

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236792**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426566**

(22) Data zgłoszenia: **06.08.2018**

(51) Int.Cl.

G01N 11/06 (2006.01)

G01N 9/36 (2006.01)

G01N 15/02 (2006.01)

(54) **Sposób wyznaczania masy molowej polielektrolitów liniowych, zwłaszcza polilizyny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

10.02.2020 BUP 04/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.02.2021 WUP 04/21

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT KATALIZY I FIZYKOCHEMII
POWIERZCHNI IM. JERZEGO HABERA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Kraków, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ZBIGNIEW ADAMCZYK, Kraków, PL
MARIA MORGA, Tarnów, PL
DOMINIK KOSIOR, Tarnów, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Andrzej Stachowski

PL 236792 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wyznaczania masy molowej polielektrolitów liniowych, zwłaszcza polilizyny (PLL), oparty na pomiarze lepkości ich roztworów w rozpuszczalnikach polarnych,

Polielektrolity (bardziej poprawny termin makrojon) są substancjami polimerycznymi powszechnie stosowanymi w badaniach naukowych oraz licznych procesach przemysłowych ze względu na swoje unikatowe właściwości fizykochemiczne.

Dzięki doskonałej rozpuszczalności w wodzie, polielektrolity są powszechnie dodawane jako flokulanty lub środki stabilizujące w zawiesinach koloidalnych, we flotacji, w procesach uzdatniania wody, w przemyśle papierniczym w procesach trzeciorzędowego odzyskiwania olejów (*ang.* enhanced oil recovery), jako substancje żelujące w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym, itp.¹⁻³

Szeroki zakres zastosowań polielektrolitów jest również związany z ich zdolnością do adsorpcji na różnych powierzchniach, która jest wykorzystywana do przygotowania powłok przeciwpowrostowych i antyadhezyjnych, zapobiegających adsorpcji grzybów, bakterii i białek na powierzchniach stałych.^{4,5} W innych procesach, polielektrolity są wykorzystywane do wytwarzania powierzchni adhezyjnych na substratach stałych, zdolnych do immobilizacji, separacji i selektywnej adsorpcji białek i enzymów.

Polielektrolity są również wykorzystywane w procesie wytwarzania kompozytowych filmów polimerowych techniką LBL – warstwa-po-warstwie (*ang.* layer-by-layer).^{6,7} Opiera się ona na naprzemiennym osadzaniu na zadanym podłożu makromolekuł charakteryzujących się różnoimiennym ładunkiem powierzchniowym, a więc o komplementarnych oddziaływaniach elektrostatycznych.

Metoda sekwencyjnej adsorpcji kationowych i anionowych polielektrolitów (LBL) jest szeroko wykorzystywana do produkcji filmów/powłok znajdujących zastosowanie w wielu obszarach życia codziennego. Znalazła ona zastosowanie m.in. w produkcji powłok antyrefleksyjnych, powierzchni super-hydrofobowych, biosensorów, membran jonowymiennych, paneli do konwersji energii słonecznej, w procesach rozdziału mieszanin gazowych, technologii wytwarzania podłoży do hodowli komórkowych, i syntezy nanokapsulek stosowanych do kontrolowanego dostarczania leków.⁸⁻¹¹

Pośród różnorodnych makrojonów szczególne znaczenie posiadają biokompatybilne polipeptydy, głównie polilizyna (PLL), której cząsteczka jest zbudowana wyłącznie z naturalnie występującego aminokwasu-lizyny, co nadaje jej w roztworach rozpuszczalników polarnych dodatni ładunek elektryczny dla szerokiego zakresu wartości pH.

Ze względu na swoje unikatowe właściwości polilizyna jest wykorzystywana w różnych gałęziach przemysłu i nauki, w tym do zastosowań medycznych, np.: jako modelowy lek polipeptydowy,^{3,12,13} w procesie enkapsulacji związków czynnych,^{14,15} komórek¹⁵⁻¹⁷ i preparatów chromosomowych,¹⁸⁻²⁰ przy mineralizacji biomimetycznej,²¹⁻²⁴ do kontrolowania właściwości adhezyjnych komórek,²⁵ w produkcji biosensorów i matryc biosensorów.^{19,26,27} Ze względu na szeroki zakres zastosowań, prowadzone są dogłębne badania odnośnie struktury i budowy molekuly PLL,²⁸⁻³⁰ jej właściwości powierzchniowych^{31,32} i adsorpcji na różnych podłożach stałych.^{6,31,33,34}

Należy podkreślić, że efektywne i ekonomicznie korzystne zastosowanie polielektrolitów (charakteryzujących się wysokimi kosztami jednostkowymi) we wszystkich wymienionych procesach wymaga nieodzownie precyzyjnego określenia ich masy molowej w warunkach *in situ* (w roztworach).

Pomimo dużego znaczenia, jakie ma dla efektywnego stosowania polielektrolitów dokładny pomiar ich masy molowej istnieje niewielka liczba metod pozwalających wyznaczyć ten parametr. Praktyczne znaczenie przemysłowe mają jedynie metody polegające na pomiarach statycznego rozpraszania światła,³⁵⁻³⁸ ciśnienia osmotycznego,^{39,40} elektroforezy żelowej,⁴¹⁻⁴⁴ metody sedymentacyjne⁴⁵⁻⁴⁸ oraz metody oparte na pomiarach lepkości.^{49,50} Metody te charakteryzują się jednak wieloma ograniczeniami, szczególnie w przypadku wydłużonych i naładowanych cząstek jakimi są makrojon.

Metoda statycznego rozpraszania światła jest jedną z bardziej popularnych technik wyznaczania masy molowej związków wielkocząsteczkowych.^{51,52} Ta technika pomiaru opiera się na wyznaczeniu natężenia światła, rozproszonego podczas przechodzenia przez badaną próbkę pod różnymi kątami. Podstawy zjawiska rozproszenia światła zostały wyjaśnione i opisane przez Rayleigh'a. Zgodnie z teorią, współczynnik rozproszenia światła, $R(\theta)$, jest zdefiniowany następująco:^{35,53}

$$R(\theta) = \frac{I_{\text{scattered}}(\theta)}{I_{\text{incident}}} \quad (1)$$

gdzie $I_{\text{scattered}}(\theta)$ jest natężeniem światła rozproszonego na próbce, mierzonym dla kąta θ względem światła padającego, a I_{incident} jest natężeniem światła padającego na próbkę.

Współczynnik $R(\theta)$ zależy od stężenia próbki (c), wielkości zmian współczynnika refrakcji próbek ze stężeniem (dn/dc), masy molowej badanego związku (M_w) i kąta pomiaru światła rozproszonego (θ). Wyznaczenie średniej wagowej masy molowej z użyciem danych pozyskanych metodą statycznego rozpraszania jest możliwe przy użyciu równania Zimm'a:^{38,54-56}

$$\frac{Kc}{\Delta R(\theta, c)} = \frac{1}{M_w P(\theta)} + 2A_2c \quad (2)$$

gdzie $P(\theta)$ jest funkcją opisującą interferencje rozproszonego światła, A_2 jest to drugi współczynnik wirialny, a K jest stałą optyczną zdefiniowana następująco:

$$K = \frac{4\pi^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 n_0^2}{N_A \lambda_0^4} \quad (3)$$

gdzie n_0 jest współczynnikiem załamania światła dla rozpuszczalnika, λ_0 długością fali światła, N_A stałą Avogadro, c jest stężeniem cząsteczek w roztworze, $\Delta R(\theta, c)$ jest nadmiarowym współczynnikiem rozproszenia światła, zdefiniowanym następująco:

$$\Delta R(\theta, c) = R(\theta, c) - R(\theta)_0 \quad (4)$$

gdzie $R(\theta)_0$ to współczynnik rozproszenia światła dla rozpuszczalnika.

Metoda statycznego rozpraszania światła jest metodą absolutną. W metodzie tej nie wymaga się kalibracji ani stosowania wzorców.⁵⁷ Znaczącym ograniczeniem tej metody jest to, że dla danego stężenia c sygnał rozpraszane światła jest proporcjonalny do iloczynu: cxM_w .⁵⁸ Oznacza to, że pomiar masy molowej cząstek poniżej kilku kg mol^{-1} wymaga stosowania wysokich stężeń, aby otrzymać wykrywalny i powtarzalny sygnał. Ponadto, zanieczyszczenia występujące w próbce również rozpraszają światło i wpływają na pomiar intensywności światła rozproszonego.^{58,59} Dlatego próbka musi zostać oczyszczona przy użyciu filtrów lub odwirowania przed pomiarem. Kolejnym ogranicznikiem jest źródło światła. W większości przypadków w pomiarach stosuje się laser emitujący światło w zakresie widzialnym. W związku z tym, zastosowanie zabarwionych rozpuszczalników może znacznie utrudnić poprawną analizę danych.⁵⁸

Podstawowe metody oparte o zjawisko statycznego rozpraszania światła nie uwzględniają również anizotropowości badanej próbki, co może prowadzić do poważnych błędów pomiarowych. W tym celu opracowano tzw. metodę pomiaru statycznego rozpraszania światła dla wielu kątów (*ang.* Multi-Angle Laser Light Scattering: MALLS), która eliminuje błędy pomiarowe wynikające z anizotropowego charakteru próbki. Metoda MALLS wymaga jednak kosztownej i skomplikowanej aparatury.⁵⁸

Metody statycznego rozpraszania światła pozwalają na pomiar masy molowej związków wielkocząsteczkowych w zakresie od 10 do 10^4 kg mol^{-1} .

Kolejną stosowaną w praktyce metodą wyznaczania masy molowej polielektrolitów jest metoda osmometryczna. Ciśnienie osmotyczne roztworu, podobnie jak podwyższenie temperatury wrzenia (krioskopia), obniżenie temperatury zamarzania (ebulioskopia) i obniżenie prężności par, jest właściwością koligatywną roztworu.⁶⁰ Spośród czterech wymienionych metod koligatywnych jedynie metoda osmometryczna jest techniką odpowiednią do wyznaczania masy molowej związków wielkocząsteczkowych, jakimi są makrojonny.⁵⁸⁻⁶⁰ Właściwości koligatywne są miarą liczbowo średnich mas molowych M_n , a dla ciśnienia osmotycznego Π obowiązuje następująca zależność:^{61,62}

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{\Pi}{c} = \frac{kT}{M_n} \quad (5)$$

gdzie k jest stałą Boltzmanna, a T temperaturą bezwzględną. Na podstawie powyższego wzoru można wyprowadzić ogólne wyrażenie na zależność ciśnienia osmotycznego od stężenia roztworu:

$$\frac{\Pi}{c} = kT \left(\frac{1}{M_n} + A_2c + A_3c + \dots \right) \quad (6)$$

gdzie A_2 i A_3 to drugi i trzeci współczynnik wirialny.

Metodę osmometryczną możemy podzielić na dwie podstawowe techniki: osmometrię w fazie parowej (VPO) i osmometrię membranową (MO).

Osmometria w fazie parowej opiera się o pomiar różnicy temperatury wytworzonej w atmosferze nasyconej pary rozpuszczalnika między kroplą rozpuszczalnika, a zawieszoną kroplą roztworu polimeru.^{58,59}

Metoda osmometrii membranowej jest techniką bardziej rozpowszechnioną od osmometrii w fazie parowej. Osmometria membranowa polega na bezpośrednim pomiarze różnicy ciśnień hydrostatycznych pomiędzy dwoma komorami, oddzielonymi od siebie membraną, z których jedna wypełniona jest czystym rozpuszczalnikiem a druga roztworem badanej substancji.^{58,59} W technice tej ciśnienie osmotyczne jest wyznaczane dla kilku różnych stężeń. Aby otrzymać liczbowo średnią masę molową badanego związku należy dokonać ekstrapolacji do osi rzędnych danych eksperymentalnych stosunku ciśnienia do stężenia roztworu. Głównym problemem w stosowaniu tej metody jest przenikalność przez membranę małych cząstek, co wpływa znacząco na wyniki pomiaru, szczególnie dla związków wielkocząsteczkowych o dużej polidispersyjności. Ponadto, aby wytworzyć mierzalne ciśnienie, roztwór substancji badanej musi mieć odpowiednio wysokie stężenie. Z tego też względu przyjmuje się, że górny zakres pomiarowy dla tej metody to stężenie około $1 \times 10^3 \text{ kg mol}^{-1}$. Dla wyższych średnich mas molowych pomiar może być obarczony dużym błędem. W przypadku dolnego zakresu pomiarowego jest on zależny tylko od porowatości membrany i przyjmuje się, że dla obecnie dostępnych membran jest to około $3 \times 10^1 \text{ kg mol}^{-1}$.

Metody elektroforetyczne pomiaru masy molowej związków wielkocząsteczkowych wykorzystują zjawisko elektrokinetyczne, polegające na ruchu substancji rozpuszczonych w ośrodku dyspergującym, posiadających ładunek elektryczny, względem fazy rozpraszającej pod wpływem pola elektrycznego.^{63,64} Do wyznaczania masy molowej wykorzystywana jest metoda elektroforezy żelowej, gdzie nieruchomą fazą rozpraszającą jest neutralny polimer, najczęściej agaroz. Proces rozdzielania cząstek opiera się na różnicy prędkości ich poruszania się. Prędkość ta zależy od rozmiaru, ładunku oraz kształtu badanej cząsteczki jak również rozmiarów porów w żelu. Szybkość migracji cząsteczki U_e opisuje równanie Smoluchowskiego:⁶⁵

$$U_e = \frac{\varepsilon E \xi}{\eta} \quad (7)$$

gdzie η jest lepkością dynamiczną roztworu, ε jest przenikalnością elektryczną ośrodka, a E jest natężeniem pola elektrycznego. Równanie to można również przedstawić w postaci:

$$\mu_e = \frac{U_e}{E} = \frac{\varepsilon \xi}{\eta} \quad (8)$$

gdzie μ_e jest ruchliwością elektroforetyczną.

W metodzie tej zakłada się, że ruchliwość elektroforetyczną jest niezależna od masy molowej badanego związku, a jedyna zależność od masy molowej wynika z różnej prędkości poruszania się przez mikroporowaty żel. To założenie jest słuszne tylko dla polimerów o wysokiej masie molowej, natomiast wykorzystanie tej metody do polimerów o niewielkiej masie jest znacznie ograniczone.⁵⁸

Wiadomo jest, że na ruch badanych makromolekuł mają wpływ również właściwości rozpuszczalnika, w szczególności jego siła jonowa i pH. Jony o ładunku przeciwnym do ładunku badanego związku znajdujące się w układzie poruszają się w kierunku przeciwnym do badanych makrocząstek. W przypadku niskich sił jonowych występuje niedobór nośników ładunku elektrycznego, co wpływa na wzrost oporności elektrycznej i wydzielanie się dużej ilości ciepła. Brak odpowiedniego odprowadzania ciepła skutkuje złymi wynikami separacji. Ponadto, w trakcie pomiaru zachodzi elektroliza wody – jony H^+ generowane są na katodzie a OH^- na anodzie. W przypadku badania makromolekuł czułych na zmiany pH, jak np. białka oraz słabe polielektrolity (zdysocjowane w ograniczonym zakresie pH), niezbędne jest utrzymanie stałego pH. Z tych względów, w metodzie tej często wymagane jest użycie specjalnych i kosztownych buforów. Do innych ograniczeń tej metody należy zaliczyć słabą rozdzielczość, jak również konieczność użycia markerów o znanej masie molowej jako wzorców, co znacznie podnosi koszty tej metody.

Pomimo tego, że metody elektroforetyczne są pracochłonne, znajdują szerokie zastosowanie przede wszystkim w analizie biomedycznej do badania cząstek o bardzo wysokiej masie molowej – większej niż $1 \times 10^3 \text{ kg mol}^{-1}$.

Z kolei metoda sedymentacyjna wyznaczania masy molowej związków wielkocząsteczkowych opiera się o zjawisko opadania (lub wynoszenia) makroskopowych cząstek w wyniku różnicy gęstości pomiędzy cząstkami zawiesiny a cieczą. Często proces opadania cząstek jest procesem długotrwałym

i dlatego w celu znacznego przyspieszenia sedymentacji stosuje się ultrawirówki, które pozwalają na wytworzenie podczas wirowania siły odśrodkowej znacznie przewyższającej wartość siły ciężkości i siły dyfuzji.

W czasie wirowania roztworu na cząsteczkę polielektrolitu działają trzy siły: siła odśrodkowa, siła wyporu i siła tarcia dynamicznego. Przy założeniu sferycznego kształtu cząsteczki i laminarnego przepływu cieczy otrzymuje się następujący wzór na średnią masę molową:^{46,59}

$$M_w = \frac{6\pi\eta d_H AvS}{\left(1 - \frac{\rho_s}{\rho}\right)} \quad (9)$$

gdzie d_H jest średnicą cząsteczki, ρ jest gęstością cząsteczki polielektrolitu, a ρ_s jest gęstością cieczy. Wielkość S nazywana stałą sedymentacji jest wielkością charakteryzującą ruch makrocząsteczki w rozpuszczalniku i jest opisana wzorem:

$$S = \frac{1}{\omega r^2} \frac{dr}{dt} \quad (10)$$

gdzie ω i r są to prędkość kątowna rotora i odległość makrocząsteczki od osi obrotu.

W przypadku równania (9) pewnych trudności może następczą określenie średnicy cząsteczki, która jest wyznaczana z równania Stokesa-Einsteina:⁶⁶

$$d_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (11)$$

gdzie D jest współczynnikiem dyfuzji. Po podstawieniu do równania (9) otrzymujemy równanie Svedberga:^{46,59}

$$M_w = \frac{2kTS}{D \left(1 - \frac{\rho_s}{\rho}\right)} \quad (12)$$

Wartość D uzyskuje się najczęściej w wyniku pomiarów metodą spektroskopową. Jeżeli wartość S jest wartością średnią stałej sedymentacji z powyższego wzoru można obliczyć średnią masę molową polimeru.

Metoda sedymentacyjna, podobnie jak metody osmometryczna i rozpraszania światła jest metodą absolutną. W przeciwieństwie do metody statycznego rozpraszania światła, obecność zanieczyszczeń nie wpływa znacząco na pomiar masy molowej. Dodatkowo w metodzie sedymentacyjnej nie jest wymagana kalibracja aparatury.⁵⁹

W przypadku związków wielkocząsteczkowych, gdzie różnica gęstości pomiędzy badaną substancją a fazą ciągłą jest bardzo mała (np. dla silnie hydratowanych polielektrolitów), należy użyć ultrawirówek pozwalających na wytworzenie sił odśrodkowych setki lub tysiące razy większych niż siła grawitacyjna, co jednak wiąże się z posiadaniem kosztownej aparatury.⁵⁹ Niestabilność rotorów przy bardzo dużych prędkościach wirowania może prowadzić do poważnych błędów pomiarowych. Z tego powodu metoda sedymentacyjna dla cząstek o masie molowej powyżej 10^3 kg mol^{-1} staje się niedokładna.⁶⁷ Ponadto, związki wielkocząsteczkowe bardzo często nie wykazują sferycznego kształtu, co z kolei powoduje, że zastosowanie metody sedymentacyjnej do wyznaczenia masy molowej wiąże się z zastosowaniem niezwykle skomplikowanych obliczeń,^{48,59} a interpretacja wyników pomiarów w przypadku wydłużonych cząsteczek jest dodatkowo utrudniona ze względu na ich silne oddziaływania w stężonej warstewce sedymentacyjnej.

Spośród opisanych powyżej znanych metod, największe zalety posiada metoda oparta na pomiarach lepkości roztworów związków wielkocząsteczkowych. W metodzie tej nie mierzy się lepkości bezpośrednio, lecz czasy przepływu (tzw. czasy wypływu) roztworów i czystego rozpuszczalnika w wiskozymetrze kapilarnym (np. wiskozymetrze Ostwalda lub Ubbelohdego). Zasada działania wiskozymetrów kapilarnych opiera się na prawie Poiseuille'a łączącego współczynnik lepkości z objętością cieczy V przepływającej w czasie t przez kapilarę o promieniu r i długości l pod wpływem różnicy ciśnień Δp , które

$$\eta = \frac{\pi r^4 \Delta p t}{V 8l}$$

jest wyrażane w postaci: $\eta = \frac{\pi r^4 \Delta p t}{V 8l}$. Następnie wyznacza się lepkość znormalizowaną (nazywaną też lepkością właściwą), η_{norm} .⁶⁸

$$\eta_{\text{norm}} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad (13)$$

gdzie η jest lepkością dynamiczną badanego roztworu, a η_0 jest lepkością dynamiczną czystego rozpuszczalnika.

Na podstawie wyników z przeprowadzonych pomiarów lepkości wyznacza się lepkość wewnętrzną (nazywaną też graniczną liczbą lepkościową) $[\eta]$.⁶⁸

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 c} \quad (14)$$

gdzie c jest stężeniem roztworu związku wielkocząsteczkowego.

W praktyce, lepkość wewnętrzną (lepkość graniczną) wyznacza się metodą graficzną na podstawie wykresu pokazującego zależność lepkości znormalizowanej w funkcji stężenia roztworu dla badanego związku wielkocząsteczkowego. Lepkość ta jest liczbowo równa wartości $\tan \alpha$ kąta nachylenia prostej względem osi odciętych na wykresie. Mając tak wyznaczoną wartość lepkości wewnętrznej oblicza się masę molową, M_w , stosując równanie Marka-Houwinka.^{69,70}

$$[\eta] = KM_w^p \quad (15)$$

gdzie K i p są stałymi półempirycznymi, których znajomość jest niezbędna do wyznaczenia średniej masy molowej badanego związku. Zazwyczaj nie zależą one od wartości masy molowej związku, lecz zmieniają się w zależności od rodzaju rozpuszczalnika i badanego związku oraz temperatury układu. Dodatkowo, na K i a ma wpływ także polidispersyjność badanego związku wielkocząsteczkowego – powinna być taka sama, jak polidispersyjność próbek stosowanych pierwotnie na etapie kalibrowania wiskozymetru w celu otrzymania stałych równania Marka-Houwinka.^{58,59,69}

Metoda lepkościowa wyznaczania średnich mas molowych, pomimo że nie jest metodą absolutną, znalazła szerokie zastosowanie w przemyśle ze względu na swoje zalety: jest metodą szybką, dającą powtarzalne wyniki i opartą o tanią aparaturę. Ponadto, metoda ta jest niepodatna na wpływ małych ilości zanieczyszczeń i pozwala na pomiar masy molowej związków wielkocząsteczkowych w bardzo szerokim zakresie od 0,2 do 10^5 kg mol⁻¹.⁵⁹

Niestety również ta metoda posiada pewne ograniczenia, np. nie jest możliwa ilościowa interpretacja wyników uzyskanych dla polielektrolitów w roztworach polarnych rozpuszczalników (wody).⁷¹ W rezultacie wartości masy cząsteczkowej podawane przez producentów wahają się szerokich zakresach (np. 150–300 kg mol⁻¹ dla PLL), co jest niewystarczająco dokładne dla znacznej ilości zastosowań praktycznych.

Ze względu na powyższe problemy praktyczne, nadal poszukiwane są bardziej precyzyjne i prostsze sposoby wyznaczania masy molowej makrojonów.

Z literatury patentowej znanych jest szereg metod wyznaczania masy molowej związków wielkocząsteczkowych.

Przykładowo w opisie patentowym US 4775943 przedstawiono urządzenie oraz metodę wyznaczania rozkładu mas molowych polimerów (MWD *ang.* molecular weight distribution). Pomiary przeprowadzane są w oparciu o tradycyjną metodę „Benoit”. Masy molowe wybranych polimerów wyznaczano na podstawie równoległych pomiarów objętości hydrodynamicznej, lepkości właściwej i masy próbki. W praktyce, metoda ta opiera się na analizie strumienia eluującego na skutek rozdzielania próbki w warunkach chromatografii wykluczenia (SEC *ang.* size exclusion chromatography). Dane z analizy eluatu w połączeniu z danymi dotyczącymi objętości hydrodynamicznej i lepkości roztworu są przetwarzane przy użyciu programu komputerowego dając wyniki odnośnie rozkładu masy molowej badanego polimeru. Dane otrzymane metodą według wynalazku zostały porównane z danymi pochodzącymi z analizy metodą niskokątowego rozpraszania światła (LALLS *ang.* low angle laser light scattering) dając bardzo dobrą zgodność. Konstrukcja aparatu polegająca na ścisłym sprzężeniu detektorów mas i lepkości oraz przetworzenia otrzymanych danych pozwala na wyeliminowanie potrzeby stosowania wysokoczułego

detektora wyznaczania lepkości i właściwy pomiar rozkładu mas molowych polimeru bez dodatkowej wiedzy odnośnie jego pochodzenia i struktury.

Przedmiotem wynalazku objętego patentem US 4972701 jest urządzenie oraz metoda wyznaczania masy molowej makromolekuł w oparciu o technikę osmometryczną. W metodzie tej używany jest układ obiegu cieczy, wyposażony w dwie strefy pomiaru ciśnienia; jedna odpowiada za pomiary zmian lepkościowych, a druga odpowiada za zmiany lepkościowe i zmiany osmotyczne zachodzące w badanej próbce. Efekty osmotyczne powodowane są przez zmiany w usieciowanym materiale polimerowym, zdolnym do rozszerzania się bądź kurczenia w obecności danego rozpuszczalnika, zmieniając efektywny promień strefy badanego roztworu i jego ciśnienie. Osmometr opisany w zgłoszeniu może być stosowany do pomiarów średniej masy molowej polimerów i innych składników próbki (również monodispersyjnych układów) na podstawie efektów osmotycznych, występujących w układzie pomiarowym na skutek umieszczenia cząstek badanego materiału w środowisku rozpuszczalnika.

W opisie zgłoszenia patentowego US 2005/0240385 A1 ujawniono system komputerowy oraz metodę analizy danych, służących do określania promienia bezwładności (*ang.* radius-of-gyration) oraz bezwzględnej masy molowej, lepkości wewnętrznej i rozkładu masy molowej polimeru. Przedmiotowa metoda polega na analizie danych otrzymanych z użyciem chromatografii żelowo-permeacyjnej (*ang.* gel permeation chromatography GPC) lub chromatografii wykluczenia (SEC) do wyznaczenia promienia bezwładności badanego polimeru. Metoda obejmuje równoczesne określenie tego parametru dla badanego materiału za pomocą danych z detektora rozpraszania światła, który zbiera dane z co najmniej dwóch kątów padania. W metodzie stosuje się detektor do wielokątowego rozpraszania światła, lepkościomierz oraz detektor analizy współczynnika refrakcji. Przedmiotowa metoda wymaga zastosowania wzorców o wąskim rozkładzie masy molowej polimerów w celu wykreślenia krzywej kalibracyjnej objętości hydrodynamicznej.

Opis patentowy CN 1128350 ujawnia sposób oznaczania masy molowej polimerów wysokocząsteczkowych z zastosowaniem układów rozpuszczalników. Opisano metodę wyznaczania masy cząsteczkowej polimeru z użyciem rozpuszczalników o określonym składzie (buforów). Rozpuszczalne w wodzie polimery będące przedmiotem badań, charakteryzowały się określoną strukturą jak np. posiadanie grup karboksylowych. Zakres badań obejmował polimery, takie jak guma arabska, polisacharydy itp. oraz kopolimery tj.: kwas polimlekowy, polimery zawierające pochodne kwasu akrylowego, pochodne zawierające grupy amidowe oraz celulozę. Roztwory tych polimerów charakteryzują się wysoką lepkością dynamiczną powyżej 1×10^7 P (puaz), tak więc wyznaczenie ich masy cząsteczkowej konwencjonalnymi sposobami jest praktycznie niemożliwe lub charakteryzuje się wysokim błędem ze względu na fakt, że wraz ze wzrostem stężenia badanego polimeru zwiększa się przewodnictwo roztworu. Równocześnie układy wspomnianych kopolimerów charakteryzują się występowaniem różnych grup polarnych, tak więc właściwości roztworów kopolimerów są różne w porównaniu z właściwościami pojedynczych polimerów wchodzących w skład danego kopolimeru. W związku z powyższym, autorzy opisują, że przez odpowiednio dobrany skład rozpuszczalnika (roztworu buforowego) możliwe jest kontrolowanie morfologii cząsteczki, wynikającej bezpośrednio z jej budowy (posiadania charakterystycznych grup jonogenach), co jest podstawą wynalazku. Kontrolując wartości pH roztworu, grupy polarne cząsteczek polimeru stają się elektrycznie obojętne w pH określanym w literaturze jako punkt izoelektryczny danej molekuly. W stanie elektrycznie obojętnym, w cząsteczce kopolimeru następuje kompensacja ładunków grup polarnych polimerów wchodzących w jego skład, tak, że cząsteczka nie jest podatna na zawartość soli w rozpuszczalniku oraz występuje naturalne kurczenie się cząsteczki i zmniejszenie promienia objętościowego. W metodzie tej lepkość kinematyczną oraz lepkość graniczną roztworów mierzono tradycyjnym wiskozymetrem Ubbelohde. Zmierzone lepkości kinematyczne dla różnych rozcieńczeń próbki oraz lepkości graniczne wykorzystano do wyznaczenia masy molowej polimeru. Zastosowanie układu podwójnej soli jako rozpuszczalnika i pięciopunktowego rozcieńczenia posłużyły również do określania masy molowej kopolimerów.

W zgłoszeniu patentowym CN85102485 przedstawiono automatyczne urządzenie do wyznaczania masy molowej metodą wiskozymetryczną. Wyznaczanie mas cząsteczkowych odbywa się w oparciu o klasyczną metodę wyznaczania mas metodą wiskozymetryczną. Jednakże do określania mas wysokocząsteczkowych polimerów, lepkościomierz opisany w zgłoszeniu patentowym stanowi ulepszoną wersję wiskozymetru Ubbelohde. Zaopatrzone jest w kapilary o różnych średnicach, które są zmieniane w zależności od rodzaju badanej próbki. Wyposażony jest również w pompę samopoziomującą, zegar i elektroniczny czujnik pozwalający na odczytywanie czasu przepływu próbki. Zamiast łaźni wodnej wy-

korzystano wannę powietrzną, umożliwiającą krótki czas inkubacji próbki. Urządzenie umożliwia na przemienne grzanie i chłodzenie w systemie stałej temperatury. Układ wyposażony w wzmacniacz operacyjny o wysokiej czułości, wyposażony w system przetwarzania danych i drukarkę.

W opisie patentowym CA 2066855 przedmiotem wynalazku jest metoda wyznaczania masy molowej polimerów w czasie krótszym niż dla standardowych metod opisanych w literaturze oraz charakteryzująca się stosunkowo niskim błędem pomiarowym (niskim odchyleniem standardowym). Opisana w patencie metoda wyznaczania mas molowych polimerów składa się z dwóch etapów: podgrzewania próbki polimeru i pomiarze różnicy temperatur dla przynajmniej dwóch punktów pomiarowych każdej z porcji danej próbki poddanej działaniu różnych temperatur oraz szacowaniu mas molowych badanego polimeru, odpowiadających zmierzonym różnicom temperatur oraz wcześniejszej otrzymanej zależności masy molowej od temperatury. Idea wynalazku oparta jest na założeniu, że zmiana dyssypacji ciepła dostarczanego do danego materiału zależy od jego właściwości reologicznych, w szczególności lepkości. Generalnie, szybkość przenoszenia ciepła w próbce o większej lepkości jest mniejsza niż dla próbki charakteryzującej się niższą lepkością. W ten sposób lepkość danego polimeru określana jest na podstawie pomiarów przenikalności cieplnej przez próbkę. Masa molowa polimeru określana jest na podstawie otrzymanych wartości lepkości korzystając z wyznaczonej wcześniej zależności lepkości od masy molowej danego polimeru. Polimery, których masy molowe mogą być określone z zastosowaniem przedstawionej metody obejmują: poliolefiny (polietylen), polimery winylowe (polichlorek winylu), polimery dienów (polibutadien), diole (glikol propylenowy), polimery polikondensacji i poliaddycji etc. Metoda ta charakteryzuje się największą precyzją dla mas molowych z zakresu 20 do 50 kg mol⁻¹.

Dla polimerów o wyższych masach molowych stosowalność metody może być obciążona dużym błędem, ze względu na niehomogeniczny rozkład mas w całym reaktorze. Dlatego też największa efektywność metody osiągnięta jest dla próbek charakteryzujących się lepkością z zakresu 100–1000 P (puaz).

W opisie wynalazku SU 492795 ujawniono sposób wyznaczania masy molowej polimerów na drodze określenia zależności czasu jądrowej spinowo-spinowej relaksacji od lepkości, którą wyznaczano nieznanym sposobem. Masę molową polimerów wyznaczano w oparciu o wyniki pomiarów przy użyciu następującego wzoru:

$$\ln M = \ln T_2 - \frac{4}{3} + \frac{\pi}{4} \ln \eta \quad (16)$$

gdzie T_2 jest czasem jądrowej spinowo-spinowej relaksacji wyrażonym w milisekundach [mS], η jest lepkością dynamiczną wyrażoną w centypuazach [cP].

Metoda ta została zastosowana i porównana z metodą ebulioskopową dla takich polimerów, jak żywica epoksydowa, poli-di-winylo-izopropen-diol, polimetoksyloksany adypinian polidietylenoglikolu, polibutadien, związki gliceryny, kwasu oleinowego, tristearyny, dietylenoglikolu czy di-butylo-di-laurynu ołowiu. Według autorów precyzja wyznaczania masy molowej tą metodą wynosiła 12–15%.

Należy jednak zauważyć, że zastosowanie wzoru (16) nie jest w praktyce możliwe, szczególnie dla makrojonów, gdyż nie podano w jaki sposób mierzono czas T_2 , w jakich jednostkach wyrażona była masa molowa polimeru, dla jakich warunków mierzona była lepkość, np. zakres temperatury, jaka była siła jonowa i pH, oraz jakie było stężenie polimeru w danym rozpuszczalniku.

Na podstawie powyższego przeglądu literaturowego można wywnioskować, że pomimo istotnego znaczenia dla nauki i przemysłowych procesów technologicznych, nie zostały ujawnione efektywne i precyzyjne metody wyznaczania masy molowej związków o znacznym ładunku elektrycznym, szczególnie o znaku dodatnim i dużym stopniu wydłużenia cząsteczki, zwłaszcza takich jak makroiony liniowe.

Nieoczekiwanie, w czasie prowadzenia badań nad procesami adsorpcji polielektrolitów na powierzchniach granicznych dało stałe/ciecz zaobserwowano, że ich lepkość wewnętrzna, a więc parametr niezależny od temperatury i rodzaju rozpuszczalnika, przyjmuje bardzo duże wartości, przekraczające znacznie 100. Ponadto, okazało się, że dla roztworów o stężeniach masowych w zakresie 10–1000 mg L⁻¹, dla niskich sił jonowych rzędu 1 x 10⁻⁶ – 1 x 10⁻³ M roztworów polielektrolitów, wartość tego parametru wzrastała bardzo znacząco, co wskazuje na elektrostatyczne rozprostowanie łańcucha makrojonu, który osiąga w takich warunkach swoją maksymalną długość. Zaobserwowane zjawisko wskazuje, że lepkość wewnętrzna molekuly może być dobrą miarą masy

molowej polielektrolitu, pod warunkiem opracowania ilościowej metody wiążącej w sposób jednoznaczny masę molową z dostępnym w oparciu o wyniki doświadczalne parametrem, jakim jest lepkość wewnętrzna molekuly.

Poniżej przedstawiono podstawy fizykochemiczne wyznaczania masy molowej makromolekuł, w szczególności liniowych polielektrolitów o dużym stopniu wydłużenia cząsteczki i relatywnie dużym ładunku powierzchniowym, stanowiące o istocie sposobu według wynalazku.

Zgodnie z wynalazkiem, podstawowym etapem sposobu wyznaczania masy molowej polielektrolitów liniowych, zwłaszcza polilizyny (PLL), bazującego na elektrostatycznych oddziaływaniach w cząsteczkach, jest pomiar lepkości kinematycznej ich rozcieńczonych roztworów w rozpuszczalnikach polarnych, korzystnie w wodzie destylowanej, w zakresie niskich sił jonowych od 1×10^{-6} do 1×10^{-3} M, a korzystnie w zakresie 3×10^{-6} do 1×10^{-4} M oraz dla małych stężeń masowych polielektrolitów w roztworze w granicach 10 – 1000 mg L⁻¹, a korzystnie stężeń w zakresie 50 – 500 mg L⁻¹. Korzystnie pomiar lepkości prowadzi się w zakresie temperatur 20 – 25°C . Najdokładniejsze wyniki uzyskuje się przy użyciu znanego wiskozymetru kapilarnego o stałej kapilary w zakresie $0,001$ – $0,004$ mm² s⁻². Wykorzystując wiskozymetr kapilarny mierzy się czas wypływu określonej objętości roztworu (od 1 – 5 ml) ze zbiornika przez kapilarę. Po pomiarze czasu przepływu cieczy przez kapilarę wiskozymetru, oznaczonego jako t_c , oblicza się lepkość kinematyczną roztworu ν z następującej liniowej zależności:

$$\nu = C_i t_c \quad (17)$$

gdzie C_i jest znaną stałą przyrządu, zależną od objętości zbiornika i przekroju kapilary, podawaną przez producenta w specyfikacji przyrządu (lub wyznaczaną doświadczalnie przy użyciu cieczy wzorcowej).

Warto podkreślić, że ze względu na fakt, że czas przepływu badanych suspensji przez kapilarę wiskozymetryczną przekracza znacznie wartość 100 sekund nawet dla samego rozpuszczalnika jakim jest woda destylowana, precyzja pomiarów jest lepsza niż $0,1\%$.

W celu uzyskania wartości lepkości dynamicznej η na podstawie zmierzonej lepkości kinematycznej ν , niezbędna jest znajomość gęstości ρ badanego roztworu.

Dlatego równocześnie z pomiarami lepkości kinematycznej danych próbek o różnym stężeniu wagowym polielektrolitu c_p , wyrażanym w mg L⁻¹ lub w ułamku masowym oznaczanym jako w_p mierzy się gęstości roztworów próbek. Następnie, na podstawie wyników pomiarów lepkości kinematycznej i gęstości roztworów, wykonanych dla kolejnych próbek, oblicza się lepkość dynamiczną η kolejnych próbek ze wzoru:

$$\eta = \nu \cdot \rho \quad (18)$$

Ponadto, dla każdej z serii pomiarowych gęstości, obejmującej kilka roztworów danego polielektrolitu o stopniowo malejących stężeniach w próbce (metoda rozcieńczeń), wyznacza się współczynnik proporcjonalności s_p odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL w rozpuszczalniku od ułamka masowego makrojonu w_p w próbce, gdzie odwrotność znormalizowanej gęstości roztworu definiowana jest jako stosunek gęstości rozpuszczalnika do gęstości badanej próbki.

Korzystnie, wspomniany współczynnik proporcjonalności s_p wyznacza się graficznie, wykreślając w prostokątnym układzie współrzędnych liniową zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL w rozpuszczalniku od stężenia wyrażonego ułamkiem masowym makrojonu w_p w próbce. W ten sposób uzyskuje się tangens kąta nachylenia wykresu względem osi odciętych, który jest równy wspomnianemu współczynnikowi s_p .

Korzystając z wyżej opisanej metody rozcieńczeń wyznacza się gęstość cząsteczek polielektrolitu ρ_p z następującego wzoru:

$$\rho_p = \frac{\rho_c}{1 + s_p} \quad (19)$$

gdzie ρ_c jest gęstością czystego rozpuszczalnika.

Oczywiście, w przypadku, gdy gęstość badanego polielektrolitu ρ_p jest znana, powyższy etap wyznaczania jego gęstości można pominąć.

W kolejnym etapie, na podstawie przeprowadzonych pomiarów i wyników obliczeń, wyznacza się zależność lepkości znormalizowanej (względnej) η_{norm} roztworu od stężenia polielektrolitu, gdzie lepkość znormalizowana definiowana jest jako:

$$\eta_{norm} = \frac{\eta - \eta_e}{\eta_e} \quad (20)$$

gdzie: η jest lepkością dynamiczną roztworu, a η_e jest lepkością dynamiczną czystego rozpuszczalnika. Natomiast, stężenie roztworu jest wyrażone w mg L^{-1} lub jako ułamek objętościowy z oznaczeniem Φ_v .

Dla kolejnych próbek wyznacza się współczynnik proporcjonalności dla zależności lepkości znormalizowanej η_{norm} roztworu polielektrolitu od stężenia roztworu wyrażonego jako ułamek objętościowy Φ_v .

Zależność znormalizowanej (względnej) lepkości η_{norm} roztworu polielektrolitu od stężenia wyrażonego ułamkiem objętościowym Φ_v ma charakter liniowy dla małych wartości tego parametru, dla której to zależności współczynnik proporcjonalności s_l jest określany jako lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$. Wspomniany współczynnik proporcjonalności s_l można wyznaczyć przykładowo graficznie, analogicznie jak opisano wcześniej dla współczynnika s_p .

Lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$ ma podstawowe znaczenie przy wyznaczaniu masy molowej makrojonów liniowych ze względu na fakt, że zależy ona jedynie od kształtu cząsteczki. Równocześnie jest to parametr niezależny od rozmiarów cząsteczki i od temperatury.

Z literatury fachowej wiadomo, że dla cząsteczek o kształcie zbliżonym do kulistej lepkość wewnętrzna przyjmuje wartość $5/2$. Wartość ta została po raz pierwszy wyznaczona teoretycznie przez Einsteina.⁷² Wiadomo też, że dla cząsteczek o kształtach wydłużonych parametr ten osiąga znacznie większe wartości i silnie wzrasta wraz z wydłużeniem cząsteczki.⁷³

W niniejszym wynalazku wykorzystano do ilościowego wyznaczenia masy molowej polielektrolitów, głównie polipeptydów, a zwłaszcza polilizyny, zaobserwowane przez autorów zjawisko elektrostatycznego rozprostowania łańcucha makrojonu (silnego wydłużenia molekuly) w warunkach niskich sił jonowych, co pozwala na wyznaczenie ich mas molowych z precyzją nieosiągalną z wykorzystaniem dotychczas stosowanych metod.

Podstawą sposobu według wynalazku, nieujawnionego dotychczas w literaturze przedmiotu, jest zaobserwowanie zjawiska, że cząsteczki polielektrolitów w roztworach o niskiej sile jonowej od 1×10^{-6} do 1×10^{-3} M, korzystnie w zakresie 3×10^{-6} do 1×10^{-4} M (wodzie destylowanej i wodnych roztworach elektrolitów) przyjmują kształt wydłużony, charakteryzowany przez długość L oraz średnicę przekroju poprzecznego d .

Należy zaznaczyć, że dla takich sił jonowych długość cząsteczki osiąga wartość maksymalną oznaczaną jako L_{max} , a przekrój cząstki osiąga wartość minimalną oznaczaną jako d_m . Lepkości wewnętrzne $[\eta]$ dla tak wydłużonych kształtów cząstek wyznacza się na podstawie wzoru Brennera:⁷³

$$[\eta] = c_{1v} \frac{\lambda^2}{\ln 2\lambda - 0,5} + c_{2v} \frac{\lambda^2}{\ln 2\lambda - 1,5} + c_v = f_v(\lambda) \quad (21)$$

gdzie $\lambda = L/d$ jest stosunkiem długości do średnicy przekroju cząsteczki, współczynniki $c_{1v} = 3/15$ i $c_{2v} = 1/15$ są stałymi niezależnymi od kształtu cząsteczki, a stała c_v dla cząsteczki o kształcie cylindrycznym wynosi $14/15$, a tym samym wnosi minimalny wkład do obliczonej wartości $[\eta]$, gdyż wzór (21) stosuje się dla $\lambda \gg 1$.

Znając wartość lepkości wewnętrznej $[\eta]$ wyznaczonej eksperymentalnie, dla danego rodzaju polielektrolitu, wykorzystano wzór Brennera (21) do wyznaczenia masy molowej polielektrolitów metodą nieujawnioną dotychczas w literaturze.

Pierwszym etapem procedury obliczania masy molowej w oparciu o wyniki pomiarów, jest iteracyjne rozwiązanie równania Brennera (21), co umożliwia sformułowanie następującego wzoru praktycznego w stosowaniu, umożliwiającego obliczenie parametru λ :

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta]}{f_1(\lambda)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)} \quad (23)$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta^\eta])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta^\eta] = [\eta] - c_v$$

przy czym c_v dla cząsteczki o kształcie cylindrycznym wynosi 14/15.

Precyzja tego schematu obliczeń jest ok. 1% dla wartości lepkości wewnętrznej powyżej 20.

Znając wartość parametru λ oblicza się następnie efektywną długość cząsteczki L z następującą zależnością liniową:

$$L = d \cdot \lambda \quad (24)$$

Dla cząsteczki polielektrolitu mającej kształt cylindryczny jej masę w roztworach o niskiej sile jonowej oblicza się ze wzoru:

$$m_1 = \frac{\pi}{4} d^2 L \rho_p = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p \lambda \quad (25)$$

Tym samym masa jednego mola polielektrolitu (masa molowa) dana jest następującą zależnością liniową:

$$M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda \quad (26)$$

gdzie: $A_v = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ jest liczbą Avogadro, a stała C_m jest dana zależnością:

$$C_m = 4,73 \cdot 10^{-4} d^3 \rho_p \quad (27)$$

Należy wspomnieć, że we wzorze tym (27) wartość średnicy cząsteczki d zależy od siły jonowej i jest wyrażona w nm, natomiast wartość ρ_p nie zależy od siły jonowej i jest wyrażona w kg m^{-3} .

Jak można zauważyć, obliczenie stałej C_m we wzorze (27) wymaga znajomości wartości średnicy cząsteczki polielektrolitu. Parametr ten, przykładowo wyznacza się przez przeprowadzenie pomiarów współczynników dyfuzji makrojonów metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS), które dają wartość średnicy hydrodynamicznej cząstki d_H dla różnych sił jonowych. Dla wydłużonych cząsteczek średnica hydrodynamiczna związana jest z ich przekrojem następującym wzorem:⁷⁴

$$d_H = d \frac{\lambda}{c_1 \ln 2\lambda + c_2} \quad (28)$$

gdzie bezwymiarowe stałe c_1, c_2 dla cząstek cylindrycznych wynoszą $c_1 = 1, c_2 = -0,11$.⁵⁸

Tak więc, ze wzoru (28) dostajemy następujące wyrażenie na średnicę cząsteczki:

$$d = d_H \frac{\ln 2\lambda - 0,11}{\lambda} \quad (29)$$

Wstawiając ten wzór do równania (26) dostajemy następujący wynik:

$$M_w = \frac{\pi}{4} \rho_p A_v d_H^3 \frac{(\ln 2\lambda - 0,11)^3}{\lambda^2} \quad (30)$$

Jak widać, w tym przypadku obliczenia masy molowej nie wymagają znajomości średnicy cząsteczki.

Innym wariantem wynalazku, dla którego zbędne jest wykonanie pomiarów współczynników dyfuzji makrojonów metodą DLS w celu określenia średnicy hydrodynamicznej, a jedynie konieczne jest wykonanie pomiarów lepkości kinematycznej, jest użycie wzorca o znanej masie molowej M_{wo} . W tym przypadku masę cząsteczkową próbki można obliczyć z zależności:

$$M_w = M_{wo} \lambda / \lambda_o \quad (31)$$

gdzie λ_0 jest parametrem wyznaczonym dla próbki wzorcowej/referencyjnej z równania (21) na podstawie lepkości wewnętrznej.

Sposób według wynalazku umożliwia szybkie i dokładne wyznaczenie masy molowej polielektrolitów liniowych w oparciu o wyniki pomiarów ich parametrów fizykochemicznych z wykorzystaniem ogólnie dostępnej aparatury badawczej oraz relatywnie niski koszt pomiarów. W przeciwieństwie do znanych metod lepkościowych wyznaczania masy molowej, metoda według wynalazku jest metodą absolutną (niewymagającą wzorca). Niemniej jednak w przypadku posiadania substancji referencyjnej (wzorca) wyznaczanie masy molowej badanej substancji sposobem przedmiotowym można znacznie uprościć.

Praktyczne zastosowanie wynalazku zostało objaśnione poniżej w kilku przykładach realizacji.

Przykład 1

Sposób wyznaczenia masy molowej dla próbki referencyjnej PLL 1.

W tym przykładzie wyznaczona została masa molowa próbki PLL o nieznannej gęstości, oznaczonej jako PLL 1, która będzie stanowić w kolejnych przykładach próbkę referencyjną. PLL w postaci stałej została zakupiona od znanej firmy (Polyscience). Zakres masy molowej próbki podany przez producenta, wyznaczony przy pomocy techniki MALLS, wynosi 100 do 140 kg mol⁻¹, co daje wartość średnią 120 kg mol⁻¹ (Tabela 1), wartość tą przyjęto jako wartość wzorcową w dalszych pomiarach.

W pierwszym etapie wyznaczania masy molowej próbki PLL 1 metodą według wynalazku wykonuje się pomiary gęstości roztworów wodnych PLL 1 w funkcji stężenia masowego polielektrolitu w próbce c_p , wyrażanego w mg L⁻¹ (58, 116, 231, 314, 462, mg L⁻¹). W przeliczeniu na ułamek masowy w_p PLL wartości tych stężeń wynoszą: 6×10^{-5} , $1,2 \times 10^{-4}$, $2,3 \times 10^{-4}$, 3×10^{-4} , $4,6 \times 10^{-4}$. Dla powyższych stężeń odwrotności gęstości względnych wynoszą: 0,99999, 0,99996, 0,99992, 0,99988, 0,99983. Zrozumiałym jest, że pomiary takie można również prowadzić wyznaczając zależność gęstości wspomnianych roztworów od ułamka masowego, oznaczanego jako w_p będącego wielkością bezwymiarową.

Wyniki z przeprowadzonych pomiarów gęstości zilustrowano graficznie na rysunku na wykresie Fig. 1, który przedstawia zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL w wodzie destylowanej od ułamka masowego w_p dla próbki PLL 1.

Jak widać na Fig. 1, zależność odwrotności gęstości znormalizowanej roztworu PLL 1 w wodzie od ułamka masowego w_p dla próbek PLL 1 ma charakter liniowy, a współczynnik nachylenia s_p prostej do osi odciętych wynosi -0,36. Znając współczynnik s_p obliczono gęstość właściwą makrojonu ze wzoru

(19):
$$\rho_p = \frac{\rho_c}{1 + s_p}$$
 p. = Dla temperatury 25°C (298 K) gęstość właściwa (ρ_p) PLL 1 w analizowanej próbce wynosi $1,57 \times 10^3$ kg m⁻³.

Równocześnie z pomiarami gęstości, dla tych samych roztworów PLL 1 w funkcji stężenia wagowego polielektrolitu w próbce, przeprowadzono pomiary lepkości kinematycznej rozcieńczonych suspensji PLL w wodzie destylowanej. Pomiary wykonano z użyciem wiskozymetru kapilarnego w stałej temperaturze 25°C. Następnie uzyskane wartości czasów przeliczono na wartości lepkości dynamicznej z użyciem stałej kapilary. Wykorzystana w badaniach kapilara charakteryzowała się wartością stałej podanej przez producenta o wartości 0,00182 mm² s⁻².

Następnie wyznaczono graficznie zależność względnej (znormalizowanej) lepkości η_{norm} roztworu od wartości stężenia wyrażonego w ułamku objętościowym polielektrolitu wyrażonego wzorem $\Phi_v = c_p/\rho_p$. Zależność tą zilustrowano na rysunku na wykresie Fig. 2, który przedstawia zależność znormalizowanej (względnej) lepkości roztworu PLL w wodzie destylowanej od ułamka objętościowego Φ_v dla próbki PLL 1.

Jak widać z przedstawionej na Fig. 2, dla ułamków objętościowych Φ_v o wartościach $0,4 \times 10^{-4}$, $0,7 \times 10^{-4}$, $1,4 \times 10^{-4}$, $2,0 \times 10^{-4}$, $2,9 \times 10^{-4}$, względne lepkości badanych roztworów PLL 1 w wodzie destylowanej wynoszą odpowiednio: 0,09, 0,16, 0,35, 0,54, 0,70. Zależność ta ma charakter liniowy, a jej współczynnik nachylenia s_p prostej do osi odciętych, określanej jako lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$ wynosi 2420. Znając wartość lepkości wewnętrznej $[\eta]$ oblicza się kolejno wartość parametru wydłużenia molekuly (λ) według wzorów (równania (22)–(23)):

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta]}{f_1(\lambda)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)} \quad (23)$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta'])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta'] = [\eta] - c,$$

W ten sposób, zgodnie z przedstawioną powyżej procedurą pomiarową obliczono współczynnik wydłużenia cząsteczki $\lambda = 216$. Wartość tą przyjęto jako wartość referencyjną, odpowiadającą średniej masie molowej 120 kg L^{-1} . W oparciu o te wartości, została sformułowana ogólna zależność umożliwiająca w kolejnych przykładach obliczenie masy molowej innych próbek PLL według następującego wzoru:

$$M_w = 120 \lambda \lambda_o \quad (32)$$

gdzie $\lambda_o = 216$ próbki referencyjnej PLL 1, jest wartością ustaloną w oparciu o powyżej opisane wyniki pomiarów lepkości i gęstości próbki referencyjnej PLL 1 o różnych stężeniach, a λ jest wartością parametru wydłużenia molekuly, wyznaczanego z pomiarów lepkości dynamicznej dowolnej próbki polielektrolitu o strukturze liniowej.

Przykład 2

Sposób wyznaczenia masy molowej dla próbki PLL 2.

W tym przykładzie wyznaczona została masa molowa próbki polipeptydu, w toku badań opisanej jako PLL 2. Materiał, w postaci stałej o nieznannej gęstości, zakupiony został od innej znanej firmy (Sigma Aldrich). Nominalna masa molowa podana przez tego producenta, wyznaczona z zastosowaniem techniki MALLS, wynosi $75 \text{ do } 190 \text{ kg mol}^{-1}$, co daje wartość średnią 132 kg mol^{-1} (Tabela 1). Natomiast deklarowana przez producenta masa molowa wyznaczona przy pomocy metody lepkościowej wynosi $150 \text{ do } 300 \text{ kg mol}^{-1}$, co daje wartość średnią 225 kg mol^{-1} (Tabela 1). Wartość ta znacząco odbiega od wartości wyznaczonej przy pomocy techniki MALLS.

W celu wyznaczenia masy molowej dla próbki PLL 2, wykonano analogicznie jak w przykładzie 1 pomiary gęstości jej roztworów oraz pomiary lepkości kinematycznej dla próbki PLL 2 w zależności od ułamka masowego PLL 2 w analizowanej próbce. W tym celu sporządzono roztwory z użyciem wody destylowanej o stężeniach wyrażonych w następujących ułamkach masowych: $1,0 \times 10^{-4}$, $1,4 \times 10^{-4}$, $2,1 \times 10^{-4}$, $2,8 \times 10^{-4}$, $4,2 \times 10^{-4}$ dla których wartości odwrotności gęstości względnej wynoszą: 0,99997, 0,99995, 0,999920, 0,99990, 0,99984. Wyniki z przeprowadzonych pomiarów zilustrowano graficznie na rysunku na wykresie Fig. 3, który przedstawia zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL w wodzie destylowanej od ułamka masowego w_p dla badanych próbek PLL 2.

Wykreślona na Fig. 3 zależność odwrotności gęstości znormalizowanej roztworu PLL 2 w wodzie od ułamka masowego ma dla badanych próbek charakter liniowy. Z wykresu na Fig. 3 określono współczynnik nachylenia s_p prostej do osi odciętych, który wynosi $-0,38$. Znając współczynnik s_p obliczono

$$\rho_p = \frac{\rho_s}{1 + s_p}$$

gęstość właściwą polipeptydu ze wzoru (19): ρ_p wynosi $1,61 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$. Dla temperatury 298 K , gęstość właściwa PLL 2 (ρ_p) wynosi $1,61 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$.

W następnym etapie wyznaczono zależność lepkości znormalizowanej η_{norm} roztworów PLL 2 od stężeń tych roztworów, wyrażonych ułamkiem objętościowym polielektrolitu. Wyniki przedstawiono na rysunku w formie wykresu na Fig. 4, który obrazuje zależność znormalizowanej (względnej) lepkości roztworu PLL w wodzie destylowanej od ułamka objętościowego ϕ_v dla próbki PLL 2.

Wyniki te wskazują, że dla roztworów o stężeniach wyrażonych ułamkami objętościowymi: $0,6 \times 10^{-5}$, $0,9 \times 10^{-5}$, $1,3 \times 10^{-4}$, $1,7 \times 10^{-4}$, $2,6 \times 10^{-4}$, wartości znormalizowanej (względnej) lepkości roztworów PLL 2 wynoszą odpowiednio: 0,16, 0,20, 0,34, 0,41, 0,64. Zależność ta ma charakter liniowy, a jej współczynnik proporcjonalności s_l , określanej jako lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$ wynosi 2450. Znając wartość $[\eta]$ obliczona została wartość parametru wydłużenia λ , ze wzorów (22)–(23) tak jak w przykładzie 1. Ustalona w tym przykładzie wartość $[\eta]$ wynosi 218.

Tak, więc masa molowa PLL 2, wyznaczona ze wzoru (32); $M_w = 1201\lambda/\lambda_o$ wyprowadzonego dla wzorcowej próbki PLL 1, wynosi 121 kg mol^{-1} ,

W tym przykładzie, masę molową próbki PLL 2 ustalono również w sposób absolutny (bez użycia

wzorca) z równania (26): $M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda$, wyznaczając średnicę hydrodynamiczną cząstek z pomiarów DLS. Średnica hydrodynamiczna wyznaczona na podstawie pomiarów współczynnika dyfuzji techniką DLS z użyciem urządzenia Zetasizer Nano firmy Malvern dla próbki PLL 2 w wodzie destylowanej wynosiła 33,5 nm, co daje średnicę cząsteczki obliczoną z równania (29):

$d = d_H \frac{\ln 2\lambda - 0,11}{\lambda}$ równą 0,92 nm oraz masę molową obliczoną z równania (26) równą 129 kg mol⁻¹ (Tabela 1), co jest w lepszej zgodności ze średnią wartością wyznaczoną metodą MALLS, deklarowaną przez producenta.

Przykład 3

Sposób wyznaczenia masy molowej dla próbki PLL 2 – wpływ siły jonowej na wyniki pomiarów.

W tym przykładzie określono wpływ siły jonowej rozpuszczalnika (regulowanej przez dodatek NaCl do wody destylowanej) na wyniki pomiarów masy molowej dla próbki badanej w przykładzie 2, określanej jako PLL 2.

W pierwszej kolejności wykonano szereg pomiarów gęstości roztworów dla próbki PLL 2 w zależności od ułamka masowego (stężenia wagowego) polilizyny w próbkach (metoda rozcieńczeń) o różnej sile jonowej, a mianowicie o różnym stężeniu molowym chlorku sodu badanych roztworów. Do badań przygotowano roztwory PLL 2 w wodnym roztworze NaCl o stężeniu 2 · 10⁻⁵ M oraz o stężeniu 1 × 10⁻⁴ M i w wodzie destylowanej. Dla powyższych roztworów NaCl i wody destylowanej stężenia PLL 2 wyrażone w ułamkach masowych wynosiły:

- dla stężenia 2 × 10⁻⁵ M NaCl: 1,0 × 10⁻⁴, 1,5 × 10⁻⁴, 2,0 × 10⁻⁴, 3,0 × 10⁻⁴, 4,0 × 10⁻⁴, 4,8 × 10⁻⁴,
- dla stężenia 1 × 10⁻⁴ M NaCl: 1,0 × 10⁻⁴, 1,5 × 10⁻⁴, 2,0 × 10⁻⁴, 2,6 × 10⁻⁴, 3,0 × 10⁻⁴, 4,0 × 10⁻⁴, 5,0 × 10⁻⁴,
- dla wody destylowanej: patrz przykład 2.

Dla tych stężeń wartości odwrotności gęstości względnej roztworów wynoszą:

- dla stężenia 2 × 10⁻⁵ M NaCl: 0,99996, 0,99994, 0,99992, 0,99988, 0,99984, 0,99981,
- dla stężenia 1 × 10⁻⁴ M NaCl: 0,99996, 0,99994, 0,99993, 0,99990, 0,99989, 0,99985, 0,99981,
- dla wody destylowanej: patrz przykład 2.

Wyniki z przeprowadzonych pomiarów przedstawiono w formie wykresu na rysunku na Fig. 5, który obrazuje zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL 2 od ułamka masowego w_p , gdzie: (●) woda destylowana, (■) roztwór o sile jonowej 2 × 10⁻⁵ M, (▲) roztwór o sile jonowej 1 × 10⁻⁴ M.

Zależność odwrotności względnej gęstości roztworów PLL 2 od ułamka masowego w_p w rozpuszczalnikach: w wodzie destylowanej, wodnym roztworze NaCl o stężeniu 2 × 10⁻⁵ M oraz 1 × 10⁻⁴ M, wykazuje charakter liniowy, a współczynnik nachylenia s_p prostej względem osi odciętych wynosi -0,38 dla wszystkich trzech rozpuszczalników. Tak więc, można przyjąć z dobrym przybliżeniem, że dla tego zakresu sił jonowych, gęstość PLL w analizowanej próbce wynosi 1,61 × 10³ kg m⁻³ (dla temperatury 25°C).

W następnym etapie wyznaczono zależność lepkości znormalizowanej η_{norm} roztworów PLL 2 od stężenia polilizyny wyrażonego ułamkiem objętościowym polielektrolitu w wodzie destylowanej oraz w wodnych roztworach NaCl o siłach jonowych 2 × 10⁻⁵ M i 1 × 10⁻⁴ M. Ułamki objętościowe wynosiły odpowiednio:

- dla stężenia 2 × 10⁻⁵ M, NaCl: 0,6 × 10⁻⁴, 0,9 × 10⁻⁴, 1,2 × 10⁻⁴, 1,9 × 10⁻⁴, 2,5 × 10⁻⁴,
- dla stężenia 1 × 10⁻⁴ M, NaCl: 0,6 × 10⁻⁴, 0,9 × 10⁻⁴, 1,2 × 10⁻⁴, 1,6 × 10⁻⁴, 1,9 × 10⁻⁴, 2,5 × 10⁻⁴,
- dla wody destylowanej: patrz przykład 2.

Dla tych ułamków objętościowych wartości lepkości względnej wynoszą:

- dla stężenia 2 × 10⁻⁵ M, NaCl: 0,14, 0,23, 0,31, 0,46, 0,60,
- dla stężenia 1 × 10⁻⁴ M NaCl: 0,13, 0,19, 0,26, 0,36, 0,40, 0,51,
- dla wody destylowanej: patrz przykład 2.

Wyniki przeprowadzonych pomiarów przedstawiono w formie wykresu na rysunku na Fig. 6, obrazującego zależność znormalizowanej (względnej) lepkości roztworu PLL 2 od ułamka objętościowego Φ_v , gdzie: (•) woda destylowana, (■) roztwór o sile jonowej 2×10^{-5} M, (▲) roztwór o sile jonowej 1×10^{-4} M.

Wyniki wskazują, że zależność znormalizowanej lepkości roztworów PLL 2 od ułamka objętościowego Φ_v w rozpuszczalnikach: w wodzie destylowanej, wodnym roztworze NaCl o stężeniu 2×10^{-5} M oraz wodnym roztworze NaCl o stężeniu 1×10^{-4} M ma charakter liniowy we wszystkich trzech przypadkach. Lepkość wewnętrzna $[\eta]$ wyznaczona na podstawie przeprowadzonych pomiarów lepkości dynamicznej roztworów wynosi 2420 dla wody destylowanej i roztworu 2×10^{-5} M NaCl oraz 2110 dla roztworu 1×10^{-4} M NaCl. Wartość parametru wydłużenia λ obliczona ze wzorów (22)–(23), jak podano w przykładzie 1, wynosi 216 dla wody destylowanej i roztworu 2×10^{-5} M NaCl oraz 201 dla roztworu 1×10^{-4} M NaCl.

Tak więc, masa molowa PLL 2, wyznaczona ze wzoru (32) $M_w = 120\lambda/\lambda_0$ na podstawie wzorcowej próbki PLL 1, wynosi 112 kg mol^{-1} dla roztworu o stężeniu 1×10^{-4} M NaCl oraz 120 kg mol^{-1} dla roztworu o stężeniu 2×10^{-5} M NaCl i wody destylowanej.

Natomiast, masa molowa wyznaczona w sposób absolutny (bez użycia wzorca) z wzoru (26)

$$M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda$$

(przyjmując z przykładu 2 średnicę łańcucha molekuly równą 0,92 nm) wynosi 119 kg mol^{-1} dla roztworu o stężeniu 1×10^{-4} M oraz 128 kg mol^{-1} dla roztworu o stężeniu 2×10^{-5} M i wody destylowanej. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że dla siły jonowej poniżej 1×10^{-4} M, masa molowa wyznaczana metodą według wynalazku jest niezależna od parametru wydłużenia cząsteczki (λ), który dla tych sił jonowych jest już niezmienny, co ma istotne znaczenie praktyczne.

Przykład 4

Sposób wyznaczenia masy molowej dla próbki PLL 3.

W tym przykładzie wyznaczono masę molową próbki PLL oznaczonej jako PLL 3, o nieznannej gęstości, zakupionej w postaci stałej od firmy Sigma Aldrich. Jej nominalna masa molowa podana przez producenta, wyznaczona przy pomocy techniki MALLS wynosi od 70 do 150 kg mol^{-1} , co daje wartość średnią 110 kg mol^{-1} (Tabela 1). Natomiast zakres wartości masy molowej wyznaczonej przy pomocy metody lepkościowej podany przez producenta wynosi poniżej 150 kg mol^{-1} .

Podobnie, jak w poprzednich przykładach przeprowadzono pomiary gęstości roztworów tej próbki w zależności od stężenia wagowego PLL (metoda rozcieńczeń) w próbce. W tym celu przygotowano wodne roztwory o stężeniach wyrażonych następującymi ułamekami masowymi: $1,0 \times 10^{-4}$, $1,4 \times 10^{-4}$, $2,1 \times 10^{-4}$, $2,8 \times 10^{-4}$, $4,2 \times 10^{-4}$. Dla tak przygotowanych roztworów zmierzone wartości odwrotności gęstości względnej wynosiły odpowiednio: 0,99997, 0,99995, 0,99992, 0,99990, 0,99985. Na podstawie przeprowadzonych pomiarów ustalono graficznie jak w przykładzie 1, że zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL 3 od ułamka masowego w_p ma charakter liniowy, a współczynnik nachylenia s_p prostej do osi odciętych wynosi -0,36. Na podstawie wyznaczonej wartości

$$\rho_p = \frac{\rho_c}{1 + s_p}$$

s_p obliczono ze wzoru (19): gęstość PLL 3 w analizowanej próbce, która wynosiła $1,56 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$ (dla temperatury 25°C).

Analogicznie, jak w poprzednich przykładach wyznaczono również zależność lepkości znormalizowanej roztworów PLL 3 od ułamka objętościowego polielektrolitu dla wody destylowanej. Dla roztworów o stężeniu wyrażonym w ułamekach objętościowych polielektrolitu w próbkach: $0,6 \times 10^{-4}$, $0,9 \times 10^{-4}$, $1,3 \times 10^{-4}$, $1,7 \times 10^{-4}$, $2,6 \times 10^{-4}$, znormalizowane (względne) lepkości przyjmowały odpowiednio wartości: 0,11, 0,18, 0,25, 0,34, 0,50.

Na podstawie pomiarów przeprowadzonych jak w przykładzie 1 ustalono, że zależność znormalizowanej lepkości roztworu PLL 3 od stężenia wyrażonego ułamkiem objętościowym Φ_v PLL 3 w próbce ma charakter liniowy, a wyliczona na tej podstawie lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$ wynosi 1910.

Tak więc, znając wartość $[\eta]$, obliczono wartość parametru wydłużenia (λ) według wzorów (22)–(23):

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta]}{f_1(\lambda)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)} \quad (23)$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta'])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta'] = [\eta] - c_v$$

Współczynnik wydłużenia cząsteczki λ , wyliczony na podstawie przeprowadzonych powyżej pomiarów, wynosi 190, co daje zgodnie ze wzorem (32) $M_w = 120\lambda/\lambda_0$, masę molową 106 kg mol⁻¹.

Natomiast, masa molowa wyznaczona w sposób absolutny (bez użycia wzorca) ze wzoru (25) $M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda$ (przyjmując z przykładu 2 średnicę przekroju cząsteczki 0,92 nm) wynosi 110 kg mol⁻¹, co jest identyczną wartością, jak średnia wartość podana przez producenta na podstawie pomiarów MALLS.

Przykład 5

Sposób wyznaczenia masy molowej dla próbki PLL 4.

W tym przykładzie wyznaczono masę molową próbki PLL o nieznannej gęstości, zakupionej w postaci stałej od firmy Sigma Aldrich i oznaczonej w przykładzie jako PLL 4. Nominalna masa molowa PLL 4 podana przez producenta, wyznaczona z zastosowaniem techniki MALLS wynosi poniżej 70 kg mol⁻¹, natomiast wartość masy molowej wyznaczonej przy pomocy metody lepkościowej, podana przez producenta wynosi od 30 do 70 kg mol⁻¹, co daje wartość średnią 50 kg mol⁻¹ (Tabela 1).

Podobnie, jak w poprzednich przykładach przeprowadzono pomiary gęstości roztworów tej próbki w zależności od ułamka masowego (stężenia wagowego) PLL 4 (metoda rozcieńczeń) w próbce.

W tym celu przygotowano wodne roztwory PLL 4 o stężeniach wyrażonych w następujących ułamkach masowych: 1,0 x 10⁻⁴, 1,5 x 10⁻⁴, 2,0 x 10⁻⁴, 3,0 x 10⁻⁴, 3,9 x 10⁻⁴, dla których odwrotności gęstości względnych wyniosły odpowiednio: 0,99997, 0,99994, 0,99992, 0,99989, 0,99985. Na podstawie wykonanych pomiarów ustalono, że zależność odwrotności znormalizowanej (względnej) gęstości roztworu PLL 4 od stężenia roztworu wyrażonego ułamkiem masowym w_p ma charakter liniowy, a współczynnik nachylenia s_p prostej do osi odciętych wynosi -0,37. Na podstawie tak wyznaczonej wartości

$$\rho_p = \frac{\rho_c}{1 + s_p}$$

obliczono ze wzoru (19): gęstość PLL 4 w analizowanej próbce, która wynosiła 1,5 x 10³ kg m⁻³ (dla temperatury 25°C).

Tak jak w poprzednich przykładach, wyznaczono też zależność lepkości znormalizowanej roztworów PLL 4 w wodzie destylowanej od stężenia polielektrolitu wyrażonego w ułamku objętościowym. Dla roztworów o stężeniach wyrażonych w ułamkach objętościowych polielektrolitu w próbkach wynoszących: 0,6 x 10⁻⁴, 0,9 x 10⁻⁴, 1,2 x 10⁻⁴, 1,9 x 10⁻⁴, 2,4 x 10⁻⁴, znormalizowane (względne) lepkości przyjmowały odpowiednio następujące wartości: 0,06, 0,09, 0,12, 0,18, 0,23. Na podstawie przeprowadzonych pomiarów ustalono, że zależność znormalizowanej (względnej) lepkości roztworu PLL 4 od stężenia polielektrolitu wyrażonego ułamkiem objętościowym w próbce ma charakter liniowy, a określona na tej podstawie lepkość wewnętrzna molekuly $[\eta]$ wynosiła 940.

Tak więc, znając wartość parametru $[\eta]$ parametr wydłużenia λ , obliczony ze wzorów (22)–(23):

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta']}{f_1(\lambda_1)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)} \quad (23)$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta'])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta'] = [\eta] - c_v$$

wynosi 128, co zgodnie ze wzorem (32) $M_w = 120\lambda/\lambda_0$, daje masę molową 71 kg mol⁻¹.

Natomiast, masa molowa wyznaczona w sposób absolutny (bez użycia wzorca) ze wzoru (26)

$$M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda$$

(przyjmując z przykładu 2 średnicę przekroju cząsteczki 0,92 nm) ma wartość 75 kg mol⁻¹.

W Tabeli 1 zestawiono wyniki uzyskane w opisanych przykładach.

Tabela 1. Dane doświadczalne czterech próbek PLL (woda destylowana)

Próbka	M_w [kg mol ⁻¹]	Gęstość [kg m ⁻³]	Lepkość wewn. [l]	Parametr [λ]	M_w^* [kg mol ⁻¹]	M_w^{**} [kg mol ⁻¹]	M_w^{***} [kg mol ⁻¹]
PLL 1 Polysci ence	100–140 MALLS	1,57×10 ³	2420	216	120	125	120
PLL 2 Sigma	75–190 MALLS 150–300 lepkość	1,61×10 ³	2450	218	121	129	132 225
PLL 3 Sigma	70–150 MALLS ≤ 150 lepkość	1,56×10 ³	1910	190	106	110	110
PLL 4 Sigma	≤ 70 000 MALLS 30–70 lepkość	1,59×10 ³	940	128	71	75	50

Uwagi do tabeli:

* wartość obliczona ze wzoru (25) przy użyciu próbki wzorcowej PLL 1,

** wartość absolutna obliczona ze wzoru (29) bez użycia wzorca,

*** wartość średnia obliczona na podstawie minimalnej i maksymalnej wartości podawanych przez producenta.

Literatura cytowana

- (1) Chheda, A. H.; Vernekar, M. R. A Natural Preservative ϵ -Poly-L-Lysine: Fermentative Production and Applications in Food Industry. *Int. Food Res. J.* **2015**, 22(1).
- (2) Boyd, B. J.; Kaminskas, L. M.; Karellas, P.; Krippner, G.; Lessens, R.; Porter, C. J. H. Cationic Poly-L-Lysine Dendrimers: Pharmacokinetics, Biodistribution, and Evidence for Metabolism and Bioresorption after Intravenous Administration to Rats. *Mol. Pharm.* **2006**, 3 (5), 614–627.
- (3) Kaminskas, L. M.; Kelly, B. D.; McLeod, V. M.; Boyd, B. J.; Krippner, G. Y.; Williams, E. D.; Porter, C. J. H. Pharmacokinetics and Tumor Disposition of PEGylated, Methotrexate Conjugated Poly-L-Lysine Dendrimers. *Mol. Pharm.* **2009**, 6(4), 1190–1204.
- (4) Boulmedais, F.; Frisch, B.; Etienne, O.; Lavalle, P.; Picart, C.; Ogier, J.; Voegel, J.-C.; Schaaf, P.; Egles, C. Polyelectrolyte Multilayer Films with Pegylated Polypeptides as a New Type of Anti-Microbial Protection for Biomaterials. *Biomaterials* **2004**, 25 (11), 2003–2011.
- (5) Fuu, J.; Ji, J.; Fan, D.; Shen, J. Construction of Antibacterial Multilayer Films Containing Nanosilver via Layer-by-Layer Assembly of Heparin and Chitosan-Silver Ions Complex. *J. Biomed. Mater. Res. A* **79A** (3), 665–674.
- (6) Richert, L.; Arntz, Y.; Schaaf, P.; Voegel, J.-C.; Picart, C. pH Dependent Growth of poly(L-Lysine)/poly(L-Glutamic) Acid Multilayer Films and Their Cell Adhesion Properties. *Surf. Sci.* **2004**, 570 (1–2), 13–29.
- (7) Khademhosseini, A.; Suh, K. Y.; Yang, J. M.; Eng, G.; Yeh, J.; Levenberg, S.; Langer, R. Layer-by-Layer Deposition of Hyaluronic Acid and Poly-L-Lysine for Patterned Cell Co-Cultures. *Biomaterials* **2004**, 25 (17), 3583–3592.
- (8) Calvo, P.; Vila-Jato, J. L.; Alonso, M. J. Evaluation of Cationic Polymer-Coated Nanocapsules as Ocular Drug Carriers. *Int. J. Pharm.* **1997**, 153 (1), 41–50.
- (9) Ayyappan, J. P.; Sami, H.; Rajalekshmi, D. C.; Sivakumar, S.; Abraham, A. Immunocompatibility and Toxicity Studies of Poly-L-Lysine Nanocapsules in Sprague-Dawley Rats for Drug-Delivery Applications. *Chem. Biol. Drug Des.* **84** (3), 292–299.
- (10) Szczepanowicz, K.; Hoel, H. J.; Szyk-Warszyńska, L.; Bielańska, E.; Bouzga, A. M.; Gaudernack, G.; Simon, C.; Warszyński, P. Formation of Biocompatible Nanocapsules with Emulsion Core and Pegylated Shell by Polyelectrolyte Multilayer Adsorption. *Langmuir* **2010**, 26 (15), 12592–12597.
- (11) Chécot, F.; Rodriguez-Hernández, J.; Gnanou, Y.; Lecommandoux, S. pH-Responsive Micelles and Vesicles Nanocapsules Based on Polypeptide Diblock Copolymers. *Biomol. Eng.* **2007**, 24 (1), 81–85.
- (12) Deming, T. J. Methodologies for Preparation of Synthetic Block Copolypeptides: Materials with Future Promise in Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, 54 (8), 1145–1155.
- (13) Patel, L. N.; Zara, J. L.; Shen, W.-C. Cell Penetrating Peptides: Intracellular Pathways and Pharmaceutical Perspectives. *Pharm. Res.* **2007**, 24 (11), 1977–1992.
- (14) de Vos, P.; van Hoogmoed, C. G.; van Zanten, J.; Netter, S.; Strubbe, J. H.; Busscher, H. J. Long-Term Biocompatibility, Chemistry, and Function of Microencapsulated Pancreatic Islets. *Biomaterials* **2003**, 24 (2), 305–312.
- (15) Murua, A.; Portera, A.; Orive, G.; Hernández, R. M.; de Castro, M.; Pedraz, J. L. Cell Microencapsulation Technology: Towards Clinical Application. *J. Controlled Release* **2008**, 132 (2), 76–83.
- (16) Haque, T.; Chen, H.; Ouyang, W.; Martoni, C.; Lawuyi, B.; Urbańska, A. M.; Prakash, S. Superior Cell Delivery Features of Poly(ethylene Glycol) Incorporated Alginate, Chitosan, and Poly-L-Lysine Microcapsules. *Mol. Pharm.* **2005**, 2 (1), 29–36.
- (17) Lim, F.; Moss, R. D. Microencapsulation of Living Cells and Tissues. *J. Pharm. Sci.* **1981**, 70 (4), 351–354.
- (18) Kenausis, G. L.; Vörös, J.; Elbert, D. L.; Huang, N.; Hofer, R.; Ruiz-Taylor, L.; Textor, M.; Hubbell, J. A.; Spencer, N. D. Poly(L-Lysine)-G-Poly(ethylene Glycol) Layers on Metal Oxide Surfaces: Attachment Mechanism and Effects of Polymer Architecture on Resistance to Protein Adsorption. *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104 (14), 3298–3309.

- (19) Shan, C.; Yang, H.; Han, D.; Zhang, Q.; Ivaska, A.; Niu, L. Water-Soluble Graphene Covalently Functionalized by Biocompatible Poly-L-Lysine. *Langmuir* **2009**, *25* (20), 12030–12033.
- (20) Wu, C.-S. C.; Ikeda, K.; Yang, J. T. Ordered Conformation of Polypeptides and Proteins in Acidic Dodecyl Sulfate Solution. *Biochemistry (Mosc.)* **1981**, *20* (3), 566–570.
- (21) Bolduc, O. R.; Clouthier, C. M.; Pelletier, J. N.; Masson, J.-F. Peptide Self-Assembled Monolayers for Label-Free and Unamplified Surface Plasmon Resonance Biosensing in Crude Cell Lysate. *Anal. Chem.* **2009**, *81* (16), 6779–6788.
- (22) Goodman, S. B.; Yao, Z.; Keeney, M.; Yang, F. The Future of Biologic Coatings for Orthopaedic Implants. *Biomaterials* **2013**, *34* (13), 3174–3183.
- (23) Statz, A. R.; Meagher, R. J.; Barron, A. E.; Messersmith, P. B. New Peptidomimetic Polymers for Antifouling Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (22), 7972–7973.
- (24) Wang, Y.; Chang, Y. C. Synthesis and Conformational Transition of Surface-Tethered Polypeptide: Poly(L-Lysine). *Macromolecules* **2003**, *36* (17), 6511–6518.
- (25) Kranz, B. R.; Thiel, E.; Thierfelder, S. Immunocytochemical Identification of Meningeal Leukemia and Lymphoma: Poly-L-Lysine-Coated Slides Permit Multimarker Analysis Even with Minute Cerebrospinal Fluid Cell Specimens. *Blood* **1989**, *73*(7), 1942–1950.
- (26) Frey, B. L.; Jordan, C. E.; Kornguth, S.; Corn, R. M. Control of the Specific Adsorption of Proteins onto Gold Surfaces with Poly (L-Lysine) Monolayers. *Anal. Chem.* **1995**, *67* (24), 4452–4457.
- (27) James, C. D.; Davis, R.; Meyer, M.; Turner, A.; Turner, S.; Withers, G.; Kam, L.; Banker, G.; Craighead, H.; Issacson, M.; et al. Aligned Microcontact Printing of Micrometer-Scale Poly-L-Lysine Structures for Controlled Growth of Cultured Neurons on Planar Microelectrode Arrays. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2000**, *47* (1), 17–21.
- (28) Conio, G.; Patrone, E.; Rialdi, G.; Ciferri, A. Polyelectrolytes in Salt Solutions. Quantitative Separation of Binding and Electrostatic Effects for Poly(L-Omithine) and Poly(L-Lysine). *Macromolecules* **1974**, *7* (5), 654–659.
- (29) Myer, Y. P. The pH-Induced Helix-Coil Transition of Poly-L-Lysine and Poly-L-Glutamic Acid and the 238-M μ Dichroic Band. *Macromolecules* **1969**, *2* (6), 624–628.
- (30) Satake, I.; Yang, J. T. Effect of Temperature and pH on the B-helix Transition of poly(L-Lysine) in Sodium Dodecyl Sulfate Solution. *Biopolymers* **1975**, *14* (9), 1841–1846.
- (31) Picart, L.; Lavallo, P.; Hubert, P.; Cuisinier, F. J. G.; Decher, G.; Schaaf, P.; Voegel, J.-C. Buildup Mechanism for Poly(L-Lysine)/Hyaluronic Acid Films onto a Solid Surface. *Langmuir* **2001**, *17* (23), 7414–7424.
- (32) Verma, A.; Stellacci, F. Effect of Surface Properties on Nanoparticle-Cell Interactions. *Small* **2010**, *6*(1), 12–21.
- (33) Frey, B. L.; Corn, R. M. Covalent Attachment and Derivatization of Poly(L-Lysine) Monolayers on Gold Surfaces as Characterized by Polarization-Modulation FT-IR Spectroscopy. *Anal. Chem.* **1996**, *68* (18), 3187–3193.
- (34) Hartono, S. B.; Gu, W.; Kleitz, F.; Liu, J.; He, L.; Middelberg, A. P. J.; Yu, C.; Lu, G. Q. (Max); Qiao, S. Z. Poly-L-Lysine Functionalized Large Pore Cubic Mesostructured Silica Nanoparticles as Biocompatible Carriers for Gene Delivery. *ACS Nano* **2012**, *6*(3), 2104–2117.
- (35) Debye, P. Molecular-Weight Determination by Light Scattering. *J. Phys. Chem.* **1947**, *5*(1), 18–32.
- (36) Förster, S.; Schmidt, M.; Antonietti, M. Static and Dynamic Light Scattering by Aqueous Polyelectrolyte Solutions: Effect of Molecular Weight, Charge Density and Added Salt. *Polymer* **1990**, *31* (5), 781–792.
- (37) Yoo, S.-H.; Jane, J. Molecular Weights and Gyration Radii of Amylopectins Determined by High-Performance Size-Exclusion Chromatography Equipped with Multi-Angle Laser-Light Scattering and Refractive Index Detectors. *Carbohydr. Polym.* **2002**, *49* (3), 307–314.
- (38) Zimm, B. H. The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16* (12), 1093–1099.
- (39) Grubbs, W. T. Osmotic Pressure and Polymer Molecular Weight Determination. *J. Chem. Educ.* **2009**, *86* (6), 764.

- (40) Krigbaum, W. R.; Sperling, L. H. The Conformation of Polymer Molecules. III. Cellulose Tricaproate I. *J. Phys. Chem.* **1960**, *64* (1), 99–108.
- (41) Dunker, A. K.; Rueckert, R. R. Observations on Molecular Weight Determinations on Polyacrylamide Gel. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244* (18), 5074–5080.
- (42) Shapiro, A. L.; Maizel Jr, J. V. Molecular Weight Estimation of Polypeptides by SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis: Further Data Concerning Resolving Power and General Considerations. *Anal. Biochem.* **1969**, *29* (3), 505–514.
- (43) Swank, R. T.; Munkres, K. D. Molecular Weight Analysis of Oligopeptides by Electrophoresis in Polyacrylamide Gel with Sodium Dodecyl Sulfate. *Anal. Biochem.* **1971**, *39*(2), 462–477.
- (44) Weber, K.; Osborn, M. The Reliability of Molecular Weight Determinations by Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244* (16), 4406–4412.
- (45) Burgi, E.; Hershey, A. D. Sedimentation Rate as a Measure of Molecular Weight of DNA. *Biophys. J.* **1963**, *3* (4), 309–321.
- (46) Creeth, J. M.; Pain, R. H. The Determination of Molecular Weights of Biological Macromolecules by Ultracentrifuge Methods. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1967**, *17*, 217–287.
- (47) Teller, D. C. [14] Characterization of Proteins by Sedimentation Equilibrium in the Analytical Ultracentrifuge. In *Methods in Enzymology*, Part D: Enzyme Structure; Academic Press, 1973; Vol. 27, pp 346–441.
- (48) Aune, K. C. Molecular Weight Measurements by Sedimentation Equilibrium: Some Common Pitfalls and How to Avoid Them. *Methods Enzymol.* **1978**, *48*, 163–185.
- (49) Behlke, J.; Ristau, O. Molecular Mass Determination by Sedimentation Velocity Experiments and Direct Fitting of the Concentration Profiles. *Biophys. J.* **1997**, *72* (1), 428–434.
- (50) Hokputsa, S.; Jumel, K.; Alexander, C.; Harding, S. E. A Comparison of Molecular Mass Determination of Hyaluronic Acid Using SEC/MALLS and Sedimentation Equilibrium. *Eur. Biophys. J.* **2003**, *32* (5), 450–456.
- (51) Xu, R. Light Scattering: A Review of Particle Characterization Applications. *Particuology* **2015**, *18*, 11–21.
- (52) Minton, A. P. Recent Applications of Light Scattering Measurement in the Biological and Biopharmaceutical Sciences. *Anal. Biochem.* **2016**, *501*, 4–22.
- (53) Van De Hulst, H. C. *Light Scattering by Small Particles*; Dover Publications, Inc.: New York, 1981.
- (54) Doty, P. M.; Zimm, B. H.; Mark, H. Some Light Scattering Experiments with High Polymer Solutions. *J. Chem. Phys.* **1944**, *12* (4), 144–144
- (55) Doty, P. M.; Zimm, B. H.; Mark, H. An Investigation of the Determination of Molecular Weights of High Polymers by Light Scattering. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13* (5), 159–166.
- (56) Stein, R. S.; Hadziioannou, G. Generalization of the Zimm Equation for Scattering from Concentrated Solutions. *Macromolecules* **1984**, *17*(5), 1059–1062.
- (57) Wyatt, P. J. Light Scattering and the Absolute Characterization of Macromolecules. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *272* (1), 1–40.
- (58) Oberlerchner, J. T.; Rosenau, T.; Potthast, A. Overview of Methods for the Direct Molar Mass Determination of Cellulose. *Molecules* **2015**, *20* (6), 10313–10341.
- (59) Cooper Anthony R. Molecular Weight Determination. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; 2004; Vol. 10, pp 445–469.
- (60) Cowie, J. M. G.; Arrighi, V. *Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials, Third Edition*; CRC Press, 2007.
- (61) Bersted, B. H. Molecular Weight Determination of High Polymers by Means of Vapor Pressure Osmometry and the Solute Dependence of the Constant of Calibration. *J. Appl. Polym. Sci.* **1973**, *17* (5), 1415–1430.
- (62) Adams, E. T.; Wan, P. J.; Crawford, E. F. Membrane and Vapor Pressure Osmometry. *Methods Enzymol.* **1978**, *48*, 69–154.
- (63) Weber, K.; Osborn, M. The Reliability of Molecular Weight Determinations by Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244* (16), 4406–4412.
- (64) Nielsen, T. B.; Reynolds, J. A. Measurements of Molecular Weights by Gel Electrophoresis. *Methods Enzymol.* **1978**, *48*, 3–10.

- (65) Smoluchowski, M. Contribution `a La Théorie de L'endosmose Électrique et de Quelques Phénomènes Corrélatifs. *Bull Acad Sci Crac. Cl. Sci Math Nat.* **1903**, 182–199.
- (66) Adamson, A. W.; Gast, A. P. *Physical Chemistry of Surfaces*, 6th ed.; Wiley Interscience: New York, 1997.
- (67) Harding, S. E. Determination of Absolute Molecular Weights Using Sedimentation Equilibrium Analytical Ultracentrifugation. In *Microscopy, Optical Spectroscopy, and Macroscopic Techniques*; Springer, 1994; pp 75–84.
- (68) Pigoń, K.; Ruziewicz, Z. *Chemia Fizyczna*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2007.
- (69) Vink, H. Viscosity of Polyelectrolyte Solutions. *Makromol. Chem.* **1970**, 131 (1), 133–145.
- (70) *Polymer Characterisation*; Hunt, B. J., James, M. I., Eds.; Springer Netherlands, 1993.
- (71) Harding, S. E. The Intrinsic Viscosity of Biological Macromolecules. Progress in Measurement, Interpretation and Application to Structure in Dilute Solution. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1997**, 68 (2–3), 207–262.
- (72) Einstein, A. Theorie Der Opaleszenz von Homogenen Flüssigkeiten Und Flüssigkeitsgemischen in Der Nähe Des Kritischen Zustandes. *Ann. Phys.* **1910**, 338 (16), 1275–1298.
- (73) Brenner, H. Rheology of a Dilute Suspension of Axisymmetric Brownian Particles. *Int. J. Multiph. Flow* **1974**, 1 (2), 195–341.
- (74) Adamczyk, Z. *Particles at Interfaces Second Edition: Interactions, Deposition, Structure*, Interface Science and Technology; Academic Press: United Kingdom Amsterdam, 2017.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wyznaczania masy molowej polielektrolitów liniowych, zwłaszcza polilizyny, o dodatnim ładunku powierzchniowym, z wykorzystaniem pomiarów gęstości, lepkości i współczynnika dyfuzji ich roztworów w rozpuszczalnikach polarnych o znanych właściwościach fizykochemicznych, **znamienny tym**, że dokonuje się pomiaru lepkości kinematycznej ich rozcieńczonych roztworów w rozpuszczalnikach polarnych, korzystnie w wodzie destylowanej, w zakresie niskich sit jonowych od 1×10^{-6} do 1×10^{-3} M, a korzystnie w zakresie 3×10^{-6} do 1×10^{-4} M, oraz dla małych stężeń masowych polielektrolitów z zakresu 10 mg L^{-1} – 1000 mg L^{-1} , a korzystnie 50 mg L^{-1} – 500 mg L^{-1} , i dla tak sporządzonych roztworów wyznacza się, na podstawie niezależnego pomiaru gęstość i lepkość dynamiczną wodnych roztworów polielektrolitu (PLL), które są bezpośrednio parametrami fizykochemicznymi umożliwiającymi określenie zależności lepkości znormalizowanej (η_{norm}) roztworu polielektrolitu od jego stężenia (Φ_v) w suspensji, która to zależność ma charakter liniowy dla małych wartości stężeń, a jej współczynnik proporcjonalności (s) jest określany jako lepkość wewnętrzna cząsteczki ($[\eta]$) i stanowi podstawę obliczenia parametru wydłużenia cząsteczki (λ) przy użyciu wzoru:

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta]}{f_1(\lambda_1)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)}$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta] = [\eta] - c_v$$

przy czym: $[\eta]$ jest lepkością wewnętrzną makromolekuly, $\lambda = L/d$ jest stosunkiem długości L do średnicy d przekroju cząsteczki, c_v jest stałą nieznacznie zależną od jej kształtu i dla cząsteczek o kształcie cylindrycznym wynosi 14/15, a następnie na podstawie parametru (λ) wyznacza się masę molową (M_w) badanego polielektrolitu stosując wzór:

$$M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda \quad (26)$$

gdzie: $A_v = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ jest liczbą Avogadro, d jest średnicą cząsteczki, ρ_p jest gęstością cząsteczki, a stała C_m jest dana zależnością:

$$C_m = 4,73 \cdot 10^{-4} d^3 \rho_p. \quad (27)$$

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że pomiarów lepkości dynamicznej i gęstości roztworów polielektrolitu (PLL) w wodzie lub wodnych roztworach elektrolitów dla zakresu siły jonowej 1×10^{-6} do $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, korzystnie w zakresie 3×10^{-6} , do $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ oraz dla stężenia polielektrolitu w roztworze w zakresie od 10 mg L^{-1} – 1000 mg L^{-1} , korzystnie 50 – 500 mg L^{-1} , dokonuje się w temperaturze 20 – 25°C .
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że na podstawie wyznaczonej lepkości wewnętrznej molekuly ($[\eta]$) roztworów polielektrolitu oblicza się bezwymiarowy parametr wydłużenia cząsteczki (λ) ze wzoru:

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta']}{f_1(\lambda_1)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)}$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta'])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta'] = [\eta] - c_v.$$

4. Sposób według zastrz. 1 albo 3, **znamienny tym**, że na podstawie wyznaczonego parametru wydłużenia cząsteczki (λ) oblicza się masę molową polielektrolitu przy użyciu wzoru:

$$M_w = \frac{\pi}{4} d^3 \rho_p A_v \lambda = C_m \lambda \quad (26)$$

gdzie: $A_v = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ jest liczbą Avogadro, d jest średnicą cząsteczki, ρ_p jest gęstością cząsteczki, a stała C_m jest dana zależnością:

$$C_m = 4,73 \cdot 10^{-4} d^3 \rho_p. \quad (27)$$

5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że średnicę cząsteczki polielektrolitu we wzorach (26) i (27) wyznacza się z równania

$$d = d_H \frac{\ln 2\lambda - 0,11}{\lambda} \quad (29)$$

gdzie: d_H jest średnicą hydrodynamiczną wyznaczoną w pomiarach dynamicznego rozpraszania światła (DLS).

6. Sposób według zastrz. 1 albo 3, **znamienny tym**, że na podstawie wyznaczonego parametru wydłużenia cząsteczki (λ) oblicza się masę molową polielektrolitu przy użyciu wzoru:

$$M_w = \frac{\pi}{4} \rho_p A_v d_H^3 \frac{(\ln 2\lambda - 0,11)^3}{\lambda^2} \quad (30)$$

gdzie: $A_v = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ jest liczbą Avogadro, ρ_p jest gęstością cząsteczek polielektrolitu, wyznaczoną doświadczalnie metodą rozcieńczeń, a d_H jest wartością średnicy hydrodynamicznej cząstki, uzyskaną na podstawie pomiarów współczynników dyfuzji polielektrolitu metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS).

7. Sposób według zastrz. 1 albo 3, **znamienny tym**, że masę molową polielektrolitu wyznacza się ze wzoru:

$$M_w = M_{wo} \lambda / \lambda_o \quad (31)$$

gdzie λ_o jest parametrem wydłużenia molekuly próbki referencyjnej, a λ jest parametrem wydłużenia molekuly próbki badanej, wyznaczonym z wzoru:

$$\lambda = \left(\frac{15 [\eta']}{f_1(\lambda_1)} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

gdzie:

$$f_1(\lambda_1) = \frac{3}{(\ln 2\lambda_1 - 0,5)} + \frac{1}{(\ln 2\lambda_1 - 1,5)}$$

$$\lambda_1 = (15 [\eta'])^{\frac{1}{2}};$$

$$[\eta'] = [\eta] - c_v$$

a M_{wo} jest masą molową próbki referencyjnej.

Rysunki

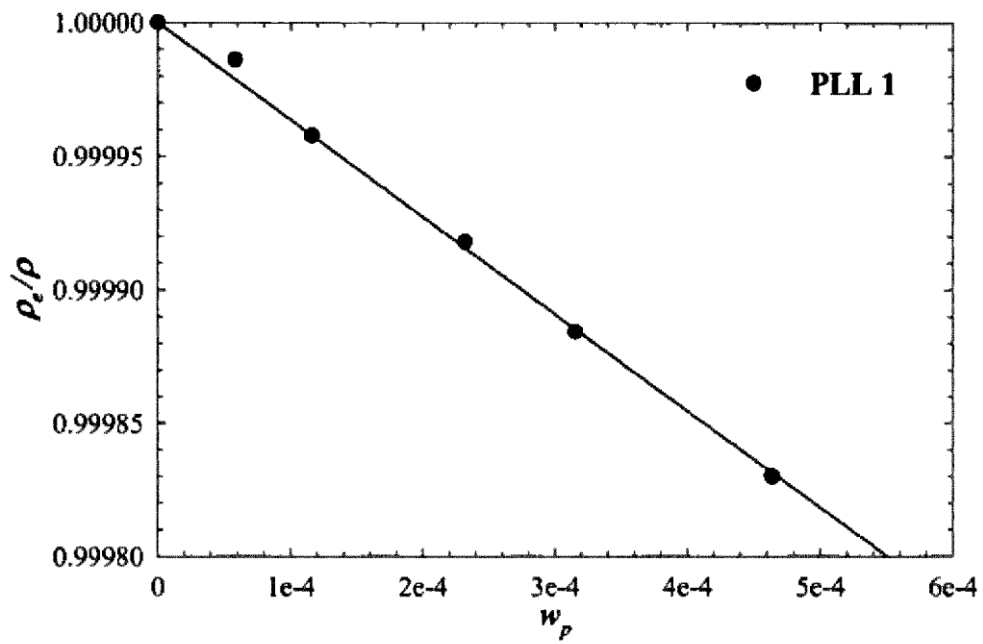


Fig. 1

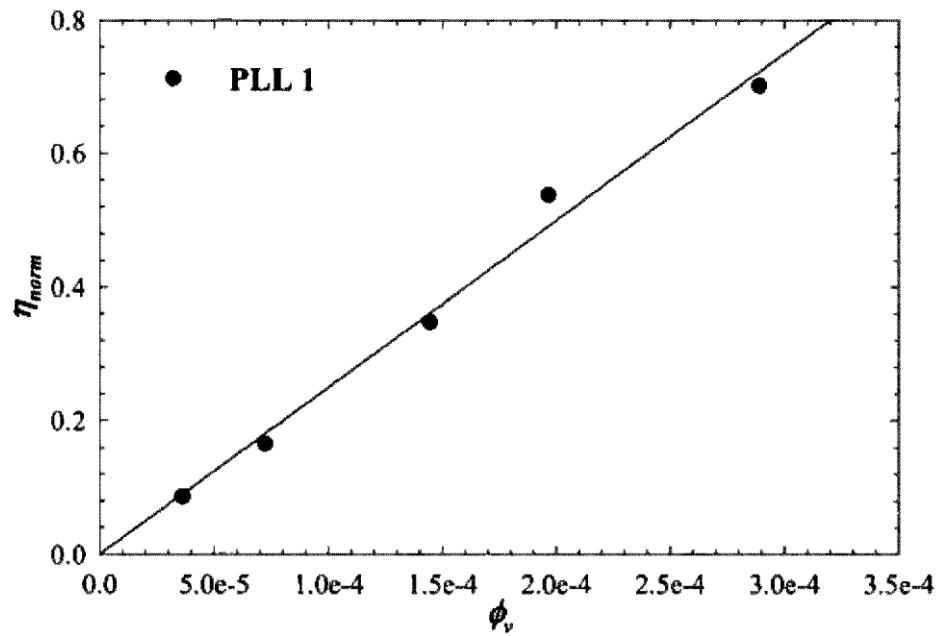


Fig. 2

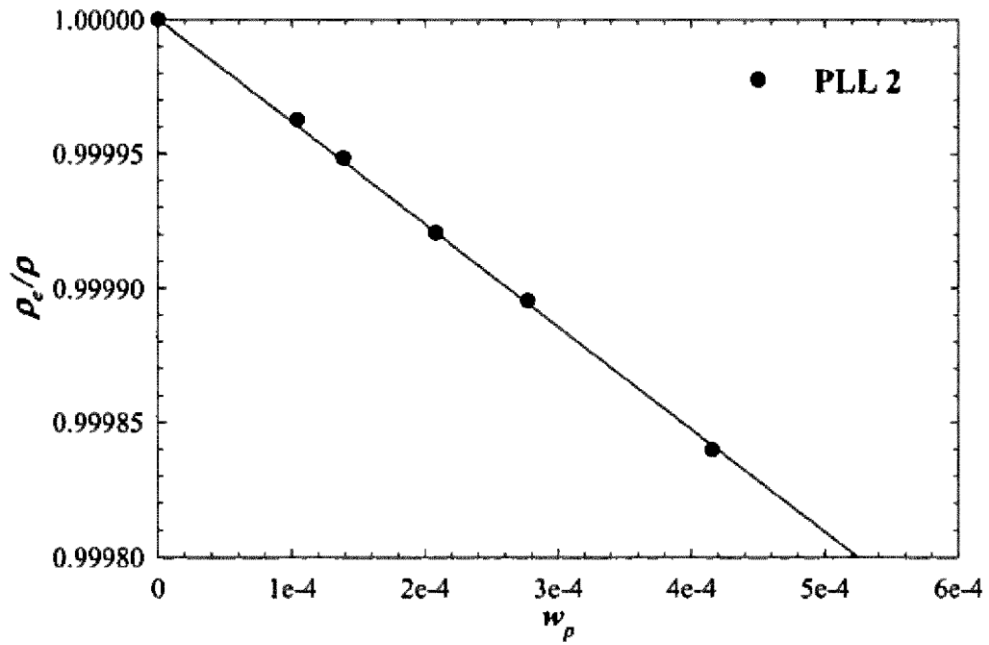


Fig. 3

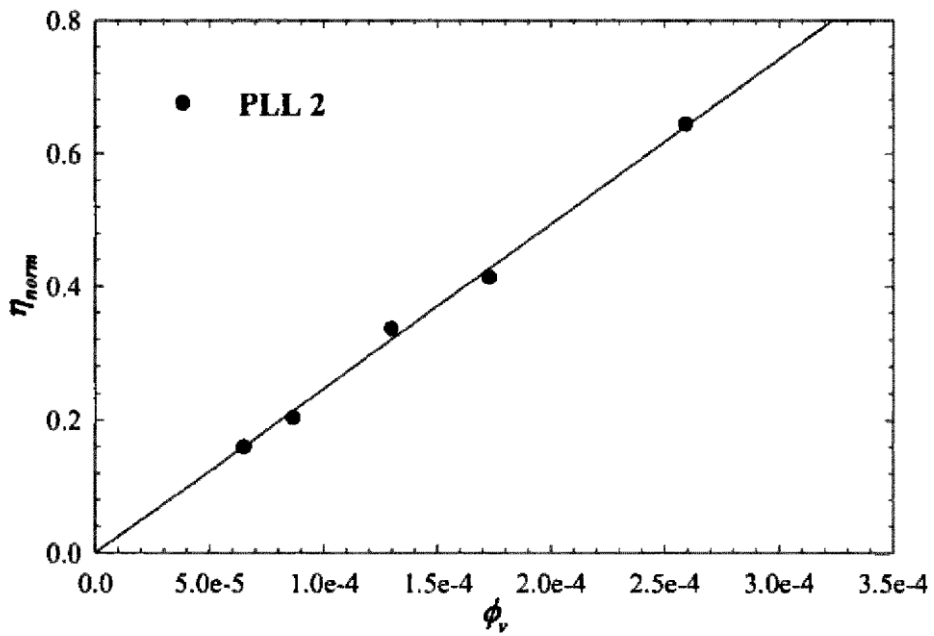


Fig. 4

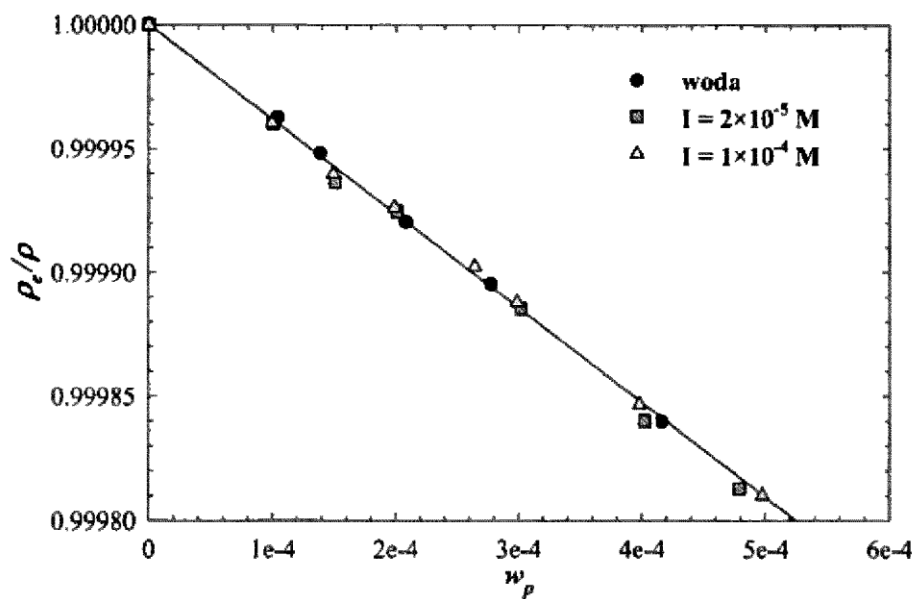


Fig. 5

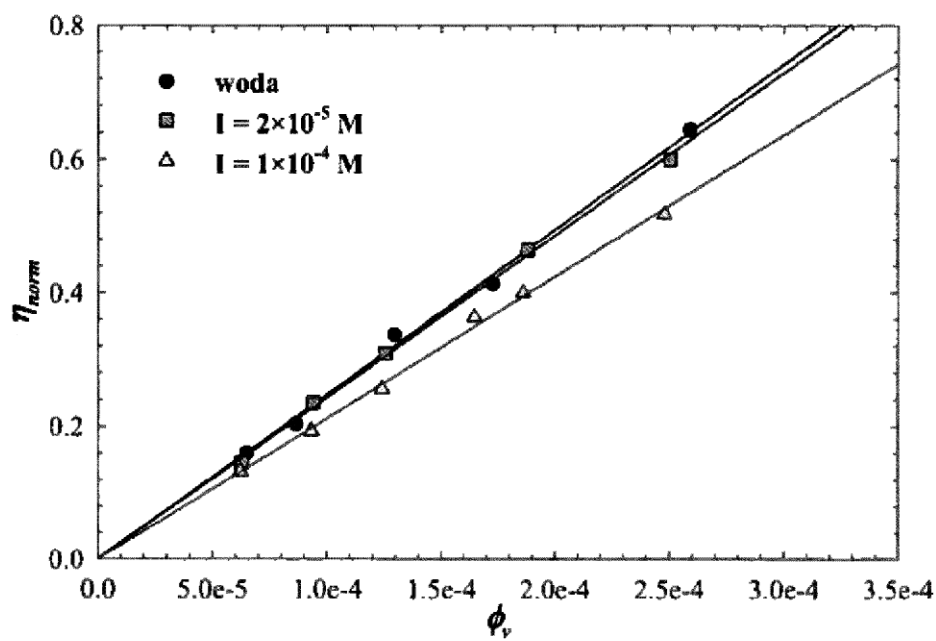


Fig. 6