

Analytische Chemie 2000/2001

Zur Analytica 2002 stellt die Fachgruppe Analytische Chemie wieder ihre Übersicht vor. Im Trend liegen neben den High-Throughput-Methoden die miniaturisierten und biochemischen Techniken. Die Standardtechniken machen durch ihre Kopplung auf sich aufmerksam.

◆ Alle zwei Jahre berichten namhafte Fachvertreter in den *Nachrichten aus der Chemie* über die Arbeitsgebiete der Analytik. In den letzten zwei Jahren beobachteten sie vor allem zwei Trends: Zum einen die verstärkte Nutzung miniaturisierter Techniken, selbst in Gebieten, die bislang als Domäne des klassischen Apparatebaus galten. Zum anderen kommen biochemische Nachweistechiken immer mehr zum Einsatz oder werden in biomimetischer Form zur Anwendung vorgeschlagen. Zu registrieren ist auch, dass High-Throughput-Verfahren und Nanostrukturierung voran schreiten.

Atomspektrometrie

◆ In der Atomabsorptionsspektrometrie, der Plasmaemissionsspektrometrie und der Plasmamassenspektrometrie geht der Trend zur Miniaturisierung. Miclea et al. verwendeten eine „Barrierlayer“-Entladung in einer mit Mikrostrukturierungstechniken hergestellten Quelle für die Bestimmung von Halogenen mit der Diodenlaser-AAS.¹⁾ Engel et al. setzten ein Mikrowellenplasma mit Streifenleiteranordnung ein, um Quecksilber mit der Kaldampftechnik emissionspektrometrisch zu bestimmen.²⁾ Die Nachweisgrenzen lagen im pg mL^{-1} -Bereich. Mit Helium konnten pg L^{-1} -Mengen Chlor in Gasgemischen bestimmt werden. Blades et al. betrieben ein kapazitiv gekoppeltes Plasma in einem Kanal von

$0,25 \times 0,25 \times 5 \text{ mm}$ bei $13,56 \text{ MHz}$ (Abbildung 1).³⁾ Diese Quellen wurden bei einigen 10 W und weniger als 1 L min^{-1} Gas betrieben. Marcus et al. miniaturisierten eine Glimmentladung bei Atmosphärendruck.⁴⁾ Kim et al. verwendeten Glimmentladungen bei Atmosphärendruck zur Bestimmung von Spurenelementen in Gewässern.⁵⁾ Aussichtsreich ist die Kopplung dieser Quellen mit miniaturisierten Emissionsspektrometern mit höchster Auflösung und CCD-Detektion, wie sie Florek et al. beschreiben.⁶⁾ Auch in der Elementmassenspektrometrie werden diese Quellen Bedeutung erlangen. Für die miniaturisierten Plasmen müssen geeignete Techniken der Probenzuführung – wie elektrochemische Hydridverfahren in Mikrofließsystemen für Elemente mit flüchtigen Hydriden – entwickelt werden.

Bei der elektrothermischen Verdampfung erlaubt die „Slurry“-Technik, Pulver direkt zu analysieren.⁷⁾ Die Analyse von Lösungen mit der ICP-Atomspektrometrie und der Flammenatomabsorption verlangt verbesserte Zerstäubungstechniken. Die Modellierung von Zerstäuberkammern kann die Eigenschaften von Zerstäubersystemen vorausagen, wie Berndt und Schaldach auf der European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry in Lillehammer (2001) und auf der FACSS in Detroit (2001) zeigten.

In der Emissionsspektrometrie (Abb. 3) mit Funken und Plasmen er-



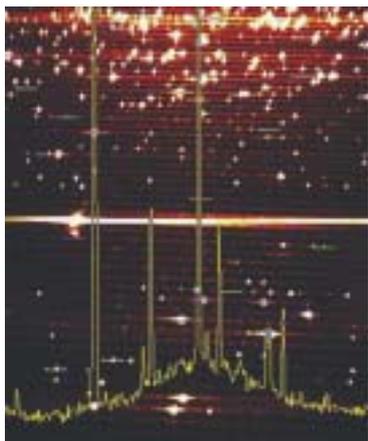
Abb. 1.
Miniaturisiertes kapazitiv gekoppeltes Plasma (mit Erlaubnis von M. Blades).³⁾



Abb. 2.
Vollautomatisch gesteuerte Flamme im kompakten AAS Solaar S (NCh-Foto: .LZ.).

lauben Vakuumspektrometer die Wahl von wenig gestörten, nachweisstarken Emissionslinien im VUV. Die ICP-OES mit CCD-Detektion nutzt jetzt die Vorzüge von Untergrundkorrektur und interner Standardisierung voll. Das steigert die Präzision, wie Geilenberg et al. und Kucharkowski et al. zeigten.^{8,9)} Die Vorzüge von axialer und radialer Beobachtung sind jedoch differenziert zu betrachten. →

Abb. 3. Ausschnitt des Elementspektrums einer Haarprobe (von 172 bis 235 nm), die durch elektrophoretische Verdampfung bei 2800 °C in das Plasma des OES-Spektrometers überführt wurde. Es sind ca. 25 Elemente zugänglich und insbesondere giftige Schwermetalle leicht analysierbar (Iris Intrepid; Thermo Elemental).



Das EU-Netzwerk „Glow discharge atomic spectrometry“ fördert Studien zu Glimmentladungen. Zu den Neuentwicklungen zählt die von Hoffmann et al. beschriebene hochfrequente Glimmlampe nach Grimm.¹⁰⁾ Die Fortschritte in der Modellierung von Glimmentladungen beschreiben Bogaerts und Gijbels.¹⁰⁾ Die zeitaufgelöste Spektrometrie an Glimmentladungen mit der Flugzeitmassenspektrometrie ist aussichtsreich für Speziationsanalysen.

Das Buch „Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas“ (J.A.C. Broekaert, Wiley-VCH, Weinheim, 2001) beschreibt Instrumentarium, analytische Möglichkeiten und Anwendungen der Atomabsorptions-, Emissions- und Elementmassenspektrometrie.

Abb. 4. Zur Identitätskontrolle: FTIR-Messung und Spektrendarstellung in einem Gerät (Thermo Mattson 100; NCh-Foto).

sions- und Reflexionseinrichtungen (Abb. 4) stehen nun auch Systeme zum Makro- und Mikro-ATR-Imaging zur Verfügung. Sogar Monoschichten lassen sich ortsaufgelöst untersuchen, sofern Polarisationsmodulation eingesetzt wird.¹³⁾ Ermittelt wird dabei der Ordnungsgrad von Self-Assembly-Monoschichten, d. h. die Homogenität der Oberflächenbelegung.

In Biologie und Medizin ist die IR-Spektroskopie eine unverzichtbare Methode: Neben der Untersuchung von Naturstoffen und Lebensmitteln dient sie der online-Verfolgung von Fermentationsprozessen.¹⁴⁾

Immer mehr Bioanalytiker nutzen die Ramanspektroskopie mit Anregung im Nah-Infrarot-Bereich.¹⁵⁾ So detektieren sie sogar Krebsgewebe in



Infrarot- und Ramanspektroskopie

◆ Die IR-Imaging-Spektroskopie analysiert zunehmend biologische Proben und charakterisiert Material- und Katalysatoreigenschaften.^{11,12)} Die dazu erforderlichen Focal-Plane-Array-Detektoren mit meist 64 x 64 oder 128 x 128 Pixel liefern in kurzer Zeit IR-Abbildungen mit Ortsauflösungen im Bereich der ausgewerteten Wellenlänge. Neben den Transmis-

sions- und Reflexionseinrichtungen (Abb. 4) stehen nun auch Systeme zum Makro- und Mikro-ATR-Imaging zur Verfügung. Sogar Monoschichten lassen sich ortsaufgelöst untersuchen, sofern Polarisationsmodulation eingesetzt wird.¹³⁾ Ermittelt wird dabei der Ordnungsgrad von Self-Assembly-Monoschichten, d. h. die Homogenität der Oberflächenbelegung.

Immer mehr Bioanalytiker nutzen die Ramanspektroskopie mit Anregung im Nah-Infrarot-Bereich.¹⁵⁾ So detektieren sie sogar Krebsgewebe in vivo. Eine Kombination mit Faseroptiken wird darüber hinaus minimal invasive Diagnosen zulassen. Die gesteigerte Empfindlichkeit moderner Raman-Mikrospektrometer erlaubt die Untersuchung von einzelnen, lebenden Zellen mit hoher räumlicher Auflösung.¹⁶⁾

Die oberflächenverstärkte Ramanspektroskopie (SERS) wird erfolgreich zur Untersuchung von Self-Assembly-Monoschichten eingesetzt.¹⁷⁾ Effekt und Auswahlregeln der SERS sind Gegenstand der Forschung. Vits und Hill stellten einen faseroptischer Sensor vor, der auf dem oberflächenverstärkten Effekt beruht.¹⁸⁾ Gewinkelte Spitzen des Sensors ergeben

eine zusätzliche Verstärkung der Intensitäten um den Faktor 3 bis 20. Der Effekt der oberflächenverstärkten Resonanz-Ramanspektroskopie konnte erstmals an RNA und DNA, gekoppelt an Azofarbstoffe, beobachtet werden.¹⁹⁾

IR- und Raman-Nahfeldmikroskopie (IR-SNOM und Raman-SNOM) vereinen Vorteile wie hohe laterale Auflösung, chemische Sensitivität und die Möglichkeit quantitativer Analysen. Eine hohe laterale Auflösung erreicht man, wenn man mit Hilfe einer Einrichtung, die der Atomkraftmikroskopie ähnlich ist, entweder das spektroskopische Anregungs- oder das Detektionssystem auf atomare Entfernung an die Oberfläche heranbringt. Dadurch beschränkt das Beugungslimit die optische Auflösung nicht mehr. SNOM wird sich als wichtige Methode in der chemischen Analytik etablieren. Ein Beispiel aus der Anwendung ist die Charakterisierung von Polymeren.²⁰⁾

Element-Massenspektrometrie

◆ Massenspektrometrische Methoden gewinnen in der Elementspuren- und Elementspeziesanalytik gegenüber anderen Analysenverfahren immer mehr an Bedeutung. So wird für die Multielementbestimmung im Spurenbereich heute bevorzugt die induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS), aber auch weiterhin die Glimmentladungs-MS (glow discharge, GDMS) eingesetzt.³¹⁾ Nach wie vor wurden mit der Thermionen-Massenspektrometrie (TIMS) präzise Isotopenverhältnisse bestimmt, wobei auch hier der Trend zur Verwendung von ICP-MS-Geräten geht.

Die größte Zuwachsrate an Massenspektrometern für die Elementanalytik verzeichnete in den letzten Jahren mit großem Abstand die ICP-MS. Während man in der Vergangenheit versuchte, die in der ICP-MS störenden Interferenzen durch Molekülonen mit hochauflösenden Geräten zu beseitigen, geht der Trend in der letzten Zeit zu Quadrupolgeräten, die mit einer Stoß- oder Reaktionszelle ausgerüstet sind (Abb. 5). Dabei



kann man – bei Verwendung von Reaktionsgasen, die auf die Interferenz abgestimmt sind – sehr spezifisch Störungen beseitigen.³²⁾ Noch vor kurzem hatte man für ICP-Flugzeit-Massenspektrometer (time-of-flight, TOF) eine schnellere Verbreitung erwartet. Die ICP-TOF-MS-Geräte weisen zwar deutliche Vorteile auf (nur

simultan erzeugte Ionen werden gemessen; schnelles Scannen ist möglich, was vor allem für transiente Signale vorteilhaft ist), erreichen aber selbst gegenüber Quadrupol-ICP-MS-Geräten keine vergleichbare Empfindlichkeit. Hochempfindliche doppelfokussierende ICP-MS-Geräte mit Multikollektorsystemen werden

dagegen heute in steigendem Maße für die präzise Isotopenverhältnismessung eingesetzt.³³⁾ Dabei kommen inzwischen die Standardabweichungen in vielen Fällen an entsprechende TIMS-Werte heran oder übertreffen – z.B. bei den schwer verflüchtig- und ionisierbaren Refraktärmetallen – die TIMS-Präzision noch erheblich.

Die Kopplung von Chromatographie (GC und HPLC) mit ICP-MS ist inzwischen das wichtigste Verfahren der „Hyphenated Techniques“ für die Elementspeziesbestimmung und vielerorts bereits Routine. Nachdem es Kopplungssysteme für die Online-Verbindung von Kapillarelektrophorese (CE) mit ICP-MS gibt,³⁴⁾ gewinnt auch die CE/ICP-MS eine immer größere Bedeutung in der Elementspeziation. Ein interessantes Beispiel ist die Charakterisierung und

Abb. 5.
MS-Teil der X-Serie von Thermo Elemental mit Hexapole als Stoßzelle (rechts), Ansteuerung des Quadrupols (Mitte), Quadrupol (links) und Raum für den Detektor (links außen). (NCh-Foto: Guggolz)

Quantifizierung von Metallothioneinen.³⁵⁾ Auch die Isotopenverdünnungstechnik wird verstärkt als besonders zuverlässige Methode in der Speziesbestimmung mit GC/ICP-MS oder HPLC/ICP-MS angewandt. Der Einsatz isotopeangereicherter Spezies erlaubt zudem die Validierung anderer Methoden der Elementspeziesanalyse. So kann beispielsweise hiermit die Umwandlung von Elementspezies während der Probenvorbereitung überprüft werden.³⁶⁾

Elektrochemische Analytik

◆ Die Fortschritte bei den Mikrostrukturierungs- und Mikrofluidiktechniken förderten eine Rückbesinnung auf analytische Methoden wie die Amperometrie, die sich einfach miniaturisieren lassen. So werden Mikroelektroden zunehmend als Detektorelement in der Kapillarelektrophorese eingesetzt. Die Verbreitung von Dünn- und Dickschichttechniken zur Herstellung von Mikroelektrodenarrays führte zu Wall-Jet-Zellen mit 0,04 bis 15 nL aktivem Volumen, wobei sich an den Arrays auch im Durchfluss eine Signalverstärkung mittels Redoxcycling realisieren ließ.³⁷⁾ An einem Array von 64 individuell adressierbaren Mikroelektroden lassen sich mit Stripping-Voltammetrie Konzentrationsprofile von Schwermetallionen an Fest/flüssig-Grenzflächen analysieren.³⁸⁾ Nadelartige Platinscheibenelektroden mit Durchmesser bis 10 nm – also echte Nanoelektroden! – versprechen neue Dimensionen in der räumlichen Auflösung.³⁹⁾

Die Realisierung des Lab-on-a-Chip treibt auch die instrumentelle Elektroanalytik in Anwendungsfelder, die bisher aufgrund von Selektivitätsanforderungen und kleinen

Probenvolumina den chemischen Sensoren vorbehalten waren. So beschreiben Wang et al. eine Vorsäulenderivatisierung von Aminosäuremischungen, deren elektrophoretische Trennung und nachfolgende amperometrische Detektion (bis zu 5 fmol), wobei diese Schritte alle auf einem Glaschip integriert sind.⁴⁰⁾

Ein Durchbruch bei der Überwindung von Nachweisgrenzen in der Direktpotentiometrie gelang Bakker und Pretsch mit neuartigen ionenselektiven Polymermembran-Elektroden.⁴¹⁾ Metallpuffer stellten z. B. in der ISE-Innenlösung eine freie Cd^{2+} -Aktivität von $1,6 \cdot 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$

ein. Das senkte die Nachweisgrenze für die Cd^{2+} -Bestimmung auf $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.⁴²⁾ Die Speziationsanalyse von freien Ionen in Wässern sollte zukünftig wesentlich einfacher werden.

Traditionellere Ultrapurenanalysen mit Stripping-Voltammetrie müssen zukünftig nicht am Arbeitsschutzproblem Hg-Elektrode scheitern: Als alternative Arbeitselektroden bieten sich Bismut-Filmelektroden auf Kohlenstoff an, wie die anodische Stripping-Voltammetrie von Cd, Pb, Tl und Zn bis in den Konzentrationsbereich von $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ zeigte.⁴³⁾

◆ Laserspektrometrie

Das 40jährige Jubiläum des Lasers berechtigt zur Frage, welche Entwicklungen der heutigen Analytik auf der Laserspektroskopie beruhen. Von Laserstrahlquellen geht auch heute noch eine besondere Faszination aus. In der Praxis schrecken viele Anwender aber vor den hohen Kosten und der vermeintlichen Komplexität von Lasern zurück, obwohl zahlreiche empfindliche und selektive Nachweisverfahren für Atome und Moleküle in Festkörpern, Flüssigkeiten, Gasen oder Plasmen beschrieben sind. Laserspektroskopische Verfahren finden sich heute nur dort, wo sie eine einzigartige Lösung analytischer Probleme gestatten.

Diodenlaser in der Atomabsorptionsspektroskopie haben die Hoffnungen bisher nicht erfüllt. Großer Popularität erfreuen sich mittlerweile Laserplasmen: in der Probenzuführung zu anderen Verfahren wie der ICP-MS oder direkt als Anregungsquelle in der Atomemissionsspektroskopie (laser-induced plasma oder breakdown spectroscopy, LIPS oder LIBS).^{21,22)} Der Bedarf an molekularen Absorptionmessungen in kleinen Probenvolumina in der Bioanalytik oder bei Kapillartrenntechniken hat zu einer Rückbesinnung auf photothermische Verfahren geführt.²³⁾

Diodenlasern eröffnen im VIS/NIR-Bereich zahlreiche Möglichkeiten. Quantenkaskadenlaser versprechen eine Vielzahl neuer Applikationen im Mittleren Infrarot.²⁴⁾ Die Fluoreszenzspektroskopie (laser-induced fluorescence, LIF) nativer Fluorophore oder fluoreszenzmarkierter Analyte gehört zu den häufigsten Anwendungen von Lasern in der Molekülspektroskopie. Besonders die Anforderungen aus den Life Sciences führten zu einer schnellen Kommerzialisierung von benutzerfreundlichen LIF-Systemen und einer Vielzahl neuer Fluoreszenzmarkierungen.²⁵⁾ Die Fluoreszenzmikroskopie mit Mehrphotonenanregung und die Fluoreszenzkorrelationspektroskopie (FCS) mit Femtosekundenlasern haben das Tor für neue Applikationen geöffnet.²⁶⁾ Laser in der Nanoanalytik versprechen die Kombination von Nahfeldmikroskopie mit spektrochemischen Analyseverfahren wie LIPS, LIF oder Ramanspektroskopie.^{27,28)} Letztere hat sich mittlerweile – dank robuster NIR-Diodenlaser – in der Prozessanalytik etablieren können.²⁹⁾ Die Resonanzramanspektroskopie im UV-Bereich³⁰⁾ könnte ähnlich wie die oberflächenverstärkte Ramanspektroskopie²⁹⁾ ein potentes diagnostisches Werkzeug in der Bioanalytik werden.

Literatur auf S. 486

Dem „Bio- und Life-Sciences-Run“ entsprechend wurden sowohl direkte und indirekte elektrochemische Detektionsmethoden für Biomoleküle an Elektrodenoberflächen als auch neue Verfahren für die Charakterisierung biologischer Matrices entwickelt. So lassen sich 550 Attomol DNA an Zinnoxid-Elektroden in Gegenwart eines Elektronentransferkatalysators mit cyclischer Voltammetrie anhand des katalytischen Stroms quantifizieren.⁴⁴⁾ Die Spurenbestimmung von 4-Nonyl- oder Octylphenol in Humanblut gelingt nach Festphasenextraktion und Umkehrphasen-HPLC mit coulometrischem Elektrodenarray-Detektor. Oxidationspotentiale zwischen 100 und 800 mV, die simultan angelegt werden, ergeben besser auswertbare 3D-Chromatogramme.⁴⁵⁾

Den Brückenschlag zur Sensorik offerieren miniaturisierte Analysensysteme, die den Analyten im Durchfluss anreichern und chemisch so umsetzen, dass amperometrisch leicht messbare Reaktionsprodukte entstehen. Nach diesem Prinzip wurde z. B. ein „Lab-on-a-Cable“ zur Bestimmung von Phenolen in Wässern entwickelt.⁴⁶⁾ Zur Probenvorbehandlung im Durchfluss-System gehört dabei die Zugabe des Enzyms Tyrosinase, welches die Oxidation vieler umweltrelevanter Phenole in die entsprechenden Chinone katalysiert. Diese lassen sich an einer systemintegrierten Wall-Jet-Glaskohlenstoffelektrode amperometrisch detektieren. Besonders die Mikroanalytik bietet also den elektrochemischen Analysemethoden interessante Zukunftsperspektiven.

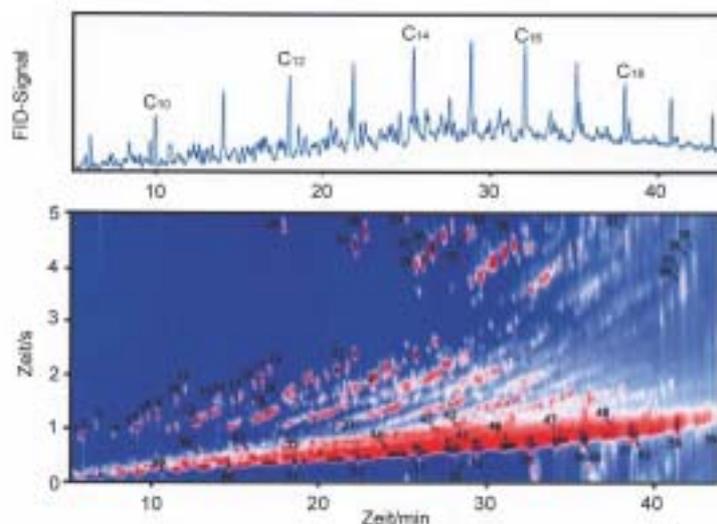


Abb. 6. Vergleich von ein- und zweidimensionaler Trennung einer Dieselölprobe.⁴⁹⁾ oben: Ausschnitt aus dem eindimensionalen Chromatogramm (n-Alkane C10–20, unpolare Säule, Temperaturprogramm) unten: Konturplot der zweidimensionalen Trennung erhalten durch Anreicherung der FID-Chromatogramme von der zweiten Säule (die n-Alkane sind in der unteren Reihe).

Instrumentelle Trennmethode

Die „comprehensive two-dimensional gas chromatography“ (GCxGC oder 2D-GC) wurde in methodischer und apparativer Hinsicht bedeutend weiterentwickelt. Ihre Anwendung zur Untersuchung sehr komplexer Proben (z. B. petrochemische Fraktionen, Pflanzenextrakte, Umweltproben) hat gezeigt, dass die Substanzvielfalt in derartigen Proben weit größer ist, als bisher angenommen wurde. So identifizierten Lewis et al. über 500 flüchtige organische Verbindungen in der urbanen Atmosphäre von Melbourne, davon über 100 mehrfach substituierte monoaromatische Kohlenwasserstoffe und sauerstoffhaltige Verbindungen.⁴⁷⁾ Die GCxGC-Technik koppelt wie die klassische Heartcut-Technik (GC-GC) zwei Säulen mit unterschiedlichem Retentionsvermögen. Während jedoch die Heartcut-Technik in ei-

nem Analysenlauf nur wenige Eluatfraktionen aus der ersten in die zweite Säule überführt, zerlegt die GCxGC-Technik mit einem geeigneten Modulator⁴⁸⁾ das Eluat der ersten Säule kontinuierlich in kleine Segmente (Zeitscheiben von 4 bis 10 Sekunden Breite). Diese gelangen nach Fokussierung auf die zweite kurze Säule, wo eine schnelle Trennung erfolgt. Diese Technik ist eine echte zweidimensionale Säulenchromatographie. Das Trennvermögen ist enorm gesteigert; außerdem bewirkt die Pulsation eine Steigerung der Empfindlichkeit. Die Modulation zerlegt die von der ersten Säule eluierenden Substanzzonen in mehrere Scheiben, die der Detektor als Pulse registriert. In dem zweidimensionalen Chromatogramm (Conturplot, Abbildung 6) erscheinen die Peaks als Ovale; die Einbeziehung der Signalhöhen ergibt eine dreidimensionale Darstellung (Gebirge). Wegen der

geringen Peakbreite (50 bis 100 ms) gelingt die Identifizierung der getrennten Komponenten nur durch Kopplung mit der TOF-MS.⁵⁰⁾ Weitere Einzelheiten vermittelt ein Special Issue on Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography.⁵¹⁾

Einen Überblick über Fortschritte bei der Anwendung der lösungsmittelfreien Extraktions- und Probenahmetechniken SPME und MESI geben einige Reviews.⁵²⁻⁵⁴⁾ Der Nachteil der geringen Extraktionsausbeute bei der SPME, bedingt durch das geringe Volumen der Faserbeschichtung, führte zur Entwicklung eines beschichteten Rührfisches (stirr bar sorptive extraction, SBSE) mit höherer Polydimethylsiloxanbeschichtung im Vergleich zur SPME-Faser.⁵⁵⁾ Die

SBSE ist speziell zur Extraktion wässriger Proben geeignet, erfordert jedoch zur Desorption einen Thermo-desorber.

Ein Beispiel für die Renaissance von bisher wenig genutzten Techniken ist die thermisch unterstützte Hydrolyse und Methylierung (THM) in Kombination mit der GC, die zunächst als „Simultane Pyrolyse und Methylierung“ (SPM) in die Literatur eingegangen ist. Dabei wird die Probe mit einem Methylierungsmittel (häufig Tetramethylammoniumhydroxid, TMAH) vermischt und im Pyrolysatoren oder GC-Injektor erhitzt. Thermochemolyse überführt Substanzen mit hydrolysierbaren funktionellen Gruppen in situ in die entsprechenden Methylderivate, die gut mit GC

untersucht werden können. Ein Special Issue widmete sich dieser eleganten Kombination aus Probengabe und Derivatisierung.⁵⁶⁾

Die Kopplung von HPLC und MS ist zu einer robusten Methode gereift. Die technischen Anforderungen, die diese Kopplungstechnik z. B. an die Flussrate des Eluats beim Ionisierungsschritt stellt, haben auch die Dimensionen der Trennsäule beeinflusst. Säulen mit verringertem Durchmesser und Kapillarsäulen setzen die Nachweisgrenzen herab. Extrem niedrige Bestimmungsgrenzen für Neuropeptide wurden mit einer speziellen Kapillare mit integriertem Electrospray-Emitter, gekoppelt an ein Ionenfallen-MS, erreicht.⁵⁷⁾ Die mit Octade-

◆ Chemometrik

Der Trend zur Anwendung chemometrischer Methoden in allen Bereichen der Chemie, zunehmend aber auch interdisziplinär, ist ungebrochen. In der Literatur dominieren anwendungsorientierte Arbeiten. Lavine gibt einen Überblick.¹¹²⁾ Das chemometrische Methoden sich immer mehr durchsetzen, liegt auch daran, dass entsprechende Software heute weiter verbreitet und anwenderfreundlicher ist. Stellvertretend sei das Programm MATLAB genannt, das es in komfortabler Art und Weise ermöglicht, individuelle Programmbausteine zu erarbeiten.¹¹³⁾

Inhaltliche Schwerpunkte der Chemometrik sind:

- multivariate Methoden der Mustererkennung und Kalibrierung,
- Mehrwegetechniken,
- multivariate Methoden zur Signalauflösung,
- Algorithmen des „soft modeling“, oft angewendet zur Modellierung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen.

Nicht zuletzt sei auf die Anwendung chemometrischer Methoden in der analytischen Qualitätssicherung hingewiesen.

In großer methodischer Vielfalt werden neuronale Netze¹¹⁴⁾ nicht nur zur Datenauswertung, sondern zunehmend auch zur Optimierung chemisch-technologischer Prozesse und organischer Synthesen eingesetzt. Ebenfalls in steigender Tendenz finden genetische Algorithmen¹¹⁵⁾ zur Datenauswertung, zur Optimierung von Umweltüberwachung und technologischer Prozesse sowie zur Methodenentwicklung, z. B. zur gezielten Entwicklung neuer Biosensoren, Anwendung. Methoden der Zeitreihenanalyse haben in den vergangenen Jahren neue Anwendungsfelder, insbesondere in der Umweltforschung und -überwachung, gewonnen.

Die etablierten Techniken der PLS-Regression werden auch weiterhin in großem Umfang genutzt. Hier zeichnen sich einige wesentliche theoretische Weiterentwicklungen ab wie die nichtlineare und die multi-lineare PLSR sowie die Neuentwicklung der orthogonalisierten PLSR,¹¹⁶⁾ die zu einer vereinfachten Interpretation des PLS-Modells führt. Mehrweganalysen höherdimensionaler Datenfelder finden durch die Untersuchung immer komplexerer Aufgabenstellungen zunehmend öfter Anwendung. Als praktikables Hilfsmittel sei die

Mehrweg-„Toolbox“, die im Internet verfügbar ist, erwähnt.¹¹⁷⁾

Die Wavelet-Transformation¹¹⁸⁾ wird nach wie vor in großem Umfang angewendet, wobei die Nutzung in der NIR-Spektroskopie dominiert. Bei der Entwicklung neuer chemometrischer Algorithmen gibt es zwei Schwerpunkte:

- neue Techniken zum Ersatz fehlender Daten: von multivariat-statistischen Methoden wie PCA, PCR und PLSR bis zu den jeweiligen Mehrwegemethoden, aber auch die Maximum-Likelihood-Methode¹¹⁹⁾
- der Algorithmus der „Natürlichen Muster“: eine effektive Technik zum Nachweis von Datenclustern, aber auch eine multivariate Methode der Ausreißererkennung.¹²⁰⁾ Zur Identifizierung multipler Ausreißer werden nutzbringend auch andere multivariat-statistische Methoden wie die robuste PCR oder die „reweighted“ PLSR angewendet.¹²¹⁾ Als aktuelle Monographien in der Chemometrik sind die überarbeitete Neuauflage des Buches von Miller und Miller¹²²⁾ sowie das neu erschienene Buch von Danzer et al.,¹²³⁾ das in übersichtlicher Art und Weise in wichtige Grundlagen und Schwerpunkte der Chemometrik einführt, hervorzuheben.

Literatur auf S. 487

cylicsilicagel gepackte Kapillare hatte einen Innendurchmesser von nur 25 µm. Für schnelle Trennungen in Kombination mit der Massenspektrometrie werden besonders kurze Säulen verwendet.

Den üblichen gepackten Säulen stehen immer mehr monolithische Säulen gegenüber, deren Trennstrecke ein makroporöser (und in der Regel auch mesoporöser) Festkörper ist.⁵⁸⁾ Ihre Vorzüge im konventionellen Betrieb sind, dass sie bei gleicher Effizienz eine höhere Permeabilität (höheres Poren/Skelett-Verhältnis) haben als gepackte Säulen und daher höhere Flussrate oder längere Trennstrecken (gekoppelte Säulen) zulassen. Monolithe in der HPLC bestehen entweder aus einem anorganischen Gerüst, dessen Oberfläche chemisch modifi-

ziert wird, oder es sind organische Polymere.⁵⁹⁾ Für Trennungen in Kapillaren können Monolithe auch direkt in der Kapillare synthetisiert werden.

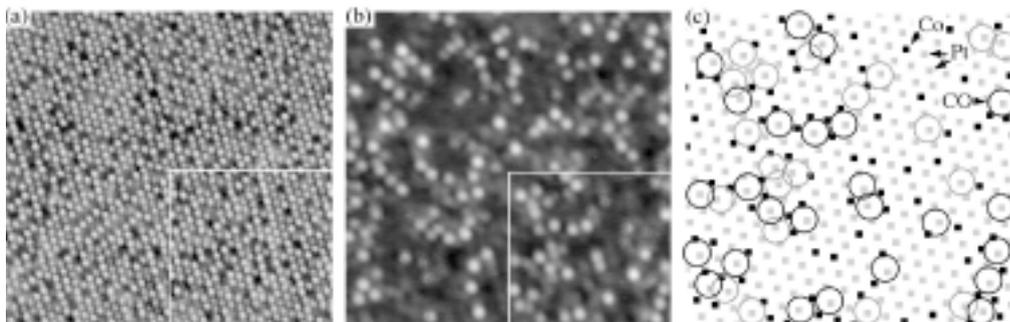
Die Kopplung der Kapillar-Flüssigkeitschromatographie (CLC) mit der Massenspektrometrie eröffnet auch der Kapillar-Elektrochromatographie (CEC) neue Perspektiven bei der Analyse hochkomplexer (biologischer) Proben.⁶⁰⁾ Bei der CEC wird die mobile Phase nicht durch eine Pumpe, sondern durch Elektroosmose transportiert. Das erhöht die chromatographische Effizienz. Auch das Zusammenwirken von chromatographischer und elektrophoretischer Trennung ist bedeutsam.⁶¹⁾

Die Kapillar-Gelelektrophorese (CGE) mit Lösungen linearer Polymere als Trennmedien wird durch

Optimierung der Zusammensetzung des Trennmediums immer leistungsfähiger als Werkzeug in der Genomanalyse.⁶²⁾

Kapillarelektrophorese (CE) und verwandte Trenntechniken werden zunehmend auf planare Chips übertragen, die nicht nur schnelle, sondern – bei geeigneter Geometrie des Trennkanals – auch hocheffiziente Trennungen möglich machen. So beschrieben Culbertson et al. die Trennung (280 000 theoretische Böden) von 19 markierten Aminosäuren in

Abb. 7.
(a) Saubere Oberfläche von PtCo: aufgrund des chemischen Kontrastes erscheinen die Pt-Atome heller.
(b) Dieselbe Probenstelle nach der Adsorption von CO.
(c) Schema des eingezeichneten Ausschnittes zur Verdeutlichung: CO-Moleküle nur auf Pt-Atomen die von Co benachbart sind.



weniger als drei Minuten durch Mizellare Elektrokinetische Chromatographie auf einem Glas-Chip mit spiralförmigem Trennkanaal.⁶³⁾ Der Vorteil der Chip-Technik ist, dass sie viel komplexere Kanalstrukturen reproduzierbar erzeugt, als mit herkömmlichen Kapillaren möglich wäre.⁶⁴⁾ Die direkte Kopplung der CE auf einem Chip mit ESI-MS ist möglich.⁶⁵⁾

Radiochemische Analytik

◆ In der Validierung von Routineanalysen und bei der Zertifizierung von Referenzmaterialien kommt – neben ihrer Anwendung in der Spurenanalytik – die Neutronenaktivierungsanalyse immer mehr zum Einsatz.⁶⁶⁾ Zur definierten Spurenelementdotierung in Reinstmetallen bei minimaler Mikrohomogenität ist die Elementumwandlung in situ durch Beschuss mit Neutronen geeignet.^{67,68)}

Die Photonenaktivierungsanalyse bestimmt C, N, O und F, aber auch andere Elemente, z.B. Pb und Tl in Umweltproben bis in den sub- μg -Bereich.⁶⁹⁾ Die Installation eines Röntgenstrahlrohres am Berliner Elektronenspeicherung BESSY II erweiterte die Speziationsanalytik mit Röntgenabsorptionsspektrometrie im Energiebereich bis 50 keV.⁷⁰⁾

Eine Methode der Schwächungskorrektur von γ -Strahlung, die auf der Quantifizierung des Klein-Winkel-Compton-Streuanteils beruht, erlaubt die einfache Bestimmung von räumlich konzentrierter Aktivität in radioaktiven Abfallgebänden. Für die Messung von α - und β -Strahlung wird die Automatisierung von Abschluss- und Trennverfahren weiterentwickelt, um einen höheren Probandendurchsatz zu erreichen.⁷¹⁾ Die Entwicklung eines direkten Messverfahrens von α -Strahlern an gemahlene Bauschuttproben ist eine weitere Alternative zu den chemisch aufwendigen Aufschlüssen und Trennungen.⁷²⁾ Beim Rückbau von Reaktoren hat die Messung bisher weniger beachteter Spurennuklide (^{36}Cl , ^{79}Se , ^{41}Ca etc.) an Bedeutung gewonnen. Die ICP-MS wird im Bereich der zerstörenden Analytik radioaktiver Abfälle zunehmend wichtiger.⁷³⁾

Laserspektroskopische Methoden wie die Laser-induzierte Photoakustische Spektroskopie (LPAS) und die Zeitaufgelöste Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) kommen immer mehr zum Einsatz, um Daten zur Thermodynamik der tetravalenten Actinidionen in wässriger Phase zu gewinnen. Außerdem untersuchen diese Methoden die Reaktionen von Actiniden an der Mineral/Wasser-Grenzphase⁷⁴⁾ und den Einbau in feste Sekundärphasen. TRLFS mit Femtosekunden-Laseranregung analysierte die Komplexbildung von Actiniden mit organischen Liganden.⁷⁵⁾ Die Röntgenfeinstrukturanalyse an Synchrotronstrahlungsquellen (XANES und EXAFS) charakterisierte Koordination und Bindungsverhältnisse von gelösten, grenzflä-

chen-gebundenen und festen Actinid-Spezies.^{76,77)}

Die Laser-induzierte Breakdown-Detektion (LIBD) quantifizierte in situ Kolloide in natürlichen granitischen Wässern, wodurch die präzise Bestimmung der Löslichkeit von schwerlöslichen Hydroxid/Oxid-Phasen der tetravalenten Actiniden (Th, Pu) möglich war.⁷⁸⁾

Festkörperanalytik

◆ In der Festkörperanalytik dominieren physikalische Methoden, vor allem Verfahren der Oberflächenanalytik. Die Leistungsfähigkeit einer Reihe von etablierten Verfahren verbesserte sich in den letzten Jahren – fast unbemerkt – signifikant.

Fortschritte in der Elektronenspektroskopie erlauben, den Elektronentransport in Festkörpern zu quantifizieren.¹²⁴⁾ Nun kann die Energieverteilung der Elektronen über den gesamten Energiebereich exakt berechnet werden; dies verbesserte die Quantifizierung bei Elektronenstrahl-Techniken wie AES, XPS und EPMA. In der apparativen Entwicklung sind die neuen Möglichkeiten durch Energy Filtered TEM (EF-TEM)¹²⁵⁾ markant: Neben der Auflösung im nm-Bereich gelingt jetzt auch die schnelle direkte Abbildung der Elementverteilung.

Ein weiteres Verfahren, das ursprünglich nur topographische Informationen lieferte, erweiterte die chemische Analytik im atomaren Bereich. Beim STM kann mit dem chemischen Kontrast¹²⁶⁾ in Einzelfällen auch bei atomar aufgelösten Bildern Elementanalytik betrieben werden. Beispielsweise zeigte die

Untersuchung der CO-Adsorption auf PtCo(111)-Oberflächen, dass CO ausschließlich auf den Pt-Atomen sitzt, wobei Pt-Atome, die von Co-Atomen benachbart sind, bevorzugt werden (ligand effect, Abbildung 7).

Eine deutsche Neuentwicklung gab es in der Massenspektrometrie: Das Nachfolgemodell der INA-3, die INA-X, ermöglicht nahezu standardfreie quantitative Messungen von Tiefenverteilungen aller Elemente im sub-ppm-Bereich.¹²⁷⁾

Eine weitere in Deutschland vorangetriebene Technik, die TOF-SIMS, ergibt hochaufgelöste Abbildungen nicht nur von anorganischen, sondern auch von organischen und biologischen Oberflächen.¹²⁸⁾ Die nichtresonante Multi-Photonen-Laser-Ionisation (NRMPI)¹²⁹⁾ analysiert Metalle in Polymeren matrixunabhängig und quantitativ bis in den sub-ppm-Bereich.

Der Einsatz von Lasern zur Ablation – in TOF-SIMS und in der Laser-induced Breakdown Spectrometry (LIBS) – ist komplex. Fortschritte wurden vor allem bei der Verwendung von Femtolasern erzielt.¹³⁰⁾

Mittels XPS kann der Bindungszustand der Elemente an der Oberfläche charakterisiert werden, in Verbindung mit der Zerstäubung der Probe können auch Tiefenverteilungen gemessen werden. Dieses Verfahren ist allerdings sehr mit Artefakten behaftet; erst in letzter Zeit gibt es hier Fortschritte.¹³¹⁾

Um die steigenden Anforderungen der Halbleiterindustrie zu befriedigen, müssen etablierte Verfahren wie SIMS dauernd verbessert werden. Derzeit ist die Analytik speziell bei der Messung von Ultra Shallow Implantations gefordert, die eine Tiefenauflösung im sub-nm-Bereich erfordern.¹³²⁾

Viele Methoden basieren auf dem Beschuss mit Röntgenstrahlung.¹³³⁾ Für den Einsatz in der Mikro- oder gar Nanoanalytik reichte die Fokussierbarkeit von Röntgenstrahlung – auch bei Verwendung der leistungsfähigsten Quelle, einem Synchrotron – nicht aus. Neuentwickelte Beugungslinsen verbesserten die Strahl-

geometrie und werden neue Möglichkeiten in der Grundlagenforschung eröffnen.

Ringversuche und Referenzmaterialien

◆ Im analytischen Labor kommen immer mehr Maßnahmen zum Einsatz, die gewährleisten sollen, dass sich Analysenergebnisse auf internationale Standards rückführen lassen. Ringversuche und insbesondere zertifizierte Referenzmaterialien (CRMs) sind wichtige Instrumente, um dieses Ziel zu erreichen. Der steigende Bedarf an Ringversuchen ist die logische Konsequenz, insbesondere um die Palette an Parametern und Matrizes zu erweitern, aber auch um die Laborleistung unter Routinebedingungen zu überwachen („proficiency testing“). Proficiency Testing, wie es im ISO/IEC Guide 43¹³⁴⁾ definiert ist, soll die Kompetenz eines Labors demonstrieren. Im deutschsprachigen Raum (D, A, CH) wurden im letzten Jahr mehr als 200 Ringversuche organisiert, die fast alle im Internet dokumentiert sind.¹³⁵⁾ Zunehmend werden die Labors aufgefordert, ihr Messresultat gemeinsam mit der zugehörigen Messunsicherheit abzugeben. Auch die Veranstalter von Ringversuchen statten die Soll-/Referenzwerte immer häufiger mit Unsicherheiten aus.

Die Zahl der internationalen Richtlinien, die die Veranstaltung und Teilnahme an Ringversuchen regeln, steigt. Anbieter von Ringversuchen sind gefordert, gemäß ISO/IEC Guide 43:1997 und ILAC G13:2000¹³⁶⁾ zu operieren. Für die Interpretation von Proficiency Testing Schemes gab EURACHEM einen Guide heraus.¹³⁷⁾ Im Trend sind die Bestrebungen einiger europäischer Proficiency-Testing-Anbieter, sich zu akkreditieren. Hierzu verfasste die European Cooperation for Accreditation (EA) eine Richtlinie,¹³⁸⁾ die klar aufzeigt, welche Auswirkungen die Akkreditierung von Ringversuchsveranstaltern hat: höhere Organisationskosten, das Ausscheiden kompetenter Proficiency-Testing-Anbieter, die Frage der Akkreditierung

von Akkreditierungsstellen, die eigene Laborvergleichstests veranstalten. Das sind Probleme, die diskutiert werden müssen.

Der größte Bedarf an neuen Referenzmaterialien (RMs) und zertifizierten RMs (CRMs) besteht nach wie vor in der Umweltanalytik und in Ernährung und Landwirtschaft – insbesondere für organische Spurenanalytiken – aber auch in der medizinischen Diagnostik. Diesen Bedarf spiegeln die „Dedicated Calls“ der Europäischen Kommission, die zu Projektvorschlägen für die Produktion derartiger (C)RMs aufrufen.¹³⁹⁾ Aktuelle Informationen über verfügbare (C)RMs gibt es in einer Reihe von Datenbanken.¹⁴⁰⁾

Der neue ISO Guide 33 – 2000 beschreibt, wie ein Labor die Richtigkeit von Analysenverfahren mit CRMs überprüfen kann.¹⁴¹⁾

Obwohl die Verwendung von CRMs den Transfer von Messwerten zwischen Labors verschiedener Länder und damit den Abbau von Handelsbarrieren ermöglicht, werden die Nachteile dieser Referenzmaterialien immer evidenter. Die hohen Produktionskosten und die lange Herstellungsdauer machen nur einige CRMs kommerziell interessant. Dem gegenüber steht der Bedarf für eine enorme Vielfalt an CRMs, deren Herstellung praktisch nicht finanzierbar ist. Ein Lösungsansatz sind die „fit for purpose“-RMs mit eingeschränkter Stückzahl und Lebensdauer.

Basierend auf den existierenden ISO Guides, relevanten Elementen aus der ISO/IEC 17025 (1999) und der ISO 9000 wurde das Dokument ILAC-G12:2000¹⁴²⁾ veröffentlicht, das die Anforderungen an das Managementsystem und die technischen Anforderungen an Produzenten von RMs regelt.

Der Trendbericht Analytik wird fortgesetzt auf Seite 485 (Blickpunkt Analytik).

◆ Georg Alexander Hoyer: „Zwei herausragende Ereignisse in der Analytik“

„Auf dem Gebiet der Analytik hat es im vergangenen Jahr zwei herausragende Ereignisse gegeben. Erstens hat die Zeitschrift „Fresenius Journal of Analytical Chemistry“ Ende des Jahres 2001 ihr Erscheinen nach 140 Jahren eingestellt. Das Journal hat neue Eigentümer bekommen, ist mit der französischen Zeitschrift „Analisis“ verschmolzen worden und erscheint im neuen Gewand unter dem Titel „Analytical and Bioanalytical Chemistry“ ab Januar 2002. Ganz besondere Ehre und großer Dank gebührt Prof. Dr. Wilhelm Fresenius, der 53 Jahre lang als verantwortlicher Herausgeber das Journal erfolgreich gemanagt hat. Ich hoffe und wünsche, dass die neuen Herausgeber genauso viel Erfolg haben werden wie die alten.

Zweitens hat die Fachgruppe Analytische Chemie im vergangenen Jahr ihr 50-jähriges Bestehen mit einem kleinen Festakt anlässlich der GDCh-Tagung Chemie 2001 in Würzburg gefeiert. Aus kleinen Anfängen ist eine kraftvolle Organisation mit zehn lebendigen Arbeitskreisen entstanden. Im vergangenen Jahr lagen Schwerpunkte bei der Analytik auf den Gebieten der Lebensmittel- und Materialwissenschaften. Aber auch andere Bereiche, z. B. die Umwelt- und Industrieanalytik, die Aus- und Weiterbildung an den deutschen Hochschulen, die Qualitätssicherung und Metrologie in der Analytik sowie die Entwicklung und Verbesserung von Methoden, Verfahren und Geräten dürfen nicht vergessen werden. Die Fachgruppe Analytische Chemie ist global orientiert, arbeitet mit vielen Partnern und Organisationen zusammen und versteht ihr Fach heute als Informationstechnologie für Naturwissenschaft und Technik.“

Georg Alexander Hoyer, Berlin

Trendbericht Analytische Chemie 2000/2001

Enzymatische und immunchemische Verfahren sowie Chemo- und Biosensoren präsentiert der abschließende Teil des Trendberichts zur den wichtigsten Fortschritten in der Analytik der vergangenen zwei Jahre. Teil 1 beginnt auf Seite 455.

Enzymatische Analysenverfahren

● Der Schwerpunkt von neuen enzymatischen Analyseverfahren liegt in Pharmazie und medizinischer Diagnostik. Die Neuentwicklungen fallen in die folgenden Kategorien:

- neue Substrate und Detektionsmethoden für alte Enzyme,
- neue Enzyme,
- neue Anwendungen.

Biokatalytische Präzipitation als Signalverstärkungsmethode ist ein unkonventioneller Weg, um die klassischen sensorischen Enzyme Peroxidase und Glucoseoxidase zu detektieren. Die biokatalytische Präzipitation lässt sich mit massensensitiven Detektionsmethoden nachweisen, die in der Biosensorik an Bedeutung gewinnen. So detektierten Su et al. das präzipitierte Produkt der enzymatischen Oxidation von 4-Chlor-1-Naphthol mit der Oberflächenplasmonresonanz (SPR).⁷⁹⁾

Eine neue Möglichkeit zur fluorimetrischen Detektion von Enzymre-

aktionen nutzt die Eigenschaft von Verbindungen wie Methionin und Leucin, schwache Metall-Chelatbildner zu sein.⁸⁰⁾ Eine orange fluoreszierende „Sensor-Verbindung“ bindet Metallionen wie Cu^{2+} schwach unter Quenchen der Fluoreszenz. Wird nun z. B. N-Acetyl-L-Methionin (bindet Cu^{2+} nicht) in Gegenwart von Fluorochrom und Cu^{2+} zu L-Methionin (bindet Cu^{2+} schwach) hydrolysiert, nimmt die Fluoreszenz zu, weil L-Methionin dem Fluorochrom Cu^{2+} entzieht. Dieser empfindliche pM-Test (pM für Metallionen ist analog zum pH-Wert definiert) ist generell zum Nachweis von Enzymreaktionen geeignet, die schwache Metall-Liganden freisetzen.

Viele Pflanzen setzen bei ihrer Verarbeitung Blausäure aus cyanogenen Glykosiden frei. Kürzlich wurde eine bakterielle Cyanidase in einem Biosensor eingesetzt: Sie spaltet die Blausäure in Ameisensäure und Ammoniak, welches eine Ammoniak-Gaselektrode quantitativ erfassen kann.⁸¹⁾

Während viele natürliche Enzyme, die für die Analytik interessant wären, ihrer Entdeckung harren, kreierte Enzymengineering maßgeschneiderte analytische Werkzeuge aus bekannten Enzymen, im wesentlichen über zwei Wege: das rationale Design oder – in zunehmendem Maße – die gerichtete Evolution.⁸²⁾ So erhöhte die ortsgerichtete Mutagenese und die „fehlerbehaftete (error prone) PCR“ die Aktivität der Alkalischen Phosphatase bis zu 30fach.⁸³⁾ Die Alkalische Phosphatase ist eines der wichtigsten in Immunoassays verwendeten Enzyme.

Miniaturisierte Einweg-Multianalysensensoren (Microarrays) erleben im Zusammenhang mit der Genom- und Proteomforschung einen Aufschwung, begünstigt durch die rasante Entwicklung der Nanotechnologie. Für Enzym-Microarrays werden zum Beispiel hochaktive Enzyme in hoher räumlicher Dichte benötigt. Ein eleganter Ansatz ist, Enzym-Mikrokristalle durch schichtweise Polyelektro-

lyt-Verkapselung herzustellen.⁸⁴⁾ Neben der hohen „volumetrischen Produktivität“ ist die Stabilität gegenüber Proteasen eine herausragende Eigenschaft von Enzym-Mikrokristallen. Ein neuer Fluoreszenz-Polarisationstest erlaubt das Hochdurchsatz-Screening von Kinase-Inhibitoren.⁸⁵⁾ Der Test beruht darauf, dass das Produkt einer enzymatischen Phosphorylierung ein fluoreszierendes phosphoryliertes Peptid (Tracer) verdrängt, das an einen Antikörper gebunden ist. Dabei nimmt die Fluoreszenz-Polarisation ab. Bei einem Probenvolumen von nur 5 µl erlaubt dieser homogene Test kontinuierliche Messungen, um kinetische Parameter zu bestimmen. Eine enzymatische Mutations-Detektion (EMD) weist Basenaustausch, Insertion und Deletion nach.⁸⁶⁾ Das Enzym Endonuclease VII aus Bakteriophagen T4 spaltet doppelsträngige DNS an Fehlpaarungs-Stellen. Gelelektrophorese trennt die Spaltprodukte. Ein neues Reporter-gen, das in der zellfreien Proteinsynthese und im Hochdurch-

satz-Screening eingesetzt werden kann, codiert für rekombinantes Hirudin. Ein preiswerter fluorimetrischer Thrombin-Inhibitionstest weist das Hirudin schon in nanomolaren Konzentrationen nach.⁸⁷⁾ Das Hirudin-System ist im Gegensatz zur Luciferase unempfindlich gegen Schwankungen der Calciumionen-Konzentration. Hempel et al. beschreiben den Einsatz dieses Systems in Mikro- und Nanotiterplatten.

Immunchemische Verfahren

● Das Spektrum des Einsatzes von Antikörpern reicht von den traditionellen Immunoassays, die Mikrotiterplatten verwenden, bis zu Antikörper-Chips (Antikörper-Arrays). Gentechnisch hergestellte rekombinante Antikörper-Fragmente fristen noch immer ein Schattendasein. Aufhören lässt die Nachricht, dass es in Japan gelungen ist, die ersten rekombinanten Antikörper (scFv, gegen Malathion und Bisphenol A) mit höherer Affinität als ihre monoklonalen

Ausgangsprodukte herzustellen.⁸⁸⁾ Das ist ein Meilenstein.

In den Anwendungsfeldern von immunologischen Verfahren hat sich nur wenig geändert. Nach wie vor dominieren die Klinische Labordiagnostik und die Lebensmittelanalytik. In der Umweltanalytik steht das Screening von Wasser- und Bodenproben auf Pestizidrückstände im Vordergrund. Immunanalytik ist sensitiv und kostengünstig. Das erkennen immer mehr auch die Arbeits- und Umweltmediziner, die an der Schnittstelle der oben genannten Einsatzbereiche stehen. Sie analysieren vor allem niedermolekulare chemische Verbindungen in Human-Proben. Um die realen Exposition (Human-Biomonitoring) zu ermitteln, greifen sie längst nicht mehr nur auf Blut- und Harnproben zurück: Auch Mundspeichel und Schweiß sind geeignete Probenmedien – und darüber hinaus nichtinvasiv zu gewinnen – z. B. für die Bestimmung des Herbizides Atrazin oder des Biomarkers Pyridinolin.^{89,90)}



September 15-20, 2002





Gesellschaft Deutscher Chemiker
Fachgruppe Analytische Chemie
Arbeitskreis Chromatographia

**24th International
Symposium on
Chromatography
Leipzig September
15th – 20th 2002**



Universität Leipzig
Fakultät für Chemie und Mineralogie
Institut für Analytische Chemie

www.gdch.de/tagung/2002/isc/index.htm

Ein wichtiger Trend ist die Entwicklung gruppenselektiver Immunoassays – als Antwort darauf, dass viele Analytiker zeit- und kostensparenden Multianalytmethoden verlangen. Bei Analyten wie PAHs oder PCBs ist primär die Summenkonzentration der Einzelverbindungen interessant, besonders für Screening-Zwecke. Dafür gibt es speziell entwickelte Antikörper oder Testformate. Problematisch ist die Entwicklung gruppenselektiver Antikörper bei kleinen Analyten (Haptenen). Wenn gleichzeitig eine hohe Nachweisempfindlichkeit gefordert ist (weitgehend gleichbedeutend mit einer hohen Affinitätskonstante des Antikörpers), so ist eine breite Selektivität nur sehr begrenzt erreichbar. Das hängt mit dem Schlüssel/Schloss-Prinzip der Antigen/Antikörper-Interaktion zusammen. So ist wohl kaum eine Bindungsstelle herzustellen (oder rekombinant zu designen), die eine ganze Gruppe verschiedener Analyten mit gleicher Affinität bindet. Chemische Methoden wie die katalytische Dechlorierung von PCBs zu Biphenyl und dessen anschließende immunologische Detektion sind eine Möglichkeit zur molaren Summenbestimmung einer Analyt-Gruppe.⁹¹⁾ Jedoch ist dieser Weg immer daran gebunden, dass bestimmte funktionelle Gruppen vorhanden sind. Häufig versuchte Ansätze sind die Immunisierung mit Partialstrukturen des Zielmoleküls oder mit einer entsprechend optimierten Orientierung des Zielmoleküls im Immunogen.⁹²⁻⁹⁷⁾ Der Erfolg ist jedoch keineswegs garantiert. Eine wichtige Voraussetzung scheint eine Mindestgröße des Analyten zu sein. So stellten Zeck et al. für Microcystine (toxische Heptapeptide, Substanzklasse mit der ungefähren Molmasse von 1000) einen monoklonalen Antikörper mit Gruppenselektivität bei gleichzeitig hoher Affinität her.⁹⁸⁾ Die Verwendung von längeren Spacern für das Immunkonjugat ist nicht unbedingt von Vorteil, da es dann zu sterischen Problemen bei sperrigeren Derivaten kommen kann. Die zielgerichtete Veränderung ist bislang kaum möglich. Nicht-kompetitive Formate können aufgrund

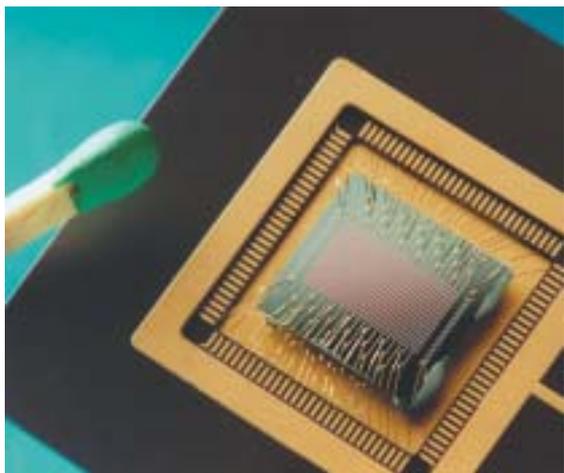
des angewendeten Antikörperüberschusses breitere Kreuzreaktionen zeigen als kompetitive Immunoassays, bei denen die Antikörper die limitierenden Reagenzien sein müssen. Die im ersten Moment attraktive Idee, eine breite Selektivität durch das Mischen von Antikörpern zu erreichen, ist bei kompetitiven Assays nicht sehr sinnvoll, da die Inhibition dann nicht mehr ausreicht.

Chemo- und Biosensoren

● Chemische Sensoren entwickeln sich stürmisch. Besonders der entscheidende Part, die Findung des erkennenden Rezeptors (neben dem Transducer, im Sinn der Iupac-Definition von 1997) wird immer mehr zu einem Wettkampf zwischen „molecular imprinting“ (polymerchemisch erzeugte Schichten mit hoher Bindekraft und Selektivität) und natürlichen hochaffinen Rezeptoren oder Katalysatoren. Übersichten von einschlägigen Jahrestagungen bezeugen dies.⁹⁹⁻¹⁰²⁾ Originell ist die Kombination von Spargelspitzen mit einem amperometrischen Nachweis von Fluorid (Inhibition der Meerrettich-Peroxidase aus Spargel durch Fluorid bis in den ppt-Bereich).¹⁰³⁾

Hochaktuell ist die wirkungsbezogene chemische Sensorik. Japanische Wissenschaftler nutzten den Human-Östrogen-Rezeptor – aufgebracht auf einer Goldelektrode – und amperometrische Detektion zum Nachweis von 17 β -Estradiol im mikromolekularen Bereich.¹⁰⁴⁾

Der schnelle Nachweis hochtoxischer Substanzen hat aus aktuellem Anlass Konjunktur. Mit Meerrettich-Peroxidase und Gangliosid-GM1-funktionalisierten Liposomen als Erkennungsstruktur, ausgelesen mit der Quarzmikrowaage, konnten noch 10⁻¹³ Mol Cholera-Toxin nachgewiesen werden.¹⁰⁵⁾ Äußerst wichtig ist die Detektion von E. coli in Lebensmitteln: Ein Immunochip mit Cy-5-markierten Antikörpern, der optisch ausgelesen wird, konnte noch 100 Organismen absolut in 1 h detektieren.¹⁰⁶⁾ Chips als Arrays unterschiedlicher Rezeptoren oder Katalysatoren dürften überhaupt die



Die am Forschungs-
zentrum Karlsruhe
entwickelte Mikro-
nase KAMINA besitzt
38 Einzelsensoren.

Zukunft der chemischen Sensoren sein. Daher gewinnt die Auslesestrategie an Bedeutung. Optisch ansprechend ist das Arrangement eines Mikromosaik-Immunoassays: Hier wurde Mikrofluidik und optische Auslesung in sich kreuzenden Strukturen kombiniert. Das entstehende Farbmuster gibt Auskunft über Art und Menge des Analyten.¹⁰⁷⁾

Faseroptische (Bio)Sensoren sind „trendy“. Ein guter Überblick dazu stammt von einer kanadischen Arbeitsgruppe.¹⁰⁸⁾ Eher klassisch ist die Kombination von fünf FIA-Modulen auf einer Plattform: Mit paralleler faseroptischer Anregung und Detektion fluoreszierender Chelatbildner analysiert dieses System Schwermetallionen in Oberflächenwasser im ppb-Bereich.¹⁰⁹⁾ Faseroptische Sensoren besitzen den Charme, dass sich mit ihnen Ereignisse über weite Distanzen mit einer Sende- und Empfangseinrichtung ungestört überwachen lassen, z. B. durch optisches Multiplexing. Hier nutzt man das optische Übersprechen von sich kreuzenden Lichtleitern.¹¹⁰⁾ Transducer der eher ungewöhnlichen Art sind oszillierende Zungen wie die Tastschleife eines AFMs und noch darin in-

tegrierte Ultramikroelektroden. Eine österreichische Gruppe macht damit elektroaktive Bezirke auf Oberflächen mit atomarer Auflösung sichtbar.¹¹¹⁾

Reinhard Nießner, München
R.Niessner@ws.chemie.tu-muen-
chen.de

José Broekaert, Leipzig

Jürgen W. Einax, Jena

Hendrik Emons, Jülich

Werner Engewald, Leipzig

Klaus Heumann, Mainz

Herbert Hutter, Wien

Dietmar Knopp, München

Rudolf Kraska, Tulln

Ulrich Panne, München

Ute Pyell, Marburg

Reiner Salzer, Dresden

Frieder Scheller, Potsdam

Walter Stöcklein, Potsdam

Norbert Trautmann, Mainz

Michael Weller, München

- 1) M. Miclea et al., Spectrochim. Acta 2001, Part B 56, 37
- 2) U. Engel et al., Anal. Chem. 2000, 72, 193
- 3) A. Bas et al., J. Anal. Atom. Spectrom. 2001, 16, 919
- 4) W. Davis, R. Marcus, Anal. Chem. 2001, 73, 2903
- 5) H.J. Kim et al., Spectrochim. Acta 2000, Part B 55, 823
- 6) S. Florek et al., Spectrochim. Acta 2001, Part B 56, 1027
- 7) H. Dong, V. Krivan, Spectrochim. Acta 2001, Part B 56, 1645
- 8) D. Geilenberg et al., Mikrochim. Acta 2000, 133, 319
- 9) R. Kucharkowski et al., Fresenius J. Anal. Chem. 2000, 366, 146
- 10) A. Bogaerts et al., Spectrochim. Acta 2001, Part B 56, 551
- 11) J. Koenig et al., Anal. Chem. 2001, 73, 360A
- 12) C. Snively et al., Catal. Today 2001, 67, 357
- 13) G. Steiner et al., J. Molec. Struct. 2001, 563–564, 273
- 14) M. Kansiz et al., Anal. Chim. Acta 2001, 438 (1–2), 175
- 15) U. Utzinger et al., Appl. Spectrosc. 2001, 55 (8), 955
- 16) B. Wood et al., Biochim. Biophys. Acta 2001, 1539 (1–2), 58
- 17) G. Compagnini et al., Mater. Sci. Eng. 2001, C 15(1–2), 37
- 18) C. Viets, W. Hill, J. Mol. Struct. 2001, 565–566, 515
- 19) D. Graham et al., Chem. Commun. 2001, 11, 1002
- 20) B. Dragnea et al., Appl. Surf. Sci. 2001, 175–176, 783
- 21) J.D. Winefordner et al., J. Anal. Atom. Spectrom. 2000, 15, 1161
- 22) Proceedings of the LIBS 2000 Conference in: Spectrochim. Acta 2001, Part 56, Heft 6
- 23) H. Kimura et al., Anal. Chem. 2001, 73, 4333
- 24) B. Lendl et al., Anal. Chem. 2000, 72, 1645
- 25) D.W. Armstrong, L. He, Anal. Chem. 2001, 73, 4551
- 26) R. Rigler, E. Elson (Hrsg.), Fluorescence Correlation Spectroscopy: Theory and Application, Springer-Verlag, Berlin, 2001
- 27) R. Zenobi, V. Deckert, Angew. Chem., Int. Ed. 2000, 39, 1747
- 28) D. Kossakovski, J. Beauchamp, Anal. Chem. 2000, 72, 4731
- 29) R. McCreery, Raman spectroscopy for chemical analysis, John Wiley & Sons, New York, 2000
- 30) Q. Wu et al., Anal. Chem. 2001, 73, 3432
- 31) J. Becker, Int. J. Mass Spectrom. 2000, 197, 1
- 32) K. Benkhedda et al., J. Anal. Atom. Spectrom. 2000, 15, 1349
- 33) N.S. Belshaw et al., Int. J. Mass Spectrom. Ion Process 1998, 181, 51
- 34) V. Majidi, Microchem. J. 2000, 66, 3
- 35) D. Schaumlöffel et al., Anal. Bioanal. Chem. 2002, 372
- 36) N. Demuth et al., Anal. Chem. 2001, 73, 4020
- 37) O. Niwa et al., Anal. Chem. 2000, 72, 949
- 38) J. Pei et al., Anal. Chem. 2001, 73, 2273
- 39) B.B. Katemann, W. Schuhmann, Electroanal. 2002, 14, 22
- 40) J. Wang et al., Anal. Chem. 2000, 72, 5774
- 41) E. Bakker, E. Pretsch, Trends Anal. Chem. 2001, 20, 11
- 42) A.C. Ion et al., Anal. Chim. Acta 2001, 440, 71
- 43) J. Wang et al., Anal. Chem. 2000, 72, 3218
- 44) P. Armistead, H. Thorp, Anal. Chem. 2000, 72, 3764
- 45) K. Inoue et al., Analyst 2000, 125, 1959
- 46) J. Wang et al., Anal. Chem. 2000, 72, 2659
- 47) A.C. Lewis et al., Nature 2000, 405, 778
- 48) J. Phillips, J. Beens, J. Chromatogr. A 1999, 856, 331
- 49) G. Frysinger, Environ. Sci. Technol. 1999, 33
- 50) R. Vreuls et al., Spectra Analyse 2106 2001, 220, 37
- 51) Special Issue on Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography, J. High Resol. Chromatogr. 2000, 23, Heft 3
- 52) Special Issue on SPME, J. Chromatographic Science 2000, 38, Heft 7
- 53) H. Lord, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 2000, 885, 153
- 54) ExTech Symposium 1999, J. Chromatogr. A 2000, 873, Heft 1
- 55) E. Baltussen et al., J. Microcolumn Sep. 1999, 11, 737
- 56) Special Issue: Thermally-assisted Hydrolysis/Methylation, J. Anal. Appl. Pyrolysis 2001, 61, Hefte 1 und 2
- 57) W. Haskins et al., Anal. Chem. 2001, 73, 5005

- 58) N. Tanaka et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 420A
- 59) M. Buchmeiser, *J. Chromatogr. A* 2001, 918, 233
- 60) A. Que et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 2703
- 61) R. Wu et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 4918
- 62) H. Zhou et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 1045
- 63) C. Culbertson et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 5814
- 64) G. Bruin, *Electrophoresis* 2000, 21, 3931
- 65) B. Zhang et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 2675
- 66) W. Görner et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2001, 248, 45
- 67) G. Wermann et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2001, 248, 87
- 68) G. Wermann et al., *Fresenius J. Anal. Chem.* 2001, 370, 606
- 69) Z. Randa et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2001, 248, 149
- 70) W. Görner et al., *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res.* 2001, A 467–468, 703
- 71) S. Maischak et al., *Vortrag Jahrestagung Chemie 2001, Fachgruppe Nuklearchemie, Würzburg, 23.-29. 9. 2001*
- 72) C. Nebelung, *Abschlussbericht Fördervorhaben BMBF 02 S 7768 6, August 2001*
- 73) B. Bisplinghoff et al., *ICEM '01, Brügge, 1.-5. 10. 2001, im Druck*
- 74) Th. Stumpf et al., *Environ. Sci. Technol.* 2001, 35, 3691
- 75) G. Geipel et al., *Fresen. J. Anal. Chem., eingereicht*
- 76) T. Reich et al., *ESRF Highlights 2000*, 199, 32
- 77) H. Bolvin et al., *J. Phys. Chem. A* 2001, 105, 11441
- 78) T. Bundschuh, *Radiochim. Acta* 2000, 88, 625
- 79) X. Su, S.J. O'Shea, *Anal. Biochem.* 2001, 299, 241
- 80) G. Klein, J.-L. Reymond, *Angew. Chem.* 2001, 113, 1821
- 81) M. Keusgen et al., *Abstr. 2. Biosensor-Symposium Tübingen 2001*, 112
- 82) R. Chen, *Trends Biotechnol.* 2001, 19, 13
- 83) X. Zhang, A.E.G. Cass, *Abstr. Enz. Eng. Conf. XVI 2001*, 44
- 84) R. Renneberg et al., *Abstr. Enz. Eng. Conf. XVI 2001* 299
- 85) T. Turek et al., *Anal. Biochem.* 2001, 299, 45
- 86) M. Inganäs et al., *Clin. Chem.* 2000, 46, 1562
- 87) R. Hempel et al., *Anal. Biochem.* 2001, 297, 177
- 88) H. Ohkawa et al., *Pacificchem 2000, 14.-19.12.2000, Honolulu, Hawaii*
- 89) L. Denovan et al., *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2000, 73, 457
- 90) M. Sarno et al., *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001, 39, 223
- 91) A. Schuetz et al., *Fresenius J. Anal. Chem.* 1999, 363, 77
- 92) T. Watanabe et al., *Anal. Chim. Acta* 2001, 444, 119
- 93) M. Alcocer et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 2228
- 94) W. Haasnoot et al., *Food Agric. Immunol.* 2000, 12, 15
- 95) P. Cliquet et al., *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 3349
- 96) N. Staimer et al., *Anal. Chim. Acta* 2001, 444, 27
- 97) M. Muldoon et al., *Food Agric. Immunol.* 1999, 11, 117
- 98) A. Zeck et al., *Analyst* 2001, 126, 2002
- 99) C. Allender et al. (eds.), *Anal. Chim. Acta* 2001, 435, 1
- 100) J. van Emon and B. Queen (eds.), *Anal. Chim. Acta* 2001, 444, 1
- 101) D. Barcelo (ed.), *Anal. Chim. Acta* 2001, 426, 153
- 102) D. Barcelo (ed.), *Anal. Chim. Acta* 2001, 427, 147
- 103) S. Liawruangrath et al., *Anal. Chim. Acta* 2001, 448, 37
- 104) M. Murata et al., *Anal. Sci.* 2001, 73, 5287
- 105) L. Alfonta et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 5287
- 106) D. Stokes et al., *Fresen. J. Anal. Chem.* 2001, 369, 295
- 107) A. Bernard et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 8
- 108) M. Mehrvar et al., *Anal. Sci.* 2000, 16, 677
- 109) H. Prestel et al., *Fresen. J. Anal. Chem.* 2000, 368, 182
- 110) B. Prince et al., *Appl. Spectrosc.* 2001, 55, 1018
- 111) C. Kranz et al., *Anal. Chem.* 2001, 73, 2491
- 112) B. Lavine, *Anal. Chem.* 2000, 72, 91R
- 113) The MathWorks, Inc.: MATLAB, 2000
- 114) K. Peterson, in: *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. 16 (Hrsg.: K.B. Lipkowitz, D.B. Boyd), *Purdue University, Indianapolis*, 2001, 53
- 115) R. Leardi, *J. Chemometrics* 2001, 15, 559
- 116) S. Wold et al., *Chemometrics Int. Lab. Syst.* 2001, 58, 131
- 117) www.models.kvl.dk/source/
- 118) K. Jetter et al., *Anal. Chim. Acta* 2000, 420, 169
- 119) B. Walczak, D. Massart, *Chemometrics Int. Lab. Syst.* 2001, 58, 15 und 29
- 120) M. Daszykowski et al., *Chemometrics Int. Lab. Syst.* 2001, 56, 83
- 121) R. Pell, *Chemometrics Int. Lab. Syst.* 2000, 52, 87
- 122) J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Prentice Hall, Harlow, 2000
- 123) K. Danzer et al., *Chemometrik – Grundlagen und Anwendungen*, Springer Berlin, 2001
- 124) W. Werner, *Surf. Interf. Anal.* 2001, 31, 141
- 125) F. Hofer et al., *Mikrochim. Acta* 2000, 132, 273
- 126) Y. Gauthier et al., *Phys. Rev. Lett.* 2001, 87, 036103
- 127) H. Oechsner et al., *Mikrochim. Acta* 2000, 133, 69
- 128) H. Mathieu, *Surf. Interface Anal.* 2001, 32, 3
- 129) A. Schnieders, A. Benninghoven, *Anal. Chem.* 2000, 72(18), 4289
- 130) K. Niemax, *Fresen. J. Anal. Chem.* 2001, 370(4), 332
- 131) S. Oswald, R. Reiche, *Appl. Surf. Sc.* 2001, 179, 307
- 132) M. Schuhmacher et al., *Vac. Sci. Technol.* 2000, B 18(1), 529
- 133) L. Kipp et al., *Nature* 2001, 414, 184
- 134) ISO/IEC Guide 43:1997, *Proficiency testing by interlaboratory comparisons*
- 135) www.eptis.bam.de/iris/, www.ifatest.at
- 136) ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) 2000 G13
- 137) EURACHEM Guide on Selection, Use and Interpretation of PT Schemes by Laboratories 2000, Edition 1.0
- 138) EA-2/09: 2000, EA Policy on the Accreditation of Providers of Proficiency Testing Schemes
- 139) www.cordis.lu/growth/
- 140) ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232/232.htm, www.irmm.jrc.be, www.iaea.org/worldatom/, www.bam.de/service/referenzmaterialien/referenzmaterialien.htm, www.comar.bam.de/
- 141) ISO Guide 33 – 2000, *Uses of certified reference materials*
- 142) ILAC-G12:2000, *Guidelines for the Requirements for the Competence of Reference Material Producers*