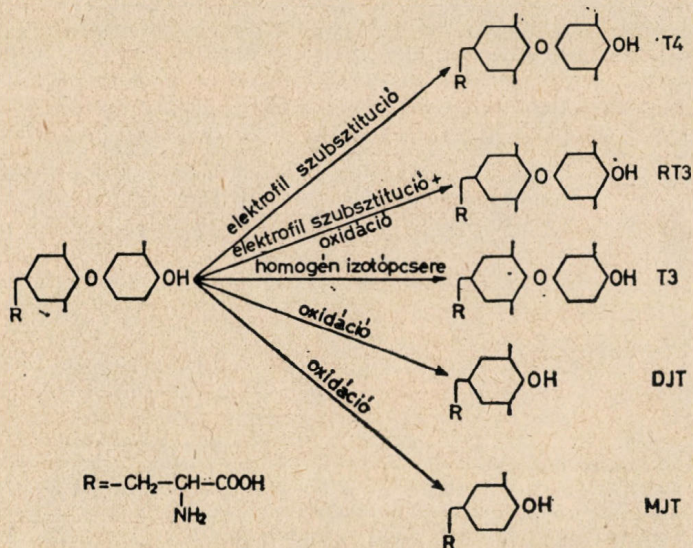


Radiojóddal jelzett trijód-tironin és tiroxin adszorpciós kromatográfiás elválasztásáról

TÓTH GÉZA

Trijód-tironin (T3) és tiroxin (T4) jó hatásfokkal jelezhető radiojóddal az ún. klóramin T módszerrel¹⁻². A homogén izotópcserével egyidejűleg lejátszódó elektrofil szubsztitúció és a klóramin T oxidáló hatása azonban elkerülhetetlenül több jelzett termék keletkezéséhez vezet. Így pl. T3 jelzése esetén homogén izotópcsere útján jelzett T3, míg elektrofil szubsztitúció révén jelzett tiroxin keletkezik. E két termék mellett még számolni kell a klóramin T oxidáló hatása útján keletkező 3,3',5'-L-trijódtironin (RT3), monojód-tirozin (MJT) és dijód-tirozin (DJT) megjelenésével is. Analitikai célra alkalmas tisztaságú jelzett T3 és T4 előállításának így elkerülhetetlenül tartalmazni kell olyan elválasztási eljárást, amely alkalmas az 1. ábrán feltüntetett termékek elkülönítésére. E feladathoz járul még a jelzés során szerves kötésbe be nem épült radiojód elválasztása is. Az erre alkalmas eljárás kiválasztásánál figyelembe kell venni, hogy az esetek zömében μg -nyi anyagmennyiségek elválasztását kell megvalósítani, s hogy a T3 és T4 fémnyomok, oxidáló anyagok nyomai stb. hatására egy vagy több jódatom leadása mellett bomlik.



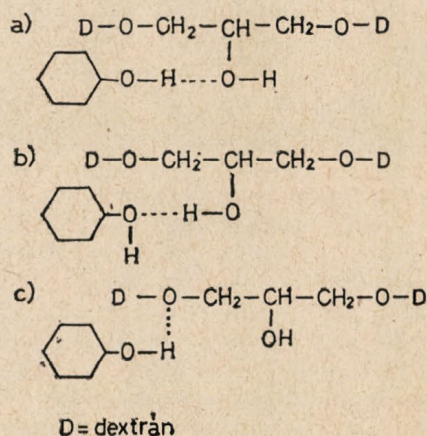
1. ábra

T3 radiojóddal és klóramin T módszerrel történő jelzések keletkező termékek

Az 1. ábrán feltüntetett termékek az aromás mag szubsztituensei szempontjából *o*-jód-, illetve *o,o'*-dijód-fenolszármazékok. E tekintetben szembevetendő a hasonlatosság a peptidok radiojóddal történő jelzése során jelentkező elválasztási feladathoz; klóramin T módszerrel történő jelzés

során a peptid tirozinmolekulája jelződik radiojóddal oly módon, hogy egyidejűleg a tirozinmolekula fenolos hidroxilcsoportjához képest *o*-jód- és *o,o'*-dijód-tirozinszármazék keletkezik. Így a peptidbe be nem épült radiojódon kívül három komponenst kell elválasztani: a radiojódot nem tartalmazó peptidet, valamint annak a monojód-tirozin- és dijód-tirozinszármazékát.

Fenolszármazékok adszorpciós kromatográfiás elválasztására adszorbensként eredményesen alkalmazható a Sephadex gél*, amelynek előnyös tulajdonságai közül elsősorban az emelendő ki, hogy rajta aromás és heterociklikus vegyületek adszorpciója reverzibilis s az adszorpciós izoterma lineáris³. Amíg aromás vegyületek adszorpciója Sephadex gélen az aromás mag π elektronrendszere és a gél közötti kölcsönhatás eredménye^{3,4}, addig fenolszármazékok adszorpciójánál a fenolos hidroxil és a gél hidroxil-propil csoportja között az alábbi lehetőségek valamelyike szerint kialakuló hidrogénkötés játszik jelentősebb szerepet⁵:



Halogén-fenol-származékok adszorpciójakor minden valószínűség szerint az említett két kölcsönhatásforma mellett még jelentősebb a halogénatomok és a gél közötti kölcsönhatás^{5,6}. Ez különösen szemléletesen tűnik ki akkor, ha a tirozin, mono-, di- és trijód-tironin, valamint tiroxin elúciós térfogatát (V_c), illetve az ebből számított K_{av} volumetrikus megoszlási hányadost — egyébként azonos kísérleti körülményeket feltételezve — a jódatomok számának függvényében tüntetjük fel⁶. Ez esetben mind az elúciós térfogat, mind pedig K_{av} értéke a jódatomok számának növekedésével növekszik.

* A Sephadex a Pharmacia cég által forgalmazott térhálósított dextrán gél.

³ B. Gelotte: J. Chromatogr. 3. 330. 1960.

⁴ C. A. Streuli: J. Chromatogr. 56. 219. 1971.

⁵ A. J. W. Brook, K. C. Munday: J. Chromatogr. 47. 1. 1970.

⁶ F. Blasi, R. V. De Masi: J. Chromatogr. 28. 33. 1967.

¹ F. C. Greenwood, W. M. Hunter, Biochem. J. 89. 114. 1962.

² Patel, K. B. Desai, M. N. Mehta, K. J. Glenn: JARI 25. 421. 1974.

Fenolszármazékok kromatográfiás elválasztása így akkor is megvalósítható, ha az elválasztandó komponensek csak a jódatomok számában különböznek egymástól. Ilyen feladat nem csupán T3 és T4 elválasztásánál merül fel, hanem radiojóddal jelzett peptidhormonok esetében is, ahol a jelzetlenül maradt peptid, valamint annak mono- és dijódszármazéka választandó el egymástól.

Jelentősen bonyolítja azonban az elválasztás tervezését az a körülmény, hogy egyrészt az elválasztás megvalósíthatóságára jellemző K_{av} volumetrikus megoszlási hányados, másrészt pedig az elválasztandó jódatomok száma, illetve az elválasztáshoz alkalmazott eluens összetétele közötti kapcsolatra vonatkozóan csak gyér számú adat, illetve összefüggés ismeretes.

Aromás fenol-, anilin- és benzooesavszármazékok esetében a Hammett összefüggés alapján kielégítő közelítéssel számítható K_{av} , ha ismeretes az ún. reakciókonstans (ρ) és szubsztituenskonstans (σ) értéke^{5, 7, 8}:

$$\lg \frac{K_{av}}{K_{av}^0} = \sigma \cdot \rho$$

ahol K_{av}^0 a benzooesav volumetrikus megoszlási hányadosa.

A halogénatomot nem tartalmazó benzol-, fenol- és anilinszármazékok esetében a kísérleti eredmények jó közelítéssel kielégítik az (1) egyenletet, bróm-, klór- és jódatomot tartalmazó komponensek esetében azonban K_{av} minden esetben nagyobb a számított értéknél, ami a halogénatomok és a gél közötti kölcsönhatás jelentős voltára mutat.

Gyakorlatilag a Hammett összefüggés az egyedüli, amelynek segítségével valamely benzol-, fenol-, illetve anilinszármazék adszorpciós kromatográfiás elválasztása elvileg tervezhető lenne. A Hammett összefüggés felhasználhatóságát korlátozza azonban az, hogy a reakciókonstans és szubsztituenskonstans sok esetben csak bizonyos önkényességgel adható meg, valamint az is, hogy nem ad felvilágosítást a K_{av} és az eluens összetétele közötti kapcsolatra vonatkozóan.

Jelen munka célját éppen ilyen jellegű összefüggés felállítása képezi. T3 és T4 esetében vizsgáltuk a megoszlási hányados (D) és az elúcióhoz alkalmazott szerves oldószerek koncentrációja (S) közötti összefüggést. Adszorbenként szerves oldószerekben is duzzadó LH-20 Sephadexet alkalmaztunk. A volumetrikus megoszlási hányados és az eluens koncentrációja között kísérletileg meghatározott összefüggéshez elméleti úton is eljutottunk.

Kísérleti rész

Kromatografáló oszlop

10 mm átmérőjű és 150–180 mm hosszú, az alsó végén üvegszűrővel ellátott üvegcsövet előzetesen 12–24 óráig duzzasztott Sephadex LH-20 géllal töltöttünk meg úgy, hogy ülepedés után a géloszlop magassága 100 mm legyen.

⁷ L. P. Hammett: J. Amer. Chem. Soc. 59. 96. 1937.
H. H. Jaffe: Chem. Rev. 53. 191. 1953.

⁸ A. J. W. Brook, S. Housley: J. Chromatogr. 41. 200. 1969.

Az oszlopra jellemző V_m és $V_t - V_m$ értékeket, azaz a mozgófázis térfogatát és a gélmátrix térfogatát a 100 mm magas töltet duzzadt és száraz állapotban mért tömegének összevetése útján határoztuk meg. Az így kapott értékek jól egyeztek a gél vízfelvétel képessége alapján számítottakkal.

Az oszlopból kifolyó eluens frakciószedővel közelítőleg 1 cm³-es frakciókban fogtuk fel. A I-131-nyel jelzett T3-at, illetve T4-et tartalmazó vizes oldat 0,1–0,5 cm³-ét a szokásos módon rétegeztük a géloszlopra, ügyelve arra, hogy a művelet közben a gél ne keveredjék fel. Az elúció sebességét 25–30 cm³/óra értékre állítottuk be.

Az oszlopra felvitt T3 és T4 mennyisége esetenként 1–50 μ g között változott. Ezen értékek között az oszlopra felvitt T3 és/vagy T4 mennyisége nem befolyásolta kimutathatóan a retenció térfogat értékét.

Aktivításmérés

Az egyes frakciók radioaktivitását NK-350 típusú scalerrel összekapcsolt, üreges NaI(Tl) szcintillációs kristályban határoztuk meg.

I-131-nyel jelzett T3 és T4

Koch–Light gyártmányú 3,3',5'-I-trijódtirozint és L-tirozint jeleztünk I-131-nyel a kloramin-T módszer alkalmazásával². Jelzés után a reakciókeveréket 80–100 mm magas és 20–25 mm átmérőjű, Sephadex G-25 géllal töltött oszlopra vittük, amelyről az egyes komponenseket foszfát-pufferral (pH = 7,4) eluáltuk. Az eluátumnak a T3-at és T4-et tartalmazó részleteit használtuk fel a továbbiakban.

Eluensek

Eluenseként az alábbi szolvensek vizes oldatát használtuk: metilalkohol, etilalkohol, aceton, tetrahidrofurán. A T3 és T4 fenolos OH csoportja disszociációjának visszahozása s ezáltal az anionként a gélből történő kizáródás elkerülése céljából az eluens pH-ját citrát pufferral pH = 4 értékre állítottuk be, ügyelve arra, hogy az eluens elektrolit-koncentrációja minden esetben azonos legyen.

Megoszlási hányados

Az elúciós görbékkel leolvasott elúciós térfogat (V_e), az oszlop teljes térfogata (V_t) és a mozgófázis térfogata (V_m) ismeretében a megoszlási hányadost az adszorpciós kromatográfiában használatos

$$D = \frac{c_a}{c_m} = \frac{V_e - V_m}{V_t - V_m} \quad (2)$$

összefüggéssel számítottuk.

A megoszlási hányados (2) egyenlet szerinti definíciója természetesen csak olyan esetekben alkalmazható, amikor az adszorben az elválasztandó komponensekre nézve nem játszik molekulaszita szerepet, vagyis az elválasztandó komponensek részére a folyadékfázis teljes térfogata hozzáférhető. Ellenkező esetben a gélkromatográfia esetével állunk szemben, amelyre a megoszlási hányadosnak a (3) egyenlet által definiált alakja alkalmazható:

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

amelyben V_e és V_t jelentése ugyanaz, mint a (2) egyenletben, V_0 pedig a gélszemcséken kívül elhelyezkedő folyadékfázis térfogatát, az ún. holtterefogatot jelenti.

Mivel a Sephadex dextrán gélek, így az LH-20 is a gélkromatográfiában alkalmazott, molekulaszita-ként működő töltetek, szükségesnek látszik foglalkozni azzal a kérdéssel, hogy mennyiben jogosult az adszorpciós kromatográfiában használatos, (2) egyenlettel definiált megoszlási hányados alkalmazása K_{av} helyett. Az eredeti definíció szerint gélkromatográfiás elválasztásoknál K_{av} 0 és 1 között bármely értéket felvehet; $K_{av} = 1$ a teljes kizáródás esetekor lép fel, a $K_{av} = 0$ eset pedig olyankor áll elő, amikor az adott komponens akadály nélkül hatolhat be a gélszemcsék belsejében helyet foglaló folyadékfázisba.

1. táblázat

T3 és T4-re a (2) egyenlet szerint számított D értékek. (Kísérleti feltételek: $V_t = 7 \text{ cm}^3$,
 $V_m = 5,9 \text{ cm}^3$, $V_t - V_m = 1,1 \text{ cm}^3$, hőmérséklet: $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)

Térfogat %	Metanol		Etanol		Aceton		THF	
	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D
10	2,5		1,7	750	1,4		1,3	165
								280
20	4,9	296	3,4	146	2,8	46	2,5	31
				550				140
30	7,4	134	5,0	51	4,2	17	3,8	8
				240				38
40	9,8	56	6,7	22,5	5,6	6	5,0	
				82				11
50	12,4	30	8,4	10	6,9	3	6,3	
				42				5
60	14,8	11,5	10	5,2	8,2	2,6	7,5	1,3
				18				2,6
70	17,2	8	11,8	2,8	9,8		8,8	
				9				
80	19,6		13,5		11,0		10,0	

* *Megjegyzés:* Az egyes négyzetek bal felső sarkában a T3-ra, a jobb alsó sarokban pedig a T4-re vonatkozó D értékek állnak.

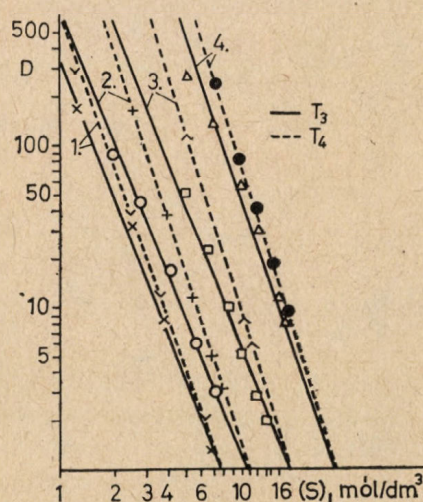
Gyakran előfordul, hogy az elválasztandó komponensek a gélen adszorbeálódnak, s rájuk nézve a gél egyidejűleg a molekulaszita szerepét is betölti. Ilyen esetekben a megoszlási hányados kifejezésére a (2) és (3) egyenlet összevont alakját kellene használnunk, amelyben a mozgófázis térfogatának a folyadékfázisnak az adott komponens által hozzáférhető hányada szerepelne.

Annak igazolására, hogy esetünkben, amikor is az elválasztandó komponensek (T3 és T4) molekulásúlya 650 és 777, az LH-20 gél molekulaszita hatása nem játszik szerepet, s joggal használhatjuk az adszorpciós kromatográfiában megszokott, a (2) egyenlettel definiált megoszlási hányadost megemlítjük, hogy olyan nagy eluens koncentrációknál (60–70 térfogatszázalék), amelyeknél a T3 és T4 adszorpciója már elhanyagolhatóan kis mértékű, az elúciós térfogatok jó közelítéssel V_m -mel, azaz az oszlopban jelenlevő folyadékfázis térfogatával, s nem V_0 -val, az ún. holttérfogattal egyeznek meg. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy a T3 és T4 esetében az LH-20 gélen bekövetkező molekulakizáródás mértéke is elhanyagolhatóan csekély.

Kísérleti eredmények

A metanol, etanol, aceton és tetrahidrofurán (THF) eluensek esetében mért elúciós görbékből számított D értékeket T3-ra és T4-re az 1. táblázat mutatja be. A táblázatban feltüntetett volumetrikus megoszlási hányadosok logaritmusának a szolvenskoncentráció logaritmusától való függését a négy eluensre vonatkozóan a 2. ábra szemlélteti, a 3. ábrán ugyanezen összefüggést tüntet-

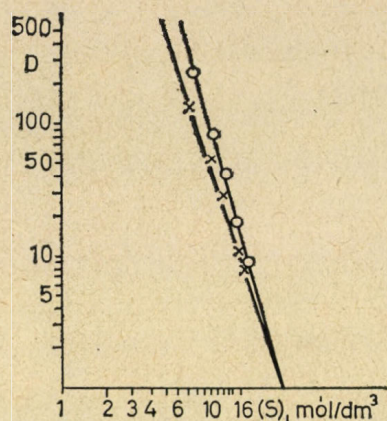
tük fel metanol eluens esetére s T3–T4-re vonatkozóan.



2. ábra

A T3-ra és T4-re vonatkozó $\lg D$ vs. $\lg(S)$ összefüggések. Eluensek: 1. tetrahidrofurán, 2. aceton, 3. etanol, 4. metanol

A $\lg D$ vs. $\lg(S)$ összefüggések a 2–3. ábrán bemutatott esetekben igen jó közelítéssel lineárisak.



3. ábra

A metanol eluens esetében a T3-ra (×××) és T4-re (○○○) kapott $\lg D$ vs. $\lg(S)$ összefüggések

A kísérleti eredmények értékelése

A kísérleti eredmények értékelését célszerűnek látjuk két részre bontani aszerint, hogy az a megoszlási hányados és az eluens koncentrációja közötti kapcsolattal foglalkozik, vagy pedig a radiojóddal jelzett T3 és T4 elválasztásának gyakorlati megvalósításával kapcsolatos.

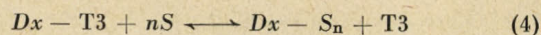
a) A megoszlási hányados (D) és az eluens koncentrációja (S) közötti kapcsolat értelmezése

A dextranszérál és a T3–T4 között kialakuló kölcsönhatás részben a T3–T4 aromás magjának, részben a fenolos hidroxilnak, részben pedig az aromás magon elhelyezkedő jódatomoknak tulajdonítható. Jóllehet aromás vegyületek π elektronszerkezete és a dextranszérál között csaknem minden esetben fellép kölcsönhatás, ennek gyenge voltára mutat azonban az, hogy K_{av} aromás vegyületek esetében alig haladja meg az egységet^{7, 11}. Szubsztituált fenolok, anilinek és benzoésavak esetében, valamint halogeno-fenolszármazékoknál K_{av} rendszerint eléri vagy meghaladja a 20–30-at, ami a hidrogénhídkötés és a halogén–gél kölcsönhatás jelentős mértékére utal^{5, 8}.

Aromás vegyületek dextranszérálon bekövetkező adszorpciójára vonatkozó kísérleti adatok csak elvétve állnak rendelkezésre, közvetett úton azonban kimutatható, hogy az adszorpció reverzibilis és az adszorpció izoterma lineáris. Saját mérései eredményeink is arra mutatnak, hogy a T3 és T4 adszorpciója dextranszérálon reverzibilis és az adszorpció izoterma lineáris¹⁰.

Reverzibilis és lineáris izotermával leírható adszorpció esetén a megoszlási hányados független az adszorbeált mennyiségtől. Amennyiben az eluensként alkalmazott szolvens adszorpciójára a reverzibilitás és a lineáris izoterma feltételei ugyancsak fennállnak, az elúciót a kompetitív

adszorpció olyan esetének tekinthetjük, amelyre alkalmazható a tömeghatás törvénye:



ahol $Dx-T3$ a dextranszérálon adszorbeált T3-at, S az elúcióhoz alkalmazott szolvenszt jelenti, $Dx-S$ pedig a dextranszérálon adszorbeált szolvenszt. A (4) folyamat egyensúlyi állandója

$$K = \frac{[Dx - S_n] \cdot [T3]}{[Dx - T3] \cdot [S]^n} \quad (5)$$

amelyből a T3 és/vagy T4 adszorbens és oldat közötti megoszlásának állandójára a következő összefüggés adódik:

$$\lg D = -\lg K + \lg(Dx - S_n) - n \cdot \lg(S) \quad (6)$$

azaz — a kísérleti eredményekkel egyezően — $\lg D$ lineáris függvénye $n \cdot \lg(S)$ -nek.

Mivel $(Dx - S_n)$, azaz az adszorbeált szolvens felületi koncentrációjának változása nagyobb szolvenskoncentrációnál elhanyagolható, maga a $(Dx - S_n)$ tag bevonható egy állandóba, amelyet célszerűen az egységnyi szolvenskoncentrációhoz tartozó D^0 megoszlási hányadosnak tekinthetünk*:

$$\lg D = \lg D^0 - n \cdot \lg(S) \quad (7)$$

A (7) egyenlet lehetőséget nyújt arra, hogy D^0 és n ismeretében D értékét tetszőleges szolvenskoncentrációra számoljuk, valamint arra, hogy több elválasztandó komponens esetében megkapjuk azt a szolvenskoncentrációt, amelynél az elválasztás megvalósítható.

A (7) egyenlettel kapcsolatban meg kell jegyeznünk, hogy D^0 értéke, azaz az elúcióhoz használt szolvens elúcióképessége a THF > acetone > etanol > metanol sorrendben csökken, ugyanakkor azonban a $\lg D$ vs. $\lg(S)$ egyenesek iránytangense, azaz n értéke, közel azonos. Ez azt látjuk bizonyítani, hogy az elúció során kialakuló $(Dx - S_n)$ adszorpció komplexum sztöchiometriailag mind a négy szolvens esetében közel azonos, azaz a dextranszérálon molarány gyakorlatilag független a szolvens minőségétől. D^0 fizikai jelentésének megnyugtató tisztázásához mindenestre további kísérletek szükségesek.

b) A T3 és T4 kromatográfiás elválasztásának optimalizálása

Két komponens kromatográfiás elválaszthatósága egyrészt a retenciós térfogatok (V_e) különbsége, másrészt pedig az elúciós csúcsok alapszélessége alapján ítéhető meg

$$R_s = \frac{V_e^{(2)} - V_e^{(1)}}{4\sigma} \quad (8)$$

ahol R_s a felbontóképességet, V_e az elúciós térfogatot, σ pedig az elúciós csúcsot leíró Gauss-görbe standard deviációját jelenti. Kimutatható,

⁹ C. J. O. R. Morris, P. Morris: Separation Methods in Biochemistry. Pitman, London, 1964.

¹⁰ Nem közölt adatok.

¹¹ C. A. Streuli: J. Chromatogr. 56. 225. 1971.

* Ahelyett, hogy a $(Dx - S_n)$ tag változása elhanyagolásának jogosságát bizonyítanánk, utalunk a kelátképződésen alapuló extrakció tartalmilag analóg egyenletére.

hogy R_s az elválasztandó komponensek megoszlási hányadosaival s a kromatografáló oszlop effektív tányérszámával (N_{eff}) az alábbi módon is kifejezhető:

$$R_s = \frac{1}{4} \left[\frac{D_2}{D_1} - 1 \right] \cdot \sqrt{N_{\text{eff}}} \quad (9)$$

A (9) egyenletben a D_2/D_1 tört a szelektivitással kapcsolatos, míg az effektív tányérszám magában foglalja az ún. kapacitástényezőt is.

A (7) egyenlet szerint a D_2/D_1 hányados a szolvénkoncentrációtól a

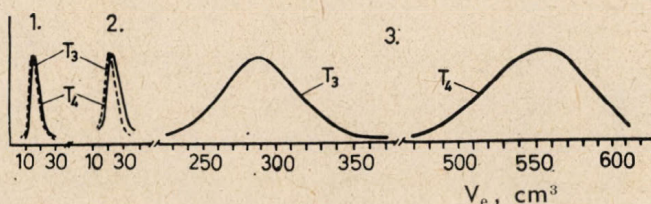
$$\frac{D_2}{D_1} = \frac{D_2^0}{D_1^0} \cdot (S)^{n_1-n_2} \quad (10)$$

egyenlet szerint függ. Behelyettesítve a D_2/D_1 hányadosot a felbontóképesség (9) egyenletébe, R_s -re a következő összefüggés adódik:

$$R_s = \left[\frac{D_2^0}{D_1^0} (S)^{n_1-n_2} - 1 \right] \cdot \sqrt{N_{\text{eff}}} \quad (11)$$

Mivel a (10) egyenletben $n_2 > n_1$, R_s értéke tehát (S) csökkenésével növekszik.

A felbontóképesség függését az eluens koncentrációjától a 4. ábrán bemutatott elúciós gör-



4. ábra

A T3–T4 elúciós görbék 1:70%-os, 2:60%-os, 3:20%-os metanol eluens alkalmazása esetén

(Megjegyzés: Az 1–2 elúciós görbéket a T3 és T4 elúciós maximumának közelsége miatt kettős nyomjelzéssel határoztuk meg; az egyes frakciókban kétsatornás analízátor segítségével egyidejűleg mértük a I-125-T3 és I-131-T4 aktivitását.)

bék szemléltetik. Amíg 70 és 60%-os metanol eluens esetében az elúciós csúcsok csaknem fedik egymást, addig 20%-os metanol eluens alkalmazásánál R_s jelentősen nagyobb az egységnél.

Véleményünk szerint a felbontóképesség növelése sokkal előnyösebben valósítható meg az eluens koncentrációjának megfelelő megválasztásával, mint az eluens pH-jának optimalizálásával; a megoszlási hányadosok pH-függése ugyanis csak az elválasztandó sav vagy bázis pK értéke közelében számottevő, az eluens koncentrációjának

változtatása ezzel szemben igen nagy koncentráció-intervallumban a megoszlási hányados változását idézi elő.

Összefoglalás

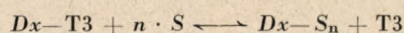
Radiojóddal jelzett 3,3,5-L-trijódtironin és tiroxin kromatográfiás elválasztását valósítottuk meg Sephadex LH-20 géllal töltött oszlopon. Megállapítottuk, hogy — egyébként azonos kísérleti feltételek mellett — az elúciós térfogatok az eluensként használt szerves oldószerek koncentrációjának növekedésével csökkennek; az elúciós térfogatokból számított megoszlási hányadosok logaritmusa az eluens-koncentráció logaritmusának a (7) egyenlet szerinti lineáris függvénye. A lineáris $\lg D$ vs. $\lg (S)$ összefüggéshez elméleti úton is eljutottunk lineáris izoterma és reverzibilis adszorpció feltételezése mellett.

On the adsorption chromatographic separation of radioiodine labelled triiodothyronine and thyroxine. G. Tóth

The chromatographic behaviour of radioiodine labelled T3 and T4 was investigated using Sephadex LH-20 as adsorbent and aqueous solution of organic solvents (methanol, ethanol, acetone and tetrahydrofuran) as eluents. The dependence of the distribution coefficient (D) on the organic solvent concentration of the eluent (S) obeys the equation

$$\lg D = \lg D^0 - n \cdot \lg(S) \quad (7)$$

where D stands for the distribution coefficient, D^0 for the distribution coefficient at 1 mole/dm³ eluent concentration and (S) for the eluent concentration. Eq. 7 can be obtained by formulating the elution as a reversible reaction,



expressing the equilibrium constant

$$K = \frac{[Dx-S_n] \cdot [T3]}{[Dx-T3] \cdot [S]^n}$$

and neglecting the change of the term $[Dx - S_n]$.

Eq. 7 can be used over a wide range of eluent concentration to calculate either the resolution at a given concentration or the concentration at which complete separation occurs.

Budapest, MTA Izotóp Intézet.
Érkezett: 1976. IX. 10.