

Diss. Nr. 4428

**Remissionsmessungen  
in der Dünnschichtchromatographie  
und deren Anwendung zur quantitativen  
Bestimmung von Serumlipiden**

ABHANDLUNG

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

**GERHARD MARTIN RISCH**

dipl. pharm. ETH

geboren am 29. Mai 1937

von Triesen (Fürstentum Liechtenstein)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. J. Büchi, Referent

P.-D. Dr. H. Rosenmund, Korreferent, Universität **Zürich**

Juris Druck -f Verlag Zürich  
1969

## INHALTSVERZEICHNIS

I	Einleitung	9
II	Allgemeiner Teil I	10
	1. Methoden zur quantitativen Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen	10
	1.1. Extraktionsverfahren	10
	1.2. Visuelle Methoden	10
	1.3. Auswertung der Fleckengrösse	10
	1.4. Auswertung mit Hilfe radioaktiv-markierter Stoffe	11
	1.5. Direkte Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen mit Hilfe photoelektrischer Messvorrichtungen	12
	1.5.1. Fluoreszenzmessungen	12
	1.5.2. Fluoreszenzlöschtechnik	12
	1.5.3. Lichtabsorptionsmessung	12
	1.5.3.1. Messung im Durchlicht (Densitometrie)	13
	1.5.3.2. Messung der Remission	14
	1.6. Prinzip und Messgeometrie bei Remissionsmessungen	15
	1.6.1. Mathematische Beziehungen zwischen Probemengen und Remission	16
	1.6.2. Geräte zur Messung des Remissionswertes	18
	1.7. Probleme der Auswertung mit der Ulbricht-Kugel	19
	1.7.1. Messbereich	19
	1.7.2. Einfluss von Fremdlicht	20
	1.7.3. Abstand der DC-Platte von der Ulbricht-Kugel	20
	1.8. Probleme der Auswertung beim kontinuierlichen Messverfahren (Plattenvorschub, Planimetrieren, Auswertung der Kurven, Messrichtung, Auffinden ungefärbter Substanzen)	20
	1.9. Reproduzierbarkeit des Messvorgangs	21
	2. Einfluss des Sorptionsmaterials auf die Lichtreflexion (Reinheit, Korngrösse, Aktivität, Wassergehalt)	22

3. Einfluss der Dünnschichtchromatographie auf den Remissionswert (stationäre und mobile Phase, Konzentrationsbereich, Fleckendeformationen, Fleckenausdehnung, Starzonendurchmesser, Dicke und Dichte der Schicht, Steighöhe, Besprühen mit Nachweisreagenzien)	23
4. Reproduzierbarkeit von Remissionsmessungen	28
5. Die verwendete Grundausrüstung zur Messung der Remission auf Dünnschichtplatten	28
5.1. Die optische Ausrüstung	28
5.2. Die Ausrüstung für die Dünnschichtchromatographie (Trägerplatten, Schichtmaterial, Beschichtungsgerät, Kapillarpipetten, Dosierspritzen, Trennkammern, Sprühgeräte, Heizplatten, Wärmeschränke)	30
<b>HI Experimenteller Teil I</b>	<b>33</b>
1. Vorversuche mit der Grundausrüstung zur Messung der Remission	33
1.1. Eliminierung des Fremdlichteinflusses	33
1.2. Begrenzung des Belichtungsfeldes	33
1.3. Beziehung zwischen auf getragener Menge und Remissionswert	34
1.4. Auswertung der Vorversuche	36
1.5. Konstruktionsänderungen und Beschreibung der verbesserten Messapparatur	36
2. Ueberprüfung der verbesserten Messapparatur	40
2.1. Optimierung der Messgeometrie	40
2.2. Feineinstellung des elektrischen Apparateils	40
2.3. Anwärmezeit der Messapparatur	40
2.4. Prüfung des Messtischvorschubs	41
3. Ueberprüfung der Messapparatur mit Hilfe von Testplatten	42
3.1. Aufnahme des Remissionsspektrums	42
3.2. Auswertung von Remissionsintegralen mit dem Flächenintegrator	43
3.3. Abhängigkeit der Remissionsintegrale von Spaltbreite und Verstärkung	47
3.4. Abhängigkeit der Remissionsintegrale von der Blendenbreite	47
3.5. Abhängigkeit der Remissionsintegrale von der Geschwindigkeit des Messtischvorschubs	48

3.6. Abhängigkeit der Remissionsintegrale vom Abstand der DC-Platten vom Kugelansatz	49
3.7. Abhängigkeit der Remissionsintegrale vom Zentrieren der Flecken	49
3.8. Beziehung zwischen Fleckengröße und Remissionsintegral	51
3.9. Abhängigkeit der Remissionsintegrale vom Abstand der Flecken vom Plattenrand und vom Abstand der Flecken unter sich	53
4. Dünnschichtchromatographie und Remissionsintegrale	55
4.1. Herstellung der Dünnschichtplatten	57
4.1.1. Reinigung der Glasplatten	57
4.1.2. Herstellung der Kieselgel G Platten	57
4.1.3. Herstellung der Kieselgel HR Platten	58
4.1.4. Prüfung der selbst hergestellten Platten und Vergleich mit Fertigplatten	59
4.2. Statistische Überprüfung der Auftragechnik	61
4.3. Remissionsspektrum und Absorptionsspektrum von Sudan III	63
4.4. Chromatographierbedingungen für Sudan III	64
4.5. Abhängigkeit der Remissionsintegrale vom R <sub>F</sub> -Wert	64
4.6. Abhängigkeit der Remissionsintegrale von der Schichtdicke	65
4.7. Fleckengröße und Remissionsintegrale	68
4.8. Reproduzierbarkeit der Remissionsmessungen	75
5. Diskussion der Ergebnisse, Festlegung der Chromatographier- und Messbedingungen	80
IV Allgemeiner Teil II	84
1. Serum - Lipide und Lipoproteine	84
2. Chemische Methoden zur Bestimmung der Serumlipide	85
2.1. Cholesterinbestimmung	85
2.2. Phosphatidbestimmung	86
2.3. Triglyceridbestimmung	87
3. Dünnschichtchromatographische Methoden zur Bestimmung der Serumlipide	88

V	Experimenteller Teil n	90
	1. Wahl der Sorptionsschicht und des Laufmittels zur Trennung der Serumlipide	90
	2. Herstellung von Lipid - Standardlösungen	92
	3. Nachweis der Serumlipide auf der Dünnschichtplatte	94
	3.1. Modifizierung und Prüfung des Quecksilber(n)-sulfat-Reagens	95
	3.2. Schwefelsäure 18 g%-ig als Nachweisreagens für Serumlipide	100
	3.3. Empfindlichkeit von Quecksilber(II)-sulfat-Schwefelsäure bzw. von 18 g% -iger Schwefelsäure als Nachweisreagenzien für Serumlipide	104
	3.4. Reproduzierbarkeit der Remissionsintegrale von Lipidchromatogrammen in Abhängigkeit von der Farbentwicklung	106
	4. Beziehung zwischen Remissionswert und chromatographierter Menge an Serumlipiden	108
	5. Serum-Triglycerid - und Cholesterinbestimmung durch Remissionsmessung auf der Dünnschichtplatte	110
	6. Triglycerid - Normalwerte im Serum	117
VI	Zusammenfassung	122
VII	Literaturverzeichnis	125
	Verzeichnis der Herstellerfirmen und Angabe der Vertretungen in der Schweiz	134
	Dank	
	Lebenslauf	