

# PRÍSPEVOK K TEÓRII A PRAXI ROZDELOVACEJ CHROMATOGRAFIE

RUDOLF SMRŽ

*Výskumný ústav agrochemickej technológie v Bratislave*

## I. Odbor chromatografie

V tomto roku si pripomíname deväťdesiate výročie vzniku chromatografickej metódy.

Za deväťdesiat rokov svojej existencie sa chromatografia od skromných počiatkov kapilárnej analýzy vyvinula v nepostrádateľný a obdivuhodný, pritom však jednoduchý nástroj chemického poznávania prírody.

Metódu a poslanie chromatografie charakterizoval výstižnými slovami H. H. Strain [1] takto:

„Chromatografická analýza je zvlášť účinnou metódou pre rozdeľovanie smesi látok a pre izoláciu a identifikáciu jednotlivých zložiek. Pretože sa rozdelené látky izolujú bez chemickej zmeny, stala sa chromatografia základným nástrojom pre všetkých vedcov, ktorých postup do nepreskúmaných oblastí závisí od izolácie\* a poznania vlastností zvláštnych látok.“

Tomuto nezmenenému cieľu slúži i najmladší zelený výhonok chromatografie, ktorý vypučal v poslednom desaťročí, tzv. rozdeľovacia chromatografia, ktorá je predmetom našej témy.

## II. Podstata rozdeľovacej chromatografie a jej vzťah k adsorpčnej chromatografii

R. 1941 uverejnili anglickí bádatelia A. J. P. Martin a R. L. M. Synge[2] nový spôsob chromatografickej analýzy, ktorý nazvali rozdeľovacou chromatografiou. Menovaní bádatelia vypracovali tento spôsob predovšetkým pre potreby kvalitatívneho stanovenia aminokyselín a peptidov (prípadne N-acetylovaných aminokyselín) v smesi, vzniknutej kyslou hydrolyzou bielkovín vlny.

Autorom sa podarilo vypracovať novú metódu tak dokonale, že vedeli dokázať v navážke 0,0002 g vlny všetky aminokyseliny, ktoré sa v nej vôbec dokázaly.

Ich spôsob sa však neobmedzuje na citovaný zvláštny prípad, ale má všeobecnú platnosť a otvára, najmä v podobe tzv. dvojdimenzionálnej rozdeľovacej chromatografie na papieri nové perspektívy.

---

\*) Slovo izolácia v pôvodnom texte chýba.

Na rozdiel od pôvodnej Cvetovej adsorpčnej chromatografie, ktorá rozdeľuje smes látok rozpustených vo vhodne zvolenom rozpúšťadle na základe rôznej adsorpcie na pevnom adsorbente, využíva nový spôsob pre rozdelenie danej smesi rozpustených látok, rozdielov v hodnote rozdeľovacích koeficientov jednotlivých zložiek v dvojici nemiesiteľných rozpúšťadiel, z ktorých jedno sa použije v podobe pevnej fázy, ktorá sa vytvorí nasiaknutím rozpúšťadla do vhodnej adsorpčnej látky, akou je napr. silikagél, škrob alebo filtračný papier.

V praktickom usporiadaní sa nový spôsob takmer nelíši od klasickej adsorpčnej chromatografie, ktorá je plodom prenikavého pozorovacieho talentu a bystrého úsudku vynikajúceho ruského bádatela botanika M. S. Cveta [3]. Ako je známe, uverejnil spomínaný bádateľ svoju metódu r. 1906 v krásnej práci o pigmentoch zelených listov, ktorá presvedčivo ukázala výkonnosť chromatografie, lebo nechemikovi sa tu naraz podarilo oddeliť zelený chlorofyl od žltých karotenoidov a nadto rozštiepiť chlorofyl na chlorofyl *a* a chlorofyl *b*.

V klasickej, ako aj v novej rozdeľovacej chromatografii sa vytvorí v otvorenej, dolu zúženej a vatou uzatvorenej sklenej rúrke jemne zrnitý chromatografický stĺpec, na ktorý sa navrechu navrství roztok látok, ktoré sa majú rozdeliť, a po vsiaknutí (alebo vtlačení) sa vyvolá chromatogram premývaním vhodným čistým rozpúšťadlom.

Zásadný rozdiel spočíva len v tom, že stĺpec adsorpčnej chromatografie pozostáva z čistého adsorbentu, kým stĺpec rozdeľovacej chromatografie pozostáva zo stacionárneho rozpúšťadla, ktoré je pevne zadržané, ako sa už povedalo, na jemne zrnitom (práškovitom) podklade (napr. silikagéli), ktorý sám nemá zasahovať do rovnovážnych stavov.

R. 1944 uverejnili R. Conden, A. H. Gordon a A. J. P. Martin [4] úplne novú modifikáciu rozdeľovacej chromatografie, tzv. rozdeľovaciu chromatografiu na papieri, ktorá sa dosť nepresne nazýva aj papierovou rozdeľovacou chromatografiou.

Táto dômyselná modifikácia používa namiesto klasického stĺpca len pás, alebo pre dvoj-dimenzionálnu analýzu arch filtračného papiera, ktorý je nositeľom stacionárneho rozpúšťadla. Pôvodne bola stacionárnym rozpúšťadlom vždy voda, ktorá je v papieri normálne prítomná ako vlhkostná voda.

V tejto podobe a funkcii bolo použitie filtračného papiera nové, lebo staršia tzv. „kapilárna analýza“, ktorú pred 90 rokmi vynašiel Schönbein [5] v Bazileji a prepracoval G ö p p e l s r ö d e r [6] vo Viedni, zakladala sa na výlučne adsorpčných vlastnostiach filtračného papiera.

Kapilárna analýza, spočívajúca v nasávaní skúmaného roztoku páskom alebo krúžkom [7] filtračného papiera, bola len rudimentárnou chromatografickou analýzou, lebo jej chýbal, ako v teórii uvidíme, najdôležitejší princíp

chromatografie, tzv. vyvolávanie, t. j. premývanie čistým rozpúšťadlom. Tento princíp jasne rozpoznal a zaviedol M. S. Cvet.

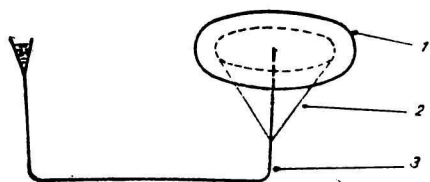
Göppelsröder ho použil len ojedinele na zdokonalenie delenia, nevedomiac si jeho zásadný význam.

Je poučné a nie bez praktického úžitku sledovať historický vývoj chromatografie a prínos jednotlivých bádateľov. Veľmi peknú a prehľadnú štúdiu o tom napísal I. M. Hais [8].

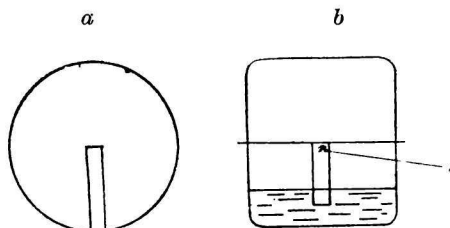
V tejto súvislosti si dovoľím kvôli lepšej predstave o výkonnosti a nenáročnosti papierovej chromatografie poukázať len na klasicky jednoduchú a veľmi užitočnú Rutterovu [9] premenu kapilárnej analýzy na adsorpčnú chromatografickú analýzu, ktorá je okrem iného veľmi užitočná pri výbere filtračného papiera pre rozdeľovaciu chromatografiu.

Ako je známe, snažil sa Trey [7] zdokonaľiť kapilárnu analýzu rovnomerným nasávaním skúmaného roztoku z kapiláry stredom krúžku filtračného papiera.

Jeho usporiadanie ukazuje obr. 1.



Obr. 1. 1. filtračný papier. 2. drôt.  
3. sklená kapilára.



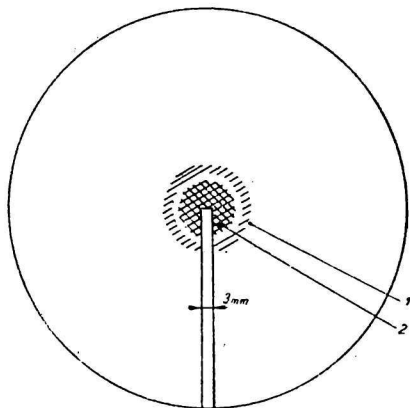
Obr. 2. 1. vzorka.

Pri tomto usporiadaní dosiahol Trey napr. dosť dobré oddelenie  $\text{Cu}^{++}$  a  $\text{Cd}^{++}$ -iónov pre kvalitatívne účely. Bola to však stále len kapilárna analýza.

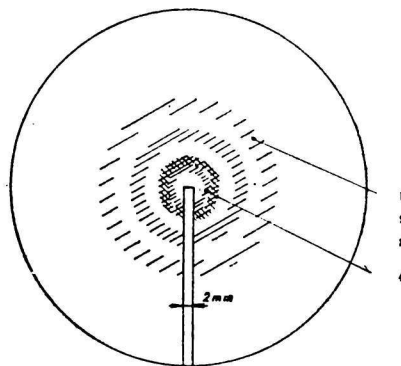
Treyovu metódu zmenil po 50 rokoch L. Rutter [9] dômyselným spôsobom tým, že rozstrihol podľa obr. 2a kruhový filtračný papier ( $\varnothing$  9–11 cm) a vzniknutý 2–4 mm široký sosák (po eventuálnom skrátaní) ohnul kolmo k rovine papiera. Do stredu krúžku alebo na sosák pod krúžok naniesie kapilárou niekoľko ml skúmaného roztoku a po vsiaknutí sa krúžok vloží podľa obr. 2b medzi dve hrubostenné kryštalizačné misky (bez výlevky), z ktorých spodná je naplnená rozpúšťadlom pre vyvolanie chromatogramu.

Takto dostaneme po uplynutí potrebnej doby (0,5–48 hod.) úplne regulárne adsorpčné chromatogramy, ktoré sa hodia i pre kvantitatívne práce, lebo po rozdelení látok môžeme krúžok rozstrihať a žiadanú složku po vylúhovaní určiť buď kolorimetricky, buď absorpčnou spektrálnou analýzou a pod.

Adsorpčné chromatogramy obr. 3, 4 ukazujú výkonnosť tejto metódy, ktorá sa hodí najmä pre rýchle orientačné skúšky, testovanie papiera pre rozdeľovaciu chromatografiu a vyhľadávanie rozpúšťadiel.



Obr. 3. Kreslená reprodukcia papierového chromatogramu podľa L. Ruttera. Oddeľovala sa smes malachitovej zelene a kryštálovej violeti. Filtračný papier Schleicher—Schüll, 589<sup>2</sup>, biela páska. 1. malachitová zeleň. 2. kryštálová violet.



Obr. 4. Kreslená reprodukcia papierového chromatogramu podľa L. Ruttera. Oddeľovala sa smes metyloranže, eozínu, diamantfuchsínu a metylénovej modrej. Filtračný papier Schleicher—Schüll, 589<sup>3</sup>, modrá páska. 1. metyloranž, 2. eozín, 3. diamantfuchsín, 4. metylénová modrá.

V súčasnej dobe prežíva chromatografia, či už adsorpčná alebo rozdeľovacia, pomocou stĺpca alebo na papieri novú vlnu rozmachu, lebo sa už neklamne spoznalo, že táto metóda je povolaná k tomu, aby pomohla riešiť najmä také problémy, ktorých jadro spočíva v rozdelení a kvantitatívnom stanovení štruktúrne veľmi príbuzných látok v malých, často len  $\mu$  g množstvách. Pomocou rozdeľovacej chromatografie sa v posledných rokoch so značným úspechom riešili mnohé veľmi subtilné otázky, akými sú napr. analýza smesi penicilínov [10], identifikácia voľných aminokyselín v živých bunkách [11], metabolizmus DDT u rezistentných múch [12] a i.

Chromatografia sa stala už nepostrádateľnou pomôckou chemikov. Avšak dobré a spoľahlivé výsledky dáva len v rukách skúseného experimentátora a stáva sa do určitej miery umením. To je vývoj nežiadúci, a preto možno v poslednom čase pozorovať prehĺbené štúdium základných fyzikálnych procesov chromatografie.

Pri tejto príležitosti spomínam krásnu kinetickú štúdiu R. H. Mullera a D. L. Cleggovej [13] o rýchlosti šírenia kvapalín vo filtračnom papieri.

Témou dnešnej prednášky nemá však byť hromadenie jednotlivostí, ale skôr podať prístupnou formou presný výklad vzniku rozdeľovacieho chromatogramu podľa platných predstáv a doplniť ho vlastným pozorovaním. Zdá sa



mi to tým prospešnejšie, že v našom už dost obsiahlom písomníctve o rozdeľovacej chromatografii boli teoretické podklady dosiaľ podané neúplne.

### III. Teória rozdeľovacej chromatografie

Podľa Martina a Syngeho [2, 21] predstavujeme si chromatografický stĺpec rozdelený na tenké vrstvy, ktoré z analógie k funkcii rektifikačnej kolóny môžeme považovať za teoretické poschodia.

V smysle tohto nazerania bude teoretické poschodie definované tak, že koncentrácia uvažovanej látky v mobilnom rozpúšťadle opúšťajúcom teoretické poschodie bude v rovnováhe so strednou koncentráciou látky rozpustenej v stacionárnej fáze.

Pre presnosť názoru sa odporúča predstava o pretržitom posunovaní mobilnej fázy z jedného poschodia do druhého.

Za predpokladu, že difúzia z jedného poschodia do druhého je zanedbateľná a že rozdeľovací koeficient danej látky nezávisí od koncentrácie a od prítomnosti ďalších látok, matematické riešenie vzniku rozdeľovacieho chromatogramu je pomerne jednoduché.

Najprv si účelne označíme veličiny, s ktorými budeme operovať:

$h$  = výška teoretického poschodia (cm),

$A$  = prierez kolóny (cm<sup>2</sup>),

$A_S$  = prierez stacionárneho rozpúšťadla,

$A_L$  = prierez mobilného rozpúšťadla,

$A_i$  = prierez inertného adsorbentu,

( $A = A_S + A_L + A_i$ ),

$v$  = objem (ml) mobilného rozpúšťadla, použitého na vyvolanie chromatogramu,

$\alpha$  = rozdeľovací koeficient, t. j.  $\frac{\text{g rozpustenej látky v 1 ml stacionárneho rozpúšťadla}}{\text{g rozpustenej látky v 1 ml mobilného rozpúšťadla}}$ ,

$r$  = bežné číslo teoretického poschodia od vrchu kolóny,

$Q_r$  = celkové množstvo látky rozpustenej na  $r^{\text{tom}}$  poschodí,

$V = h (A_L + \alpha A_S)$  (účelná definícia).

Predstavme si, že sme na prvé poschodie dali práve jednu váhovou jednotku (napr. 1 mg) rozpustenej látky, ktorú potom postupne vymývame infinitezimiálnymi objemami dv mobilného rozpúšťadla.

Po prechode prvého diferenciálu  $dv$  ubudne z prvého poschodia podiel (látky)  $\frac{dv}{V}$ , ktorý pribudne na druhé poschodie. To vyplýva z nasledujúcej úvahy:

Na prvom poschodí je koncentrácia rozpustenej látky v mobilnom rozpúšťadle  $C$ , v stacionárnom rozpúšťadle  $\alpha \cdot C$  (v dôsledku rovnováhy  $\frac{C \text{ stac.}}{C \text{ mob.}} = \alpha$ ).

Je teda podiel rozpustenej látky, odchádzajúcej z prvého poschodia:

$$\frac{dv \cdot C}{h (A_L \cdot C + A_S \cdot \alpha \cdot C)} = \frac{dv}{h (A_L + \alpha \cdot A_S)} = \frac{dv}{V}$$

a podiel ostávajúci na prvom poschodí  $\left(\frac{1 - dv}{V}\right)$ . Pretože na prvom poschodí bolo na začiatku práve jednotkové množstvo látky, výrazy  $\frac{dv}{V}$  a  $\left(\frac{1 - dv}{V}\right)$  súčasne predstavujú absolútne množstvo (vo zvolených jednotkách).

Ak pokračujeme analogicky vo vyšetrovaní zmien pri prechode druhého, tretieho a  $n$ -tého diferenciálu  $dv$ , dostaneme tab. 1, ktorá zachycuje rozdelenie látky na poschodiach.

Tabuľka 1

| objem mob. rozpúšťadla | Qr (= množstvo látky na bežnom poschodí r) |   |  |  |                               |   |
|------------------------|--|---|--|--|-------------------------------|---|
|                        | r = 1                                      | 2   | 3  | 4  | 5                             | 6 |
| 0 dv                   | 1 mg                                       | 0   | 0  | 0  | 0                             | 0 |
| 1 dv                   | $\left(1 - \frac{dv}{V}\right)$            | $\frac{dv}{V}$  | 0  | 0  | 0                             | 0 |
| 2 dv                   | $\left(1 - \frac{dv}{V}\right)^2$          | $2 \left(1 - \frac{dv}{V}\right) \frac{dv}{V}$                          | $\left(\frac{dv}{V}\right)^2$  | 0  | 0                             | 0 |
| 3 dv                   | $\left(1 - \frac{dv}{V}\right)^3$          | $3 \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^2 \left(\frac{dv}{V}\right)$           | $3 \left(1 - \frac{dv}{V}\right) \left(\frac{dv}{V}\right)^2$                                    | $\left(\frac{dv}{V}\right)^3$  | 0                             | 0 |
| 4 dv                   | $\left(1 - \frac{dv}{V}\right)^4$          | $4 \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^3 \left(\frac{dv}{V}\right)$           | $6 \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^2 \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^2$                            | $4 \left(1 - \frac{dv}{V}\right) \left(\frac{dv}{V}\right)^3$                                    | $\left(\frac{dv}{V}\right)^4$ | 0 |
| n dv                   | $\left(1 - \frac{dv}{V}\right)^n$          | $n \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^{n-1} \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)$ | $\left(\frac{n}{2}\right) \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^{n-2} \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^2$ | $\left(\frac{n}{3}\right) \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^{n-3} \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^3$ | atď.                          |   |

Ako z tabuľky vidieť, možno množstvo chromatografovanej látky obsiahnutej v ktoromkoľvek poschodí vyjadriť ako príslušný člen binomického výrazu:

$$\left[\left(1 - \frac{dv}{V}\right) + \frac{dv}{V}\right]^n$$

Ak teda kolónou prejde  $n$  diferenciálov dv mobilného rozpúšťadla, množstvo látky na poschodí  $(r + 1)$  je dané rovnicou:

$$Q_{r+1} = \binom{n}{r} \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^{n-r} \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^r, \quad (I)$$

čiže

$$Q_{r+1} = \frac{n! \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^{n-r} \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^r}{r! (n-r)!}. \quad (Ia)^*$$

Pre veľké  $n$  (veľký počet diferenciálov mobilného rozpúšťadla) je

$$Q_{r+1} = \frac{1}{r!} \left(\frac{n \, dv}{V}\right)^r e^{-\frac{n \cdot dv}{V}}. \quad (II)^{**}$$

Pretože  $n \cdot dv = v$ , t. j. objemu mobilného rozpúšťadla, použitého na vyvolanie chromatogramu, môžeme písať:

$$Q_{r+1} = \frac{1}{r!} \left(\frac{v}{V}\right)^r \cdot e^{-\frac{v}{V}}. \quad (III)$$

Ak budeme uvažovať poschodie dostatočne shora vzdialené (veľké  $r$ ), môžeme použiť Stirlingovu aproximáciu:

$$r! = \sqrt{2\pi r} \cdot \left(\frac{r}{e}\right)^r$$

a rovnicu (III) previesť na rovnicu (IV):

$$Q_{r+1} = \frac{1}{\sqrt{2\pi r}} \cdot \left(\frac{v}{rV}\right)^r \cdot e^{r - \frac{v}{V}}, \quad (IV)$$

ktorá je dostatočne praktická pre vyjadrenie vzťahu medzi obsahom uvažovanej látky na  $r + 1$  poschodí a množstvom rozpúšťadla, použitým na vyvolanie chromatogramu.

$$*\binom{n}{r} = \frac{n \cdot (n-1) \cdot (n-2) \cdot \dots \cdot (n-r+1)}{r!} = \frac{n!}{r! (n-r)!}.$$

\*\*Rovnicu (II) dostaneme z rovnice (Ia). Pre  $n \gg r$  platí aproximácie:

$$\frac{n!}{(n-r)!} = n \cdot (n-1) \cdot (n-2) \cdot \dots \cdot (n-r+1) \doteq n^r$$

a  $(n-r) \doteq n$ ,

ktoré dosadené do rovnice (Ia) dajú:

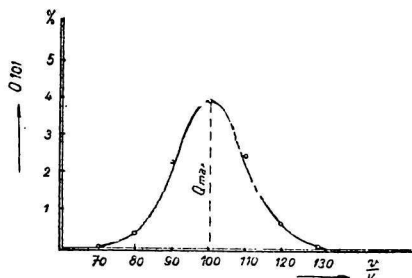
$$Q_{r+1} = \frac{n^r}{r!} \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^n \cdot \left(\frac{dv}{V}\right)^r = \frac{1}{r!} \left(\frac{n \cdot dv}{V}\right)^r \cdot \left(1 - \frac{dv}{V}\right)^n.$$

Pretože kvocient  $\frac{dv}{V} \rightarrow 0$ , môžeme tiež písať:

$$Q_{r+1} = \frac{1}{r!} \cdot \left(\frac{n \, dv}{V}\right)^r \cdot \left[ \frac{1}{\left(1 + \frac{dv}{V}\right)^{\frac{v}{dv} \cdot \frac{dv}{V}}} \right]^n =$$

$$\frac{1}{r!} \cdot \left(\frac{n \, dv}{V}\right)^r \cdot e^{-\frac{dv \cdot n}{V}}$$

Názorne je tento vzťah vyjadrený diagramom 1, konštruovaným pre prechod látky poschodím 101.



Diagr. 1. Prechod látky poschodím 101 pri premývaní mobilným rozpúšťadlom.  $Q_{101}$  je priebežné množstvo látky (na poschodí 101) vyjadrené v % celkového množstva privedeného do kolóny.

$$\frac{v}{V} = \frac{\text{objem mobilného rozpúšťadla}}{h (A_L + \alpha A_S)}$$

Na os úsečiek sú nanesené hodnoty  $v/V$  a na os poradníc príslušné hodnoty  $Q_{101}$  vyjadrené v percentách jednotkového množstva látky, pôvodne uvedeného na prvé poschodie kolóny.

Ako možno pozorovať, krivka má výrazné maximum a je vzhľadom na maximum takmer symetrická.

Poloha maxima na poschodí  $r + 1$

je daná vzťahom  $r = \frac{v}{V}$ , ktorý ľahko odvodíme známym spôsobom, ak deriváciu rovnice (IV) položíme na roveň nule.

Rozhoduje teda o polohe maxima len

podiel  $\frac{v}{V}$  daný vzťahom:

$$\frac{v}{V} = \frac{v}{h (A_L + \alpha A_S)}$$

V podiele  $\frac{v}{V}$  sa vyskytuje len rozdeľovací koeficient  $\alpha$  ako jediná špecifická veličina danej látky.

Pri prechode kolónou sa teda dve látky s rôznymi rozdeľovacími koeficientmi  $\alpha$  rozostúpia a vytvoria maximá na rozličných miestach. Pri vzrastajúcej dĺžke dráhy, t. j. pri ďalšom premývaní sa maximá stále viac vzdalujú od seba, až nastane úplné rozdelenie látok.

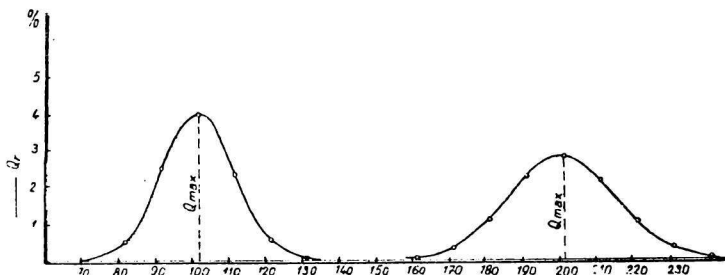
Z podmienky pre polohu maxima  $r = \frac{v}{V}$  plynie aj hodnota maxima, ktorá je daná formulou:

$$Q_{r+1, \max.} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}}, \text{ v ktorej } r = \frac{v}{V}.$$

Odvođená formula hovorí názorne, že hodnota maxima je nepriamo úmerná odmocnine z  $r$ , t. j. z bežného čísla poschodia, čiže vzdialenosti poschodia od horného konca kolóny.

Hodnotu maxima pri vzrastajúcom r snižujeme rozširovaním pásu okolo maxima.

Tieto pomery zachycuje diagram 2, ktorý ukazuje štruktúru pásov okolo maxima na poschodí 101 a 201.



Diagr. 2. Obsah látky  $Q_r$  na jednotlivých poschodiach ( $r$ ) pri maximách vytvorených na poschodí 101 a 201.

Hodnoty  $Q_r$  boli vypočítané z rovnice (IV) pre  $\frac{v}{V} = 100$  a  $\frac{v}{V} = 200$ .

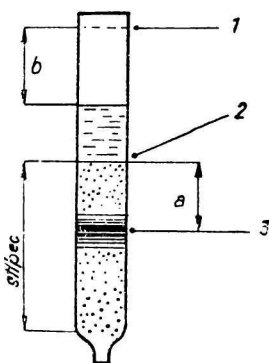
Ostáva teraz upozorniť ešte na charakteristickú veličinu  $R$ , ktorá má značný význam pri identifikácii látok rozdeľovacím chromatogramom.

Veličina  $R$  je definovaná v chromatografii na stĺpci ako podiel z dráhy maxima pásu a posunu hladiny mobilného rozpúšťadla (obr. 5).

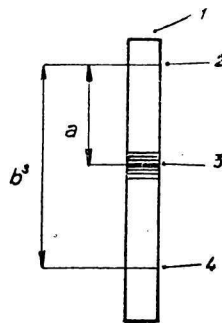
$$R = \frac{a}{b},$$

$a$  = dráha maxima pásu,

$b$  = posun hladiny mobilného rozpúšťadla, meraný v rúrke nad hladinou chromatografického stĺpca.\*



Obr. 5. Chromatografický stĺpec. 1. pôvodná hladina mobilného rozpúšťadla. 2. prvé poschodie stĺpca. 3. maximum pásu.



Obr. 6. Chromatografický pás (papierový). 1. mobilné rozpúšťadlo. 2. miesto pôvodného nanosenia pásu. 3. maximum pásu. 4. čelo mobilného rozpúšťadla (pohybuje sa shora nadol).

\* Ak mobilné rozpúšťadlo priteká do chromatografickej rúrky z iného zásobníka, potom treba prepočítať posun hladiny pre myslený prípad tak, aby predĺžená rúrka sama bola zásobníkom.

V rozdeľovacej chromatografii na papieri, vyznačujúcej sa tým, že chromatografický stĺpec je nahradený pásom filtračného papiera, napojeným stacionárnym rozpúšťadlom, definujeme analogickú hodnotu:

$$R_F = \frac{a}{b'},$$

kde  $a$  = dráha maxima pásu,

kým  $b'$  = dráha čela mobilného rozpúšťadla (obr. 6).

Uvažujme teraz naďalej stĺpcový chromatogram a predpokladajme, že sa vytvorilo maximum na poschodí  $r_{\max}$ . Ak je výška teoretického poschodia  $h$ , vzdialenosť (dráha) maxima od horného okraja stĺpca (prvého poschodia) je daná súčinom:

$$r_{\max} \cdot h.$$

Na základe podmienky o maxime  $r_{\max} = \frac{v}{V}$  platí rovnica:

$$h \cdot r_{\max} = h \cdot \frac{v}{V}; \quad (h \cdot r_{\max} = K \cdot v),$$

ktorá hovorí, že dráha ubehnutá maximom je priamo úmerná objemu  $v$  použitého mobilného rozpúšťadla.

Podľa definície platí:

$$R = \frac{h \cdot \frac{v}{V}}{\frac{v}{A}} = \frac{A \cdot h}{V} = \frac{A}{A_L + \alpha A_S}, \quad (V)$$

kde  $A$  značí prierez stĺpca (t. j. chromatografickej rúrky),

$A_S$  značí prierez stacionárneho rozpúšťadla,

$A_L$  značí prierez mobilného rozpúšťadla.

Odvođený vzťah nám dovoľuje z meraných hodnôt  $R$  vypočítať rozdeľovací koeficient  $\alpha$ , lebo z rovnice (V) plynie:

$$\alpha = \frac{A}{R A_S} - \frac{A_L}{A_S}.$$

Predpokladom pre výpočet  $\alpha$  je, pravda, znalosť prierezov  $A$ ,  $A_S$  a  $A_L$ .

Uvedené skutočnosti použili Martin a Synge na verifikáciu teórie rozdeľovacieho chromatogramu. Pripravili kolónu (stĺpec) o priemere 1 cm a výške 20 cm, ktorá obsahovala pevnú fázu, složenú z 5 g  $\text{SiO}_2$  + 3,3 g  $\text{H}_2\text{O}$  a 10 ml pohyblivej fázy (chloroform s 1% butanolu).

S hustotou 2,3 pre  $\text{SiO}_2$  v silikagéli vypočítame tieto prierezy v stĺpci:

|                         |                      |                              |
|-------------------------|----------------------|------------------------------|
| inertná fáza            | $\text{SiO}_2$       | $A_1 = 0,11 \text{ cm}^2$ ,  |
| stacionárne rozpúšťadlo | $\text{H}_2\text{O}$ | $A_S = 0,175 \text{ cm}^2$ , |
| mobilné rozpúšťadlo     | $\text{CHCl}_3$      | $A_L = 0,50 \text{ cm}^2$ .  |

Do kolóny uviedli autori nepatrné množstvo chloroformového roztoku, obsahujúceho po 2 mg N-acetyl-1-prolínhydrátu a N-acetyl-d, 1-fenylalanínu. Po vsiaknutí roztoku do stĺpca vyvolali chromatogram chloroformom, obsahujúcim 1 obj. % n-butylalkoholu, až do úplného rozdelenia pásov, ktoré boli viditeľnými, pretože voda stacionárnej fázy obsahovala stopu indikátora (metyloranž).

Na vývolanom chromatograme vyšetrili autori príslušné R-hodnoty a z nich vypočítali podľa odvodenej už formuly:

$$\alpha = \frac{A}{R \cdot A_S} - \frac{A_L}{A_S}$$

rozdeľovacie koeficienty oboch použitých acetylovaných aminokyselín. Takto získané hodnoty rozdeľovacích koeficientov porovnali s hodnotami priamo meranými.

Výsledky ich porovnaní obsahuje tab. 2.

Ako ukazuje tabuľka, shoda medzi vypočítanými a priamo meranými hodnotami rozdeľovacích koeficientov je veľmi dobrá a preukazná pre správnosť podanej teórie rozdeľovacieho chromatogramu.

Tabuľka 2

| látka             | R    | $\alpha$ (z pohybu pásu) | $\alpha$ (priamo mer.) |
|-------------------|------|--------------------------|------------------------|
| acetylprolín      | 0,37 | 9,4                      | 9,5                    |
| acetylfenylalanín | 1,07 | 1,4                      | 1,3                    |

Martinovi a Syngemu, autorom rozdeľovacej chromatografie, podarilo sa pokročiť ešte ďalej a odvodiť z rozširovania pásu N-acetyl-d, 1-valínu pri pokračujúcom vyvolávaní (pozri diagram 2) i výšku teoretického poschodia  $h$  pri opísanej už rozdeľovacej chromatografii na silikagéli. Našli v dobrom priemere prekvapujúco nízku hodnotu  $h = 0,002$  cm [21]. Je to neobyčajne zaujímavý nález, ktorý ukazuje vysokú účinnosť chromatografickej kolóny. Pre porovnanie treba uviesť, že najlepšie laboratórne rektifikačné kolóny (typu Podbielniak) majú výšku teoretického poschodia asi 1 cm.

Vráťme sa však ešte na chvíľu k otázke platnosti podanej teórie rozdeľovacej chromatografie, lebo nemôžeme očakávať, že chromatogram bude vždy tak presne určený rozdeľovacím koeficientom.

Musíme naopak predpokladať, že bude dochádzať k superpozícii účinku rozdeľovacieho koeficientu a adsorpčných vlastností „inertného“ podkladu.

S výrečným dôkazom týchto pomerov sme sa stretli pri chromatogra-

fickom stanovení  $\gamma$ -izoméru v technickom *BHC* (benzénhexachloride), ktorý obsahuje, ako je známe, tieto hlavné složky:

|                                     |                  |
|-------------------------------------|------------------|
| $\alpha$ — hexachlórcyklohexán      | b. t. 158° C     |
| $\beta$ — hexachlórcyklohexán       | b. t. 310° C     |
| $\gamma$ — hexachlórcyklohexán      | b. t. 113—114° C |
| $\delta$ — hexachlórcyklohexán      | b. t. 138—139° C |
| $\varepsilon$ — hexachlórcyklohexán | b. t. 219° C     |
| heptachlórcyklohexán                | b. t. 85—86° C   |
| heptachlórcyklohexán                | b. t. 156—157° C |
| oktachlórcyklohexán                 | b. t. 147—149° C |

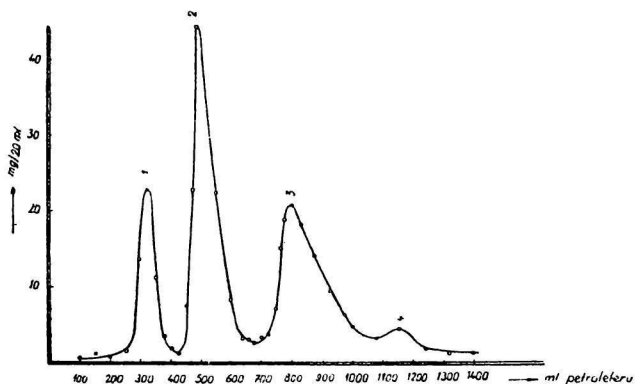
#### IV. Pomery pri rozdeľovacej chromatografickej analýze benzénhexachloridu (BHC)

Boli to Ramsay a Patterson [14], ktorí r. 1946 s úspechom použili na izoláciu a stanovenie  $\gamma$ -izoméru *BHC* rozdeľovaciu chromatografiu, keď použili ako stacionárnu fázu silikagél s približne 30% nitrometánu a ako pohyblivé rozpúšťadlo (mobilnú fázu) n-hexán nasýtený nitrometánom.

Ich metódu potom prepracovali a zdokonalili Aepli, Munter a Gall [15], Fuks a Četverikova [16], Harris [17] (mikrometóda) a neskôr Coutier, André a Prat [18].

Všetci autori zdôrazňovali význam kvality  $\text{SiO}_2$  pre presnosť delenia.

Keď sme si sami overili veľkú závislosť výsledkov od prípravy  $\text{SiO}_2$ , pojali sme podozrenie, že v danom prípade vôbec nejde o rozdeľovaciu chromatografiu, ale o adsorpčné delenie, pri ktorom sa aktivita  $\text{SiO}_2$  snižuje prídavkom



Diagr. 3. Chromatogram technického benzénhexachloridu. Adsorbent:  $\text{SiO}_2 + 15\% \text{H}_2\text{O}$ . Rozpúšťadlo: petroleter 50—70° C.

nitrometánu. V dôkaze nás však koncom minulého roku predišli francúzski autori Granger a Zwilling [19], ktorí nahradili nitrometán vodou (v ktorej sú všetky složky analyzovanej smesi prakticky nerozpustné) a pri obsahu 15—20%  $\text{H}_2\text{O}$  dostali veľmi dobrý chromatogram s rovnakým poradím složiek.



Diagram 3 ukazuje tzv. „kvapalný chromatogram“, ktorý sme dostali podľa Grangerera a Zwillinga pomocou stĺpca zo 60 g  $\text{SiO}_2$  s obsahom 15%  $\text{H}_2\text{O}$ . Priemer stĺpca bol 22 m/m a rýchlosť elúcie 6,2 ml petroléru/1 min. pri pretlaku 168 mm Hg. Vzorku sme do kolóny uviedli v podobe roztoku v 35 ml petroléru. Frakcie sme odoberali po 20 ml.

V *diagrame* sú nanesené odparky jednotlivých frakcií v závislosti od celkového množstva eluátu.

Krivka, ktorú sme dostali, udáva prechod látok posledným teoretickým poschodím kolóny a javí nápadnú shodu s teoretickým tvarom krivky pre rozdeľovací chromatogram.

V ďalšom priebehu sa nám podarilo objasniť zvláštnu úlohu dvojice rozpúšťadiel nitrometán-petroléter, lebo sa ukázalo, že poradie rozdeľovacích koeficientov rozdeľovaných látok sa presne shoduje s poradím pevnosti adsorpcie týchto látok na silikagéli (15%  $\text{H}_2\text{O}$ ) z petrolérového roztoku. Jasne to vyplýva z porovnania rozdeľovacích koeficientov, uvedených v tab. 3 s priebehom izoteriem v diagrame 4.

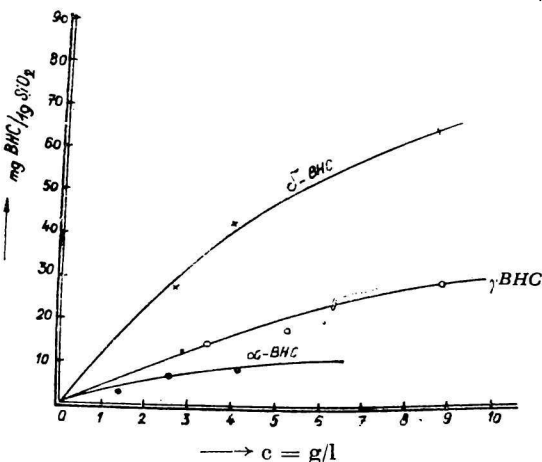
Tab. 3. Rozdeľovacie koeficienty

| látka                             | $\alpha$ 22°C = $\frac{C \text{ nitrometán}}{C \text{ petroléter}}$ | poradie pri elúcii |
|-----------------------------------|---|--------------------|
| heptachlórcyklohexán b. t. 85° C  | —   | 1                  |
| $\alpha$ — hexachlórcyklohexán    | 6,1   | 2                  |
| $\gamma$ — hexachlórcyklohexán    | 8,2   | 3                  |
| heptachlórcyklohexán b. t. 157° C | 11,5  | 4                  |
| $\delta$ — hexachlórcyklohexán    | 22,3  | ostáva v kolóne    |

Je teda prirodzené, že Ramsay-Pattersonova chromatografická analýza BHC bude podľa povahy použitého  $\text{SiO}_2$  a podľa množstva v ňom absorbovaného  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  buď prevažne rozdeľovacím, buď prevažne adsorpčným procesom. Podobne to bude zaiste aj v mnohých iných prípadoch.

Pri podrobnejšom skúmaní objavíme ľahko, že rozdeľovacia chromatografia je formálne len osobitným prípadom adsorpčnej chromatografie.

Pre jednoduchosť predpokla-



Diagr. 4. Adsorpčné izotermy. Adsorbent:  $\text{SiO}_2 + 15\% \text{H}_2\text{O}$ . Rozpúšťadlo: petroléter 50–70° C. Teplota: 22° C.

dajme, že pri adsorpčnej chromatografii je rovnováha medzi rozpustenou látkou a adsorbentom ovládaná jednoduchou izotermou:

$$\frac{x}{m} = k C,$$

v ktorej  $x$  značí, ako obyčajne, množstvo danej látky (v gramoch), adsorbovanej na  $m$  gramoch adsorbentu, a  $c$  je koncentrácia látky v roztoku (g/l).

Predpokladaná lineárna izoterma je medzným prípadom Freundlichovej izotermy:

$$\frac{x}{m} = k \cdot C^{1/n}$$

s exponentom  $1/n = 1$ , alebo všeobecnejšie Langmuirovej izotermy:

$$\frac{x}{m} = k \cdot \frac{C}{1 + k_2 C}$$

pre veľké zriedenie, t. j.  $C \rightarrow 0$  a  $1 + k_2 C = 1$ .

Počiatočná lineárnosť izotermy je v diagrame 4 dobre viditeľná.

Ak odhliadneme od heterogenity tuhej fázy, môžeme si predstaviť, že adsorbovaná látka je v adsorbente (ktorého hustota je  $d$ ) homogénne rozpustená v koncentrácii:

$$C' = \frac{x}{m} \cdot 1000 d \text{ (g/l)}.$$

Potom v dôsledku prijatej izotermy platí vzťah:

$$C' = K \cdot C, \text{ čiže } \frac{C'}{C} = K,$$

čo je úplná analógia rozdeľovacieho koeficientu.

V tomto prípade platí teória rozdeľovacieho chromatogramu bez zmeny aj pre adsorpčný chromatogram, ktorého vznik po prvý raz matematicky presne (i keď abstraktnejšou formou) objasnil J. N. Wilson r. 1940 [20].

## V. Kvantitatívne metódy rozdeľovacej chromatografie

Záverom bude prospešné uviesť prehľad najdôležitejších, prípadne najslubnejších kvantitatívnych metód rozdeľovacej chromatografie, lebo skutočnosť, že možno analyzovať složité smesy nielen kvalitatívne, ale aj kvantitatívne, nesmierne rozširuje užitočnosť tejto metódy.

Hlavné kvantitatívne metódy rozdeľovacej chromatografie možno sostiaviť do nasledujúceho prehľadu:

- I. *Chromatografia pomocou stĺpca*
  1. mechanické rozdelenie stĺpca,
  2. kvapalný chromatogram.

## II. *Chromatografia na papieri*

1. meranie transparenencie chromatografického pásku,
2. extrakcia škvrny a mikroanalytické stanovenie oddelenej látky,
3. metóda veľkosti škvín.

### I. *Chromatografia pomocou stĺpca*

Ak možno na klasickom chromatografickom stĺpci (adsorpčnom alebo rozdeľovacom) dosiahnuť dobré rozdelenie látok prakticky bez prechodných pásem (frakcií), možno tento spôsob použiť aj pre kvantitatívne stanovenie.

Možno tu väčšinou pracovať ako makroanalyticky (navážka niekoľko desiatín g), tak aj mikroanalyticky (navážka niekoľko stotín g). Podľa ďalšieho spracovania vyvolaného chromatogramu možno rozoznávať:

1. metódu mechanického rozdelenia (rozrezania) chromatografického stĺpca,
2. metódu kvapalného chromatogramu.

Poučenie o praktickom uskutočňovaní oboch metód nájde záujemca v stručnej, ale veľmi dobrej knihe T. J. Williamsa *Úvod do chromatografie* [21].

Všeobecne sa dá povedať, že mechanické delenie (rozrezanie) stĺpca podľa utvorených pásov má pre analytické účely menší význam, lebo vysušenie stĺpca, jeho vysunutie z chromatografickej rúrky bez porušenia a rozrezania sú dosť obťažné operácie:

V prípade, že zložky analyzovanej smesi sú bezfarebné a bez možnosti ľahkého odlišenia (fluorescenciou, farebnou reakciou na povrchu stĺpca a pod.), nemožno metódu vôbec použiť.

Naproti tomu je metóda kvapalného chromatogramu všeobecná a veľmi pohodlná. Jej princíp spočíva, ako je známe, v tom, že vyvolaný chromatogram sa premýva ďalej čerstvým rozpúšťadlom, takže dochádza k putovaniu oddelených pásov a neskôršie k postupnej elúcii jednotlivých zložiek. Ak sa zložky analyzovanej smesi nelíšia charakteristickou farbou alebo ak tmavá farba stĺpca nedovoľuje rozoznať farebné zóny, odoberá sa eluát v malých frakciách, ktoré vo vzťahu k celkovému objemu eluátu možno pokladať za diferenciál. Preskúmaním obsahu jednotlivých frakcií (napr. sériovým stanovením odparku) dá sa väčšinou veľmi dobre a presne oddeliť hľadaná zložka analyzovanej smesi. K sebe prináležajúce frakcie sa spoja (pomocou rozpúšťadla) a hľadaná látka sa stanoví napr. gravimetricky ako odparok.

V prípade, že vizuálne rozoznanie jednotlivých frakcií (podľa charakteristických kryštálikov odparku a pod.) nie je ľahké, obyčajne veľmi dobrú službu preukáže diagram (pozri diagram 3), v ktorom sa nanesie na os úsečiek celkový objem eluátu (ml) a na os poradníc váha odparku diferenciálnych

frakcií. Takýto diagram niekedy označuje aj chromatogram a poskytuje veľmi jasný obraz dosiahnutého rozdelenia.

Metóda kvapalného chromatogramu s vizuálnou kontrolou frakcií (prípadne ich odparkov) je veľmi rýchla a vhodná aj pre sériové analýzy.

## II. Chromatografia na papieri (mikrometódy)

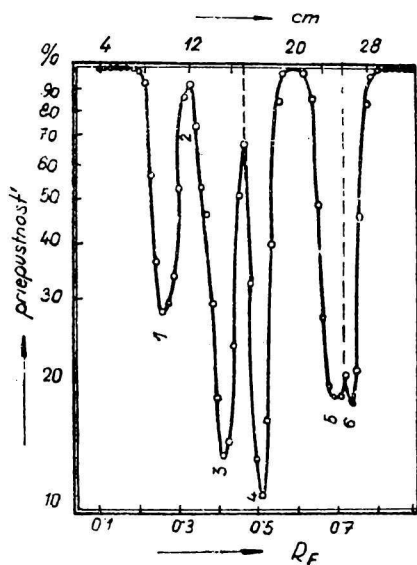
### 1. Meranie transparentie pásku

R. 1949 uverejnili H. B. Bull, J. W. Hahn a W. H. Baptist [22] výsledky pokusov kvantitatívneho stanovenia aminokyselín rozdeľovacou chromatografiou na prúžku filtračného papiera.

Aj keď sa pokusy nestretly s úplným úspechom, spôsob práce menovaných autorov je však veľmi zaujímavý a môže sa osvedčiť v mnohých iných prípadoch.

Autori naniesli mikropipetou napr. 0,0135 ml roztoku, obsahujúceho mikrogramové množstvá aminokyselín, na prúžok filtračného papiera (Schleicher-Schüll 507), ktorý mal rozmery 7,20 mm × 60 cm.

Škvŕnu naniesli blízko jedného konca prúžku a po jej zaschnutí na vzduchu priebehom asi 48 hodín vyvolali 80%-ným vodným fenolom jednodimenzionálny rozdeľovací chromatogram. Po vyvolaní chromatogramu označili ceruzkou frontu fenolu, prúžok vysušili a oddelené škvrny aminokyselín sfarbili známym spôsobom, zahriatím prúžku po predchádzajúcom postreku zriedeným roztokom ninhydrínu.



Diagr. 5. Krivka optickej priepustnosti rozdeľovacieho papierového chromatogramu smesi aminokyselín. Smes obsahovala po 3,38  $\mu\text{g}$  z každej aminokyseliny. Prevzaté z [22].

bili známym spôsobom, zahriatím prúžku po predchádzajúcom postreku zriedeným roztokom ninhydrínu.

Suchý prúžok naplnili na čierny sklený lineár s priehľadným páskom uprostred (šírky 7,2 mm) a posuovali ho pred osvetlenú štrbinu 6 × 5 mm, umiestenú pred fotobunkou.

Transparentiu merali vždy po 5 mm posuvoch a takto premerali celú plochu páska s výnimkou 0,6 mm pozdĺž oboch hrán. Pred štrbinou umiestili svetelný filter s maximom priepustnosti pri 570 m $\mu$ .

Percentuálnu transparentiu vypočítali ako podiel  $\left(\frac{I}{I_0}\right) \cdot 100$ , kde I je intenzita lúča, ktorý prešiel chromatogramom, a  $I_0$  intenzita lúča, ktorý prešiel páskom papiera, s ktorým vykonali všetky operácie, s výnimkou aplikácie aminokyselín.

Z nameraných hodnôt zostrojili autori diagram 5, v ktorom na os poradníc naniesli log. percentuálnej transparenencie a na os úsečiek príslušné vzdialenosti na pásku, vyjadrené v hodnotách  $R_F$ .

Plocha obmedzená získanou krivkou a priamkou pre 100%-nú priepustnosť sa pre jednotlivé aminokyseliny planimetrovala a jej porovnaním s plochou, získanou pre známe množstvá danej aminokyseliny, našlo sa množstvo tejto látky v analyzovanej vzorke.

Autorom sa podarilo stanoviť v smesi celý rad aminokyselín (v množstvách 0,67—13,5  $\mu\text{g}$ ) s priemernou chybou  $\pm 8,82\%$ . To je vzhľadom na obťažnosť úlohy pozoruhodný výsledok.

V tejto súvislosti treba ešte upozorniť na pozorovanie R. H. Müllera a D. L. Cleggovej [13], že stanovenie reflektovaného podielu svetla je pre kvantitatívne účely nevhodné, lebo táto veličina nie je v jednoduchom vzťahu k množstvu látky v škvvrne.

## 2. Extrakcia škvvrny a mikrochemické stanovenie látky

Všeobecným prípadom kvantitatívnej metódy papierovej chromatografie je extrakcia látky z chromatogramu a jej ďalšie mikrochemické stanovenie.

Bolo to opäť v odbore aminokyselín, kde sa vyskúšaly najvhodnejšie metódy.

A. Polson, V. M. Mosley a R. W. G. Wyckoff [23] extrahovali acetónom škvvrny aminokyselín (sfarbené ninhydrínom) a aminokyseliny stanovili v extrakte mikrokolorimetricky.

Inú cestu zvolili A. J. P. Martin a R. Mittelman [4], ako aj T. S. G. Jones [23], ktorí fixovali aminokyseliny na papieri v podobe komplexných mednatých solí, ktorých množstvo určili po extrakcii polarografickým stanovením Cu.

## 3. Metóda veľkosti škvvrn

Osobitnú zmienku zasluhuje aj elegantný spôsob kvantitatívneho stanovenia látky z veľkosti škvvrny podľa R. B. Fishera, D. S. Parsonsa a G. A. Morrisona [24].

Metóda sa zakladá na pozorovaní, že sa veľkosť škvvrny pri rovnakom vyvolaní chromatogramu pravidelne zmenšuje s klesajúcou koncentráciou látky v pôvodne nanesej škvvrne.

Planimetrovaná veľkosť škvvrny je v značnom rozsahu priamo úmerná log. obsahu látky v škvvrne a z ciachovacej priamky možno ľahko nájsť neznámu koncentráciu látky.

Autorom sa zatiaľ podarilo dokázať zmieneny lineárny vzťah pre jednodimenzionálne rozdeľovacie chromatogramy niektorých aminokyselín a nie-

ktorých cukrov. Publikované boli veľmi sľubné výsledky, ktoré sa dosiahly s glyciénom, alanínom, kyselinou glutamínovou, arabinózou a xylózou v rozsahu 0,3—3  $\mu\text{g}$ . Škvrny aminokyselín sa farbily známym spôsobom pomocou ninhydrínu, kým škvrny aldopentóz pomocou amoniakálneho  $\text{AgNO}_3$ .

Je oprávnená domnienka, že uvedenú metódu bude možné použiť aj v mnohých iných prípadoch.

### Сúhrn

1. Autor opisuje podstatu rozdeľovacej chromatografie a jej vzťah k adsorpčnej chromatografii.

2. Odporúča Rutterovu adsorpčnú chromatografiu (organických farbív) na papieri ako vhodnú metódu na výber papiera pre rozdeľovaciu chromatografiu.

3. V rozvedenej forme podáva teóriu rozdeľovacej chromatografie podľa A. I. P. Martina a A. L. M. Syngeho.

4. Na príklade rozdeľovacej a adsorpčnej chromatografickej analýzy technického benzénhexachloridu (BHC) dokázal, že medzi oboma spôsobmi chromatografie existujú rôzne stupne prechodu.

5. Poukázal, že rozdeľovacia chromatografia je formálne osobitným prípadom adsorpčnej chromatografie ovládanej adsorpčnou izotermou:

$$\frac{x}{m} = K c^{1/n}$$

s hodnotou exponenta  $1/n = 1$ .

6. Podal prehľad kvantitatívnych metód rozdeľovacej chromatografie.

### К ТЕОРИИ И ПРАКТИКЕ РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

РУДОЛЬФ СМРЖ

*Институт агрохимической технологии. Братислава*

#### Выводы

1. Автор описывает сущность распределительной хроматографии и ее отношение к адсорбционной хроматографии.

2. Он рекомендует адсорбционную хроматографию (органических красителей) Руттера на бумаге как удобный метод выбора бумаги для распределительной хроматографии.

3. Дана теория распределительной хроматографии по А. И. П. Мартину и Р. Л. М. Синге.

4. На примере распределительного и адсорбционного хроматографического анализа технического гексахлор циклогексана (ВНС) доказано, что имеются разные степени перехода между обоими способами хроматографии.

5. Автор показал, что распределительная хроматография является формально отдельным случаем адсорбционной хроматографии, которую выражают изотермы адсорбции:

$$\frac{x}{m} = K \cdot c^{1/n}$$

с величиной показателей  $1/n = 1$ .

6. Дан обзор количественных методов распределительной хроматографии.

*Получено в редакции 18-го сентября 1952 г.*

## Zusammenfassung

1. Der Autor beschreibt das Prinzip der Verteilungschromatographie und ihre Beziehung zur Adsorptionsschromatographie.

2. Er empfiehlt Rutters Adsorptionsschromatographie (von organischen Farbstoffen) auf Papier als geeignete Methode zur Auswahl des Papiers für die Verteilungschromatographie.

3. In ausführlicher Form gibt er die Theorie der Verteilungschromatographie nach A. S. P. Martin und R. L. M. Synge.

4. Am Beispiel der Verteilungs- und adsorptionsschromatographischen Analyse von technischem Benzolhexachlorid (BHC) bewies er, dass zwischen den beiden chromatographischen Methoden verschiedene Übergangsstufen existieren.

5. Weiter zeigte er, dass die Verteilungschromatographie formell einen speziellen Fall der Adsorptionsschromatographie darstellt, wenn letztere durch die Adsorptionsisotherme

$$\frac{x}{m} = K c^{1/n}$$

mit dem Wert des Exponenten  $1/n = 1$  beherrscht wird.

6. Schliesslich gab er eine Übersicht der quantitativen Methoden der Verteilungschromatographie.

In die Redaktion eingelangt den 18. IX. 1952

## LITERATÚRA

1. Strain H. H., *Analyt. Chem.* 22, 41 (1950).
2. Martin A. J. P., Synge R. L. M., *Biochem. J.* 35, 1358 (1941).
3. a) Tswett M., *Ber.* 24, 284 (1906).
- b) Tswett M., *Ber.* 41, 1352 (1908).
- c) Cvet M. S., *Adsorbicijnyj chromatografičeskij analiz*, Moskva 1946.
4. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P., *Biochem. J.* 38, 224 (1944).
5. Schönbein C. F., *Pogg. Ann.* 114, 275 (1861).
6. Göppelsröder F., *Mitth. des techn. Gewerbemuseums*, Wien 1888—1889.
7. Trey H., *Ztschr. analyt. Ch.* 37, 743 (1898).
8. Hais I. M., *Chemie* 6, 223 (1950).
9. Rutter L., *Nature* 161, 435 (1948).
10. Goodall R. R., Levi A. A., *Analyt. Chem.* 72, 277 (1947).
11. Dent C. E., Stepka W., Steward F. C., *Nature* 160, 682 (1947).
12. Winteringham F. P. W., *Nature* 166, 999 (1950).
13. Müller R. H., Clegg D. L., *Analyt. Chem.* 23, 396 (1951).
14. Ramsay L. L., Patterson W. J., *Assoc. Off. Agr. Chem.* 29, 337 (1946) C. A. 41, 831 (1947).
15. Aepli O. T., Munther P. A., Galli J. F., *Analyt. Chem.* 20, 610 (1948).
16. Fuks N. A., Četverikova L. S., *Ž. analyt. chim.* 3, 220 (1948).
17. Harris T. H., *J. Assoc. Offic. Chem.* 32, 684 (1949).
18. Coutier L., André H., Prat G., *Chimie analyt.* 31, 201 (1949).
19. Granger C., Zwilling J. P., *Bull. Soc. Chim. France* 17, 873 (1950).
20. Wilson J. N., *J. Am. Chem. Soc.* 62, 1583 (1940).
21. Williams T. I., *An Introduction to Chromatography*, Brooklyn, New York 1947, 86.
22. Bull H. B., Hahn J. W., Baptist W. H., *J. Am. Chem. Soc.* 71, 550 (1949).
23. Podla prehladu R. Consdena, *Nature* 162, 359 (1948).
24. Fisher R. B., Parsons D. S., Morrison G. A., *Nature* 161, 764 (1948).

Došlo do redakcie 18. IX. 1952

Prednáška v Banskej Štiavnici v júli 1951