

# **Quantitative Dünnschichtchromatographie : praktische Erfahrungen mit der direkten spektrophotometrischen Auswertung = Quantitative thin-layer chromatography : practical experience with the "in situ" spectrophotometric evaluation**

Autor(en): **Székely, G.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und  
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **73 (1982)**

Heft 2

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983449>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Quantitative Dünnschichtchromatographie: Praktische Erfahrungen mit der direkten spektrophotometrischen Auswertung

Quantitative Thin-Layer Chromatography: Practical Experience with the  
«in situ» Spectrophotometric Evaluation

G. Székely

Zentrale Analytik, Ciba-Geigy AG, Basel

### Einleitung

Die quantitative Dünnschichtchromatographie (DC) setzen wir hauptsächlich für selektive Gehaltsbestimmungen ein. Bisher wurden zahlreiche Wirksubstanzen in pharmazeutischen Darreichungsformen, in agrochemischen Formulierungen und in verschiedenen anderen chemischen Produkten bestimmt. Um unsere Arbeitsweise aufzuzeigen, wird ein konkretes Beispiel herausgegriffen. Es handelt sich um die Bestimmung der pharmazeutischen Wirksubstanz 6-Chlor-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid-1,1-dioxid in ESIDREX<sup>®</sup> 25 mg Tabletten, zwecks Überprüfung der Gehaltseinheitlichkeit.

### Experimentelles

#### *Extraktion*

Jede einzelne ESIDREX<sup>®</sup> 25 mg Tablette wird mit 25 ml Ethanol naß zermahlen. Zu diesem Zweck wird eine von der Laborautomation der Ciba-Geigy entwickelte und als PREPSET bezeichnete Vorrichtung angewendet (1). Dieses einfache Gerät besteht aus 5 Einzelteilen (Abb. 1) und wird ab Frühling 1982 im Handel erhältlich sein (Hamilton, Bonaduz, Schweiz). Die Wolfram-Karbid-Kugel, die Tablette und 25 ml Ethanol werden in das Extraktionsgefäß aus Polypropylen gegeben und dieses mit dem Schraubdeckel verschlossen. Die Extraktion erfolgt durch Schütteln innerhalb einiger Minuten. Nachdem die Wirksubstanz in Lösung gegangen ist, kann die Suspension durch Einschieben des Filtereinsatzes filtriert werden. Als Standardlösung werden 25 mg Wirksubstanz in 25 ml Ethanol gelöst.

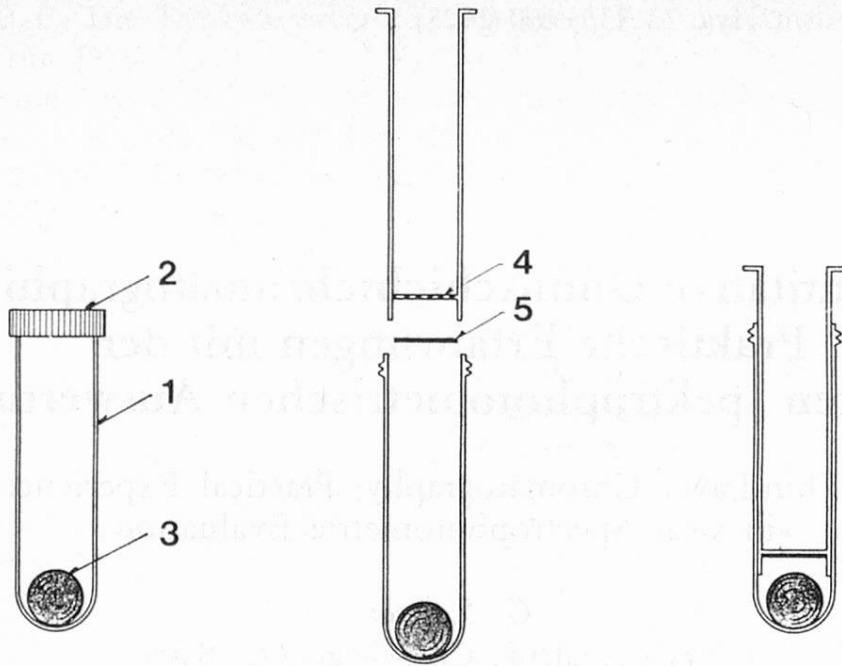


Abb. 1. PREPSET Extraktionsvorrichtung

- 1 = Extraktionsgefäß
- 2 = Schraubdeckel
- 3 = Wolfram-Karbid-Kugel
- 4 = Filtereinsatz mit Siebboden
- 5 = Filter

### *Chromatographische Trennung*

Konventionelle Kieselgel-60 F 254-Fertigplatten, Format 20 x 20 cm (Merck Art. Nr. 5715) werden mit einem speziellen Schneidegerät (2) in 10 x 20 cm Stücke geteilt. Das Auftragen der Probelösungen erfolgt mit kalibrierten 1  $\mu$ l Glaskapillaren, 15 mm vom unteren Plattenrand entfernt. Bei 17 Auftragungen pro Platte beträgt der seitliche Abstand zwischen den einzelnen Startpunkten 9 mm. Pro Platte werden 4 Tablettenextrakte je zweimal aufgetragen; jeder Extrakt ist von einem Standard flankiert (Abb. 2). Die aufgetragenen Lösungen läßt man bei Raumtemperatur und 50–60% relativer Feuchte eintrocknen. Danach wird die Platte in einer ungesättigten Camag-Doppeltrogrennkammer für 10 x 20 cm Platten mit dem Fließmittel Chloroform-Essigsäureethylester-Methanol (4 : 5 : 1) chromatographiert. Die Laufzeit beträgt 20 Minuten für 8 cm Laufstrecke und die zu bestimmende Wirksubstanz befindet sich bei ungefähr Rf 0,28.

### *Spektrophotometrische Messung*

Als Meßgerät wird ein Shimadzu High Speed TLC-Scanner Model CS-920 verwendet. Dieses Instrument besitzt einen Gittermonochromator für den Wellenlängen-Bereich 200–630 nm, Bahnwechselautomatik, Zickzack-Abtastung so-

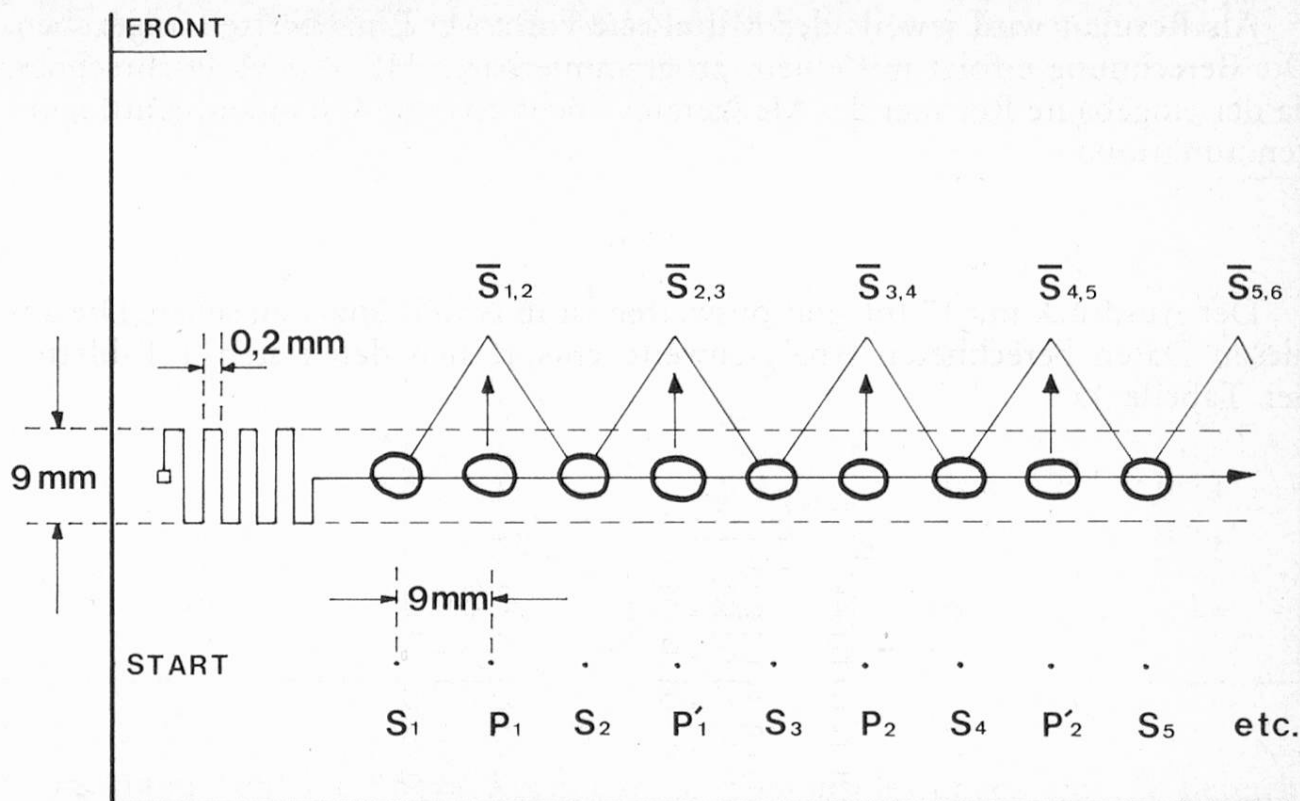


Abb. 2. Laterale Messung, quer zur Laufrichtung

$S_1-S_9$  = Standards entsprechend 100% der Deklaration

$P_1, P_1'$  etc. = Proben, jeweils zweimal aufgetragen

Die Proben werden jeweils auf den Mittelwert der beiden direkt benachbarten Standards bezogen

wie eingebauten elektronischen Integrator mit Drucker, Linearisierungs-Korrektur gemäß *Kubelka-Munk* (3) und einen Rechner für Eichungen mit internen bzw. externen Standards.

Im erwähnten Beispiel erfolgt die Messung im Remissionsverfahren bei 270 nm Wellenlänge, mit 1,2 x 1,2 mm Lichtfleck und 9 mm Mäander-Breite, quer zur Trennrichtung (Abb. 2). Diese vorteilhafte laterale Messung wurde bereits beschrieben (4, 5) und bedingt konstante  $R_f$ -Werte sowie vollständig getrennte Zonen. Eine Platte kann auf diese Weise in 3 Minuten gemessen werden. Dank der automatischen Korrektur der Remissionswerte nach Kubelka-Munk ist das Verhältnis zwischen Konzentration und Meßwert im Bereich von 0,2–20  $\mu\text{g}$  Substanz pro Zone linear.

#### Berechnung

$$\text{mg Wirksubstanz pro Tablette} = 25 \frac{I_P}{I_{\bar{S}}}$$

$I_P$  = Integrationswert der Probe

$I_{\bar{S}}$  = Integrationsmittelwert der beiden direkt benachbarten Standards

Als Resultat wird jeweils der Mittelwert von zwei Einzelwerten angegeben. Die Berechnung erfolgt mit einem programmierbaren HP 9815 A Tischrechner, da der eingebaute Rechner des Meßgerätes höchstens mit 4 Standard-Auftragungen funktioniert.

### Beispiel

Der Ausdruck mit 17 Integrationswerten ist in Abbildung 3 zu sehen. Die aus diesen Daten berechneten Analysenwerte entsprechen den ersten 4 Tabletten der Tabelle 1.

| LANE NO. | 1     |      |
|----------|-------|------|
| #        | DIST. | AREA |
| 1        | 29.6  | 3848 |
| 2        | 38.4  | 3943 |
| 3        | 47.6  | 3720 |
| 4        | 56.0  | 3788 |
| 5        | 65.2  | 3742 |
| 6        | 74.0  | 3897 |
| 7        | 83.2  | 3689 |
| 8        | 92.4  | 3882 |
| 9        | 101.2 | 3597 |
| 10       | 110.0 | 3551 |
| 11       | 119.2 | 3619 |
| 12       | 128.0 | 3575 |
| 13       | 137.2 | 3709 |
| 14       | 146.0 | 3784 |
| 15       | 155.2 | 3756 |
| 16       | 164.0 | 3720 |
| 17       | 172.8 | 3759 |

Abb. 3. Ausdruck einer nach erwähntem Schema chromatographierten Platte

1. Kolonne = Nr. der Auftragung
2. Kolonne = Abstand der jeweiligen Zonenmitte vom Plattenrand
3. Kolonne = Integrationswerte

### Diskussion

Der Vergleich des Probeflecks mit jeweils direkt benachbarten Standards ist von Vorteil. Damit werden offensichtlich die von der Schichtdicke-Schwankung

Table 1. ESIDREX 25 mg Tabletten, Beispiel von Analysenwerten

| Tablette | 1. Wert<br>mg | 2. Wert<br>mg | Mittelwert |               |
|----------|---------------|---------------|------------|---------------|
|          |               |               | mg         | % Deklaration |
| 1        | 26,1          | 25,4          | 25,7       | 102,8         |
| 2        | 26,2          | 26,6          | 26,4       | 105,6         |
| 3        | 24,6          | 24,4          | 24,5       | 98,0          |
| 4        | 25,3          | 24,8          | 25,0       | 100,0         |
| 5        | 26,2          | 26,5          | 26,4       | 105,6         |
| 6        | 25,9          | 26,2          | 26,1       | 104,4         |
| 7        | 25,5          | 26,3          | 25,9       | 103,6         |
| 8        | 26,5          | 26,1          | 26,3       | 105,2         |
| 9        | 25,2          | 25,4          | 25,3       | 101,2         |
| 10       | 25,8          | 25,9          | 25,9       | 103,6         |

verursachten Fehler teilweise korrigiert. Remissionsmessungen im UV-Bereich mit verschiedenen Substanzen ergaben Streuungen zwischen 1–2% relative Standardabweichung, jedoch sind Chromatogramme mit runder oder ovaler Fleckenform und gleichmäßiger Steighöhe Voraussetzung. Durch wiederholte Messung ein und derselben DC-Zone ( $n = 20$ ) mit jeweils 1  $\mu\text{g}$  Substanz, wurde die Genauigkeit des verwendeten Instrumentes mit verschiedenen Substanzen überprüft. Sie beträgt ungefähr 0,2% relative Standardabweichung. Der Hauptanteil der Gesamtstreuung wird somit nicht vom Scanner, sondern von Fehlern beim Auftragen der Lösungen und von der Chromatographie verursacht. Versuche mit Kieselgel-HPTLC-Fertigplatten (Merck Art. 5 642) anstelle der erwähnten konventionellen Fertigplatten haben auf die Gesamtstreuung keinen Einfluß gezeigt.

#### Dank

Mein Dank gilt Frau B. Abt für technische Assistenz und Herrn PD Dr. H. Bartels (Laborautomation, Ciba-Geigy, Basel), der uns die erwähnte PREPSET-Vorrichtung zur Verfügung stellte.

#### Zusammenfassung

Anhand eines konkreten Beispiels wird eine quantitative DC-Methode zur selektiven Gehaltsbestimmung beschrieben. Die chromatographische Trennung erfolgt auf konventionellen DC-Fertigplatten, welche mit einem speziellen Schneidegerät in 10 x 20 cm Stücke geschnitten werden. Als Meßgerät hat sich der Shimadzu CS-920 Scanner mit eingebautem elektronischem Integrator bewährt. Bei sorgfältiger Arbeit beträgt die Genauigkeit der Methode 1–2% relative Standardabweichung.

## Résumé

Une méthode quantitative de chromatographie sur couche mince pour la détermination sélective de substances actives est décrite à l'aide d'un exemple. La séparation a lieu sur des plaques préfabriquées classiques coupées en deux parties de 10 x 20 cm. Le Scanner CS-920 de Shimadzu avec intégrateur électronique a fait ses preuves comme instrument de mesure. Une précision de 1 à 2% (écart-type relatif) peut être atteinte avec la méthode décrite.

## Summary

By means of an example this paper describes the selective determination of active substances by quantitative TLC. The chromatographic separation is accomplished on conventional precoated plate cut to the size of 10 x 20 cm with a special cutter. The Shimadzu CS-920 Scanner with built-in electronic integrator has proved suitable for the measurement. Provided the work is carried out carefully, the precision of the method as measured by the relative standard deviation is 1–2%.

## Literatur

1. *Bartels, H. und Walser, P. E.*: Geplanter Vortrag an «Pittsburgh Conference», Atlantic City, N. J., März 1982
2. *Delley, R. und Székely, G.*: Die Effizienz der Schichtchromatographie. Anwendung dieser Größe zur visuellen Beurteilung von Trennungen mit 20-cm- oder 10-cm-Platten. *Chimia* **32**, 261–265 (1978).
3. *Yamamoto, H., Kurita, T., Suzuki, J., Hira, R., Nakano K., Makabe H. and Shibata K.*: Dual-wavelength point zig-zag scanning of zones on thin-layer chromatograms as tool of quantitative assay. *J. Chromatogr.* **116**, 29–41 (1976).
4. *Székely, G.*: Contribution au développement de méthodes physicochimiques pour la séparation, l'identification et la détermination quantitative de Substances organiques. Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel, 1973, Seite 87.
5. *Kreuzig, F.*: Application of quantitative high-performance thin-layer chromatography in the antibiotic industry. *J. Chromatogr.* **142**, 441–447 (1977).

Dr. G. Székely  
Zentrale Analytik  
Ciba-Geigy AG  
CH-4002 Basel