

CHROM. 6052

Zur Standardisierung der direkten spektrophotometrischen Auswertung von Chromatogrammen

II. Mitt.: Eine neue Funktion für die Photometrie

In einer früheren Arbeit¹ wurde bereits beschrieben, dass die auf Dünnschichtchromatogrammen durch simultane Trans- und Remissionsmessungen durchgeführten direktphotometrischen Bestimmungen mit Hilfe der gleichzeitigen Verwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes und der Kubelka-Munk Theorie behandelt werden können.

Es wurde jetzt ein automatischer Funktionstransformator gebaut (Ing. R. LINDSTEN, Amlab AB, Nynäshamn, Schweden und Ing. T. ÖRTEGREN, Zeiss Svenska AB, Stockholm, Schweden), wodurch Serienuntersuchungen ermöglicht wurden. Die präliminaren Ergebnisse erlauben folgende Rückschlüsse zu ziehen:

(1) Mit dem an Hand der obengenannten Arbeit gebauten Funktionstransformator konnte man infinitesimale Integrierungen durchführen. Es wurden mit simultanen Trans- und Remissionsmessungen lineare Kalibrationskurven erhalten (Fig. 1, A und D).

(2) Messungen, die durch das herkömmliche Trans- oder Remissionsverfahren durchgeführt wurden, ergaben für ein breites Signalintervall ebenfalls lineare Kalibrationskurven (Fig. 1, B, C und E).

(3) Mit zweidimensionalem Abtasten der Farbzonen mit Hilfe eines punktförmigen Spaltbildes erreichte man, dass die Standardkurven von den verwendeten

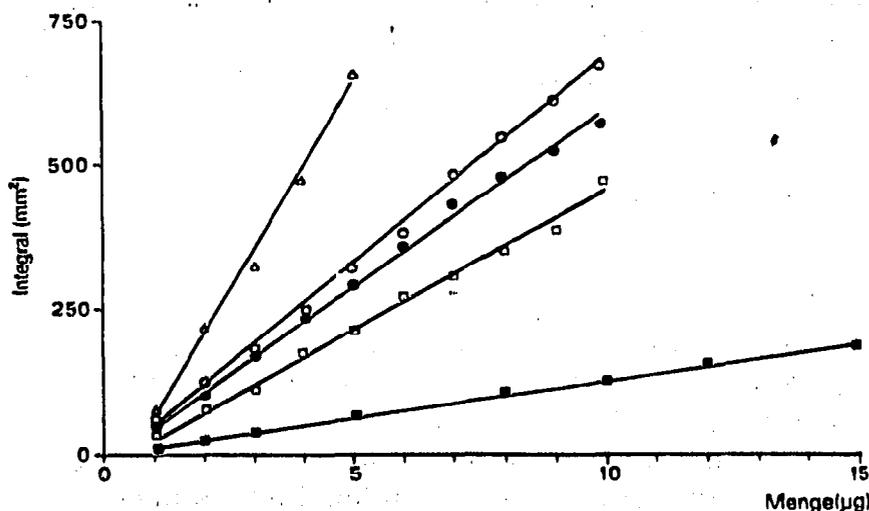


Fig. 1. Testosteron-2,4-dinitrophenylhydrazon auf Dünnschichtplatten aus aktiviertem Kieselgel G im Lösungsmittelsystem (A-C): Benzol-Athylacetat (4:1). Die Kalibrationskurven wurden durch (A) Simultanmessung (●—●), (B) Transmissionsmessung (△—△) und (C) Remissionsmessung (□—□) ermittelt. (D) Kalibrationskurve von Testosteron-2,4-dinitrophenylhydrazon auf Dünnschichtplatte aus aktiviertem Kieselgel G im Lösungsmittelsystem Chloroform-Dioxan (94:6); ermittelt durch Simultanmessung (○—○). (E) Kalibrationskurve von Testosteron in dem selben System wie D, gemessen durch Transmissionsmessung (■—■). Alle Messungen wurden mit strichförmigem Spaltbild (Länge 14 mm) durchgeführt. Wellenlänge: A-D, 385 nm; E, 252.5 nm.

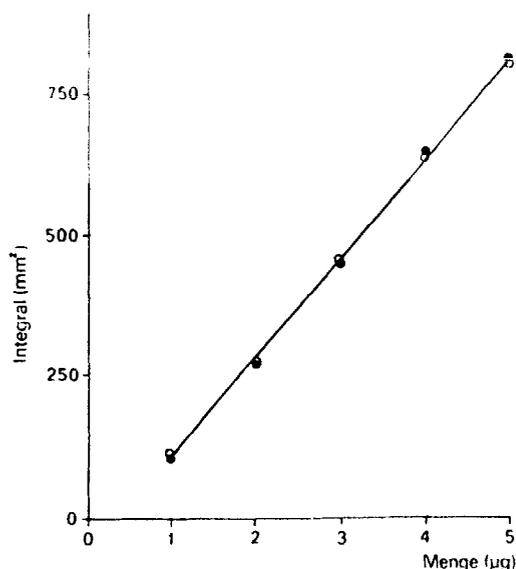


Fig. 2. Kalibrationskurven von Testosteron-2,4-dinitrophenylhydrazon auf Dünnschichtplatten aus aktiviertem Kieselgel G im Lösungsmittelsystem: (A) Benzol-Äthylacetat (4:1) (●—●) und (B) Chloroform-Dioxan (94:6) (○—○). Die Messung wurde bei 385 nm mit punktförmigem Spaltbild, durch zweidimensionale Integrierung mit dem Simultanverfahren durchgeführt.

chromatographischen System (von der Fleckenform also) unabhängig geworden sind (Fig. 2).

Es ist leicht einzusehen, dass den obigen Resultaten vor allem bei der quantitativen Chromatographie eine Bedeutung zukommt. Chromatogramme erfüllen nämlich nicht die Voraussetzungen der klassischen Photometrie in ideal homogenen (Lambert-Beer) bzw. ideal inhomogenen Medien (Kubelka-Munk). Für solche reale Objekte wurde dagegen folgende Funktion für gültig gefunden, die als Grenzfälle die Lambert-Beersche und Kubelka-Munk Gleichung ergibt (bei $K_R = 0$ bzw. $K_T = 0$):

$$K_x \cdot C = K_R \cdot \left(\frac{I_0}{I_x} + \frac{I_x}{I_0} - 2 \right) + K_T \cdot \ln \frac{I_0}{I_x}$$

wobei die Symbole folgende Bedeutung haben:

- K_x = Konstante, bestimmt durch die lichtabsorbierende Substanz
- K_R und K_T = Konstanten, die durch das Medium, in dem die absorbierende Substanz verteilt ist, bestimmt werden
- C = Konzentration der lichtabsorbierenden Substanz
- I_0 = Intensität des aus dem Medium austretenden Lichtes bei $C = 0$
- I_x = Intensität des aus dem Medium austretenden Lichtes bei $C \neq 0$.

Das in das Medium einfallende Licht hat konstante Intensität und ist monochromatisch.

In der vorangehenden Arbeit wurde diese Funktion mit Hilfe der gemessenen Spannungsangaben ausgedrückt und den bei der Dünnschichtchromatographie vorhandenen Bedingungen mit Hilfe der geeigneten Wahl der Konstanten angepasst.

Über die praktische Anwendung der neuen Funktion für die Photometrie wird

an anderen Stellen berichtet, wobei unter anderen die Untersuchung folgender Messprobleme geplant ist: Photometrie in inhomogenen Medien, wie Dünnschichtchromatogrammen, Kolloidlösungen, Bakterienkulturen u.s.w.

*Astra Läkemedel AB,
Abteilung für Analytische Chemie,
S-151 85 Södertälje (Schweden)*

L. R. TREIBER

1 L. R. TREIBER, R. NORDBERG, S. LINDSTEDT UND P. STÖLLNBERGER, *J. Chromatogr.*, 63 (1971) 211.

Eingegangen am 25. Februar 1972

J. Chromatogr., 69 (1972) 399-401