteilung. Spezielle Fälle dieser Art Polymere sind die *pauci-monodispersen* und die *pauci-polydispersen Homopolymeren*. Diese Polymeren bestehen aus Mischungen von monodispersen oder polydispersen Homopolymeren. Natürlich findet man auch Mischungen von monodispersen mit polydispersen Homopolymeren (z. B. bei Proteinen). Kopolymere können sowohl im Molekulargewicht als auch in der Zusammensetzung monodispers oder polydispers sein. Man spricht von *monodispersen Kopolymeren mit einheitlicher Zusammensetzung* und *solchen mit diskontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung*, also von Kopolymeren, die einheitlich im Molekulargewicht sind und entweder einheitlich oder uneinheitlich in der Zusammensetzung sein können. Entsprechendes gilt für die *polydispersen Kopolymeren*.

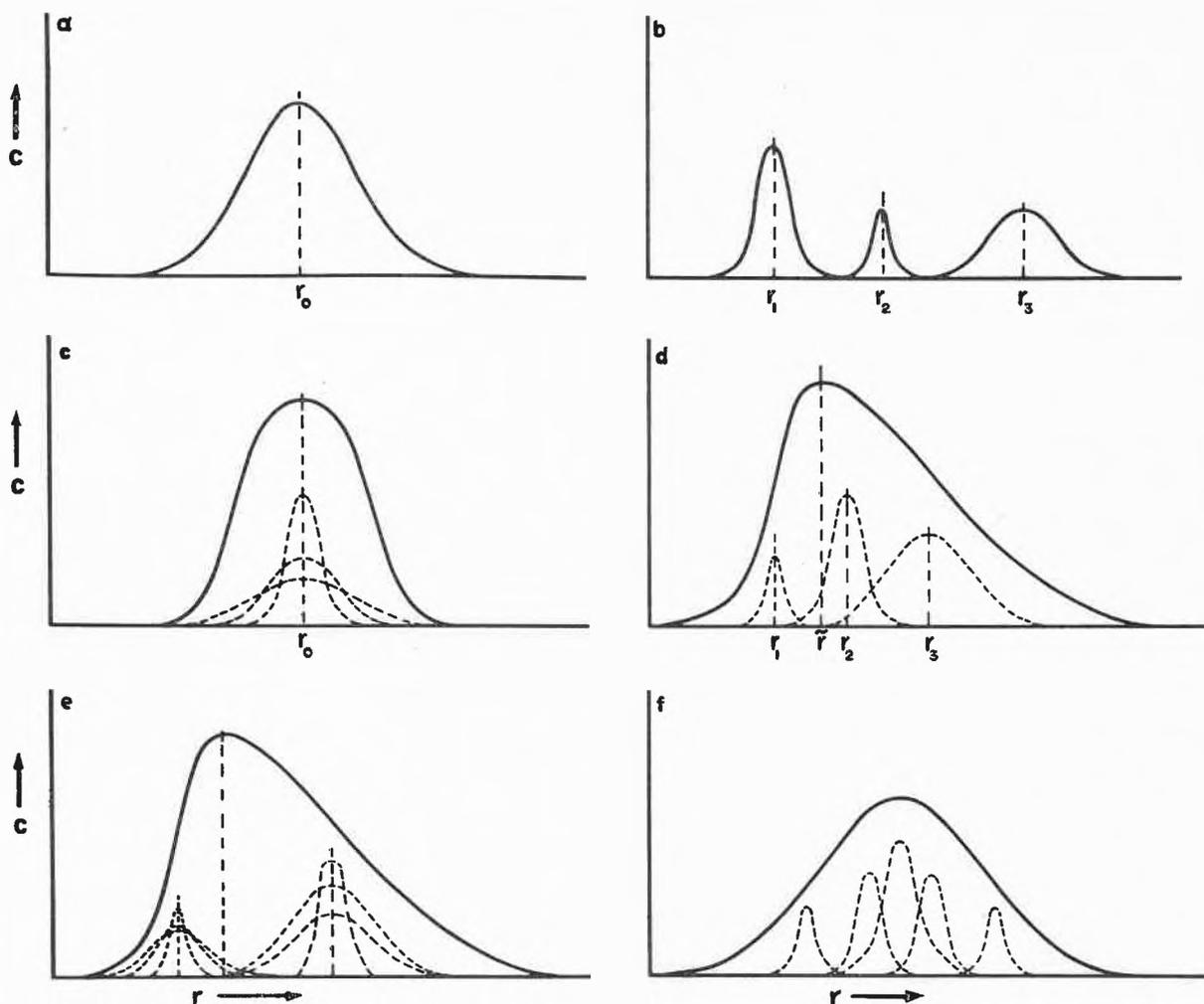


Abb. 4. Konzentrationsverteilung von Polymeren im Dichtegradienten. a: monodispers; b: pauci-disperse Zusammensetzungsverteilung; c: polydispers; d: monodispers mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung; e: polydispers mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung; f: Kopolymeres mit Gaußscher Zusammensetzungsverteilung

Es ist leicht, schon jetzt einige qualitative Aussagen über die Gestalt der Konzentrationsverteilungskurven im Dichtegradienten für einige typische Polymerarten zu machen. Abb. 4 zeigt schematisch für einige typische Polymere die Konzentrationsverteilung, wie man sie mittels Interferenzoptik beobachtet. Wie bereits erwähnt, ist die Konzentrationsverteilung eines monodispersen Homopolymeren gaußisch (Abb. 4a). Bei polydispersen Homopolymeren setzt sich die Konzentrationsverteilung aus der Überlagerung vieler solcher Gaußschen Kurven zusammen. Jede dieser Gaußschen Kurven hat ihr Konzentrationsmaximum an der gleichen Stelle  $r_0$ , da die Dichte jeder Fraktion (wenigstens von einem bestimmten Molekulargewicht an) gleich ist. Die Summe der einzelnen Gauß-Kurven ergibt eine symmetrische Kurve, die keine Gauß-Kurve mehr ist (Abb. 4c). Bei Mischungen von Polymeren, deren Dichten sich voneinander unterscheiden (z. B. taktische Polymere, Kopolymere, die sich diskret in ihrer Zusammensetzung unterscheiden usw.), erhält man mehrere Kurven nebeneinander in Positionen  $r_1, r_2, r_3$  usw., deren Maxima um so

weiter voneinander entfernt sind, je mehr sich die Dichten voneinander unterscheiden (Abb. 4b; einfachheitshalber wurde angenommen, daß es sich um Mischungen von monodispersen Polymeren ohne Zusammensetzungsverteilung handelt). Monodisperse Kopolymere mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung setzen sich aus einer Vielzahl von Gauß-Kurven zusammen, deren Maxima sich an den Positionen  $r_1, r_2, r_3, \dots, r_n$  befinden, die der Verteilungsfunktion der Zusammensetzung entsprechen (Abb. 4d). Ähnlich sind die Verhältnisse bei polydispersen Kopolymeren mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung (Abb. 4e). Kopolymere mit unsymmetrischer Zusammensetzungsverteilung ergeben unsymmetrische Konzentrationsverteilung. Wie BALDWIN<sup>13</sup> zeigte, erhält man eine Gaußsche Konzentrationsverteilung, wenn die Zusammensetzungsverteilung gaußisch ist (Abb. 4f). Diese Beispiele mögen genügen, um zu demonstrieren, daß schon die Art der Konzentrationsverteilung im Dichtegradienten wertvolle qualitative

<sup>13</sup> R. L. BALDWIN, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 45 (1959) 939.

Informationen über das untersuchte Polymere liefert. Die in diesem Artikel gezeigten Diagramme sind Schlierendiagramme, die mit Philpot-Svensson-Optik aufgenommen wurden, und stellen den Brechungsindexgradienten  $dn/dr$  dar, der dem Konzentrationsgradienten  $dc/dr$  proportional ist. Die in Abb. 4 dargestellten Diagramme mit kontinuierlichem Kurvenzug zeigen im Schlierendiagramm ein Maximum und ein Minimum; das Maximum des  $c-r$ -Diagrammes verläuft im  $dc/dr-r$ -Diagramm durch den Nullpunkt.

### 3. Quantitative Beziehungen

Es würde über den Rahmen dieses Artikels hinausgehen, wollte man ausführlich auf die Theorie der Dichtegradientenzentrifugierung eingehen. In diesem Abschnitt sind daher nur quantitative Beziehungen angegeben, die das Ergebnis theoretischer Überlegungen sind. Die detaillierten Ableitungen dieser Beziehungen sind in der zitierten Originalliteratur zu finden.

#### a) Der Dichtegradient

Der sich in der Zelle bei gegebener Rotationsgeschwindigkeit einstellende Dichtegradient resultiert aus dem Gleichgewicht zwischen Sedimentation und Rückdiffusion des «Additiven» (Komponente 1) im Lösungsmittel (Komponente 0). Als Additiv eignen sich für wasserlösliche Polymere schwere Salze, wie z. B. Cäsiumchlorid, Lithiumbromid usw., für wasserunlösliche Polymere schwere organische Lösungsmittel, wie z. B. Bromoform. Die Konzentrationsverteilung des Additiven in der Zelle läßt sich unter der Annahme, daß es sich bei der Mischung aus Komponenten 0 und 1 um eine sogenannte perfekte Lösung handelt, nach Gl. (2) berechnen<sup>14, 15</sup>:

$$\Phi_1/\Phi_0 = \alpha e^{\beta r^2} \quad (2)$$

mit

$$\alpha = \frac{\exp[\beta(b^2 - a^2)\Phi_1^0] - 1}{\exp[\beta b^2] - \exp[\beta b^2\Phi_1^0 + \beta a^2\Phi_0^0]} \quad (3)$$

und

$$\beta = \omega^2 (M_1/\rho_1) (\rho_1 - \rho_0)/2RT. \quad (4)$$

$\Phi_1$  und  $\Phi_0$  sind die Volumenbrüche des Additivs und des Lösungsmittels im Abstand  $r$  vom Rotationszentrum. Die Konstante  $\alpha$  gilt für sektorförmige Zellen. Ferner sind

$a$  = Abstand des Meniskus vom Rotationszentrum

$b$  = Abstand des Zellbodens vom Rotationszentrum

$\Phi_0^0$  = Volumenbruch des Lösungsmittels vor der Zentrifugierung

$\Phi_1^0$  = Volumenbruch des Additivs vor der Zentrifugierung

$\omega$  = Winkelgeschwindigkeit des Rotors

$M_1$  = Molekulargewicht des Additivs

$\rho_1$  = Dichte des Additivs

$\rho_0$  = Dichte des Lösungsmittels

$R$  = Gaskonstante

$T$  = Absolute Temperatur

Ersetzt man  $\Phi_0$  durch  $\Phi_1$  über die Beziehung  $\Phi_0 + \Phi_1 = 1$ , so erhält man durch Differentiation von Gl. (2)

$$d\Phi_1/dr = 2\beta r \Phi_0 \Phi_1 \quad (5)$$

und

$$d\rho/dr = 2\beta r \Phi_0 \Phi_1 (\rho_1 - \rho_0), \quad (6)$$

da

$$\rho = \Phi_0 \rho_0 + \Phi_1 \rho_1 \quad (7)$$

und

$$d\rho/d\Phi_1 = \rho_1 - \rho_0. \quad (8)$$

Wegen der eingangs gemachten Annahme (perfekte Lösung) gestatten Gleichungen (2) und (6) nur eine ungefähre Abschätzung von Dichte und Dichtegradient. Für genauere Bestimmungen von Dichte und Dichtegradienten ist die Kenntnis der gesamten Thermodynamik der Mischung erforderlich, d. h. die Aktivitätskoeffizienten, Kompressibilität usw. müssen bekannt sein<sup>16, 17</sup>. WALES<sup>18</sup> verwendet inerte Markierungssubstanzen von bekannter Dichte (z. B. Wasser, D<sub>2</sub>O, Anilin-Hydrochlorid) zur Eichung der absoluten Dichteverteilung in der Zelle.

#### b) Monodisperse Polymere

MESELSON, STAHL und VINOGRAD<sup>4</sup> zeigten, daß die Konzentrationsverteilung monodisperser Polymere im Dichtegradienten gaußisch ist:

$$\Phi_2(x) = \Phi_2^0 (\lambda M_2/\pi)^{1/2} e^{-\lambda M_2 x^2}. \quad (9)$$

$\Phi_2^0$  ist das Produkt von Polymerenkonzentration vor Zentrifugierung und Zellvolumen.

$$x = r - r_0 \quad (10)$$

und

$$\lambda = (\omega^2 r_0/2RT) (d\rho/dr)_{r=r_0} v_2^s. \quad (11)$$

Abb. 5a stellt den Konzentrationsverlauf nach Gl. (9) dar; in Abb. 5b ist  $d\Phi(x)/dx$  gegen  $x$  aufgetragen, d. h.

$$\Phi'(x) = -2\lambda M_2 x \Phi_2^0 (\lambda M_2/\pi)^{1/2} e^{-\lambda M_2 x^2}. \quad (12)$$

Setzt man die zweite Ableitung von Gl. (9) gleich Null, so findet man die schon von MESELSON, STAHL und VINOGRAD<sup>4</sup> aufgestellte Gleichung für die Bestimmung von  $M_2$  monodisperser Polymere:

$$M_2 = 1/2\lambda\sigma^2 \quad (\sigma = \text{Standardabweichung}). \quad (13)$$

An dieser Stelle ist es angebracht, das sogenannte scheinbare partielle spezifische Volumen  $\bar{v}_2^s$  näher zu er-

<sup>14</sup> S. Y. FRENKEL, J. MARCHAL, M. JACOB und L. PYRKOV, *J. Chim. Physique* 59 (1962) 332.

<sup>15</sup> J. J. HERMANS und H. A. ENDE, *J. Polymer Sci. C1* (1963) 161.

<sup>16</sup> R. TRAUTMAN, *Arch. Biochem. Biophys.* 87 (1960) 289.

<sup>17</sup> J. B. IFFT, D. H. VOET und J. VINOGRAD, *J. Physic. Chem.* 65 (1961) 1138.

<sup>18</sup> M. WALES, *J. Appl. Polymer Sci.* 7 (1963) 203.

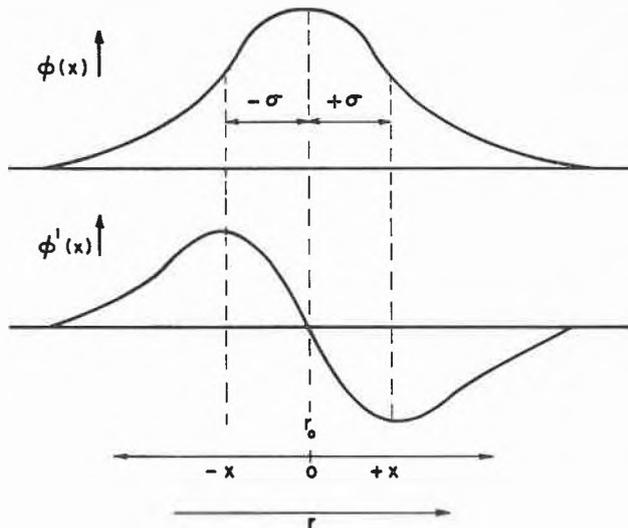


Abb. 5. Konzentrationsverteilung  $\Phi(x)$  und Konzentrationsgradientenverteilung  $\Phi'(x)$ . Die Wendepunkte in  $\Phi(x)$  bilden Maximum und Minimum im Schlierendiagramm. Die Standardabweichung  $\sigma$  ist ein Maß für das Molekulargewicht monodisperser Polymerer. Bei polydispersen Homopolymeren ist  $\sigma$  ein Maß für den Durchschnittswert  $\langle M \rangle_{\sigma}^g$  [siehe Gl. (32)]. Unter Annahme einer Schulz-Verteilung ist dieser Durchschnittswert gleich dem z-Mittel  $\bar{M}_z$

klären. Es ist gleich dem reziproken Wert der «Auftriebsdichte»  $\rho_b$  des Polymeren. Diese unterscheidet sich meist erheblich von der durch statische Methoden (Pykometer, Differentialwaage) gemessenen Polymerendichte in Lösung. Der Unterschied erklärt sich durch die bevorzugte Adsorption einer der beiden Mischungskomponenten an das Polymere. Man denke sich den Lösungsvorgang des Polymeren in zwei Stufen: Fügt man Polymeres zu einem bestimmten Volumen des Lösungsmittel-Additiv-Gemisches, so wird sich das Gesamtvolumen der Lösung um einen Betrag ändern, der von der Menge und der Dichte des Polymeren abhängt. Im zweiten Schritt erfolgt die präferentielle Adsorption einer der beiden Mischungskomponenten unter nur geringfügiger Volumenveränderung der Lösung. Bei den statischen Methoden wird die Polymerendichte aus den Dichten von Gesamtlösung und Lösungsmittel-Additiv-Gemisch bestimmt. Die Dichte der Gesamtlösung ist (praktisch) vom Grad der präferentiellen Adsorption unabhängig. Die Auftriebsdichte des Polymeren dagegen hängt direkt vom Grad der präferentiellen Adsorption ab, da sie die mittlere Dichte von Polymerem und adsorbierten Komponenten darstellt. Quantitativ läßt sich die Beziehung zwischen Auftriebsdichte und präferentieller Adsorption durch Gl. (14) beschreiben<sup>4, 15</sup>:

$$1/\rho_b = \bar{v}_2^e = \bar{v}_2[1 + (\gamma_2/\rho^0)(1 - \bar{v}_1\rho^0)]. \quad (14)$$

$$\gamma_2 = \frac{1}{\bar{v}_2} \frac{M_1}{M_2} \frac{(\partial\mu_2/\partial\Phi_1)^0}{(\partial\mu_1/\partial\Phi_1)^0}. \quad (15)$$

$\gamma_2$  ist der sogenannte Lösungsparameter und ist ein Maß für die Menge der am Polymeren adsorbierten Komponenten 0 und 1. Ferner sind:

- $\bar{v}_2$  = partielles spezifisches Volumen des Polymeren
- $\bar{v}_1$  = partielles spezifisches Volumen der Komponente 1
- $\rho^0$  = Dichte des Lösungsmittel-Additiv-Gemisches
- $\mu_1$  = chemisches Potential der Komponente 1
- $\mu_2$  = chemisches Potential des Polymeren
- <sup>0</sup> bedeutet: extrapoliert nach Polymerisationskonzentration Null

Der ungefähre Wert für  $1/\rho_b$  kann durch Dichtegradientenversuche,  $\bar{v}_2$  durch eine statische Dichtemethode bestimmt werden. Die Kombination der beiden Methoden macht daher die Bestimmung von  $\gamma_2$  möglich. Nach JACOB, DAYANTIS und BENOIT<sup>19</sup> kann  $\gamma_2$  auch in sehr eleganter Weise durch Sedimentationsgeschwindigkeitsversuche bestimmt werden.

Da  $\lambda$  das scheinbare spezifische Volumen  $\bar{v}_2^s$  enthält, mißt  $\sigma$  das Volumen  $\bar{v}_2^s M_2$  des solvatisierten Polymeren. Gl. (13) liefert daher das Molekulargewicht des unsolvatisierten Polymeren, wenn  $\lambda$  bekannt ist<sup>20</sup>. Für praktische Zwecke muß  $\sigma$  nach unendlicher Verdünnung extrapoliert werden (siehe auch Abschnitt 3c).

### c) Polydisperse Homopolymere

Bei der Zentrifugierung von polydispersen Homopolymeren im Dichtegradienten werden eine Unzahl von Fraktionen eine Unzahl von Banden formen, wobei die Konzentrationsverteilung jeder einzelnen Bande durch Gl. (13) bestimmt ist. Da man die Dichte der Homopolymeren von einem relativ niedrigen Molekulargewicht an als konstant betrachten kann, befindet sich die maximale Konzentration jeder Bande an identischer Position im Dichtegradienten. Durch Überlagerung einer Unzahl dieser Banden mit Molekulargewicht  $M + dM$  und der Anfangskonzentration  $f(M)dM$  resultiert eine symmetrische, aber nicht mehr gaußische Bande (Abb. 6). Der Konzentrationsverlauf der Bande für polydisperse Homopolymere läßt sich aus Gl. (9) leicht ableiten, indem man  $\Phi_2$  durch den Anteil jeder einzelnen Fraktion  $f(M)dM$  ersetzt und in den Grenzen  $M = 0$  und  $M = \infty$  integriert.

$$\Phi(x) = (\lambda/\pi)^{1/2} \int_0^{\infty} f(M) M^{1/2} e^{-\lambda M x^2} dM. \quad (16)$$

Aus Abb. 6 ist schon qualitativ ersichtlich, daß die Molekulargewichtsverteilung die Gestalt der Gesamtkurve bestimmt. Hat das Polymere z. B. einen großen Anteil an niedrigmolekularen Fraktionen, so hat die Kurve eine breite Basis. Quantitativ geht der Einfluß der Molekulargewichtsverteilung aus Gl. (16) hervor, und prinzipiell sollte es möglich sein,  $f(M)$  aus  $\Phi(x)$  durch Laplace-Transformation dieser Gleichung zu bestimmen.

<sup>19</sup> M. JACOB, J. DAYANTIS und H. BENOIT, *J. Chim. Physique* 62 (1965) 73.

<sup>20</sup> J. J. HERMANS und H. A. ENDE, *Density Gradient Centrifugation, in Newer Methods of Polymer Characterization*, Editor: BACON KE; Interscience Publishers, New York 1964, S. 525.

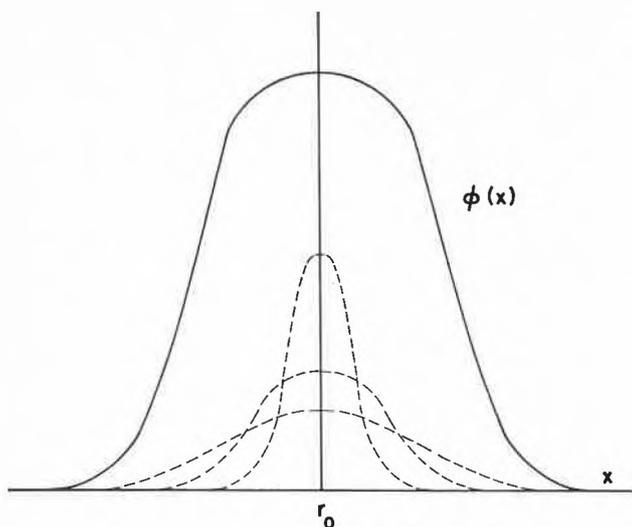


Abb. 6. Konzentrationsverteilung  $\Phi(x)$  polydisperser Homopolymerer im Dichtegradienten. Sie setzt sich aus der Überlagerung von Gauß-Kurven der einzelnen Fraktionen zusammen. Das Maximum aller Gauß-Kurven liegt bei  $r_0$

Erfahrungsgemäß muß dazu  $\Phi(x)$  in allen Punkten der Kurve, besonders an deren Basis, äußerst genau bekannt sein, was jedoch kaum realisierbar ist. Man kann aber Beziehungen aufstellen, die es gestatten, aus Momenten der Konzentrations- oder Konzentrationsgradientenverteilung Momente der Molekulargewichtsverteilung und damit verschiedene Molekulargewichtsdurchschnittswerte zu bestimmen<sup>4, 15</sup>:

$$A_s = \int_0^\infty f(M) M^s dM. \quad (17)$$

$$\langle M \rangle_s = \frac{A_s}{A_{s-1}}, \quad (18)$$

z. B.

$$\langle M \rangle_0 = M_n = \frac{\int_0^\infty f(M) dM}{\int_0^\infty \frac{f(M)}{M} dM}. \quad (19)$$

$$\langle M \rangle_1 = \bar{M}_w = \frac{\int_0^\infty f(M) M dM}{\int_0^\infty f(M) dM}. \quad (20)$$

$$\langle M \rangle_{3/2} = \frac{\int_0^\infty f(M) M^{3/2} dM}{\int_0^\infty f(M) M^{1/2} dM}. \quad (21)$$

Für Schlierenoptik erhält man aus verschiedenen Momenten von  $\Phi'(x)$  z. B.

$$A_{-1} = - (2\lambda/3) \int_{-\infty}^\infty \Phi'(x) x^3 dx. \quad (22)$$

$$A_0 = - \int_{-\infty}^\infty \Phi'(x) x dx. \quad (23)$$

$$A_1 = - (1/2\lambda) \int_{-\infty}^\infty \Phi'(x) \frac{dx}{x}. \quad (24)$$

$$A_{-1/2} = - \lambda \int_0^\infty \Phi'(x) x^2 dx. \quad (25)$$

$$A_{1/2} = - \int_0^\infty \Phi'(x) dx. \quad (26)$$

$$A_{3/2} = - (1/2\lambda) \left[ \frac{\Phi'(x)}{x} \right]_{x=0}. \quad (27)$$

Zur Elimination der Konstanten  $\lambda$  ist es zweckmäßig, die Breite der Molekulargewichtsverteilung durch die Quotienten zweier Molekulargewichtsdurchschnittswerte auszudrücken, z. B.  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ ,  $\langle M \rangle_{3/2}/\bar{M}_w$ ,  $\bar{M}_w/\langle M \rangle_{1/2}$  usw.  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  wird wohl am häufigsten als Maß für die Breite der Molekulargewichtsverteilung verwendet, da  $\bar{M}_w$  und  $\bar{M}_n$  durch klassische Methoden (z. B. Lichtstreuung für  $\bar{M}_w$ , Osmose für  $\bar{M}_n$ ) bestimmbar sind. Quotienten mit ungewohnten Durchschnittswerten können in  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  umgerechnet werden, wenn man für  $f(M)$  in Gleichungen (19), (20) und (21) einen für das Polymere geeigneten Verteilungstyp annimmt. Für viele Polymere scheint z. B. die Schulz-Verteilung<sup>21</sup> brauchbar zu sein:

$$f(M) = a M^k e^{-KM}, \quad (28)$$

wobei  $a$ ,  $k$  und  $K$  für eine gegebene Molekulargewichtsverteilung Konstanten sind. Unter diesen Bedingungen erhält man z. B.

$$\bar{M}_w/\bar{M}_n = \frac{1}{3 - (2\langle M \rangle_{3/2}/\bar{M}_w)}. \quad (29)$$

$$\bar{M}_w/\bar{M}_n = \frac{1}{2(\langle M \rangle_{1/2}/\bar{M}_w - 1)}. \quad (30)$$

$$\bar{M}_w/\bar{M}_n = \frac{1 + (\langle M \rangle_{1/2}/\langle M \rangle_{3/2})}{3(\langle M \rangle_{1/2}/\langle M \rangle_{3/2}) - 1}. \quad (31)$$

Vorläufige Versuche  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  durch Dichtegradientenexperimente auf der Grundlage der Gleichungen (22) bis (27) zu bestimmen<sup>15, 22</sup>, schienen erst dann erfolgreich zu sein, wenn diese unter sogenannten *theta*-Bedingungen durchgeführt wurden. Jedoch zeigte es sich später, daß die Gleichungen (22), (25) und (27) um so unbrauchbarer werden, je breiter die Molekulargewichtsverteilung des betreffenden Polymeren ist. Je breiter die Verteilung, desto schwieriger wird es, die niedrigmolekularen Fraktionen in der Bande zu akkumulieren, wodurch besonders deren Basis verfälscht wird, auf die besonders Gleichungen (22) und (25) empfindlich ansprechen. Erfahrungsgemäß ist auch die Extrapolation der  $\Phi'(x)/x$ -Werte nach  $x = 0$  nicht sehr

<sup>21</sup> G. V. SCHULZ, Z. physik. Chem. (B) 30 (1935) 379.

<sup>22</sup> H. A. ENDE und J. J. HERMANS, J. Colloid Sci. 17 (1962) 601.

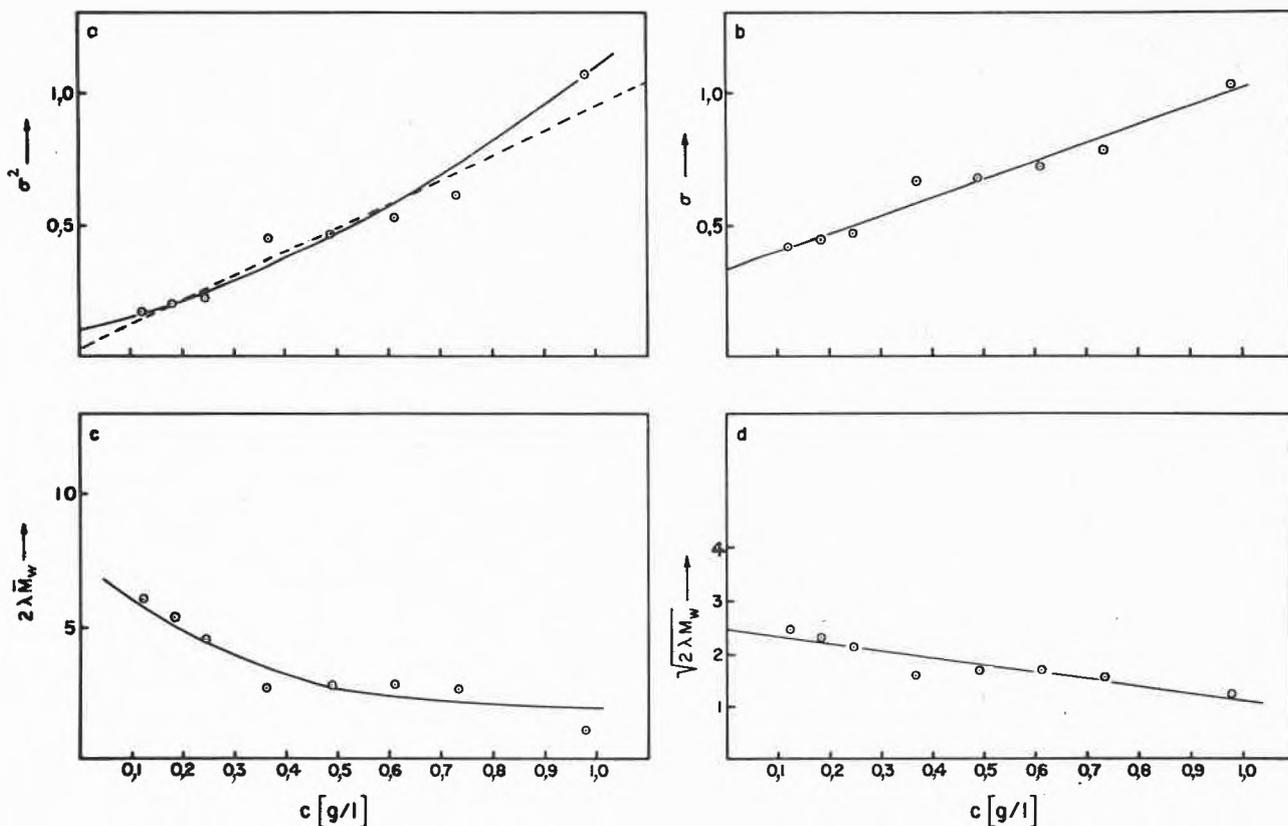


Abb. 7. Konzentrationsabhängigkeit von  $\sigma^2$ ,  $\sigma$ ,  $2\lambda\bar{M}_w$  und  $\sqrt{2\lambda\bar{M}_w}$  eines taktischen Polystyrols in gutem Lösungsmittelgemisch (Benzol-Bromoform). Auftragungen von  $\sigma$  und  $\sqrt{2\lambda\bar{M}_w}$  gegen  $c$  sind linear

exakt durchführbar, so daß Gl. (27) zu fehlerhaften Werten für  $\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma}$  führt. ENDE<sup>23</sup> konnte zeigen, daß die erwarteten  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ -Werte erhalten werden, wenn man  $\sigma$  (= halber Abstand zwischen den Umkehrpunkten der  $\Phi(x) - x$ -Kurve) mit  $\bar{M}_w$  kombiniert. Man findet<sup>23,24</sup>, daß  $\sigma$  einen etwas ungewöhnlichen Durchschnittswert für das Molekulargewicht ergibt, nämlich

$$\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma} = \frac{\int_0^{\infty} f(M) M^{6/2} e^{-\lambda M \sigma^2} dM}{\int_0^{\infty} f(M) M^{3/2} e^{-\lambda M \sigma^2} dM} \quad (32)$$

Nimmt man jedoch für  $f(M)$  wiederum Schulz-Verteilung an [Gl. (28)], so ergibt sich, daß  $\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma}$  mit dem  $z$ -Mittel des Molekulargewichtes  $\bar{M}_z$  identisch ist.  $\bar{M}_z$  ist relativ unempfindlich gegen Verluste niedermolekularer Anteile in der Bande; das gilt auch für die Momente, aus denen  $\bar{M}_w$  berechnet wird. Aus dem Verhältnis von  $\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma}$  zu  $\bar{M}_w$  errechnet sich dann  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  nach

$$\bar{M}_w/\bar{M}_n = \frac{1}{2 - (\bar{M}_w/\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma})} \quad (33)$$

Selbstverständlich kann auch das Verhältnis  $\langle M \rangle_{\sigma/2}^{\sigma}/\bar{M}_w$  als Maß für die Breite der Molekulargewichtsverteilung verwendet werden. Dieser Quotient kann mit etwa 10-prozentiger Genauigkeit bestimmt werden und ist völlig unabhängig von willkürlichen Annahmen für den Typ der Verteilung. Alle hier aufgeführten Gleichungen gelten nur für ideale Bedingungen, d. h. unter Vernachlässigung von Polymer-Polymer-Wechselwirkungen. Deshalb müssen in der Praxis die gemessenen scheinbaren Molekulargewichte  $M^s$  noch nach unendlicher Verdünnung extrapoliert werden. Theoretische Überlegungen<sup>15,22</sup> führen für  $\bar{M}_w$  und  $\bar{M}_n$  zu

$$\bar{M}_w^s = \bar{M}_w (1 - B_w c) \quad (34)$$

und

$$\frac{1}{\bar{M}_n^s} = \frac{1}{\bar{M}_n} (1 + B_n c), \quad (35)$$

d. h. linearer Abhängigkeit der scheinbaren Molekulargewichte von der Konzentration, wenn die Versuche unter  $\theta$ -Bedingungen durchgeführt werden. In guten Lösungsmitteln empfiehlt JACOB<sup>25</sup> die Auftragung von  $1/\sqrt{M}$  gegen  $c$ . Die theoretischen Überlegungen JACOBS beziehen sich allerdings nur auf monodisperse Polymere, und eine allgemeine Theorie für die Extrapolation aller

<sup>23</sup> H. A. ENDE, *Polymer Letters* 3 (1965) 139.

<sup>24</sup> J. DAYANTIS und H. BENOIT, *J. Chim. Physique* 61 (1964) 773.

<sup>25</sup> M. JACOB, *C. R. Acad. Sci.* 258 (1964) 5866.

möglichen Durchschnittswerte in guten und schlechten Lösungsmitteln steht noch aus. Abb. 7a und b illustrieren den Vorteil einer Auftragung von  $\sqrt{M}$  bzw.  $1/\sqrt{M}$  gegen  $c$  gegenüber einer solchen von  $M$  bzw.  $1/M$  gegen  $c$ .<sup>26</sup> Abb. 7a zeigt Auftragung von  $\sigma^2$  gegen  $c$  für isotaktisches Polystyrol in gutem Lösungsmittelgemisch (Benzol-Bromoform). Die experimentellen Werte lassen sich besser durch eine Kurve (ausgezogene Kurve) als durch eine Gerade (gestrichelt) darstellen. Auftragung von  $\sigma$  gegen  $c$  ist offenbar vorteilhafter (Abb. 7b). Die Situation ist ähnlich für die Konzentrationsabhängigkeit von  $\bar{M}_w$  (Abb. 7c und d). Dagegen lassen sich Molekulargewichte, die durch Messungen in *theta*-Lösungsmitteln bestimmt werden, direkt gegen  $c$  auftragen, wie das am Beispiel eines durch Emulsionspolymerisation hergestellten Polystyrols in Abb. 8a und b demonstriert ist.<sup>26</sup> Das Cyclohexan-Tetrachlorkohlenstoff-Gemisch ist in der verwendeten Zusammensetzung ein *theta*-Lösungsmittel für Polystyrol<sup>15, 22</sup>. Vergleich von Abb. 7a und 8a zeigt, daß die Konzentrationsabhängigkeit bei Verwendung von *theta*-Lösungsmitteln wesentlich geringer ist.

Das Maß der Konzentrationsabhängigkeit scheint außerdem vom Grad der Polydispersität abzuhängen<sup>26</sup>. Für ein anionisch polymerisiertes Polystyrol, untersucht in Cyclohexan-Tetrachlorkohlenstoff, waren die schein-

baren Molekulargewichte fast unabhängig von der Konzentration<sup>26</sup> (Abb. 9a und b).

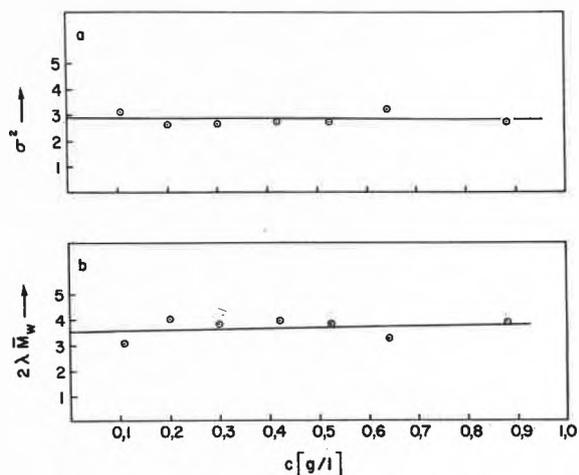


Abb. 9. Die Konzentrationsabhängigkeit eines einheitlichen Polystyrols (anionische Polymerisation)

Nach Gl. (33) erhaltene Werte von  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  für verschiedene Polystyrole in guten und schlechten Lösungsmitteln sind zusammen mit den nach Gleichungen (22) bis (24) erhaltenen in Tabelle 1 gegenübergestellt<sup>23</sup>.

Tabelle 1

Polystyrol-Probe	Art des Lösungsmittels	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$ nach Gl. (33)	erwarteter Wert	nach Gleichungen (22) bis (24)	Bemerkungen
UPAC-Probe S 111	<i>theta</i> -Lösungsmittel	1,00	1,06	0,91	
Merz-Fraktion # 16	Gutes Lösungsmittel	1,38	1,2 bis 1,5	0,86	
Anionisches Polystyrol	Gutes Lösungsmittel	1,34	1,30	0,85	
Stereo-reguläres Polystyrol	Gutes Lösungsmittel	2,67	Nicht sicher, aber wahrscheinlich hoch	0,99	Kurven nicht symmetrisch
Emulsions-Polystyrol	<i>theta</i> -Lösungsmittel	2,12	2,10 bis 2,53	1,04	Kurven nicht symmetrisch

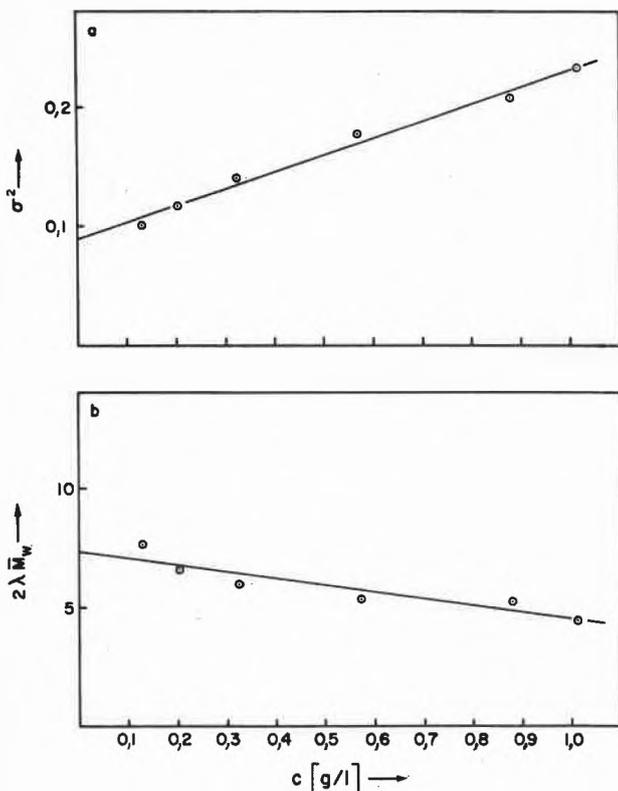


Abb. 8. Lineare Abhängigkeit von  $\sigma^2$  und  $2\lambda\bar{M}_w$  von  $c$  eines Polystyrols (durch Emulsionspolymerisation hergestellt) in «schlechtem» Lösungsmittelgemisch (Cyclohexanol-Tetrachlorkohlenstoff; ist bei 8°C *theta*-Lösungsmittel)

<sup>26</sup> H. A. ENDE, Makromol. Chem., im Druck.

Man sieht, daß die nach Gl. (33) bestimmten  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ -Werte gut mit den durch unabhängige Methoden (Lichtstreuung, Osmose) bestimmten übereinstimmen. Es wäre wünschenswert, wenn zukünftige Versuche auf breiterer Basis die in Tabelle 1 angeführten Ergebnisse für gute Lösungsmittel weiter untermauern würden. Die Suche nach geeigneten *theta*-Lösungsmitteln für Dichtegradientenversuche ist manchmal schwierig, hauptsächlich

lich wegen der nicht vorausberechenbaren präferentiellen Adsorption. Die Zentrifugierbedingungen für Gemische aus guten Lösungsmitteln können für fast jedes Polymere mit wenigen Versuchen festgelegt werden. Wegen der starken und oft nicht linearen Konzentrationsabhängigkeit der Molekulargewichte in guten Lösungsmitteln ist Extrapolation nach unendlicher Verdünnung allerdings unsicherer als bei Verwendung von *theta*-Lösungsmitteln. Es ist zu wünschen, daß bei fortschreitender Entwicklung von Theorie und Experimentiertechnik dieser Nachteil behoben wird.

#### d) Kopolymere

##### a) Kopolymere mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung

Synthetische Kopolymere, d.h. Polymere, die aus zwei Monomereinheiten synthetisiert werden, sind oft nicht einheitlich in der Zusammensetzung. Aus theoretischen Überlegungen ist leicht abzuleiten<sup>27</sup>, daß mit zunehmendem Umsatz bei der Polymerisation die Uneinheitlichkeit der Zusammensetzung wächst. Natürlich findet man neben der Zusammensetzungsverteilung auch noch die den synthetischen Polymeren eigene Molekulargewichtsverteilung. Die Dichte  $\rho_k$  der Komponente  $k$  wird im allgemeinen eine Funktion der Zusammensetzung sein, da sich die Dichten der Monomereinheiten meist voneinander unterscheiden. Im Dichtegradienten hat daher jede Komponente ihre eigene Maximumlage  $r_k$ , um die herum sich die Fraktionen gleicher Zusammensetzung, aber verschiedenen Molekulargewichtes ansammeln (Abb.10). Bei kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung wird die Polymerbande ein Maximum bei  $\bar{r}$  haben, der man zweckmäßig eine mittlere Auftriebsdichte  $\bar{\rho}_b = 1/v_2^s$  zuordnet. Die Gestalt der Kurve ist sowohl von der Zusammensetzungsverteilung als auch von der Molekulargewichtsverteilung abhängig; die Symmetrie jedoch ist von der Zusammensetzungsverteilung allein abhängig. Im allgemeinen sind die Zusammensetzungsverteilungen von Kopolymeren nicht-

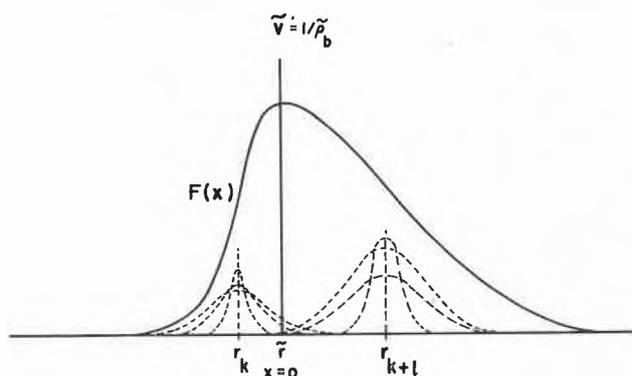


Abb. 10. Konzentrationsverteilung eines polydispersen Kopolymeren mit kontinuierlicher Zusammensetzungsverteilung

<sup>27</sup> L. KÜCHLER, *Polymerisationskinetik*, Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1951.

gaußisch, so daß die Konzentrationsverteilung oft unsymmetrisch ist. HERMANS<sup>28, 29</sup> hat eine allgemeingültige Gleichung für die Konzentrationsverteilung von Kopolymeren aufgestellt, die diese als Funktion von  $x$  in Abhängigkeit einer Funktion von Molekulargewicht und Zusammensetzung  $f(M, \varepsilon)$  beschreibt:

$$F(x) = (\lambda/\pi)^{1/2} \int_0^\infty dM \int_{-\infty}^\infty d\varepsilon M^{1/2} s(\varepsilon) f(M, \varepsilon) \exp[-\lambda M(x - (\varepsilon/b))^2]. \quad (36)$$

Hierin sind

$$x = r - \bar{r}, \quad (37)$$

$$\varepsilon = \rho_b - \bar{\rho}_b \quad (38)$$

und

$$b = (d\rho/dr)_{\bar{r}}. \quad (39)$$

Die Funktion  $s(\varepsilon)$  beschreibt die Abhängigkeit des Brechungsindex von der Zusammensetzung. Diese kann im Prinzip getrennt mittels Refraktometer gemessen werden. HERMANS zeigte, daß aus der meßbaren Funktion  $F(x)$  bzw. deren Ableitung  $-dF/dx = g(x)$  beträchtliche Informationen über  $f(M, \varepsilon)$  erhalten werden können. Setzen wir in Gl. (36) für  $\lambda M = P$ , für  $\varepsilon/b = w$  und für  $s(\varepsilon)f(M, \varepsilon) = h(P, w)$ , so wird

$$F(x) = \pi^{-1/2} \frac{b}{\lambda} \int_0^\infty dP \int_{-\infty}^\infty dw h(P, w) P^{1/2} e^{-P(x-w)^2}. \quad (40)$$

Integration von  $F(x)$  in den Grenzen  $x = -\infty$  bis  $x = +\infty$  ergibt

$$\int_{-\infty}^\infty F(x) dx = \frac{b}{\lambda} \int_0^\infty dP \int_{-\infty}^\infty dw h(P, w). \quad (41)$$

Definiert man nun den Durchschnittswert einer Funktion  $\varphi(P, w)$  entsprechend Gl. (42)

$$\langle \varphi \rangle = \frac{\int_0^\infty dP \int_{-\infty}^\infty dw h(P, w) \varphi(P, w)}{\int_0^\infty dP \int_{-\infty}^\infty dw h(P, w)}, \quad (42)$$

so lassen sich aus Gl. (41) eine ganze Anzahl Durchschnittswerte ableiten und in Beziehung zu geeigneten Momenten von  $F(x)$  bringen<sup>29</sup>. Für die Bestimmung von Momenten aus  $F(x)$  werden meist Interferenz- oder Absorptionsoptiken verwendet. Bei Anwendung von Schlierenoptik mißt man  $-F'(x) = g(x)$  statt  $F(x)$ . Aus Gl. (40) erhält man

$$g(x) = \pi^{-1/2} \frac{b}{\lambda} \int_0^\infty dP \int_{-\infty}^\infty dw h(P, w) 2P^{3/2} (x-w) e^{-P(x-w)^2}. \quad (43)$$

<sup>28</sup> J. J. HERMANS, *J. Polymer Sci. C1* (1963) 179.

<sup>29</sup> J. J. HERMANS, *J. Chem. Physics* 38 (1963) 597.

Es ist sinnvoll, die Durchschnittswerte für  $P$  noch weiter zu reduzieren<sup>29</sup>, so daß sie sich nur auf die Abweichung  $P_0 m$  eines Mittelwertes  $P_0$  beziehen, d. h.

$$P = P_0 + m P_0, \quad (44)$$

mit der Bedingung, daß  $\langle m \rangle = 0$  und daher  $\langle P \rangle = P_0$ .  $P_0$  ist, etwa dem Gewichtsmittel gleich, und kann daher durch unabhängige Messung bestimmt werden. Es läßt sich leicht zeigen, daß unter Annahme einer Schulz-Verteilung, Gl. (28), die in Tabelle 2 aufgeführten Werte für  $\langle m^2 \rangle$  erhalten werden.

Tabelle 2

$\bar{M}_w / \bar{M}_n$	$\langle m^2 \rangle$
3	0,67
2	0,50
1,5	0,33
1,33	0,25
1,25	0,20

Aus Gleichungen (42) und (43) lassen sich eine ganze Anzahl von Gleichungen ableiten, die Momente von  $g(x)$  in Beziehung zu fünf Parametern, nämlich  $P_0$ ,  $\langle w \rangle$ ,  $\langle mw \rangle$ ,  $\langle m^2 \rangle$  und  $\langle w^2 \rangle$  setzen (unter Vernachlässigung aller Parameter mit höheren Potenzen), z. B.

$$\int_0^{\infty} g(x) dx = \pi^{-1/2} P_0^{1/2} \left( 1 - \frac{1}{8} \langle m^2 \rangle \right) - \pi^{-1/2} P_0^{3/2} \langle w^2 \rangle, \quad (45)$$

$$\int_0^{\infty} x g(x) dx = \frac{1}{2} + \pi^{-1/2} P_0^{1/2} \left( \langle w \rangle + \frac{1}{2} \langle mw \rangle \right), \quad (46)$$

$$\int_0^{\infty} x^2 g(x) dx = \pi^{-1/2} P_0^{-1/2} \left( 1 - \frac{3}{8} \langle m^2 \rangle \right) + \langle w \rangle + \pi^{-1/2} P_0^{1/2} \langle w^2 \rangle, \quad (47)$$

$$\int_0^{\infty} x^3 g(x) dx = \frac{3}{4} P_0^{-1} + 3 \pi^{-1/2} P_0^{-1/2} \left( \langle w \rangle - \frac{1}{2} \langle mw \rangle \right) + \frac{3}{2} \langle w^2 \rangle. \quad (48)$$

HERMANS und ENDE<sup>30,31</sup> demonstrierten die Anwendbarkeit der soeben beschriebenen Methode mit der Analyse eines Jodstyrol-Styrol-Kopolymeren. Die Wahl dieses Kopolymeren als Modells substanz war insofern günstig, als der Dichteunterschied zwischen den Monomereinheiten (Styrol und Jodstyrol) beträchtlich ist und sich das Kopolymere durch polymeranaloge Umsetzung quantitativ und ohne Abbau in Polystyrol umwandeln läßt<sup>32,33</sup>. Der große Dichteunterschied bewirkt, daß schon bei relativ kleinen Schwankungen in der Zusammensetzungsverteilung der Verlauf der Konzentrationsverteilung in der Zelle unsymmetrisch und damit gut

meßbar wird. Die polymeranaloge Umsetzung des Kopolymeren in Polystyrol erleichtert die Bestimmung von  $\bar{M}_w$  und damit  $P_0$ .

Abb.11 zeigt das Schlierendiagramm des untersuchten Jodstyrol-Styrol-Kopolymeren (24,15 Gew.-% Jod; Umsatz 64%). Es unterscheidet sich deutlich von dem mit niedrigem Umsatz (11,4%) hergestellten Kopolymeren mit gleichem Jodgehalt (24,04%) (Abb.12). Dia-

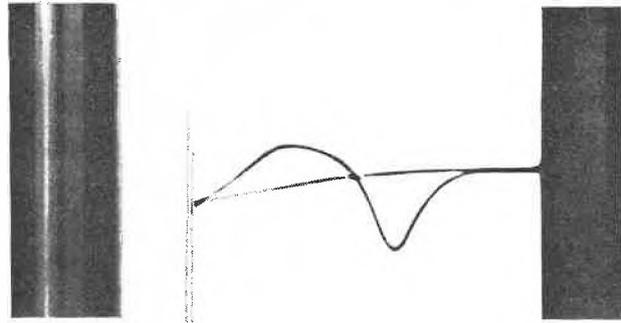


Abb. 11. Schlierendiagramm eines Jodstyrol-Styrol-Kopolymeren. Etwa 24 Gew.-% Jod, Umsatz etwa 65%

gramme, wie das in Abb.11 gezeigte, wurden für mehrere Polymerkonzentrationen erhalten. 16 Momente von  $g(x)$  lieferten insgesamt 16 Gleichungen (durch Integration von  $x = -\infty$  bis 0 und  $x = 0$  bis  $+\infty$ ) für die Bestimmung von  $\langle w \rangle$ ,  $\langle mw \rangle$ ,  $\langle m^2 \rangle$  und  $\langle w^2 \rangle$ . Die Standardabweichung  $\Delta^2 = \langle w^2 \rangle - \langle w \rangle^2$  ist dann ein Maß für die Schwankung des Jodgehaltes in der Zusammensetzungsverteilung, die man bei geeigneter Eichung mit Polymeren bekannter und in sich einheitlicher Zusammensetzung in die Standardabweichung  $\langle (p - \bar{p})^2 \rangle$  ( $p$  und  $\bar{p}$  in Gew.-% Jod) umrechnen kann. Der für das besprochene Beispiel gefundene Wert von 1,0% für  $\sqrt{\langle (p - \bar{p})^2 \rangle}$  stimmte bemerkenswert gut mit dem Wert überein, der aus der bekannten, aus kinetischen Überlegungen abgeleiteten Kopolymergleichung<sup>27</sup> bestimmt wurde (1,2% unter der Annahme, daß  $r_1 = 0,62$  und  $r_2 = 1,25$ ).

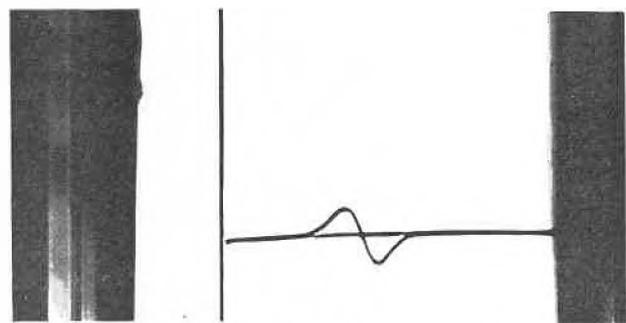


Abb. 12. Schlierendiagramm eines Jodstyrol-Styrol-Kopolymeren. Etwa 24 Gew.-% Jod, Umsatz etwa 11%

<sup>30</sup> J. J. HERMANS und H. A. ENDE, *J. Polymer Sci. C4* (1963) 519.

<sup>31</sup> H. A. ENDE und J. J. HERMANS, *J. Polymer Sci. A2* (1964) 4053.

<sup>32</sup> D. BRAUN, *Makromol. Chem.* 30 (1959) 85.

<sup>33</sup> D. BRAUN, TAE-OAN AHN und W. KERN, *Makromol. Chem.* 53 (1962) 154.

### β) Pfpopf-Kopolymere und Mischungen von Kopolymeren mit Homopolymeren

Die Dichtegradientenmethode erwies sich für die Untersuchung von Pfpopf- und Kopolymerisaten<sup>5, 34, 35</sup> sehr geeignet. Diese enthalten häufig noch variierende Mengen an Homopolymeren bzw. Substrate, die oft nur sehr schwer vom Kopolymeren trennbar sind. Dieser Umstand macht daher die Charakterisierung von Kopolymeren mit konventionellen Methoden (Elementaranalyse usw.) oft mühselig, wenn nicht unmöglich. Dagegen lassen sich die Polymergemische im Dichtegradienten fast immer auftrennen. Auch wenn die «statischen» Dichten der Homopolymeren annähernd gleich sind, wird sich immer ein geeignetes Lösungsmittel-Additiv-Gemisch finden, welches die Auftrennung des Polymerengemisches aufgrund des Unterschiedes in der Auftriebsdichte ermöglicht. Durch Vergleich der Bandenpositionen des unbekanntes Polymerengemisches mit den bekannten Bandendispositionen der Homopolymere läßt sich die Zusammensetzung des Gemisches qualitativ und quantitativ bestimmen. Die Zusammensetzung  $x$  (in Gew.-%) des echten Kopolymeren läßt sich aus dessen Bandenposition  $r_{AB}$  und denen der Homopolymeren  $r_A$  und  $r_B$  bestimmen, indem man mit Hilfe der Gleichungen (2) und (7) (unter der Annahme, daß die Dichte des Lösungsmittel-Additiv-Gemisches an der Position  $r$  gleich der Dichte des Polymeren ist) zunächst die Dichten  $\varrho_A$ ,  $\varrho_B$  und  $\varrho_{AB}$  ermittelt. Aus diesen erhält man den Volumenbruch

$$\Phi_A = \frac{\varrho_{AB} - \varrho_B}{\varrho_A - \varrho_B} \quad (49)$$

und daraus den Gehalt an  $A$  ( $c_A = \Phi_A \varrho_A$  in g/cm<sup>3</sup>); hieraus folgt, daß

$$x = \frac{100 c_A}{\varrho_{AB}} \quad (50)$$

### γ) Taktische Polymere

Ataktische Polymere können auch als Kopolymere aufgefaßt werden, die aus syn- und isotaktischen Monomereinheiten aufgebaut sind. Die entsprechenden Homopolymeren sind dann die rein syndiotaktischen und die rein isotaktischen Formen. Wenn diese sich in ihren Auftriebsdichten im Dichtegradienten genügend voneinander unterscheiden, dann ist die Bestimmung des Taktizitätsgrades möglich. Die Zuordnung der Taktizität der Homopolymeren muß allerdings durch eine unabhängige Methode erfolgen. Pyknometrisch gemessene Dichteunterschiede zwischen taktischen Polymeren sind zuerst von KRIGBAUM, CARPENTER und NEWMAN an ataktischem und stereoregulärem Polystyrol veröffentlicht worden<sup>36</sup>. Später zeigten BUCHDAHL, ENDE und PEE-

BLES<sup>37</sup>, daß sich diese beiden Polymeren im Dichtegradienten eindeutig trennen lassen. Weitere Dichtegradientenversuche an taktischen Polymeren sind seither jedoch nicht bekanntgeworden.

### 4. Polymere mit Mikrogelen

Mikrogele in Polymeren können durch Lichtstreuung, Phasenmikroskopie, Filtration, Elektronenmikroskopie und Zentrifugierung nachgewiesen werden. Die Bestimmung der relativen Menge der Mikrogele sowie dessen Charakterisierung sind allerdings bei diesen Methoden begrenzt. Die Dichtegradientenmethode eignet sich jedoch besonders für die Analyse und den Nachweis von Mikrogelen, auch wenn diese in kleinsten Mengen vorliegen. Durch diese Methode konnten BUCHDAHL, ENDE und PEEBLES<sup>38</sup> in einem Acrylnitril-Vinylacetat-Kopolymer Mikrogel nachweisen, das aus zwei Fraktionen mit Molekulargewichten von etwa  $75 \cdot 10^6$  und  $25 \cdot 10^6$  besteht. Die Hauptmasse des linearen Polymeren hatte ein Molekulargewicht von nur 500 000.

### 5. Schlußwort

In den vorangehenden Abschnitten wurde die Vielfältigkeit der Dichtegradientenmethode aufgezeigt. Für die Charakterisierung von Polymeren gibt es wohl kaum eine in sich geschlossene Methode, die gleichzeitig auf so viele Probleme angewendet werden kann wie die Dichtegradientenmethode. Die Flexibilität in der Wahl der Lösungsmittel-Additiv-Gemische sowie der Umdrehungsgeschwindigkeit des Rotors macht die Untersuchung von Polymeren in einem breiten Molekulargewichtsbereich möglich. Molekulargewichte von Mikrogelen in der Größenordnung von hundert Millionen können ebenso leicht abgeschätzt werden wie solche von niedrigmolekularen Polymeren mit Molekulargewichten von wenigen tausend. Die Form der Polymerbande reflektiert sowohl die Molekulargewichtsverteilung als auch die Zusammensetzungsverteilung. Daher ist es möglich, aus Momenten der Konzentrationsverteilung oder der Konzentrationsgradientenverteilung von Homopolymeren Durchschnittswerte des Molekulargewichtes und von Kopolymeren Durchschnittswerte der Zusammensetzung zu bestimmen. Die Ermittlung zweier solcher Molekulargewichtsdurchschnittswerte, z. B. als Verhältnis von  $\langle M \rangle_{\varrho}^2 / \overline{M}_w$ , gibt Einblick in die Breite der Molekulargewichtsverteilung. Als besonders nützlich erwies sich die Dichtegradientenmethode für die Untersuchung von Produkten aus Kopolymerisationsprozessen. Sie vermag eindeutig zu entscheiden, ob echte Kopolymere tatsächlich gebildet wurden und ob neben dem Kopolymeren noch die entsprechenden Homopolymeren vorliegen. Darüber hinaus kann auch die Zusammenset-

<sup>34</sup> S. E. BRESLER, L. M. PYKROV und S. YA. FRENKEL, *Vysokomol. Soed.* 5 (1963) 1315.

<sup>35</sup> H. A. ENDE und V. STANNETT, *J. Polymer Sci. A2* (1964) 4047.

<sup>36</sup> W. R. KRIGBAUM, D. K. CARPENTER und S. NEWMAN, *J. Physic. Chem.* 62 (1958) 1586.

<sup>37</sup> R. BUCHDAHL, H. A. ENDE und L. H. PEEBLES, *J. Polymer Sci. C1* (1963) 153.

<sup>38</sup> R. BUCHDAHL, H. A. ENDE und L. H. PEEBLES, *J. Polymer Sci. C1* (1963) 143.

zung des Kopolymeren mit annehmbarer Genauigkeit bestimmt werden. Wenn auch die Nützlichkeit der Methode unbestreitbar ist, so dürfen jedoch auch einige ihrer Nachteile nicht unerwähnt bleiben. Einer davon ist sicher die relativ lange Einstellzeit für die Erreichung des Gleichgewichtes. Auch in günstigen Fällen (niedrige Viskosität der Lösung) wird man wohl immer wenigstens mit 24 Stunden rechnen müssen. Die Verwendung von Mehrlochrotoren, die es gestatten, bis zu sechs Zellen gleichzeitig zu zentrifugieren, macht sich daher oft bezahlt. Weitere Möglichkeiten, die unvermeidbaren lan-

gen Zentrifugierzeiten besser auszunutzen, liegen in der Verwendung von Mehrsektorzellen. Ein anderer Nachteil liegt in den relativ hohen Unterhaltungskosten einer für Dichtegradientenversuche verwendeten Ultrazentrifuge. Zwar scheinen die Getriebe bei gleichförmiger Benutzung wesentlich geringere Abnutzung zu zeigen, trotzdem ist ein Austausch nach etwa dreitausend Stunden (etwa vier Monate) Laufdauer unvermeidbar.

Der Verfasser dankt «Interscience Publishers», New York, für die freundliche Genehmigung, einige Abbildungen aus der Originalliteratur wiedergeben zu dürfen.