

УДК 543.54 : 546.185

ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЯ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ФОСФАТОВ

В. В. Печковский, Г. Х. Черчес и М. И. Кузьменков

Рассмотрены принципы применения и возможности гель-хроматографии в исследованиях неорганических полимеров фосфора с целью определения размеров молекул, фракционирования смеси и получения индивидуальных фосфатов, а также анализа их молекулярновесового состава. Приведены результаты разработки методики и достижения гель-хроматографии конденсированных фосфатов. На примерах гель-хроматографии ряда солей описаны явления, происходящие в геле при элюировании неорганических соединений.

Библиография — 91 наименование.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|-----|
| I. Введение | 172 |
| II. Представление о гель-хроматографии неорганических соединений | 173 |
| III. Применение гель-хроматографии для исследования фосфатов | 181 |

I. ВВЕДЕНИЕ

Молекулярный вес и степень полидисперсности относятся к основным характеристикам высокомолекулярных соединений. Исследования показали¹⁻⁶, что многие свойства неорганических фосфатных полимеров непосредственно зависят от размеров молекул. В связи с этим большое значение приобретает разработка методов исследования молекулярновесового состава таких полимеров.

Для определения среднего молекулярного веса конденсированных фосфатов применяют почти все методы, известные в химии высокомолекулярных соединений: светорассеяния¹, ультрацентрифугирования^{7, 8}, вискозиметрический^{1, 9}, химический — по концевым группам¹⁰⁻¹², криоскопический¹³⁻¹⁵. Хроматографические методы анализа (хроматография на бумаге¹⁶⁻¹⁸, ионообменная¹⁹⁻²¹, тонкослойная²²⁻²⁴ и электрохроматография²⁵⁻²⁷) могут быть использованы для установления молекулярновесового распределения полимеров до 10—14 атомов фосфора в цепи. Дробное осаждение²⁸⁻³⁰ различными органическими и неорганическими реагентами является, пожалуй, единственным методом, применяемым для фракционирования высокомолекулярных фосфатов.

Применение новых перспективных методов выделения и разделения конденсированных фосфатов должно способствовать дальнейшему развитию представлений об их свойствах и строении.

Создание пористых гелей, обладающих различной проницаемостью для молекул разных размеров, вызвало быстрое и повсеместное развитие гель-хроматографии — метода разделения по молекулярному весу*.

С 1959 г., когда появилась первая работа по гель-хроматографии на сефадексах³¹, вышло в свет свыше 2000 публикаций по применению метода.

* В данном обзоре используется термин «гель-хроматография» как наиболее распространенный в хроматографии неорганических веществ на гелях.

В качестве носителей при гель-хроматографии используются³² как гидрофильные гели, например, декстрановые — сефадекс (Швеция), молселект (ВНР), полиакриламидные — биогель Р (США), акрилекс Р (ВНР), гели агарозы — сефароза (Швеция), биогель А (США); так и оргонофильные: производные сефадекса, криловые и полистирольные гели. Кроме того, в СССР были синтезированы³³ декстрановые (ЭД, ДЭД) и полиакриламидные (АМ) гидрофильные гели и стирол-дивинилбензолные (СДВ) гидрофобные, аналогичные по свойствам зарубежным образцам. Все гели выпускаются в виде сферических гранул разных размеров и, в зависимости от их пористости, делятся на несколько типов.

Метод гель-хроматографии был разработан и в основном используется для разделения, выделения, очистки, концентрирования и молекулярновесового анализа органических соединений. Теоретические основы и практические приложения метода в органической и биологической химии стали предметом значительного числа обзоров³⁴⁻⁴⁰.

В последнее время возможности и достижения гель-хроматографии привлекли внимание химиков-неоргаников. Было исследовано поведение галогенидов, нитратов, сульфатов и перхлоратов щелочных, щелочно-земельных и других одно- и двухвалентных металлов на сефадексах и биогелях в зависимости от концентрации, пористости геля, высоты колонки, типа, концентрации и рН элюента, скорости элюирования и температуры⁴¹⁻⁵². Метод гель-хроматографии применяли для изучения неорганических полимеров, таких как фосфаты⁵³⁻⁶⁷, силикаты⁶⁸, основные нитраты железа^{69, 70} и молибдаты⁷¹. С помощью гель-хроматографии исследовали комплексообразование с трилоном Б^{72, 73} и другими реагентами^{74, 75}. Использование метода для разделения и исследования различных ионов, комплексных соединений и неорганических полимеров рассмотрено в обзорах^{76, 77}.

Эти исследования стали решающими в создании представлений об особенностях процессов, происходящих в геле при элюировании растворов электролитов. В свою очередь, на этих знаниях основано практическое использование гель-хроматографии для определения размеров ионов, для разделения и очистки неорганических веществ, для установления молекулярновесового состава неорганических полимерных соединений.

II. ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

1. Процессы, происходящие в геле при элюировании

В общем виде слой геля можно представить следующей моделью³⁴: в набухшем геле растворитель образует две фазы — внутри гранул и между гранулами. В соответствии с этим полный объем слоя геля (V_t) можно выразить уравнением:

$$V_t = V_0 + V_i + V_m, \quad (1)$$

где V_0 — объем растворителя между гранулами (внешний, или свободный объем), V_i — объем растворителя внутри гранул (внутренний объем), V_m — объем матрицы геля.

В такой системе при элюировании растворенных молекул могут происходить различные явления. Преобладание того или иного явления определяется воздействием друг на друга геля, растворенного вещества и растворителя.

Многочисленные экспериментальные данные показывают, что растворенные молекулы вымываются из гель-хроматографической колонки в порядке уменьшения их размеров или молекулярных весов. Такой обратный молекулярно-ситовой эффект обусловлен тем, что растворенные молекулы разных размеров в различной степени проникают внутрь набухших гранул, что может быть связано как со стерическими факторами, так и с диффузией. Поэтому для любого растворенного вещества величина объема выхода V_e является промежуточной между элюентным объемом вещества, полностью исключенного из гранул геля, равным свободному объему V_0 и элюентным объемом вещества, равномерно распределенного между двумя фазами, равным полному объему растворителя $V_0 + V_i$, т. е.

$$V_e = V_0 + K_d V_i, \quad (2)$$

где K_d — коэффициент распределения вещества между двумя фазами растворителя, характеризующий степень проникновения вещества внутрь геля; по величине $0 \leq K_d \leq 1$.

В большинстве случаев в гель-хроматографическом поведении органических и неорганических веществ проявляется описанный молекулярно-ситовой механизм процесса, что подтверждается также совпадением экспериментальных данных с теоретическими расчетами соотношения между параметрами элюирования и молекулярными весами или размерами на основе различных моделей структуры геля⁷⁸⁻⁸⁰. Однако известен ряд примеров, особенно при элюировании ароматических и гетероциклических соединений⁸¹, а также их производных, имеющих ионизируемые группировки, и многих неорганических солей⁴¹, когда с помощью только молекулярно-ситового эффекта нельзя удовлетворительно объяснить наблюдаемые при гель-хроматографии явления.

Вторичные эффекты (вторичные — с точки зрения принципа разделения по молекулярным весам, но в некоторых случаях они могут стать определяющими) проявляются в нарушении порядка элюирования по уменьшению молекулярных весов или размеров, в существенно завышенных ($V_e > V_0 + V_i$) или заниженных (по сравнению с ожидаемыми, исходя из размеров) элюентных объемах, в появлении асимметричности хроматографических пиков и в зависимости параметров элюирования от концентрации растворенного вещества, природы и концентрации элюента. Эти явления могут быть результатом специфического взаимодействия геля с некоторыми веществами и ионами как в разделяемой смеси, так и в элюенте, а также с их комплексами друг с другом.

Аномально высокие значения коэффициентов распределения (или элюентных объемов) являются следствием задерживания вещества в колонке, вызванного ионным обменом или физической и химической адсорбцией вещества гелем. При этом вещество вымывается объемом растворителя, превышающим значение $V_0 + V_i$, а коэффициент распределения $K_d > 1$.

С другой стороны, в ряде случаев вещества вымываются из колонки раньше, чем это можно было ожидать с учетом их молекулярных размеров. Это явление, называемое ионной эксклюзией, объясняется тем, что наличие небольшого количества отрицательно заряженных карбоксилатных групп в сефадексе приводит к отталкиванию анионов вещества, в результате чего последние исключаются из гранул геля и элюируются раньше.

Проявление эффектов адсорбции и ионной эксклюзии можно наблюдать при элюировании сульфата, хлорида, нитрата и перхлората натрия на сефадексе G-15 0,1 М раствором NaCl⁴². Элюентные объемы этих

солей увеличиваются в ряду $\text{Na}_2\text{SO}_4 < \text{NaCl} < \text{NaNO}_3 < \text{NaClO}_4$. Нитрат натрия вымывается объемом растворителя, превышающим общий объем, перхлорат — еще медленней, а значение коэффициента распределения сульфата натрия ($\sim 0,1$) значительно меньше значения, ожидаемого, исходя из величины радиуса гидратированного сульфат-иона⁶². Кроме того, экспериментальные данные об элюировании хлоридов ряда металлов растворами $0,1 \text{ M KCl} + 0,01 \text{ M HCl}$; $0,1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4 + 0,005 \text{ M H}_2\text{SO}_4$; $0,1 \text{ M NaNO}_3 + 0,01 \text{ M HNO}_3$ или $0,1 \text{ M NaClO}_4 + 0,01 \text{ M HClO}_4$ на сефадексе G-25 показали, что значения K_d ионов металлов в нитратной и перхлоратной системе составляют, соответственно, $1,0$ — $1,5$ и $1,8$ — $2,7$;

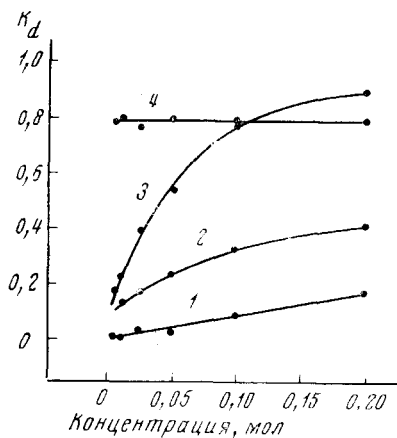


Рис. 1

Рис. 1. Влияние концентрации веществ на коэффициенты их распределения. Величины K_d рассчитаны из значений V_e , V_0 , V_i ⁴⁶. 1 — $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, 2 — Na_2HPO_4 , 3 — NaCl , 4 — глюкоза. (Сефадекс G-10, элюент — вода, объем раствора образца — 50 мл , скорость элюирования — 35 мл/час)

| | | | |
|---|-----------------|--------------------------------|--|
| А | Фаза I | Фаза II | |
| | Нет электролита | Na^+ | Cl^- |
| Б | Фаза I | Фаза II | |
| | Нет электролита | $\text{Na}^+ \text{SO}_4^{2-}$ | |
| В | Фаза I | Фаза II | Фаза III |
| | Нет электролита | $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$ | $\text{Na}^+ \text{Cl}^- \text{SO}_4^{2-}$ |

Рис. 2

Рис. 2. Схема распределения ионов в гранулах геля⁴²

а для сульфатной — весьма близки друг к другу и малы (до $0,4$)^{43, 44}. Эти данные позволяют сделать вывод о специфичном взаимодействии геля с этими ионами, т. е. об адсорбции гелем нитрат- и перхлорат-ионов и о значительном исключении из геля сульфат-иона.

Явление адсорбции можно также наблюдать при элюировании таких веществ такими элюентами, которые сами по себе индифферентны по отношению к гелю. Примером является элюирование хлоридов цинка и кадмия на сефадексе G-10 в зависимости от концентрации элюента-раствора NaCl ⁴⁵. При увеличении концентрации элюента ZnCl_2 и CdCl_2 образуют хлоридные комплексы, из-за адсорбции которых гелем наблюдается значение $K_d > 1$.

Эффект ионной эксклюзии можно ослабить применением подходящего элюента, содержащего фоновый электролит, нейтрализующий действие геля. Замечено, что вторичные эффекты усиливаются, когда в качестве элюента используется вода без электролитного фона. Например^{46, 47}, при элюировании водой растворов некоторых электролитов значения их K_d относительно малы и возрастают с концентрацией растворов. При использовании электролитного элюента значения K_d увеличиваются. Элюентные кривые неэлектролитов, например глюкозы, не зависят от этих факторов (рис. 1).

Для объяснения процессов, происходящих в геле при элюировании растворов электролитов, предполагали, что проникновение электролит

ного фона во внутреннюю часть фазы геля является неполным из-за стерических и электростатических факторов^{42, 48}. Указания о том, что часть воды при набухании геля затрачивается на гидратацию полисахаридных цепей декстрана⁸¹, подтверждает существование области внутри геля, недоступной для растворенных молекул. Эти свойства геля отражены схематически на рис. 2. Их влияние рассмотрено на примере поведения ионов Mg^{2+} в системах $MgCl_2-NaCl$ и $MgSO_4-Na_2SO_4$ ⁴².

Если фоновый электролит, т. е. $NaCl$, в ограниченной степени проникает внутрь гранул, то внутренняя часть геля делится как бы на две фазы, различающиеся наличием или отсутствием данного электролита

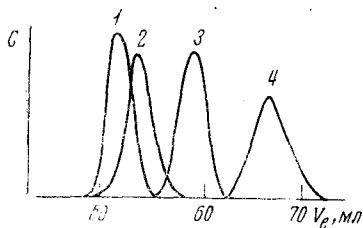


Рис. 3. Влияние состава элюента на объемы выхода ионов Mg^{2+} ⁴². Образец — $0,01 M MgCl_2$, $1 ml$. Элюенты: 1 — $0,1 M Na_2SO_4$, 2 — $0,075 M Na_2SO_4 + 0,025 M NaCl$, 3 — $0,05 M Na_2SO_4 + 0,05 M NaCl$, 4 — $0,1 M NaCl$. (Сефадекс G-15, колонка $1,5 \times 60$ см, скорость элюирования $20-30 ml/час$). Здесь и на других рисунках с изображением элюентных кривых C обозначает относительную концентрацию вещества в элюате

(рис. 2, А). Степень проникновения электролита, т. е. протяженность фазы II, определяется, в основном, размером большего иона. Так как эффективные размеры ионов увеличиваются в порядке Cl^- , Na^+ , SO_4^{2-} , то протяженность фазы II в сульфатной системе будет меньше, чем в хлоридной (рис. 2, Б). В гомогенной системе образец — элюент эффективность элюирования ионов Mg^{2+} зависит от степени проникновения противоиона в фазу II, так как ион Mg^{2+} должен находиться вблизи своего аниона для сохранения электронной нейтральности раствора. В хлоридной системе ионы Mg^{2+} проникают в гель соответственно своим размерам, так как ион Cl^- меньше иона Mg^{2+} . Проникновение в гель ионов Mg^{2+} в сульфатной системе определяется размерами большего, чем ион Mg^{2+} , иона SO_4^{2-} . Таким образом, доступный для ионов Mg^{2+} объем в сульфатной системе меньше, чем в хлоридной. При использовании в качестве элюента смешанного раствора $NaCl + Na_2SO_4$ внутренняя жидкая фаза рассматривается как состоящая из трех областей (рис. 2, В). Дополнительная фаза III содержит ионы Na^+ , Cl^- и SO_4^{2-} . Так как ионы Mg^{2+} и SO_4^{2-} взаимодействуют с образованием комплексов, проникновение ионов Mg^{2+} в гель будет определяться соотношением протяженности фаз II и III. Этим можно объяснить результаты элюирования $MgCl_2$ раствором $NaCl + Na_2SO_4$ в различных соотношениях (рис. 3).

Как было сказано ранее, вторичные эффекты отражаются также на зависимости положения и формы элюентных кривых от концентрации вещества. Степень асимметричности элюентного пика можно оценить отношением F/B ⁴⁶, где F и B — измеренные на $1/2$ высоты пика расстояния от вертикали до восходящей и нисходящей ветви, соответственно. Например, исследовано влияние концентрации на V_e и симметричность пика в системах образец — элюент: $MgSO_4-Na_2SO_4$, $Mg(ClO_4)_2-NaClO_4$, $Mg(NO_3)_2-NaNO_3$ ⁴², $MgCl_2-NaCl$, $SrCl_2-NaCl$, $BaCl_2-NaCl$ ⁴⁴. Анализ этих данных (рис. 4) позволил выявить три типа зависимостей элюентного объема от концентрации раствора образца⁴⁴: 1) $\frac{dV_e}{d \lg [Me]} = 0$

(кривые 1, 2 при концентрациях $< 0,1 M$); 2) $\frac{dV_e}{d \lg [Me]} < 0$ (кривые 3—5

при концентрациях $< 0,1$ М и кривая 6 при всех исследованных концентрациях); 3) $\frac{dV_e}{d \lg [Me]} > 0$ (кривые 1—5 при концентрациях $> 0,1$ М). При этом в большинстве случаев величина F/B принимала значения $F/B=1$, $F/B < 1$ и $F/B > 1$, соответственно.

Эти данные отражают процессы, происходящие в системе. Если проявляется только молекулярно-ситовой механизм, то элюентные кривые симметричны и величины K_d не зависят от концентрации и удовлетворяют соотношению $0 \leq K_d \leq 1$. Для веществ, у которых при малых кон-

Рис. 4. Зависимость элюентного объема и коэффициента распределения от концентрации образца $[Me]$ ^{42, 44} для систем образец — элюент:

1 — $MgSO_4$ — Na_2SO_4 ,
2 — $MgCl_2$ — $NaCl$,
3 — $SrCl_2$ — $NaCl$,
4 — $Mg(NO_3)_2$ — $NaNO_3$,
5 — $BaCl_2$ — $NaCl$,
6 — $Mg(ClO_4)_2$ — $NaClO_4$.
(Сефадекс G-15, колонка $1,5 \times 60$ см, объем раствора — 1 мл, концентрация элюента 0,1 М, скорость элюирования 20—30 мл/час)

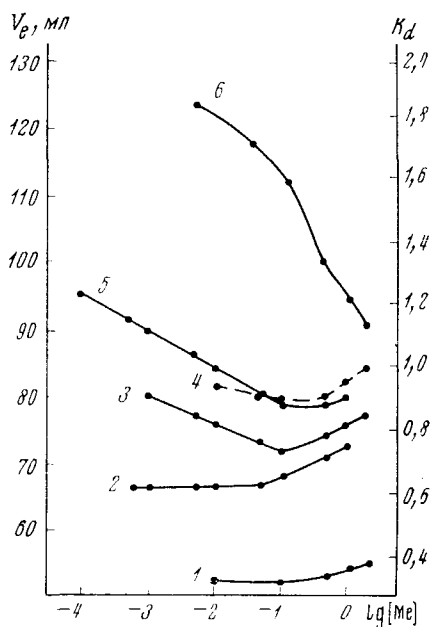


Рис. 4

центрациях пики симметричны и $0 \leq K_d \leq 1$, изменение V_e и формы пика с ростом концентрации объясняется тем, что при увеличении ионной силы раствора уменьшается степень гидратации иона и матрицы геля, что приводит к увеличению K_d . Кроме того, в результате изменения степени гидратации в растворе могут присутствовать гидратированные ионы различных размеров, кривая элюирования которых отличается от гауссовской. В этом случае действует, главным образом, молекулярно-ситовой механизм.

Асимметричность пиков и значения $K_d > 1$ при малых концентрациях являются следствием вторичных процессов.

2. Обработка экспериментальных данных и результаты гель-хроматографии

Хотя в некоторых случаях рассмотренные вторичные эффекты, отражающие сродство к фазе геля, можно использовать для разделения³⁴, главным достоинством и основой применения гель-хроматографии является существование зависимости между молекулярным весом или размерами и объемом выхода, а это возможно тогда, когда причиной разделения веществ является только молекулярно-ситовой механизм. Для различных веществ найдены разнообразные уравнения,

выражающие зависимость объема выхода от молекулярного веса³⁴, «эффективной длины цепи»⁸³, стоксовского радиуса⁸⁴, гидродинамического⁸⁵ и мольного объема⁸⁶. В этих уравнениях используются параметры, связанные с объемом выхода V_e/V_t , V_e/V_0 , а также коэффициенты распределения, с введением которых становится возможным сравнивать результаты, полученные на разных колонках и гелях.

Коэффициент распределения является характеристикой поведения вещества в геле, и различие его значений для разных веществ может указывать на различия в механизме разделения.

Из уравнения (2)

$$K_d = \frac{V_e - V_0}{V_t} \quad (3)$$

т. е. для определения K_d необходимо знать величины свободного и внутреннего объема геля. V_0 определяют с помощью веществ, полностью исключаемых из геля, элюентный объем которых $V_e = V_0$, а $K_d = 0$. Для этой цели чаще всего используют высокомолекулярный полисахарид — синий декстран, а при изучении неорганических систем — высокомолекулярный фосфат (например, соль Курроля⁵³). V_t определяют следующими способами.

Если предположить, что такие вещества как HCl, NaCl равномерно распределены между двумя фазами, их элюентный объем $V_e = V_0 + V_t$, а $K_d = 1$ ⁴⁶. На этом же предположении основано применение для определения V_t тритиевой воды ТНО⁵³. Однако при сравнении объемов выхода ТНО и $H_2^{18}O$ найдено⁸⁷, что вследствие изотопного обмена, V_e ТНО несколько больше, чем V_e $H_2^{18}O$. Считая K_d $H_2^{18}O$ равным 1, определены значения K_d ТНО для сефадексов G-10—1,09; G-15—1,06; G-200 < 1,02⁸⁷.

В ряде случаев для определения V_t используют уравнение (1):

$$V_t = V_e - V_0 - V_m \quad (4)$$

Объем матрицы геля находят по величине его удельного объема, равного 0,61⁸⁸.

В работе⁴⁴ V_t определяли по разности весов колонки с гелем (ω), пустой колонки (ω_t) и геля (a), количественно перенесенного из колонки, промытого этанолом и высушенного в вакууме при 80° в течение 6 часов:

$$V_t = (\omega - \omega_t - a - \rho V_0) / \rho \quad (5)$$

где ρ — плотность воды.

В связи с существованием в геле области, недоступной для растворенных молекул, авторы⁸⁹ ввели понятие эффективного внутреннего объема, равного 0,8 V_t . Для определения (V_t)_{эф} рекомендуется использовать ионы Cl^- и Br^- , но не F^- , I^- , SO_4^{2-} , SCN^- , Cu^{2+} , Fe^{3+} .

Из-за неопределенности и трудности нахождения V_t удобно использовать коэффициент распределения K_{av} ⁸⁰, для расчета которого требуются легко определяемые величины:

$$K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0} \quad (6)$$

K_{av} связан с K_d уравнением:

$$K_{av} = K_d \frac{V_t}{V_t + V_m} \quad (7)$$

Различие значений обоих коэффициентов распределения уменьшается при увеличении пористости геля.

Кроме колоночного метода, т. е. в условиях элюирования, коэффициенты определяют в статических условиях^{45, 53, 54}. Метод основан на допущении, что концентрация веществ в фазе геля такая же, как во внешней жидкой фазе. Определенные количества геля и раствора с концентрацией C_1 вещества в элюенте перемешивают до установления равновесия. После отстаивания определяют концентрацию вещества (C_2) в растворе над набухшим гелем. Тогда

$$K_d = 1 - \frac{V'_0 + V'_i}{V'_i} \cdot \frac{C_2 - C_1}{C_2} \quad (8)$$

где V'_0 и V'_i — свободный и внутренний объем растворителя. Сумма $V'_0 + V'_i$ считается равной взятому объему раствора, а V'_i определяется с помощью веществ при $K_d = 0$.

Сравнение коэффициентов распределения, найденных в условиях элюирования и в статических условиях, используют для оценки вклада диффузии растворенных веществ в процесс разделения^{53, 54}. Кроме того,

значение $D = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \cdot 100$ отражает вклад адсорбции, в результате которой $C_1 > C_2$ и $D > 0$ ⁴⁵.

Авторы⁴¹ выдвинули гипотезу об аддитивности вкладов катиона и аниона в значение K_d ионных веществ, т. е.

$$K_d = \frac{s\Phi_c + t\Phi_a}{s + t} \quad (9)$$

где t и s — заряды катиона и аниона, соответственно, Φ_c и Φ_a — индивидуальные вклады катиона и аниона в K_d . Принимая для иона Na^+ $\Phi_c = 1$, относительные значения Φ_c и Φ_a были определены методом, подобным определению радиусов в кристалле. Получено хорошее совпадение с экспериментальными значениями K_d ряда солей на биогеле Р-2.

Чтобы использовать метод гель-хроматографии для определения молекулярных весов, полидисперсности и размеров молекул исследуемых веществ, параметры элюирования связывают с искомыми характеристиками и используют найденные математические и графические зависимости как калибровочные.

Практически в большинстве случаев наблюдается линейная зависимость объема выхода от логарифма молекулярного веса.

Лучшим способом построения калибровочной прямой является использование монодисперсных фракций исследуемого полимера, так как соотношение между молекулярным весом и размерами может существенно отличаться для каждого типа соединений. Однако в ряде случаев используют и калибровочные прямые, полученные с помощью стандартных образцов, например, узких фракций полистирола или белков³⁴.

Элюентная кривая фракционирования полидисперсного полимера на предварительно калиброванной колонке может применяться для характеристики его молекулярновесового распределения. Кривые распределения могут быть также получены по данным анализа молекулярного веса и количества каждой фракции, полученной в результате препаративной гель-хроматографии.

Рассмотрение различных процессов, происходящих при элюировании в гель, дает возможность заключить, что использование калибровок для нахождения размеров ионов или молекулярных весов возможно, когда

причиной разделения веществ является только молекулярно-ситовой механизм. При этом предполагается отсутствие взаимодействий геля, вещества и элюента, выражающихся в адсорбции, ионной эксклюзии, ионном обмене, комплексообразовании.

Во многих случаях поведение неорганических солей при гель-хроматографии подчиняется молекулярно-ситовому механизму. Так, например, сравнение значений коэффициентов распределения хлоридов щелочно-земельных металлов с радиусами ионов (рис. 5) показывает, что эти

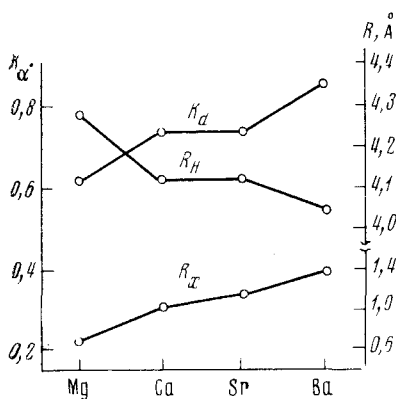


Рис. 5

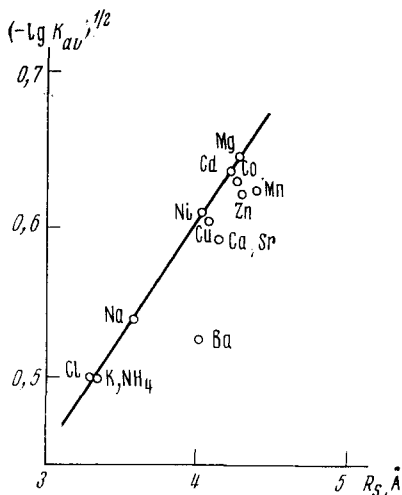


Рис. 6

Рис. 5. Сравнение значений коэффициентов распределения и размеров ионов щелочно-земельных металлов R_x — радиус иона в кристалле, R_H — радиус гидратированного иона. (Сефадекс G-15, элюент — 0,1 М NaCl + 0,01 М HCl, количество образца 1 мл 0,01 М раствора, скорость элюирования 20–30 мл/час)

Рис. 6. Соотношение между значениями $(-\lg K_{av})^{1/2}$ и R_s некоторых ионов ⁴³

соли элюируются в порядке уменьшения размеров гидратированных катионов ⁴⁸.

Из модели геля в виде сети прямых, жестких нитей, бесконечно длинных и случайно распределенных в геле ⁸¹, получено соотношение между коэффициентами распределения и радиусами (R_s) растворенных молекул:

$$(-\lg K_{av})^{1/2} = A \cdot R_s + B \quad (10)$$

где A и B — постоянные для данного геля.

Зависимость $(-\lg K_{av})^{1/2}$ от R_s для ряда ионов, элюируемых 0,1 М раствором KCl на сефадексе G-15 ⁴³, приведена на рис. 6. Данные для ионов, не образующих хлоридные комплексы и не адсорбирующихся гелем, ложатся на прямую, которую можно использовать в качестве калибровочной для оценки размеров ионов.

Приведенные результаты иллюстрируют применение гель-хроматографии для исследования неорганических веществ. С помощью гель-хроматографии определяли размеры различных ионов ^{43, 48, 72}. Кроме того, метод можно использовать для разделения ионов ^{50–52}, а также для исследований неорганических полимеров. Получены данные о свойствах поликремневой кислоты ⁶⁸, о существовании различных видов полимерных молибдатов ⁷¹, о составе полимеров $\text{Fe}(\text{OH})_x(\text{NO}_3)_{3-x}$ ^{69, 70}.

Быстрое развитие применения гель-хроматографии в исследованиях неорганических полимеров фосфора позволяет обобщить имеющиеся данные и определить дальнейшие возможности использования этого метода.

III. ПРИМЕНЕНИЕ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОСФАТОВ

Для установления закономерностей гель-хроматографического поведения фосфатов и разработки методики были проведены исследования различных индивидуальных фосфатов⁵³⁻⁵⁹ как линейных, так и циклических и с разной степенью окисления фосфора, а также образцов полифосфорных кислот^{58, 60, 61} и полифосфатов⁶²⁻⁶⁷ с различным молекулярновесовым распределением. Исследовалось влияние различных факторов на поведение фосфатов при хроматографировании: концентрации образца и элюента⁵⁵, pH^{54, 55}, скорости элюирования, температуры⁵⁷, пористости^{55, 57} и размеров частиц⁵⁷ геля, параметров колонки^{57, 58}.

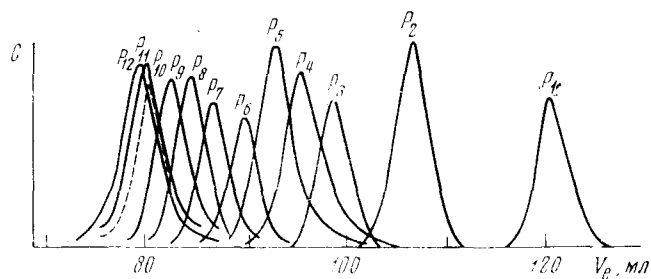


Рис. 7. Элюентные кривые линейных фосфатов⁵⁴. $P_1 \div P_{12}$ — полифосфаты с числом атомов фосфора в цепи 1÷12, соответственно. (Сефадекс G-25, колонка 1,5×90 см, элюент — 0,1 М KCl pH 7,0, концентрация и объем образца 0,003—0,005 г-атом P/л 1 мл, скорость элюирования 20—30 мл/час)

Концентрацию фосфата во фракциях элюата определяли колориметрическими (для химического анализа на фосфор⁵³⁻⁵⁵) и рефрактометрическими методами с применением соответствующей аппаратуры, например: интерферометра⁵⁸ или проточного дифференциального рефрактометра⁵⁷. При исследовании полифосфорных кислот pH элюата измеряли с помощью pH-метра со специально сконструированной проточной микроячейкой^{60, 61}. Степень полимеризации фосфатов во фракциях элюата контролировали методами потенциометрического титрования^{66, 67} и хроматографии на бумаге^{58, 60, 65}.

Многие авторы указывают на то, что фосфаты вымываются из колонки с гелем в порядке уменьшения их молекулярных весов. Такая зависимость найдена для линейных фосфатов с числом атомов фосфора в цепи 1—12, элюируемых 0,1 М раствором KCl на сефадексе G-25⁵⁴ (рис. 7), для орто-, пиро- и триполифосфата натрия на сефадексах G-10, G-15, G-25, G-50⁵⁵ (рис. 8). Значения коэффициентов распределения линейных фосфатов (табл. 1) и соединений, содержащих до четырех атомов фосфора с различной степенью окисления (табл. 2) лежат в пределах $0 \leq K_d \leq 1$.

Приведенные результаты, т. е. порядок элюирования, значения K_d , симметричность пиков, согласуются с представлениями о размерах полифосфатных анионов и указывают на то, что механизм разделения основан только на молекулярно-ситовом эффекте.

ТАБЛИЦА 1

Значения коэффициентов распределения линейных фосфатов $\text{Na}_{(n+2)}\text{P}_n\text{O}_{(3n+1)}$
(Сефадекс G-25, элюент 0,1 М КСl, концентрация образцов 0,003—0,005 г-атом Р/л)

| Число атомов Р в полифосфате | K_d * | Число атомов Р в полифосфате | K_d | Число атомов Р в полифосфате | K_d | Число атомов Р в полифосфате | K_d |
|------------------------------|---------|------------------------------|-------|------------------------------|-------|------------------------------|-------|
| P_1 | 0,78 | P_6 | 0,41 | P_8 | 0,30 | P_{12} | 0,21 |
| P_2 | 0,62 | P_8 | 0,38 | P_9 | 0,28 | P_{13} | 0,17 |
| P_3 | 0,52 | P_7 | 0,34 | P_{10} | 0,24 | | |
| P_4 | 0,46 | | | P_{11} | 0,23 | | |

* Значения K_d фосфатов $\text{P}_4 \div \text{P}_{13}$ рассчитаны из величин K_{av}^{54}

ТАБЛИЦА 2

Влияние концентрации элюента на значения коэффициентов распределения (K_d) некоторых фосфорсодержащих соединений⁵⁵. (Сефадекс G-25, концентрация образцов 0,002—0,005 г-атом Р/л)

| Соединение | | Элюент | | | |
|---|--|--------|-------------|-------|-------|
| Формула | Обозначение * | Вода | Раствор КСl | | |
| | | | 0,1 М | 0,5 М | 1,0 М |
| $\text{NaPH}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | P^1 | — | 0,80 | 0,83 | 0,83 |
| $\text{Na}_2\text{PHO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | P^3 | — | 0,78 | 0,83 | 0,84 |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | P_1 | 0,36 | 0,78 | 0,83 | 0,84 |
| $\text{Na}_3\text{P}_2\text{HO}_5 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^2 - \text{P}^4$ | — | 0,64 | 0,74 | 0,76 |
| $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^4 - \text{P}^4$ | — | 0,67 | 0,77 | 0,79 |
| $\text{Na}_2\text{P}_2\text{H}_2\text{O}_5$ | $\text{P}^3 - \text{O} - \text{P}^3$ | — | 0,59 | 0,66 | 0,69 |
| $\text{Na}_3\text{P}_2\text{HO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^3 - \text{O} - \text{P}^5$ | — | 0,61 | 0,70 | 0,73 |
| $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ | P_2 | 0,30 | 0,62 | 0,71 | 0,75 |
| $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_8 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^4 - \text{P}^3 - \text{P}^4$ | — | 0,61 | 0,73 | 0,76 |
| $\text{Na}_4\text{P}_3\text{HO}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^3 - \text{O} - \text{P}^4 - \text{P}^4$ | — | 0,50 | 0,62 | 0,70 |
| $(\text{NH}_4)_5\text{P}_3\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^5 - \text{O} - \text{P}^4 - \text{P}^4$ | — | 0,51 | 0,67 | 0,70 |
| $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | P_3 | 0,21 | 0,52 | 0,62 | 0,69 |
| $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | P_{3m} | — | 0,52 | 0,67 | 0,70 |
| $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{11} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ | $\text{P}^4 - \text{P}^4 - \text{O} - \text{P}^4 - \text{P}^4$ | — | 0,46 | 0,62 | 0,64 |
| $\text{Na}_4\text{P}_4\text{O}_{10} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | $(-\text{P}^4 - \text{P}^4 - \text{O}-)_2$ | — | 0,48 | 0,62 | 0,65 |
| $\text{Na}_4\text{P}_4\text{O}_{12} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | P_{4m} | — | 0,46 | 0,60 | 0,65 |

* Верхний индекс обозначает степень окисления фосфора; нижний—степень полимеризации полифосфата и метафосфата (m).

Циклические тримета- и тетраметафосфат на сефадексе G-25 элюируются вместе с линейными⁵⁵ (рис. 8) согласно их размерам.

Исследование зависимости гель-хроматографического поведения полимерных фосфатов от различных факторов дало возможность разрешить существенные вопросы методики и выбрать наиболее подходящие параметры, при использовании которых соблюдаются необходимые условия для проявления молекулярно-ситового механизма и для возможности анализа конденсированных фосфатов с помощью калибровок.

Существование гелей различной пористости дает возможность анализировать полимеры в широком интервале значений молекулярных весов. В случае органических соединений найдены пределы молекулярных весов, характерные для каждого типа геля³⁴. В связи с особенностями поведения неорганических веществ в геле эти значения могут быть другими, так как в этом случае более важную роль могут приобретать:

явление ионной эксклюзии, гидратация ионов; а в случае фосфатов — и свойства, обусловленные их полиэлектролитной природой.

При элюировании неоднородного образца полифосфата натрия со средней степенью полимеризации $\bar{n}=14$ на сефадексах G-25 и G-50 замечено, что коэффициенты распределения составляющих полифосфатов на сефадексе G-25 близки друг к другу и приближаются к нулю,

Рис. 8. Элюентные кривые некоторых фосфатов на разных сефадексах⁵⁵. 1 — G-10, 2 — G-15, 3 — G-25, 4 — G-50. $P_1 \div P_4$ — полифосфаты с числом атомов фосфора в цепи 1—4, соответственно; P_{3m} и P_{4m} — тримета- и тетрамета-фосфат натрия. СД — синий декстран, ТНО — тритневая вода. (Колонки: $1,5 \times 90$ см; для G-50 — $1,2 \times 130$ см; элюент — 0,1 М KCl, концентрация и объем образца 0,002—0,005 г-атом P/л мл, скорость элюирования 20—30 мл/час)

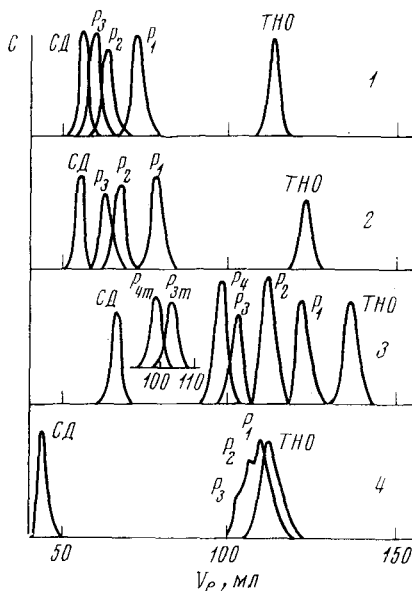


Рис. 8

Рис. 9. Влияние пористости геля на соотношение между логарифмом молекулярного веса (M) и элюентным объемом⁵⁷. 1 — сефадекс G-10, 2 — биогель Р-2, 3 — сефадекс G-25, 4 — сефадекс G-50. (Элюент — 0,010 М NaCl, на сефадексе G-25 — 0,025 М Na_2HPO_4 ; размеры колонок: диаметр 0,61—0,62 см, высота 120—126 см)

Рис. 10. Влияние концентрации образца на элюентные кривые $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ⁵⁵. Концентрация, г-атом P/л: 1 — 0,001; 2 — 0,005; 3 — 0,01; 4 — 0,05; 5 — 0,1; 6 — 0,5; 7 — 1,0. (Сефадекс G-25, колонка $1,5 \times 60$ см, элюент 0,1 М KCl, объем раствора образца — 1 мл, скорость элюирования 20—30 мл/час)

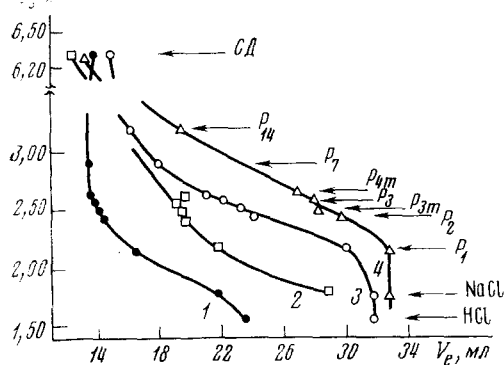


Рис. 9

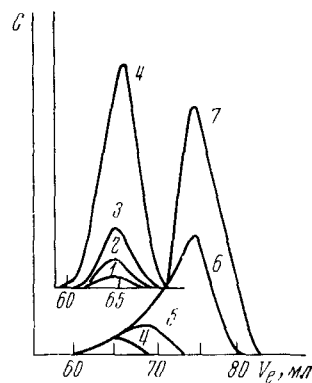


Рис. 10

в то время как на сефадексе G-50 распределение происходит во всем доступном объеме⁵⁷. Однако при этом сравнении другие факторы: природа и концентрация элюента, количество раствора образца не оставались неизменными. Характерное для гелей разной пористости смещение элюентных объемов и различное качество разделения хорошо отражаются на приведенном на рис. 8, 9 изменении V_e ряда фосфатных образцов, элюируемых на различных гелях^{55, 57}. Эти результаты показывают, что наиболее удовлетворительное разделение олигофосфатов происходит на сефадексе G-25.

Как было показано при рассмотрении гель-хроматографического поведения неорганических веществ, элюент может оказывать существенное влияние на распределение веществ в процессе элюирования. Влияние фонового электролита на разделение фосфатов также изучено.

Значения коэффициентов распределения орто-, пиро- и триполифосфата, элюируемых водой на сефадексе G-25, экстремально низки по сравнению с величинами, полученными при использовании в качестве элюента растворов KCl⁵⁵ (табл. 2). Низкие значения K_d авторы объяснили эффектом ионной эксклюзии, который устраняется добавлением к элюенту KCl. Для этой цели достаточна концентрация электролита $< 0,01$ М. С увеличением концентрации KCl значения K_d анионов с различной степенью окисления фосфора несколько увеличиваются (табл. 2). Этот эффект можно объяснить несколькими причинами. Так как полифосфаты обладают свойствами полиэлектролитов, то размер их полианионов должен уменьшаться с увеличением ионной силы раствора. Это может быть связано также с уменьшением степени гидратации анионов. Кроме того, согласно предварительным опытам⁵⁵, значение V_i сефадекса G-10 увеличивалось с увеличением концентрации KCl в элюенте.

При исследовании поведения хлоридов щелочноземельных металлов в элюентах 0,1 М NaCl и 0,1 М NaCl + 0,01 М HCl⁴⁸, лучшее разделение было достигнуто при использовании кислого элюента. В случае фосфатов применение кислого элюента нежелательно из-за увеличения вероятности гидролиза. В связи с этим были проведены исследования по влиянию pH элюента на значения коэффициентов распределения.

При исследовании линейных фосфатов⁵⁴ заметных изменений значений K_d не наблюдали при использовании элюентов с pH 2,0; 4,6; 7,0; 9,2, полученных добавлением к 0,1 М KCl соответственно раствора HCl, фталатного, *трис*- и аммиачного буферных растворов. Аналогичные результаты получены при разделении анионов с различной степенью окисления фосфора⁵⁵. Только при добавлении боратного буферного раствора с pH 7,0 и 9,2 значения K_d оказались ниже, вследствие электростатического отталкивания фосфат-ионов и удерживаемых гелем борат-ионов, которые способны к взаимодействию с декстраном в зависимости от pH⁹⁰. Результаты еще раз подтвердили необходимость внимательного выбора элюента, если надо разделять молекулы на основе молекулярно-ситового эффекта.

Для подтверждения молекулярно-ситового механизма необходимо выяснить влияние концентрации исследуемых веществ на коэффициенты их распределения и симметричность пиков.

Значения K_d некоторых фосфорсодержащих соединений в зависимости от концентрации приведены в табл. 3.

Концентрационные зависимости положения и формы элюентных пиков показаны на примере триполифосфата натрия (рис. 10). При концентрации образца ниже 0,01 г/атом Р/л элюентные кривые симметричны и положение пика не изменяется. При концентрации образца выше 0,01 г/атом Р/л наблюдается смещение кривых в сторону больших объемов и появление асимметричности пиков с $F/B > 1$. Авторы предполагают, что это связано с существованием в различной степени гидратированных фосфатных анионов. Кроме того, с увеличением концентрации полифосфата уменьшается степень его диссоциации⁹¹, а это, в случае полиэлектролитов, приводит к уменьшению размеров полианионов. Исследование⁵⁷ влияния концентрации на параметры элюирования орто-, пиро- и триполифосфата натрия привело к аналогичным результатам.

ТАБЛИЦА 3

Зависимость коэффициентов распределения (K_d) от концентрации образца⁵⁵.
(Сефадекс G-25, элюент 0,1 М КСl)

| Соединение * | Концентрация, г/атом Р/л | | | | | | |
|--|--------------------------|-------|------|------|------|------|------|
| | 0,001 | 0,005 | 0,01 | 0,05 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| P ³ | 0,78 | 0,78 | 0,78 | — | 0,79 | — | 0,80 |
| P ₁ | 0,78 | 0,79 | 0,79 | — | 0,80 | — | 0,80 |
| P ₁ —P ⁴ | 0,66 | 0,66 | 0,66 | 0,69 | 0,71 | — | — |
| P ₂ | 0,62 | 0,63 | 0,63 | — | 0,69 | — | — |
| P ₃ | 0,52 | 0,50 | 0,51 | 0,55 | 0,57 | 0,66 | 0,70 |
| P _{3m} | 0,52 | 0,52 | 0,52 | — | 0,58 | — | 0,69 |
| P ⁴ —P ⁴ —O—P ⁴ —P ⁴ | 0,46 | 0,46 | 0,46 | — | 0,50 | — | 0,66 |
| (—P ⁴ —P ⁴ —O—) ₂ | 0,48 | 0,48 | 0,47 | — | — | — | — |
| P _{4m} | 0,46 | 0,46 | 0,45 | — | 0,50 | — | 0,63 |

* Обозначения см. в табл. 2

Многие авторы указывают на возрастание эффективности процесса при увеличении высоты колонки. Применительно к фосфатам это оказалось также справедливым. Использование более высоких колонок приводит к увеличению разности V_e соседних полимергомологов и к лучшему разрешению пиков⁵⁸, однако одновременно происходит уширение кривых, вносящее отрицательный эффект. При хроматографировании смеси орто-, пиро- и триполифосфата натрия на сефадексе G-25 0,01 М раствором NaCl коэффициенты распределения при использовании колонок высотой 60 и 500 см⁵⁷ одинаковы. Очевидно, характер зависимости элюирования фосфатов от параметров колонки является общим.

Для того, чтобы найти условия лучшего разделения веществ авторы⁵⁷ изучили влияние различных параметров на разрешение пиков (R). Величина R определяется по уравнению:

$$R = \frac{2(V_{e_2} - V_{e_1})}{w_{b_1} - w_{b_2}} \quad (11)$$

где V_{e_1} и V_{e_2} — элюентные объемы соседних пиков, w_b — ширина пиков у основания.

Разрешение пиков Na_2HPO_4 и $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (табл. 4) несколько улучшается при уменьшении скорости элюирования в результате уменьшения размывания зон. Увеличение температуры приводит к обратному эффекту.

Завершая обзор различных факторов, влияющих на гель-хроматографию фосфатов, и используемых методик, можно заключить что в исследованных пределах и с учетом конкретного применения все проведенные экспериментальные условия могут быть использованы для гель-хроматографии фосфатов в аналитических и препаративных целях.

Как указывалось ранее, различные процессы, протекающие в геле и являющиеся результатом различных взаимодействий геля, вещества и элюента, отражаются в значениях элюентных объемов (или коэффициентов распределения), в порядке элюирования, в форме пика и в зависимости этих факторов от концентрации вещества. Исследования в области фосфатных полимеров показали, что фосфаты элюируются в порядке уменьшения молекулярных весов, коэффициенты их распределения в различных гелях находятся в пределах 0—1, в некоторой области концентраций K_d постоянны и кривые симметричны. Эти данные указывают

ТАБЛИЦА 4

Влияние различных факторов на разрешение пиков (R) $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ и $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{57}$

| Условия эксперимента | | R |
|--|--|------------------------------|
| Постоянные | Переменные | |
| Размеры колонок, см диаметр 0,61—0,62 высота 123,0—125,0 | Тип геля сефадекс G-10 сефадекс G-25 сефадекс G-50 Биогель Р-2 | 1,09 1,47 1,35 0,87 |
| Сефадекс G-10 | Диаметр частиц геля, мк | |
| Размеры колонок, см диаметр 0,61 высота 124,0—126,0 | 53—74 88—105 | 1,09 0,84 |
| Сефадекс G-25 (53—64 мк) | Скорость элюирования, мл/мин | |
| Колонка 0,61 × 63,0 см | 0,16 | 1,69 |
| Температура 22,0° | 0,58 | 1,26 |
| Сефадекс G-25 (53—64 мк) | Температура, °C | |
| Колонка 0,61 × 63,0 см | 22,0 | 1,26 |
| Скорость элюирования 0,58 мл/мин | 50,0 | 1,17 |

на отсутствие взаимодействия фосфатов с декстраном. Кроме того, совпадение значений K_d , найденных в условиях элюирования и в статических условиях, указывает на отсутствие вклада диффузии^{53, 54}.

Все приведенные факты позволяют заключить, что поведение фосфатов на декстрановых гелях в определенных условиях подчиняется молекулярно-ситовому механизму. Этот вывод дает возможность использовать метод для разделения и исследования конденсированных фосфатов, и уже на данном этапе получены важные результаты в этой области.

Это, во-первых, возможность получения индивидуальных фосфатов. При фракционировании на сефадексе G-15 раствора полифосфатов натрия с $\bar{n}=3$, компоненты смеси полифосфаты с $n=2\div5$, были получены в довольно чистом виде, выделены из раствора и идентифицированы методами хроматографии на бумаге и ИК-спектроскопии.

Другим важным достижением применения метода гель-хроматографии для исследования полимеров фосфора является определение эффективных радиусов многих фосфатных анионов^{54, 55}. Радиусы определены с использованием калибровочной прямой, построенной по данным K_{av} и R_s ряда ионов, аналогичной приведенной на рис. 6. Значения коэффициентов распределения фосфорсодержащих анионов рассчитывали по уравнениям (6, 7) с учетом того, что для сефадекса G-25 величина

$\frac{V_i}{V_i + V_m} = 0,862$. Результаты (табл. 5) показывают, что исследованные анионы значительно гидратированы в водных растворах и их размер увеличивается с ростом степени полимеризации.

И, наконец, метод гель-хроматографии с успехом применен для определения молекулярновесового состава смеси полифосфатов. Образец полифосфатов натрия с $\bar{n}=36$ фракционировали на молселекте G-25⁶⁶.

Молекулярный вес полифосфатов в элюате определен методом потенциометрического титрования концевых групп⁴¹, и по данным фракционирования построены кривые распределения исследуемого образца по молекулярному весу (рис. 11). Достоверность результатов фракционирования подтверждается совпадением средней степени полимеризации исходного образца и суммы произведений мольной доли (x_i) на степень

ТАБЛИЦА 5

Величины R_s фосфорсодержащих соединений^{54,55}, найденные с помощью зависимости $(-\lg K_{av})^{1/2} = A \cdot R_s + B$

| Соединение * | $R_s, \text{\AA}$ | Соединение | $R_s, \text{\AA}$ | Соединение | $R_s, \text{\AA}$ |
|----------------------------------|-------------------|--|-------------------|-----------------|-------------------|
| P ¹ | 4,3 | P ⁴ -P ³ -P ⁴ | 5,7 | P ₅ | 7,2 |
| P ³ | 4,4 | P ³ -O-P ⁴ -P ⁴ | 6,6 | P ₆ | 7,6 |
| P ₁ | 4,4 | P ⁵ -O-P ⁴ -P ⁴ | 6,4 | P ₇ | 8,0 |
| P ₂ -P ⁴ | 5,5 | P ₃ | 6,4 | P ₈ | 8,3 |
| P ⁴ -P ⁴ | 5,5 | P _{3m} | 6,4 | P ₉ | 8,6 |
| P ³ -O-P ³ | 5,8 | P ⁴ -P ⁴ -O-P ⁴ -P ⁴ | 6,8 | P ₁₀ | 9,0 |
| P ⁵ -O-P ³ | 5,7 | (-P ⁴ -P ⁴ -O-) ₂ | 6,8 | P ₁₁ | 9,2 |
| P ₂ | 5,7 | P ₄ | 6,9 | P ₁₂ | 9,3 |
| | | P _{4m} | 6,9 | P ₁₃ | 9,8 |

* Обозначения см. в табл. 1,2

полимеризации (n_i) i -й фракции, т. е.

$$\bar{n} = \sum x_i n_i \quad (12)$$

С этой же целью метод гель-хроматографии был использован для анализа смеси полифосфатов на сефадексе G-100⁶⁷.

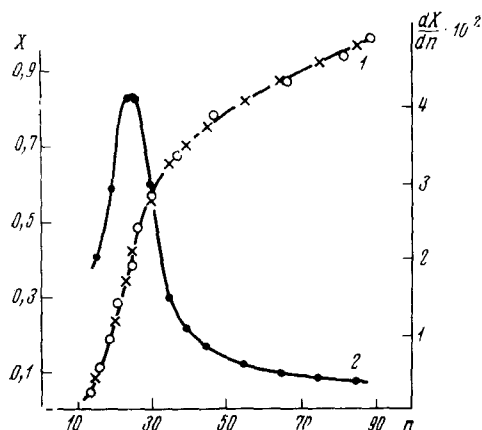


Рис. 11. Кривые числового распределения полифосфата натрия с $\bar{n}=36^{66}$: 1 — интегральная, 2 — дифференциальная; крестиком обозначены точки, выбранные для графического дифференцирования. (Молселект G-25, колонка 1,3×80 см, элюент — вода, количество образца 0,5 г в 5 мл, скорость элюирования 26 мл/час)

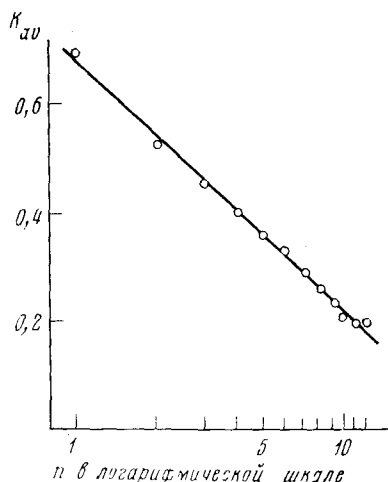


Рис. 12. Соотношение между K_{av} и $\lg n$ ⁵⁴. (Сефадекс G-25, элюент 0,1 М KCl pH 7,0; скорость элюирования 20—30 мл/час)

Для таких исследований требуется значительное количество образца, которое превышает найденный предел независимости K_a от концентрации. Хотя в этих исследованиях и получена прямолинейная зависимость $V_e = k \lg M$ вряд ли ее можно считать калибровочной.

В связи с использованием калиброванных колонок большое внимание заслуживает калибровочная прямая (рис. 12) для фосфатов, содержа-

ших до 13 атомов фосфора в цепи, построенная с использованием индивидуальных фосфатов, полученных с помощью ионообменной хроматографии²¹. Для проверки возможности применения этой прямой в качестве калибровочной был проделан следующий эксперимент⁵⁴. Несколько образцов полифосфатов, среднюю степень полимеризации которых предварительно определили методом потенциометрического титрования, хроматографировали на сефадексе G-25 0,1 М раствором KCl с pH 7,0. Определив концентрацию и, по калибровке, степень полимеризации полифосфатов в каждой фракции, рассчитали значение \bar{n} в исходном образце по несколько видоизмененному уравнению (12):

$$\bar{n} = \frac{\sum \omega_i}{\sum (\omega_i/n_i)} \quad (13)$$

где ω_i — количество атомов фосфора в i -й фракции.

Хорошее совпадение результатов, полученных обоими методами, показало возможность использования этой калибровки (табл. 6).

ТАБЛИЦА 6

Сравнение результатов определения средней степени полимеризации (\bar{n}) полифосфатов натрия методами гель-хроматографии и потенциометрического титрования⁵⁴

| Метод | \bar{n} | | | | | |
|--------------------------------|-----------|-----|-----|------|------|------|
| | 3,2 | 8,4 | 9,3 | 9,5 | 12,0 | 14,0 |
| Гель-хроматография | | | | | | |
| Потенциометрическое титрование | 3,0 | 8,2 | 9,1 | 10,1 | 11,0 | 13,1 |

* *

Применение гель-хроматографии в исследовании конденсированных фосфатов открыло новые возможности для их изучения.

Достижения метода, развившегося главным образом в области органической химии, биохимии и клинической медицины, оказались полезными для исследования неорганических фосфатных полимеров.

В свою очередь, фосфаты как объекты в гель-хроматографии подтвердили ряд закономерностей метода и способствовали расширению области его применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. U. P. Strauss, E. H. Smith, P. L. Wineman, J. Am. Chem. Soc., 75, 3935 (1953).
2. T. Tsubaki, M. Hattori, M. Tanaka, Koll.-Ztschr. und Ztschr. Polym., 225, 112 (1968).
3. Л. Н. Реутович, Е. А. Фомина, В. Я. Ротанина, Л. А. Леонтьева, Ю. И. Гержберг, Тр. ЛенНИИГипрохима, 1971, вып. 4, 72.
4. P. di Bello, A. M. Pradel, Interceram., 17, 232 (1968).
5. О. А. Пирогов, Л. А. Бабкина, М. И. Кузьменков, В. В. Печковский, Г. Х. Черчес, Огнеупоры, 1973, № 5, 55.
6. R. Pfanstiel, R. K. Her, J. Am. Chem. Soc., 74, 6059 (1952).
7. O. Lamm, H. Malmgren, Ztschr. anorg. Chem., 245, 103 (1940).
8. O. Lamm, H. Malmgren, Там же, 252, 256 (1944).
9. J. R. Van Wazer, J. Am. Chem. Soc., 72, 906 (1950).
10. J. R. Van Wazer, K. A. Holst, Там же, 72, 639 (1950).
11. J. R. Van Wazer, E. J. Griffith, J. E. McCulough, Anal. Chem., 26, 1755 (1954).
12. Л. В. Кубасова, Г. Г. Александрова, Т. Д. Пожарская, Химия и технология конденсированных фосфатов, «Наука», Алма-Ата, 1970, стр. 37.
13. P. Nylen, Ztschr. anorg. Chem., 229, 30 (1936).
14. P. Bonnemant, C. r., 204, 865 (1937).
15. A. Boule, R. Jary, Там же, 235, 1029 (1952).

16. J. P. Ebel, Bull. Soc. chim. France, 20, 991 (1953).
17. A. E. R. Westman, J. Growther, J. Am. Ceram. Soc., 37, 420 (1954).
18. E. Karl-Kroupa, Anal. Chem., 28, 1091 (1956).
19. R. F. Jameson, J. Chem. Soc., 1959, 752.
20. Л. М. Украинская, Л. И. Кузнецов-Фетисов, Изв. вузов, Химия и хим. технол., 13, 1694 (1970).
21. S. Ohashi, N. Tsuji, Y. Ueno, M. Takeshita, M. Muto, J. Chromat., 50, 349 (1970).
22. T. Rössel, Ztschr. anal. Chem., 197, 333 (1963).
23. T. Rössel, H. Kiesslich, Там же, 229, 96 (1967).
24. T. Iida, T. Yamabe, J. Chromat., 41, 163 (1969).
25. B. Sansoni, R. Klement, Angew. Chem., 65, 422 (1953).
26. B. Sansoni, L. Baumgartner, Ztschr. anal. Chem., 158, 241 (1957).
27. T. R. Sato, Anal. Chem., 31, 841 (1959).
28. L. T. Jones, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 14, 536 (1947).
29. J. R. Van Wazer, J. Am. Chem. Soc., 72, 647 (1950).
30. W. Dewald, H. Schmidt, Ztschr. anorg. Chem., 272, 253 (1953).
31. J. Porath, P. Flodin, Nature, 183, 1657 (1959).
32. А. А. Лурье, Сорбенты и хроматографические носители, «Химия», М., 1972.
33. С. Б. Макарова, Е. В. Егоров, Хим. пром., 1972, 344.
34. Г. Детерман, Гель-хроматография, «Мир», М., 1970.
35. К. Олгелт, Д. Мур, Фракционирование полимеров, «Мир», М., 1971, стр. 110.
36. Б. Г. Беленький, Л. З. Виленчик, Д. Д. Новиков, Новое в методах исследования полимеров, «Мир», М., 1968, стр. 81.
37. K. H. Oltgelt, Advances in Chromatography, N. Y., Dekker, 1968, т. 7, стр. 3.
38. H. Determann, Advances in Chromatography, N. Y., Dekker, 1969, т. 8, стр. 3.
39. J. F. Johnson, R. S. Porter, Progress in Polymer Science. Oxford a. o., Pergamon press, 1970, т. 2, стр. 201.
40. D. M. W. Anderson, I. C. M. Dea, A. Hendrie, Talanta, 18, 365 (1971).
41. D. Saunders, R. Pecsok, Anal. Chem., 40, 44 (1968).
42. T. Ogata, N. Yoza, S. Ohashi, J. Chromat., 58, 267 (1971).
43. Y. Ueno, N. Yoza, S. Ohashi, Там же, 52, 321 (1970).
44. N. Yoza, T. Ogata, S. Ohashi, Там же, 52, 329 (1970).
45. T. Tarutani, M. Watanabe, Там же, 75, 169 (1973).
46. P. A. Neddermeyer, L. B. Rogers, Anal. Chem., 40, 755 (1968).
47. D. Eaker, J. Porath, Separation Sci., 2, 507 (1967).
48. N. Yoza, S. Ohashi, J. Chromat., 41, 429 (1969).
49. G. Wormser, C. r., ser. C., 263, 805 (1966).
50. B. Z. Egan, J. Chromat., 34, 382 (1968).
51. H. Ortner, H. Spitz, Ztschr. anal. Chem., 238, 167 (1968).
52. H. Ortner, H. Spitz, Там же, 238, 251 (1968).
53. S. Ohashi, N. Yoza, Y. Ueno, J. Chromat., 24, 300 (1966).
54. Y. Ueno, N. Yoza, S. Ohashi, Там же, 52, 481 (1970).
55. Y. Ueno, N. Yoza, S. Ohashi, Там же, 52, 469 (1970).
56. G. Kura, S. Ohashi, Там же, 56, 111 (1971).
57. P. A. Neddermeyer, L. B. Rogers, Anal. Chem., 41, 94 (1969).
58. В. В. Печковский, А. С. Шульман, М. И. Кузьменков, Г. Х. Черчес, Неорганические материалы, 6, 1984 (1970).
59. K. Ujimoto, T. Nakamura, H. Asada, N. Yoza, Y. Takashima, S. Ohashi, J. Inorg. Nucl. Chem., 32, 3177 (1970).
60. В. В. Печковский, А. С. Шульман, М. И. Кузьменков, Г. Х. Черчес, С. В. Плышевский, Изв. вузов, Химия и хим. технол., 14, 538 (1971).
61. В. В. Печковский, А. С. Шульман, М. И. Кузьменков, С. В. Плышевский, Г. Х. Черчес, Техническая и экономическая информация, Серия «Методы анализа и контроля производства в хим. пром-сти», НИИТЭХИМ, 1970, вып. 6, стр. 3.
62. K. J. Bombaugh, W. A. Dark, K. N. King, J. Polymer Sci., Pt. C., 1968, № 21, 131.
63. В. В. Печковский, А. С. Шульман, А. Д. Алексеев, Л. Н. Щегров, Неорганические материалы, 5, 2168 (1969).
64. В. В. Печковский, А. С. Шульман, Л. Н. Щегров, ДАН БССР, 14, 144 (1970).
65. В. В. Печковский, М. И. Кузьменков, А. С. Шульман, С. С. Гусев, Г. Х. Черчес, Т. И. Баранникова, С. П. Мартынич, Исследования в области неорганической технологии. Соли, окислы, кислоты, «Наука», Л., 1972, стр. 87.
66. В. В. Печковский, М. И. Кузьменков, Г. Х. Черчес, Неорганические материалы, 9, 105 (1973).
67. S. Felter, G. Dirheimer, J. P. Ebel, J. Chromat., 35, 207 (1968).
68. T. Tarutani, Там же, 50, 523 (1970).
69. T. G. Spiro, S. E. Allerton, J. Renner, A. Terzis, R. Bels, P. Saltman, J. Am. Chem. Soc., 88, 2721 (1966).
70. R. A. Henry, L. B. Rogers, Separation Sci., 3, 11 (1968).
71. C. A. Streuli, L. B. Rogers, Anal. Chem., 40, 653 (1968).

72. N. Yoza, T. Ogata, Y. Ueno, S. Ohashi, Bull. Chem. Soc. Japan, 41, 2550 (1968).
73. T. Degushi, Нихон кагаку дзасси, 92, A26, 458 (1971); С. А., 75, 83780 в (1971).
74. Y. Matsumoto, M. Shirai, H. Saito, Bull. Chem. Soc. Japan, 41, 2542 (1968).
75. N. Yoza, H. Matsumoto, S. Ohashi, Anal. Chim. Acta, 54, 538 (1971).
76. N. Yoza, Кагаку-но рёйки, 25, 1041 (1971); РЖХим., 1972, 7Г11.
77. N. Yoza, Бунсёки кагаку, 20, 505 (1971); С. А., 75, 70892 (1971).
78. J. Porath, Pure. Appl. Chem., 6, 233 (1963).
79. P. G. Squire, Arch. Biochem. biophys., 107, 471 (1964).
80. T. G. Laurent, J. Killander, J. Chromat., 14, 317 (1964).
81. B. Gelotte, Там же, 3, 330 (1960).
82. E. R. Nightingale, J. Phys. Chem., 63, 1381 (1959).
83. J. G. Hendrickson, J. C. Moore, J. Polymer Sci., Pt. A—1, 4, 167 (1966).
84. J. K. Ackers, Biochemistry, 3, 723 (1964).
85. Z. Grubisec, P. Rempp, H. Benoit, J. Polymer Sci., Pt. B, 5, 753 (1967).
86. W. B. Smith, A. Kollmansberger, J. Phys. Chem., 69, 4157 (1965).
87. N. V. B. Marsden, J. Chromat., 58, 304 (1971).
88. K. A. Granath, J. Colloid. Sci., 13, 308 (1958).
89. H. J. Zeidler, E. Stadler, J. Chromat., 74, 59 (1972).
90. B. Lindqvist, Acta Chem. Scand., 16, 1794 (1962).
91. C. F. Callis, J. R. Van Wazer, P. G. Arvan, Chem. Rev., 54, 777 (1954).

Белорусский технологический институт
им. С. М. Кирова, г. Минск
