

CHROM. 6461

LINEAR-DENSITOMETRISCHE AUSWERTUNG VON DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAMMEN

J. PEKER, R. GEYER UND G. EPPERT

Hautklinik der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg*, Technische Hochschule für Chemie
Leuna-Merseburg und VEB Leunawerke (D.D.R.)

SUMMARY

Linear scanning densitometric evaluation of thin-layer chromatograms

Linear densitometry of thin-layer chromatograms combined with an automatic data treatment is — in contrast to flying-spot-densitometry — suitable for obtaining information on zone spreading during the chromatographic run.

Für die direkte quantitative Erfassung der Substanzmenge einer chromatographischen Zone ist die Flying-spot-Densitometrie aus prinzipiellen Gründen allen anderen densitometrischen Verfahren überlegen¹. Sie liefert indessen keine Information über die Substanzverteilung innerhalb der Zone. Aussagen über das Mass der Zonenspreizung während der Chromatographie und damit über die Leistungsfähigkeit einer Trennanordnung sowie die dominierenden Trennmechanismen^{2,3} sind dagegen durch eine lineare Densitometrie zu erhalten.

Dazu verzichten wir auf eine quantitative Erfassung der gesamten Zone und führen statt dessen einen — im Vergleich zur Zone — kleinen Spalt über das Zonenzentrum. Damit erreichen wir, dass der Spalt jeweils nur einen relativ homogenen Teil des Konzentrationsprofils erfasst, so dass das Integral der Durchlässigkeit über die Spaltfläche logarithmiert und als Extinktionsintegral betrachtet werden kann. Die unter dem Spalt gemessene Gesamtextinktion E ist eine Funktion des Abstandes η zwischen gemessener Fläche und Zonenzentrum (Fig. 1).

Bei kreisförmiger Gaussverteilung gilt für $E(\eta)$:

$$E(\eta) = \int_{\eta-\beta}^{\eta+\beta} \int_{-\alpha}^{+\alpha} \frac{E_N}{2\pi\sigma^2} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma^2} dx dy$$

Bei normierter Gesamtextinktion ($E_N = 1$) und mit bekannten Spaltabmessungen ($2\alpha \times 2\beta$) ist dieser Integralwert ausschliesslich eine Funktion von η und der Zonenspreizung σ^2 . Die Integralwerte werden für verschiedene η unter Durchlaufen des möglichen Wertevorrats für σ numerisch berechnet und mit den entsprechenden aus dem Densitogramm abzulesenden E -Werten verglichen, bis die geringste Fehlerquadratsumme erreicht wird (Zeiss-Rechenautomat 1, Carl Zeiss, Jena).

* 402 Halle/Saale, Ernst-Kromayer Strasse 5-8, D.D.R.

Für elliptische Zonen gilt entsprechend:

$$E(\eta) = \int_{\eta-\beta}^{\eta+\beta} \int_{-\alpha}^{+\alpha} \frac{1}{2\pi\sigma_x\sigma_y} e^{-\frac{1}{2}[(x^2/\sigma_x^2)+(y^2/\sigma_y^2)]} \partial x \partial y$$

und

$$E(\xi) = \int_{\xi-\beta}^{\xi+\beta} \int_{-\alpha}^{+\alpha} \frac{1}{2\pi\sigma_x\sigma_y} e^{-\frac{1}{2}[(x^2/\sigma_x^2)+(y^2/\sigma_y^2)]} \partial y \partial x$$

wobei das Zonenzentrum in Richtung beider Hauptachsen der Ellipse überfahren wird. Die Spreizungen σ_x und σ_y , etwa quer und längs der Laufrichtung des Chromatogramms, werden wiederum durch Aufsuchen der grössten Übereinstimmung zwischen Messgrössen und Integralwerten unmittelbar zugänglich.

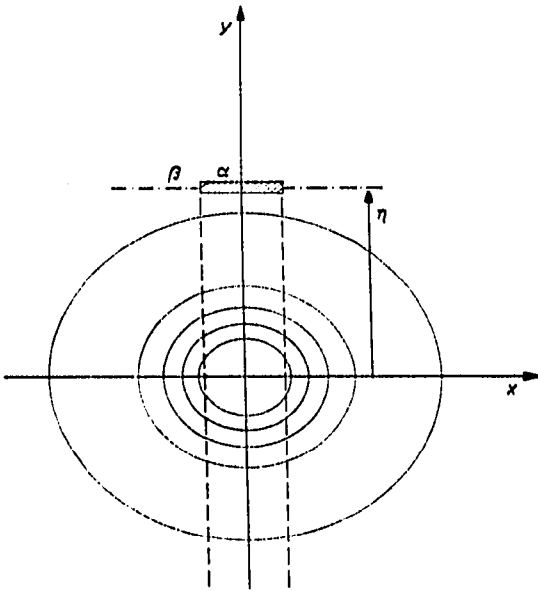


Fig. 1. Schema des densitometrischen Messverfahrens mit linear geführtem kleinen Spalt.

Auch weniger regelmässige Zonenformen lassen sich auf diese Weise erfassen. Dazu müssten über die Parameter der Gaussverteilung hinaus auch höhere statistische Momente^{4,5} (Schiefe und Exzess) berücksichtigt werden. Allerdings würde dadurch der Aufwand an maschinellem Rechnen so vergrössert, dass wir von dieser Erweiterung zunächst absehen mussten.

Der Wert dieser Überlegungen wird deutlich, wenn man die so errechneten Spreizungsmasse mit denen vergleicht, die aus den linearen Densitometerkurven direkt abgelesen werden können. Für unsere Versuche mit Aminosäuren auf Kieselschichten³ ergeben sich aus der Halbwertsbreite der Peaks um bis zu 35 % höhere Werte für σ . Entscheidend ist dabei, dass diese Abweichungen wesentlich von der Maximalkonzentration und Zonengrösse abhängen und zu erheblichen Fehldeutungen führen könnten.

ZUSAMMENFASSUNG

Lineare Densitometrie von Dünnschichtchromatogrammen ist — im Gegensatz zum Flying-spot-Verfahren — nach rechnerischer Aufbereitung der Ergebnisse geeignet, Informationen über die Zonenspreizung während der Chromatographie zu liefern.

LITERATUR

- 1 H. J. KOOPMANS UND P. C. BOUWMEESTER, *Chromatographia*, 4 (1971) 83.
- 2 C. L. DE LIGNY UND A. G. REMIJNSE, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 242.
- 3 J. PEKER, R. GEYER UND G. EPPERT, *J. Chromatogr.*, 67 (1972) 329.
- 4 O. GRUBNER UND E. KUČERA, *Abh. Deut. Akad. Wiss.*, No. 2 (1966) 13.
- 5 E. GRUSHKA, M. N. MYERS, P. D. SCHETTLER UND J. C. GIDDINGS, *Anal. Chem.*, 41 (1969) 889.