

CHROM. 3680

UNTERSUCHUNGEN ZUR QUANTITATIVEN RADIODÜNNSCICHT-
CHROMATOGRAPHIE TRITIUMMARKIERTER VERBINDUNGEN

GEORG RABITZSCH

Institut für Kreislaufforschung, Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Berlin-Buch (D.D.R.)*

(Eingegangen den 28. Juni 1968)

SUMMARY

Investigations on the quantitative radio thin-layer chromatography of tritium-labelled compounds

A measuring arrangement for the quantitative radio thin-layer chromatography of tritium and other low-energy β -emitters is described. The influence of various chromatographic and technical factors on the efficiency of the measurement and the reproducibility of quantitative results is investigated. At a detection limit of 2 nC the measuring efficiency for tritium was 1.5 % (^{14}C : 0.1 nC, 23.5 %). The over-all error of the method ranges from 10 to 20 %, depending on the level of activity applied.

Aus der Kombination radioanalytischer und chromatographischer Systeme hat sich neben anderen Verfahren besonders die Radiodünnschichtchromatographie energiearmer β -Strahler infolge ihres breiten Anwendungsspektrums auf dem Gebiet biologisch-medizinischer Tracer-Untersuchungen zu einer erfolgversprechenden Methode entwickelt. Einen Überblick über die bisher bestehenden apparativen und messtechnischen Möglichkeiten gibt SNYDER¹.

Nach Untersuchungen von SCHULZE UND WENZEL²⁻⁴ sind zur stufenweisen oder kontinuierlichen Tritiummessung auf Dünnschichtchromatogrammen bevorzugt offene Gasdurchflusszählrohre geeignet, da in dieser Anordnung das empfindliche Zählvolumen durch den Kollimatorschlitz bis auf die Chromatogrammoberfläche geführt werden kann und damit weitgehend eine quantitative Erfassung der aus dem Chromatogramm emittierten β -Strahlung ($E_{\text{max.}} = 18.5 \text{ keV}$) entweder als solche oder in Form negativer, sekundärer Ladungsträger gegeben ist. Angaben von BLEECKEN und Mitarbeitern⁵, BOUCKE⁶ und RAVENHILL UND JAMES⁷ befassen sich darüber hinaus mit Fragen der Korrelation zwischen Fehlerbreite und messtechnischen Parametern⁶, mit dem Einfluss der chromatographierten Substanzmenge auf den Wirkungsgrad der Tritiummessung⁵ sowie mit speziellen apparativen Lösungen^{5,7}. MOYE⁸ fordert für ^{14}C - und ^{35}S -Messungen konstante Schichtdicken, gibt jedoch keinen Hinweis für ihre routinemässige Ausmessung vor der Aktivitätsmessung.

* Direktor: Prof. Dr. A. WOLLENBERGER

In früheren Mitteilungen^{9,10} haben wir bereits auf die Verwendungsmöglichkeit des Gasdurchflusszählrohres VA-Z-530* für radiodünnschichtchromatographische ¹⁴C- und ³H-Messungen hingewiesen. Hiervon ausgehend untersuchten wir mit Hilfe einer einfachen Messanordnung zur kontinuierlichen Messung und Registrierung der Aktivitätsverteilung dünnschichtchromatographisch getrennter tritiummarkierter Verbindungen verschiedene chromatographisch und messtechnisch bedingte Faktoren in ihrer Bedeutung für die Messeffektivität und Reproduzierbarkeit quantitativer Aussagen. Im Vordergrund standen hierbei bisher nicht oder nur unzureichend untersuchte Fragen zur Grösse abstandsbedingter Effektivitätsänderungen, zum Einfluss der Trägerschichtdicke auf die Messwertbildung sowie zur Bedeutung von Flächen-differenzen ³H-führender Chromatogrammstellen für eine vergleichende Prüfung der für die quantitative Auswertung radiodünnschichtchromatographischer Analysen sich anbietenden Messgrössen. Über die Bildung elektrostatischer Oberflächen-ladungen¹¹, deren Charakteristik und Einfluss auf die Zählratenkonstanz und Fehlerbreite der Aktivitätsmessung sowie über die Eliminierung derartiger Aufladungs-effekte bei tritiummarkierten Dünnschichtchromatogrammen haben wir an anderer Stelle berichtet¹².

METHODEN

Radiodünnschichtchromatograph

Allgemeiner Aufbau. Der Radiodünnschichtchromatograph (Fig. 1) besteht aus dem in seiner Zähl drahtanordnung modifizierten Gasdurchflusszählrohr VA-Z-530* und der Transporteinrichtung mit dem Chromatogrammschlitten. Den von BLEECKEN und Mitarbeitern⁵ gegebenen theoretischen Erwägungen folgend, sowie im Sinne eines günstigen Kompromisses zwischen Auflösungsvermögen und Messeffektivität, verwendeten wir eine Schlitzblende ($l = 30$ mm) mit einer Spaltbreite von 2 mm. Zur Höhenverschiebung des Detektors dient ein Feintrieb in Verbindung mit einer stationären Messkala mit Noniusablesung. Als Voraussetzung für die Einstellung eines reproduzierbaren Minimalabstandes (bis 50 μ m) zwischen Zählrohrblende und Chromatogrammoberfläche (Δ_{Bl-Ch}) erfolgt die routinemässige Ausmessung desselben ohne Beschädigung der Schichtoberfläche mittels der am Scanner stationär fixierten Messuhr durch indirekte Differenzmessung nach dem Schattenprinzip¹³.

Die Standardabweichung der Einstellungswerte beträgt bei einem Abstand von Δ_{Bl-Ch} 0.5 mm \pm 3.4% ($n = 10$)**.

Der Detektor wird über den Strahlungsmessplatz VA-M-16D* (max. 4 kV) mit angeschlossenem Ergebnisdrucker betrieben. Die Registrierung erfolgt mit einem 10 mV eKB-Schreiber über den Impulsdichtemesser VA-D-41*. Die dem Startpunkt und der Lösungsmittelfront des vorliegenden Radiochromatogramms entsprechende Markierung der Aktivitätskurven erfolgt gemäss Fig. 2 automatisch durch die am Chromatogrammschlitten versetzbar angebrachten Magnetschalter B und C. Die am Schreibereingang den Messimpulsen parallel geschalteten Markierungsimpulse entsprechen einem Wert von ca. 0.5 mV. Die Markierungstaste A erlaubt eine von B und

* VEB Vakutronik Dresden.

$$** s = \pm \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

C unabhängige zusätzliche Signierung der Schreiberkurven während des Messvorganges.

Transporteinrichtung zum Chromatogrammvorschub. Die Transporteinrichtung (Fig. 3) betreibt mittels Synchronmotor, angeflanschtem Getriebe (5) und Seiltrieb

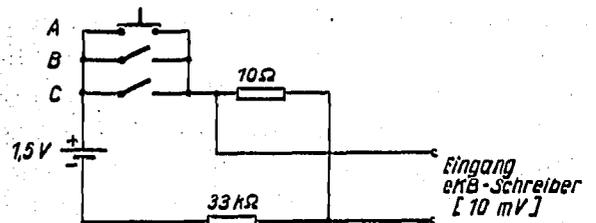
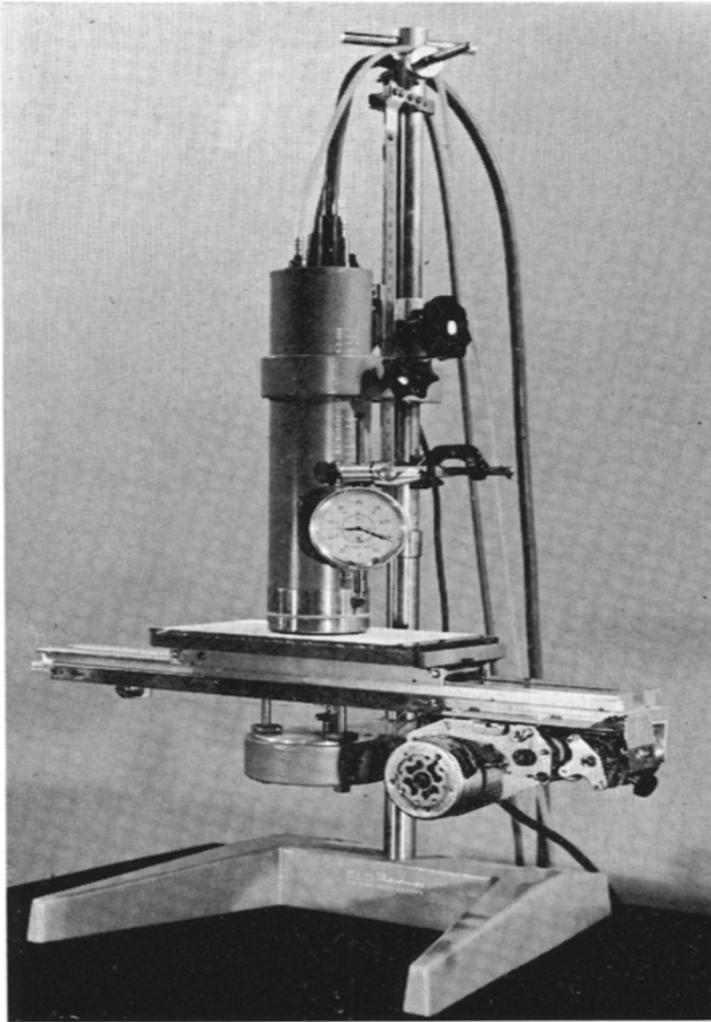


Fig. 1. Radiodünnschichtchromatograph (mit abgenommener Antriebsverkleidung und Ableitungsplatte).

Fig. 2. Schaltschema zur automatischen Markierung der Aktivitätsverteilungskurven.

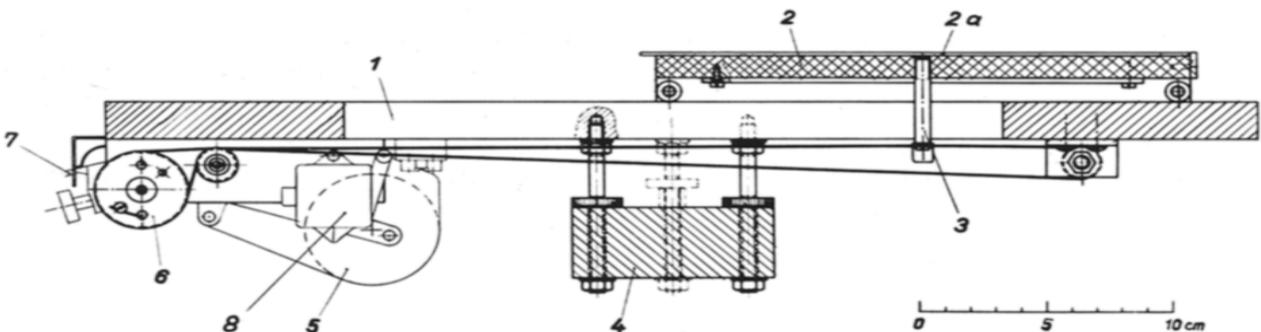


Fig. 3. Transporteinrichtung zum Chromatogramm-Vorschub (Erklärungen im Text).

(Nylon) den auf einer Metallschiene (1) laufenden, kugelgelagerten Chromatogrammschlitten (2). Die als Chromatogrammträger dienende 14×24 cm grosse Nickelplatte (2a) besitzt eine separate Erdableitung und verhindert durch ihren breitflächigen Kontakt mit der Chromatogrammunterseite eine positive elektrostatische Aufladung der Chromatogrammoberfläche und damit eine partielle oder totale Eliminierung der negativen, sekundären Ladungsträger¹². Durch Verwendung eines dem Bandschreiber analogen Antriebsaggregates (Synchronmotor und Zahnradgetriebe) und Übereinstimmung des Durchmessers der Seilantriebsrolle (6) mit der Papiertransportrolle des eKB-Schreibers, entsprechen die fünf möglichen Vorschubgeschwindigkeiten 'c' (20–3600 mm/h) der Transporteinrichtung denen des Bandschreibers. Aus praktischen und messtechnischen Gründen erwiesen sich c-Werte von 60, 200 und 600 mm/h am günstigsten. Die Schaltung der gewünschten Transportgeschwindigkeit und die Getriebeausrüstung (Freilauf) erfolgt über (7), die automatische Transportabschaltung über den Endausschalter (8) nach Andruck des Mitnehmerstiftes (3). Vergleichende Messungen zur Kontinuität des Chromatogrammvorschubes ergaben für die drei genannten c-Bereiche bei einer Messstrecke von 10 cm maximale Abweichungen der Einzelwerte ($n = 10$)* von $< \pm 0.15\%$ und für 1 mm-Einheiten lediglich einen Wert von $s_{\max.} = \pm 0.8\%$ ** . Die justierbare Dreipunktlagerung der Transporteinrichtung (4) erlaubt eine exakte Parallelität zwischen dem Blendenabschluss des Detektors und der Chromatogrammoberfläche.

Zähldraht-Form und -Charakteristik. Als Korrektur des kommerziellen Detektors machte sich eine Modifizierung der Zähldrahtanordnung erforderlich (Fig. 4). Von MÜNDEL UND HOLLSTEIN¹⁴ liegen zu dieser Frage für stationäre Messungen eingehende Untersuchungen vor. Die Originalschleife (1) wurde durch einen in 4 mm

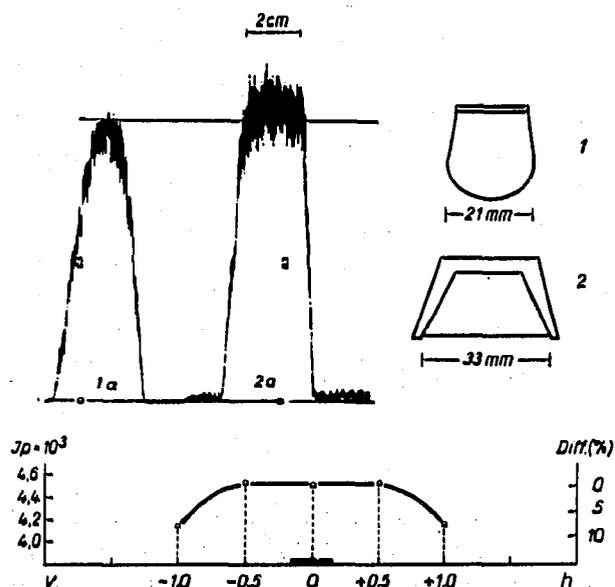


Fig. 4. Zähldraht-Form und Charakteristik der effektiven Messbreite von (2) (Aufnahme einer ^3H -Quelle parallel zur Blendenöffnung; $c = 200$ mm/h). 1 = Originalschleife; 2 = modifizierte Anordnung der Anode.

$$* s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

** Bei Verwendung eines Zahnstangenantriebes statt der Bandübertragung erhöhen sich die 1 mm-Werte um den Faktor 8–10.

Abstand zur Blendeninnenseite auf seiner Gesamtlänge parallel zur Blendenöffnung verlaufenden Zähldraht ((2), Molybdän, 30 μm Durchmesser) ersetzt. Die Aufnahme der Charakteristik beider Formen durch Vorschub einer ^3H -Quelle parallel zum Spalt zeigt, dass innerhalb der vorgegebenen Messbahn hierdurch eine wesentliche Verbesserung der optimalen Messbreite von ca. 0.3 (1a) auf 1.5 cm (2a) erzielt werden kann. Eine detaillierte Ausmessung der Impulsabweichungen vom Zähldrahtmittelpunkt ergab für ± 0.5 cm vollständige Konstanz und für ± 1.0 cm einen beidseitig gleichmässigen Abfall um ca. 8 %.

Zählrohrcharakteristik. Die stationär und bei einem Chromatogramm vorschub von 200 und 600 mm/h in Abhängigkeit vom Methanfluss und dem Abstand zwischen Blende und Chromatogrammoberfläche ($\Delta_{\text{Bl-Ch}}$) aufgenommene Plateauentwicklung gibt Fig. 5 wieder. Als Vorlage dienten chromatographierte ^3H -Flecken mit einem Durchmesser von 7 mm. Während bei einem konstanten $\Delta_{\text{Bl-Ch}}$ von 0.5 mm Methangeschwindigkeiten zwischen 1 und 3 l/h keinen wesentlichen Einfluss auf Länge und Anstieg des Plateaus ausüben, bewirken Abstandsänderungen (CH_4 : 2 l/h) von 0.3 auf 1.0 mm, abgesehen von der damit verbundenen und besonders für $\Delta_{\text{Bl-Ch}} = 1.0$ mm offensichtlichen Effektivitätsänderung, einen Anstieg der Plateauwerte von 2.7 auf 6.0 %/100 V. Für eine Arbeitsspannung von $U_A = 3.0$ kV (Eingangsempfindlichkeit 2 mV), einer Methanbegasung von 2 l/h und $\Delta_{\text{Bl-Ch}}$ 0.5 mm beträgt bei einer Plateaulänge von 500 V der Plateuanstieg 3.7 %/100 V. Der Nulleffekt, der auf den erreichbaren Empfindlichkeitsgrad der Messanordnung einen wesentlichen Einfluss ausübt, liegt auch nach mehrjährigem Betrieb des Scanners bei < 35 Impulsen pro Minute.

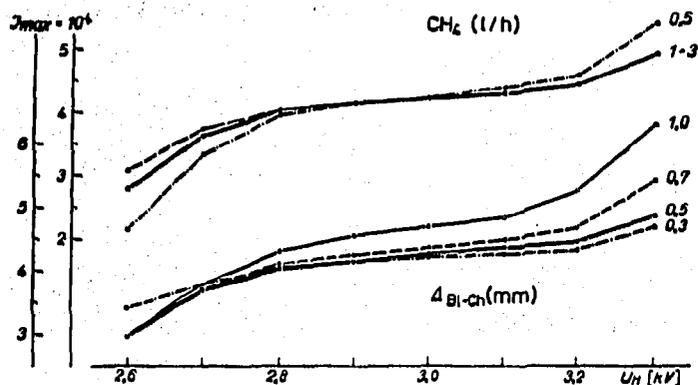


Fig. 5. Zählrohr-Charakteristik in Abhängigkeit von der Methanbegasung und dem Abstand Zählrohrblende-Chromatogrammoberfläche ($\Delta_{\text{Bl-Ch}}$).

Dünnschichtchromatographie

Als Adsorbens fand Kieselgel G Merck Verwendung. Die Schichten wurden in üblicher Weise mit einem Streichgerät¹⁵ aufgebracht und die Platten (10 × 20 cm) nach einstündiger Trocknung bei 105° unter Feuchtigkeitsausschluss aufbewahrt. Abgesehen von den Untersuchungen zum Einfluss der Trägerschichtdicke, betrug die Stärke der getrockneten Kieselgelschichten 200 $\mu\text{m} \pm 5\%$. Die Dickenmessung erfolgte routinemässig vor der Verwendung der DC-Platten durch Differenzmessung unter Verwendung einer stationären Messuhr¹³. Um in allen Fällen eine gleichmässige und reproduzierbare Verteilung des markierten Substrates in der Trägerschicht und damit an der Oberfläche zu gewährleisten, wurden keine Punktauftragungen ver-

wendet, sondern sämtliche Untersuchungen nur an bereits chromatographierten DC-Platten vorgenommen. Als tritierte Verbindung fand Digitoxin-(u- ^3H) (Lit. 9) mit einer spezifischen Aktivität von 182 mC/mMol und für die Aufstellung einer ^{14}C -Vergleichseichkurve Digitoxin($^{23}\text{-}^{14}\text{C}$) (11.2 mC/mMol¹⁰) Verwendung. Mit Ausnahme der Untersuchungen zum Spray-Einfluss (Spray: SbCl_3 , 20%ig in Chloroform¹⁷; Trocknung: 3 min/ 120°), erfolgte die Aktivitätsmessung der mit Äthylacetat-Methanol (95:5) entwickelten Chromatogramme ohne vorherige Anfärbung.

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

Wertigkeit der Messgrößen I_{\max} , F_b , I_p und Einfluss der Fleckengröße

Während für qualitative radiodünnschichtchromatographische Analysen die Art der verwendeten Messgröße von untergeordneter Bedeutung ist, übt bei quantitativen Messungen die Wahl des Auswertungsmodus einen entscheidenden Einfluss auf die Messwertbildung aus. Zur Auswertung der Aktivitätsverteilungskurven stehen folgende drei Messgrößen zur Verfügung:

I_{\max} = maximale Impulshöhe des Peaks (Imp. \times min⁻¹);

F_b = Peakfläche F (mm²) unter Berücksichtigung des Integrationsbereiches "B" ($F_b = F \times B \times 10^{-3}$);

I_p = gemessener Gesamtimpulswert pro Peak (Imp.).

I_p entspricht in seiner Entwicklung F_b , steht jedoch abweichend von F_b in Abhängigkeit von der vorgegebenen Messzeit und damit von der Geschwindigkeit des Chromatogramm-Vorschubes "c". Für Vorschubwerte im Bereich von 60–600 mm/h ist die zwischen I_p und c zu fordernde Proportionalität gegeben. Die Ermittlung von F_b erfolgt planimetrisch.

Eine vergleichende Wertung der Messgrößen I_{\max} und F_b kann eindeutig durch die Ausmessung chromatographierter ^3H -Aktivitätsflecken mit konstanter absoluter und spezifischer Aktivität jedoch differierender flächenmässiger Ausbreitung erfolgen (Fig. 6). Während I_{\max} bei einer Zunahme des Fleckendurchmessers von 5 auf 21 mm auf 25 % seines Ausgangswertes abfällt, verhält sich die Peakfläche F bzw. F_b unabhängig von der vorgelegten Chromatogramfläche. Da die Grösse des Fleckendurchmessers infolge verschiedener chromatographischer Faktoren wie System-Zusammensetzung, Temperatur und Substanzmenge⁵ als sehr variabel anzusehen ist und im Extremfall auch mit Verwaschungen und Schwanzbildungen gerechnet werden muss, kann eine Konstanz der flächenmässigen Ausbreitung der

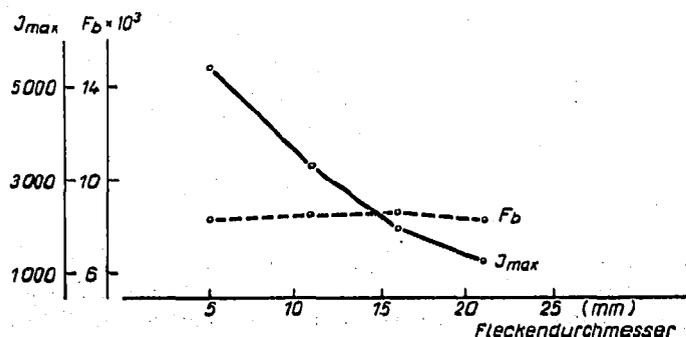


Fig. 6. Einfluss der Fleckengröße der ^3H -Ablagerungen auf die quantitative Auswertung mittels der Messgrößen I_{\max} und F_b .

Flecken nicht vorausgesetzt werden. Damit scheidet für praktische Scanner-Messungen I_{\max} als reale und reproduzierbare Messgrösse aus. Seine Verwendung erscheint nur bei vergleichenden methodischen Sondierungen ein und desselben Chromatogrammflckes statthaft. Zur Auswertung aller sonstigen radiodünnschicht-chromatographischen Analysen kann nur die Peakfläche F_b , bzw. nach entsprechender Eichung auch I_p , herangezogen werden.

Abstandsbedingte Effektivitätsänderungen

Die aus der Chromatogrammoberfläche emittierten β -Teilchen gehen praktisch verlustlos entweder als solche oder als negative, sekundäre Ladungsträger in die Registrierung ein. Die Limitierung der Messausbeute ist aus diesem Grunde fast ausschliesslich durch Faktoren der Selbstabsorption sowie der β -Absorption innerhalb der Trägerschicht gegeben. Hieraus resultiert, dass der Abstand Anode-Zählrohrblende (Fig. 7; \overline{ZA} minus $d_{B1} = 4$ mm) für die Frage der Messeffektivität von untergeordneter Bedeutung ist und lediglich in Korrelation mit der Grösse der Blendenöffnung den Ausfallswinkel der Feldlinien bestimmt. Messungen an Festpräparaten mit Abständen zwischen Anode und ^3H -Quelle im Bereich von 5–15 mm unterstreichen diese Feststellung durch eine Effektivitätsbewegung von nur 0.9 %/mm.

Im Gegensatz zu bereits vorliegenden Angaben unter Verwendung von Punktauftragungen^{5,7} prüften wir die Frage abstandsbedingter Effektivitätsänderungen unter Bedingungen normaler Scanner-Messungen, d.h. unter Vorlage chromatographierter ^3H -Flecken mit einem der 3- bis 4-fachen Blendenspaltbreite entsprechenden Durchmesser (6–8 mm). Unter der Voraussetzung eines geradlinigen Verlaufes der von der Anode (Z) ausgehenden Feldlinien, einer optimalen Methansättigung sowie einer zentralen Anordnung des ^3H -Fleckes unter der Spaltblende lassen sich gemäss Fig. 7 die durch Variierung des Abstandes bedingten Effektivitätsverschiebungen auf eine Änderung des von den Feldlinien erfassten Ausschnittes der Chromatogrammoberfläche (mit konstanter ^3H -Beladung) zurückführen. Somit muss sich entgegen bisherigen Befunden^{5,7} eine Abstandsvergrösserung in eine Erhöhung der

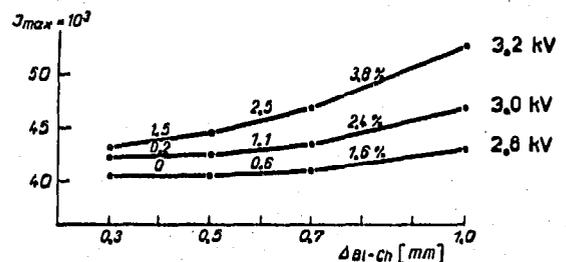
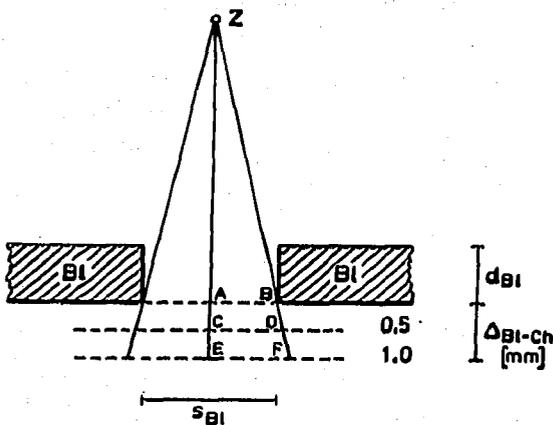


Fig. 7. Schematische Darstellung zum Feldlinienverlauf in Abhängigkeit von Anoden-Position, wirksamer Blendenweite und Chromatogramm-Abstand. Z = Anode; Bl = Zählrohrblende; s_{B1} = Spaltbreite; d_{B1} = Blendenstärke; Δ_{B1-Ch} = Abstand Blende-Chromatogrammoberfläche.

Fig. 8. Abstandsbedingte Entwicklung der Messeffektivität in Abhängigkeit von der Zählrohrspannung unter Darstellung der prozentualen Impulsratenbewegung (%/0.1 mm Δ_{B1-Ch}).

registrierten Impulsrate umsetzen*. Bei einer Blendenspaltbreite von $s_{BI} = 2$ mm und $\overline{ZA} = 5$ mm ($d_{BI} = 1$ mm) lässt sich für eine Abstandsvergrößerung von $\Delta_{BI-ch} 0.5 \rightarrow 1.0$ mm mit Hilfe des Strahlensatzes ein Zuwachs der von den Feldlinien erfassten 3H -führenden Chromatogramfläche von 9.1 % berechnen.

Messungen zur Effektivitätsentwicklung (Fig. 8) zeigen die erwartete, in ihrer Steilheit vom Gasverstärkungsfaktor abhängige und parallel zur Abstandsvergrößerung verlaufende Steigerung der Impulsausbeute. Der Mittelwert des Gesamtanstiegs von $\Delta_{BI-ch} 0.5$ auf 1.0 mm in dem plateaubegrenzenden Bereich von 2.8–3.2 kV entspricht mit einer Effektivitätserhöhung von 10.6 % (für U_A (3.0 kV) = 9.4 %) annähernd dem berechneten Wert.

Aus der dargestellten Impulsratenbewegung (prozentuale Impulsänderung/0.1 mm; Fig. 8) ergibt sich ferner, dass unkontrollierte Abstandsänderungen bei $\Delta_{BI-ch} > 0.7$ mm ($U_A = 3.0$ kV) die quantitative Auswertung der Aktivitätsmessungen mit Abweichungen von 2.4 % pro 0.1 mm (!) Abstandsdifferenz belasten. Da die entsprechenden Werte für Abstände unter 0.7 mm mit maximal 1.1 % bzw. 0.2 %/0.1 mm wesentlich niedriger liegen, kann aus diesen Befunden die Forderung nach einer Verwendung reproduzierbarer Minimalabstände von < 0.7 mm sowie die Notwendigkeit einer vor jeder quantitativen Aktivitätsmessung erforderlichen Abstandsmessung als Voraussetzung einer gleichbleibenden Abstandseinstellung abgeleitet werden.

Trägerschichtdicke

Unter der Voraussetzung einer gleichmässigen und reproduzierbaren 3H -Substratverteilung in der Trägerschicht, muss auf der Basis der für Tritium ($E_{max} = 18.5$ keV) charakteristischen Sättigungsdicke von 0.82 mg/cm² entgegen bisherigen Angaben^{5,6} auch für den hier interessierenden analytischen DC-Bereich mit einer eindeutigen Einflussnahme der Trägerschichtdicke (d) auf die Messausbeute gerechnet werden. Messungen in zwei Aktivitätsniveaus (56 und 280 nC) beweisen für Schichtänderungen des Trägermaterials Kieselgel G im Bereich von 75–300 μm ($d \approx 100 \mu\text{m} \approx 5$ mg/cm²) die zu erwartende und in beiden Niveaus parallel verlaufende Abhängigkeit des Flächen—bzw. Impulswertes von der Trägerschichtdicke (Fig. 9). Bei konstanter

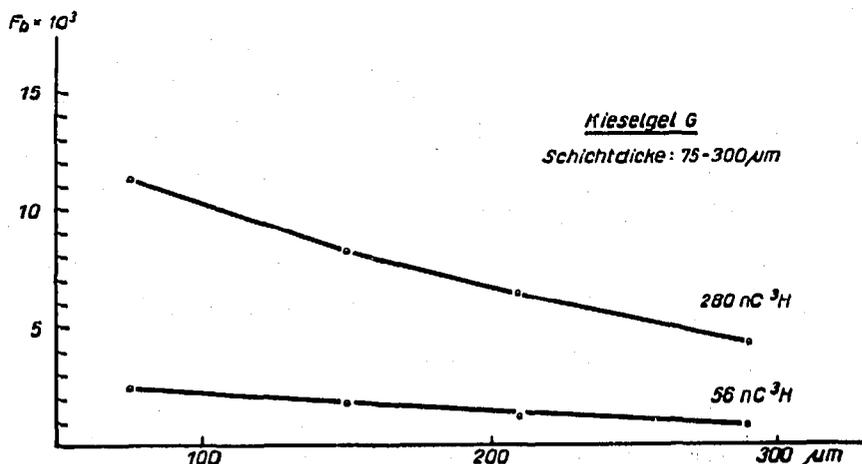


Fig. 9. Einfluss von Schichtdickenveränderungen (Kieselgel G; $d = 75-290 \mu\text{m}$) auf die Messeffektivität bei konstanter Ausgangsaktivität (56 und 280 nC).

* Dies gilt bis zu einem Limit, das unter den beschriebenen Messbedingungen bei Δ_{BI-ch} 1.5 mm liegt.

absoluter und spezifischer Ausgangsaktivität bedingt ein Anstieg der Schichtdicke von 100 auf 290 μm einen durchschnittlichen Abfall der Messeffektivität auf 39.3 % (56 nC: 38.1 %; 280 nC: 40.6 %).

Aus der auf der Grundlage dieser Werte zu berechnenden hohen Effektivitätsbewegung von ca. 3.2%/10 μm d für $d = 100\text{--}290 \mu\text{m}$ ergibt sich hinsichtlich der Fehlerbreite quantitativer Messungen die Schlussfolgerung, dass die Vorlage konstanter Schichtdicken eine der wesentlichsten Voraussetzungen für den Erhalt reproduzierbarer Aussagen darstellt. Die gezeigte Entwicklung gilt nur für Tritium und Kieselgel G und kann in ihrem quantitativen Verlauf infolge des spezifischen Charakters der Sättigungsdicke und des Flächengewichtes nicht auf andere Nuklide oder Trägermaterialien⁶ übertragen werden.

Aktivitätsbestimmung und Fehlerbreite der Methode

Die bei konstanter spezifischer Aktivität vorgenommene Tritiumeichung erfolgte bei einer Trägerschichtdicke von $d = 200 \mu\text{m}$ und unter Berücksichtigung der genannten messtechnischen und chromatographischen Voraussetzungen über einen Bereich von 5.6–280 nC (Fig. 10; ^3H (a)). Die der Eichkurve zugeordnete Effektivitätskonstante K_{eff} (^3H (a)): 24.4) entspricht dem Quotienten

$$K_{\text{eff}} = \frac{F_b}{A [\text{nC}]}$$

und stellt damit ein Mass für die unter den vorgegebenen Bedingungen erreichbare Effektivität der Nuklide dar. Eine Nachbehandlung der entwickelten Chromatogramme durch Spray mit Antimontrichlorid und anschließender Trocknung bei 110° bis zum Eintritt der Farbreaktion bewirkt ein Absinken des K_{eff} -Wertes auf 17.0

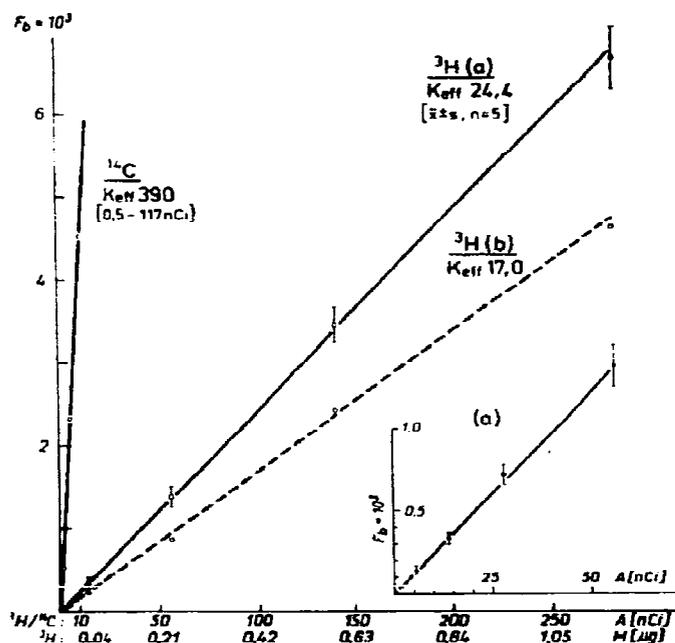


Fig. 10. Eichkurven zur radiodünnschichtchromatographischen Aktivitätsmessung von Tritium (5.6–280 nC) und Kohlenstoff-14 (0.5–117 nC); planimetrische Auswertung als F_b . ^3H (a) = Chromatogramme ohne Nachbehandlung; ^3H (b) = Chromatogramme nach Anfärbung mit SbCl_3 ; ^{14}C = Chromatogramme ohne Nachbehandlung.

(^3H (b)). Für die vergleichsweise über einen Bereich von 0.5–117 nC aufgenommene ^{14}C -Eichkurve beträgt K_{eff} 390. Die absolute Aktivität (A) in nC berechnet sich nach

$$A = \frac{F \times B \times 10^{-3}}{K_{\text{eff}}}$$

Die spezifische Aktivität der hier verwendeten Cardenolidtridigitoxoside kann im Bedarfsfall im Anschluss an die Aktivitätsmessung kolorimetrisch durch Reaktion der aus den aktivitätsführenden Banden gewonnenen Eluate mit 2,4,2',4'-Tetra-nitrodiphenyl bestimmt werden¹⁸.

Die maximale, planimetrisch noch einwandfrei auswertbare Empfindlichkeit der Messanordnung liegt für Tritium bei 2 nC und für Kohlenstoff-14 bei 0.1 nC. Auf der Grundlage der I_p -Werte ($c = 200$ mm/h) ergibt sich für Tritium eine Messeffektivität von 1.5 % und für Kohlenstoff-14 von 23.5 %. Unter den optimalen Bedingungen der Eichung betragen die relativen Standardabweichungen der Einzelwerte* für Tritium bei $n = 5$ für 5.6 nC ± 14.5 %, 56 nC ± 7.9 % und für 280 nC ± 5.7 %.

Eine in Hinblick auf routinemässige Scanner-Messungen vorgenommene differenzierte Fehlereinschätzung zeigt, dass bei Einhaltung der beschriebenen messtechnischen Voraussetzungen der apparativ bedingte Fehler der reinen Impulsregistrierung auch im Fall einer Neueinstellung bei Wiederholungsmessungen des gleichen Dünnschichtchromatogramms unter 5 % liegt. Durch Einbeziehung des dünnschichtchromatographischen Teiles der Methode, in den ausser den bereits genannten Faktoren die geminderte Auftragungsgenauigkeit im μl -Bereich (incl. Pipettenfehler) eingeht, sowie unter Berücksichtigung der planimetrischen Auswertung mit relativen Standardabweichungen von ± 2 –4 % ($n = 5$), ergibt sich ein durchschnittlicher Gesamtfehler der Methode von ± 10 –20 %, der entsprechend den der Eichkurve zugeordneten Abweichungen je nach vorliegendem Aktivitätsniveau zur oberen oder unteren Grenze tendiert.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über eine Messanordnung zur quantitativen Radiodünnschichtchromatographie von Tritium und anderen energiearmen β -Strahlern sowie über Untersuchungen zum Einfluss verschiedener chromatographisch und messtechnisch bedingter Faktoren auf die Messeffektivität und Reproduzierbarkeit quantitativer Aussagen berichtet. Bei einer Nachweisgrenze von 2 nC beträgt die Messeffektivität für Tritium 1.5 % (^{14}C : 0.1 nC, 23.5 %). Der Gesamtfehler der Methode bewegt sich je nach vorgegebenem Aktivitätsniveau zwischen 10 und 20 %.

DANK

Fräulein S. JÜNGLING und Herrn W. HOSENFELDER bin ich für ihre wertvolle Mitarbeit sehr zu Dank verpflichtet.

$$* s = \pm \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

LITERATUR

- 1 F. SNYDER, *Atomlight*, 58 (1967) 1.
- 2 P.-E. SCHULZE UND M. WENZEL, *Angew. Chem.*, 74 (1962) 777.
- 3 M. WENZEL, P.-E. SCHULZE UND H. WOLLENBERG, *Naturwiss.*, 49 (1962) 515.
- 4 M. WENZEL UND P.-E. SCHULZE, *Tritium-Markierung*, Walter de Gruyter, Berlin, 1962.
- 5 S. BLEECKEN, G. KAUFMANN UND K. KUMMER, *J. Chromatog.*, 19 (1965) 105.
- 6 G. BOUCKE, *Atompraxis*, 11 (1965) 263.
- 7 J. R. RAVENHILL UND A. T. JAMES, *J. Chromatog.*, 26 (1967) 89.
- 8 C. J. MOYE, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 56.
- 9 G. RABITZSCH UND H. HERZMANN, *Ann. Chem.*, 685 (1965) 261.
- 10 G. RABITZSCH, *Arbeitstag. Angew. Radioaktivität, Leipzig, 11.-14.10.1966.*
- 11 H. SCHÜRFELD UND L. A. WEGNER, *Nukleonik*, 7 (1965) 74.
- 12 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 37 (1968) 241.
- 13 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 37 (1968) 350.
- 14 H. MÜNDEL UND M. HOLLSTEIN, *Atompraxis*, 7 (1961) 176.
- 15 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 35 (1968) 122.
- 16 G. RABITZSCH, *Naturwiss.*, 50 (1963) 225.
- 17 D. LAWDAY, *Nature*, 170 (1952) 415.
- 18 G. RABITZSCH UND U. TAMBOR, *Pharmazie*, 22 (1967) 668.

J. Chromatog., 37 (1968) 476-486