

Analytische Chemie 2010/2011

Mit Nanoporen detektieren elektrochemische Biosensoren einzelne Moleküle, Nanopartikel aus molekular geprägten Polymeren erkennen Proteine und Nukleinsäuren, und Nanostrukturen verstärken die Signale in der Ramanspektroskopie. Kleiner wurden auch die Säulenmaterialien für die Flüssigkeitschromatographie: Partikeldurchmesser liegen unterhalb von 3 μm , Porendurchmesser im 10-nm-Bereich. Nano ist aber nur ein Thema der Forschung in der analytischen Chemie. Der Trendbericht stellt in diesem Jahr auch Rastersondenmethoden und ihre Kombinationen vor, leistungsstarke Lichtquellen und neue Methoden in der Schwingungsspektroskopie, Alternativen zum induktiv gekoppelten Plasma und Atomabsorptionsspektroskopie in der Routineanalytik sowie Anwendungen in der Chemometrik.

Trenntechniken

◆ Beherrschendes Thema sowohl in der wissenschaftlichen Literatur als auch auf Symposien war in den letzten Jahren die Evaluierung von pelliculären sub-3- μm -Partikeln (auch als Core-Shell-, Fused-Core-, Poroshell- oder Shell-Partikel bezeichnet) mit solidem Kern (zirka 1,7 μm) und poröser Kieselgelschicht (0,5 μm) (Abbildung 1).¹⁾ Es gab zahlreiche neue Entwicklungen auf diesem Gebiet wie neue Anbieter, neue Oberflächenmodifika-

tionen (C18, C8, PFP, HILIC, RP-Amid, Cyano, Phenylhexyl), verschiedene Shell-Core-Durchmesservariationen sowie unterschiedliche Porenweiten (neben 10 nm auch 30 nm für die Proteinanalytik). Wenn Überladungs- und Extra-Column-Effekte vermieden werden können, lassen sich mit 2,7 μm pelliculären Partikeln mit 0,5 μm poröser Schale auf einer 50 mm langen Säule aufgrund der kurzen Diffusionsstrecken problemlos 10 000 Trennstufen erzielen.¹⁾ 40 Peaks in 15 Sekunden sollten sich bei opti-

mierter Säulenhardware mit 1,7- μm -Core-Shell-Partikelsäulen (50 \times 2,1 mm; 0,23 μm dicke Schale) bei erhöhter Temperatur von 60 °C auftrennen lassen.¹⁾

Auch die Monolith-Technik wurde weiter entwickelt.²⁾ Die zweite Generation Chromolith-Säulen (von Merck) hat kleinere Makroporen (1,3 statt 2 μm bei der ersten Generation) und ein leicht feineres Kieselgelgerüst (0,9 statt 1,2 μm) (Abbildung 2). Durch diese geänderte Morphologie und verminderte radiale Inhomogenitäten wurden Peaksymmetrie und Trennleistung deutlich verbessert.²⁾

Zunehmendes Interesse erfährt die hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC), welche die Retention und Trennung von hydrophilen Verbindungen auf polaren stationären Phasen mit Acetonitril-reichen, wässrig gepufferten Eluenten ermöglicht und bestens kompatibel mit massenspektrometrischer Detektion ist. Ihre Anwendung in Metabolomics, Glykan- und Peptidanalytik sowie in der Analytik polarer Arzneistoffe und Metabolite in Biofluids sind wesentlich für die Popularität von HILIC verantwortlich.^{3,4)}

Komplexe Gemische (insbesondere in Proteom-, Lebensmittel-,

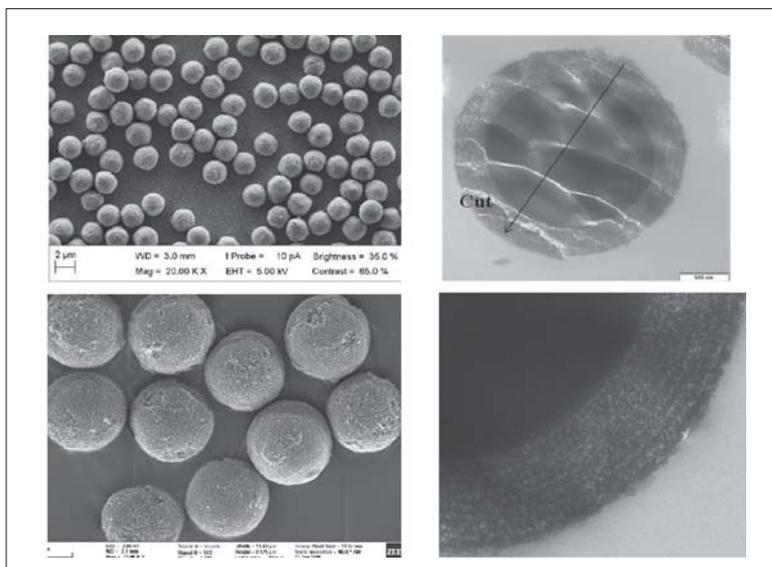


Abb. 1. 2,6- μm -Core-Shell-Partikel (0,35 μm Schale) im Elektronenmikroskop; b) und d) aufgeschnittenes Partikel.¹⁾

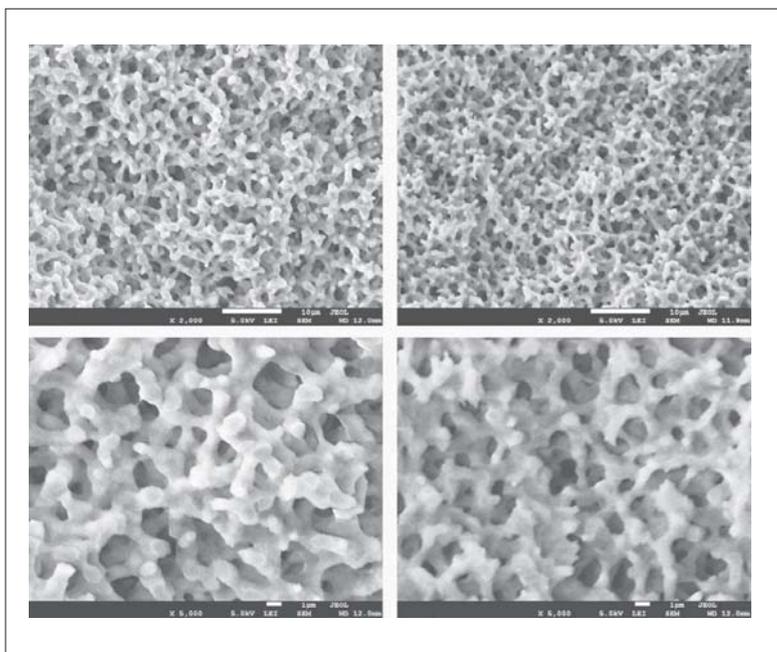


Abb. 2. SEM-Aufnahmen von Silika-Monolithen (Chromolith). Erste (links) und zweite Generation (rechts).²⁾

Umwelt- und Polymeranalytik) werden zunehmend mit umfassender multidimensionaler Chromatographie aufgetrennt, bei der zwei komplementäre Trennphasen miteinander gekoppelt werden und jede aufgetrennte Fraktion der ersten Dimension auf einer zweiten Dimension analysiert wird.⁵⁾ Tausende Verbindungen lassen sich somit in kurzer Analysenzeit simultan erfassen, insbesondere wenn schnellscannende Massenspektrometer als Detektoren verwendet werden.

In der Industrie erfährt Superkritische-Fluid-Chromatographie (SFC) aufgrund ökologischer und ökonomischer Vorteile eine Renaissance. Deutlich wird dies nicht zuletzt dadurch, dass zwei große HPLC-Hersteller moderne SFC-Anlagen auf UPLC-Plattform (Waters) beziehungsweise als kombinierte Lösung für UHPLC und SFC (Agilent) auf den Markt gebracht haben. Durch superkritisches CO₂ (mit geringen Anteilen polarer Modifizier) als mobile Phase ergeben sich in der SFC bessere Diffusionseigenschaften und beschleunigter Massentransfer.⁶⁾ Man gewinnt an Trennleistung, Auflösung, Geschwindigkeit und produziert weniger organischen Abfall, weshalb die Technik als grün propagiert

wird. Interessant ist die Technik insbesondere dann, wenn nicht nur eine analytische, sondern anschließend auch eine präparative Trennung benötigt wird.

Auffallend waren auch die zahlreichen Aktivitäten zur Analytik von Biopharmazeutika, insbesondere monoklonaler Antikörper.⁷⁾ Um eine gleich bleibende Qualität zu gewährleisten, bedarf es einer zuverlässigen Charakterisierung der Proteine, und dafür wird ein breites Repertoire an Techniken eingesetzt: Kationenaustauschchromatographie, Kapillaronenelektrophorese (CZE) mit Natriumdodecylsulfat (SDS) und Kapillarisoelektrische Fokussierung zur Bestimmung der Ladungsverteilung; Größenausschlusschromatographie (size exclusion chromatography, SEC) zum Nachweis von Aggregaten und Fragmenten; HILIC, HPLC-MS und CZE mit laserinduzierter Fluoreszenzdetektion nach Labelling zur Glykananalytik; tryptischer Verdau nach Deglykosilierung zur Analytik der Primärstruktur des Proteins. Verbesserte maßgeschneiderte nichtporöse hydrophile Ionenaustauscher, SEC-UHPLC auf Basis von 1,7-µm-Hybrid-Silika-Partikel für den schnellen Nachweis von Proteinaggregaten und Miniaturisierung⁸⁾ von SDS-PA-

GE auf mikrofluidische elektrophoretische und chromatographische Systeme (Bioanalyser, Glycochip) sind einige der Neuheiten auf diesem Anwendungsgebiet.

Literatur

- 1) F. Gritti, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A*, 2012, 1228, 2–19.
- 2) K. Hormann, T. Müllner, S. Bruns, A. Hölzel, U. Tallarek, *J. Chromatogr. A*, 2012, 1222, 46–58.
- 3) P. Jandera, *Anal. Chim. Acta*, 2011, 692(1–2), 1–25.
- 4) B. Buszewski, S. Noga, *Anal. Bioanal. Chem.* 2012, 402, 231–247.
- 5) P. Tranchida et al., *Advances in Chromatography*, Boca Raton/FL, USA, 2010, 48, 289–328.
- 6) P. Sandra, et al., *LC-GC Europe*, 2010, 23(8), 396, 398, 400, 402–405.
- 7) A. Staub, D. Guilleme, J. Schappler, J.-L. Venthey, S. Rudaz, *J. Pharmaceut. Biomed. Analysis* 2011, 55(4), 810–822.
- 8) J. P. Kutter, *J. of Chromatogr. A* 2012, 1221, 72–82.

Atomspktrometrie

◆ Die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) bleibt als Standardmethode der Elementanalytik für die Routine von großer Bedeutung. Hier bietet die jetzt kommerziell erhältliche AAS mit Kontinuumsstrahlern und hochauflösendem Echellemonochromator für die Praxis neue Möglichkeiten, unter anderem bei der Untergrundkorrektur, die bei Ofenmethoden unverzichtbar ist. Bei der AAS bleiben Untersuchungen zur Generierung von flüchtigen Verbindungen für eine Reihe von anderen Elementen als die klassischen Hydridbildner (As, Sb, Se, Te usw.) ein Thema der Grundlagenforschung. Lösungen gibt es mittlerweile für die Edelmetalle, Cu, Fe und andere.⁹⁾

Für die Plasmaemissionsspektrometrie ist ein mikrowelleninduziertes Plasma, das inzwischen kommerziell verfügbar ist, für eine Reihe von Anwendungen eine attraktive Alternative zum induktiv gekoppelten Plasma (ICP). Die Erforschung neuer Zerstäubungsarten, z.B. die Einzeltröpfchengenerierung mit Inkjet-Druckern, bietet wegen der Flexibilität neue Mög-

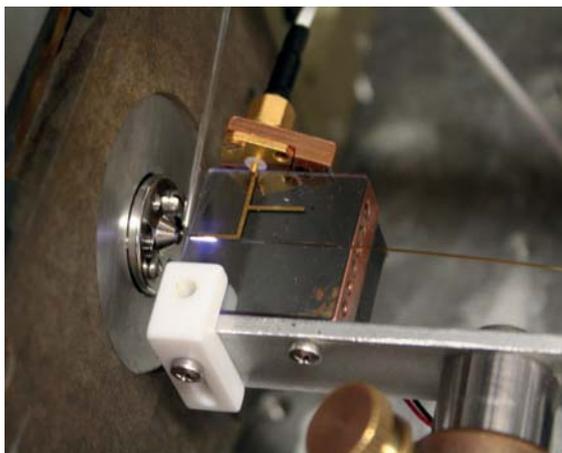


Abb. 3. Miniaturisiertes mikrowelleninduziertes Plasma ($100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ Argon, 40 W) mit Leiterbahnen auf einem Quarzchip als Quelle für die Massenspektrometrie.¹⁵⁾

lichkeiten,¹⁰⁾ und die Erzeugung von ICPs mit niedrigem Gasverbrauch bleibt eine Herausforderung. Besonders Glimmentladungen bei atmosphärischem Druck sind eine Gruppe von Strahlungsquellen, die zur Zeit intensiv erforscht werden.¹¹⁾ Sie eignen sich zu Bestimmungen von Analyten in der Gasphase, reagieren aber empfindlich auf die Einleitung mehratomiger Moleküle wie H_2 oder CO_2 . Hier kann sicherlich an der Geometrie der Entladungen noch manches optimiert werden.

Zur Direktanalyse fester Stoffe sind Bogenentladungen als klassische Quelle der Spektralanalyse erneut von Bedeutung, da durch CCD-Spektrometer die Untergrundkorrektur und die Verwendung eines internen Standards besser möglich sind. Dieses wurde z. B. für die Direktanalyse keramischer Pulver gezeigt.¹²⁾ Auch die Ofen-AAS bleibt für die Direktanalyse keramischer Pulver wichtig.¹³⁾ Hier sind Untersuchungen zur Verwendung von Matrixmodifiern nach wie vor ein Forschungsthema. Bei der Verwendung von Glimmentladungen als Quelle für die optische Emissionsspektrometrie sind besonders abbildende Spektrometer eine Neuentwicklung, die z. B. für die quantitative Auswertung von Gelchromatogrammen ein interessanter Lösungsansatz sind.¹⁴⁾

Viele der neuen Quellen sind auch als Ionenquellen für die Mas-

senspektrometrie von Bedeutung. Dieses ist z. B. der Fall für das miniaturisierte Mikrowellenplasma (Abbildung 3).¹⁵⁾ Hier können bei der seitlichen Einleitung von Gasen und Dämpfen sowohl Elementals als auch Molekül- und Clusterionen detektiert werden.

Die ICP-MS bleibt eine der nachweisstärksten Methoden für Elementbestimmungen, wobei durch Stoßzellen oder durch Sektorfeldgeräte auch bei schnellen Sequenzbestimmungen spektrale Interferenzen bei realen Proben oft vermeidbar sind. Bei der Glimmentladungsmassenspektrometrie werden durch Flugzeitmassenspektrometrie und gepulste Entladungen sowohl für die Direktspeziation wie auch für die Tiefenprofilanalyse an Festproben neue Lösungsansätze realisiert.¹⁶⁾

Literatur:

- 9) A. D'Ulivo, *Spectrochim. Acta, Part B* 2010, 65, 360.
- 10) J. O. Orlandini, J. N. v. Niessen, J. N. Schaper, J. H. Petersen, N. H. Bings, *J. Anal. At. Spectrom.* 2011, 26, 1781
- 11) B. Gielniak, T. Fiedler, J. A. C. Broekaert, *Spectrochim. Acta, Part B* 2011, 66, 21.
- 12) M. A. Amberger, P. Barth, O. Förster, J. A. C. Broekaert, *Microchim. Acta* 2011, 172, 261.
- 13) J. C. Paz de Matos, L. F. Rodrigues, E. M. de Moraes Flores, V. Krivan, *Spectrochim. Acta* 2011, 66, 637.
- 14) C. Engelhard, S. J. Ray, W. Buscher, V. Hoffmann, V. G. M. Hieftje, *J. Anal. At. Spectrom.* 2010, 25, 1874.
- 15) K. P. Pfeuffer, J. T. Shelley, S. J. Ray, J. A. C. Broekaert, G. M. Hieftje, *Pittcon 2010*, Paper 485–5.
- 16) R. Pereiro, A. Solà-Vázquez, L. Lobo, J. Pisonero, N. Bordel, J. M. Costa, A. Sanz-Medel, *Spectrochim. Acta, Part B* 2011, 66, 399.

Infrarotspektroskopie und -sensorik

◆ In der Infrarotspektroskopie, vor allem im mittleren Infrarot (3–15 μm , MIR), zeichnen sich in den letzten Jahren zwei Trends ab: die Verbesserung der lateralen Auflösung von abbildenden IR-spektroskopischen und -mikroskopischen Messverfahren und die Verbesserung der Nachweisgrenze in der IR-Spektroskopie und IR-Sensorik, die beide insbesondere für bioanalytische Fragen von Bedeutung sind.

Während die konventionelle IR-Mikroskopie beugungslimitiert ist und auf lateral aufgelöster Detektion durch IR-Detektorarrays aus 64×64 - oder 128×128 -Quecksilber-Cadmium-Tellurid- (mercury-cadmium telluride, MCT)-Halbleiterdetektorelementen beruht,¹⁷⁾ konnte die laterale Auflösung durch Erfassen der gestreuten IR-Strahlung an der goldbeschichteten Spitze einer Rasterkraftmikroskopiesonde (AFM-Sonde) deutlich unter 1 μm reduziert werden.¹⁸⁾ Auch hier wird die gestreute IR-Strahlung üblicherweise mit einem einzelnen MCT-Detektorelement erfasst. Neben dieser IR-Rasternahfeldmikroskopie (scanning nearfield infrared microscopy, SNIM) hat sich in den letzten Jahren ein viel versprechender komplementärer Ansatz entwickelt, der auf Erfassung photothermisch induzierter Resonanzen (photothermally induced resonance, PTIR) beruht und das charakteristische Oszillationsverhalten eines AFM-Cantilevers und dessen Abklingen als Detektionsverfahren nutzt. Die üblicherweise mit flüssi-

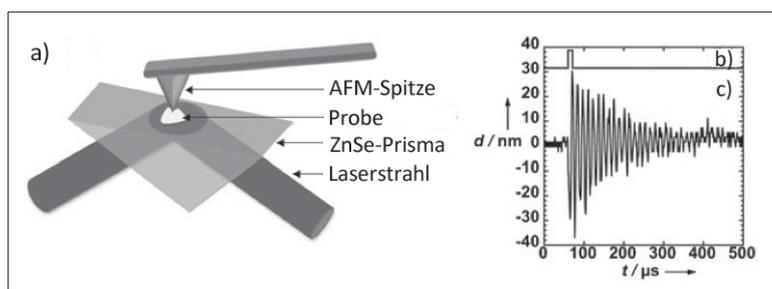


Abb. 4. Photothermisch induzierte Resonanzen (PTIR); a) Versuchsaufbau; b) Profil des Laserpulses; c) Oszillation und Relaxation des AFM-Cantilevers nach temporärer Deformation der Probe.²⁰⁾

gem Stickstoff gekühlten Detektoren sind nicht erforderlich.¹⁹⁾ Die Probe befindet sich auf einem Totalreflexionselement (attenuated total reflection, ATR) und wird über ein gepulstes evaneszentes Feld periodisch zur thermischen Deformation angeregt. Diese Deformation regt wiederum Eigenmoden des AFM-Cantilevers an, der in wenigen hundert Mikrosekunden relaxiert (Abbildung 4). Wird ein frequenzabstimmbarer IR-Laser eingesetzt, so können charakteristische molekulare IR-Absorptionsbanden angeregt und somit spektrale Information erzielt werden. Die laterale Auflösung liegt zwischen 20 und 50 nm und eröffnet damit die Möglichkeit, im Spektralbereich von 3 bis 15 μm mit nanoskaliger Auflösung abzubilden.

Beeindruckende Beispiele der PTIR sind die spektral und lateral aufgelöste Abbildung der Aufnah-

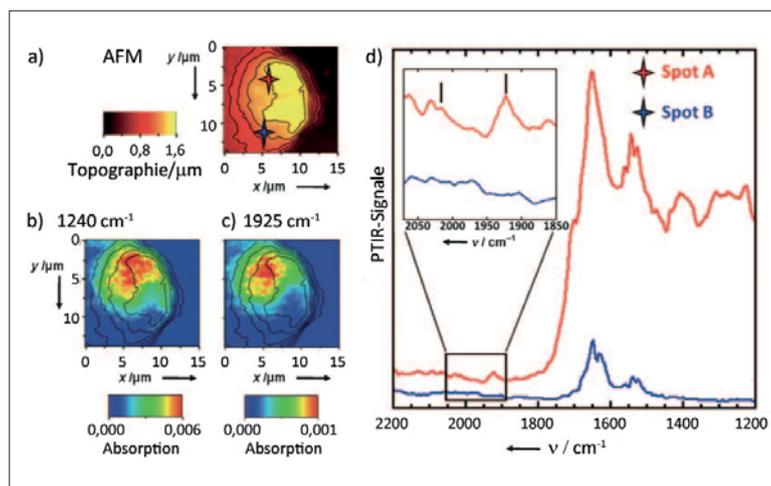


Abb. 5. Untersuchung des Nukleus einer Brustkrebszelle mit a) AFM und b) PTIR-Mapping bei 1240 cm^{-1} und c) 1925 cm^{-1} ; d) PTIR-Spektrum (10 mW Laserleistung) mit den charakteristischen Banden der von den Zellen aufgenommen Organometallkonjugate.²⁰⁾

me und Verteilung von lipophilen Organometallkonjugaten in einer Brustkrebszelle (Abbildung 5),²⁰⁾ sowie die spektrale Identifikation und Abbildung von Biopolymer-Nanogranulaten (Polyhydroxybu-

tyrat) in einzelnen Bakterien (*Rhodobacter Capsulatus*).²¹⁾

Die kontinuierliche Weiterentwicklung von Quantenkaskadenlasern (quantum cascade laser, QCL) bietet der IR-Spektroskopie und IR-

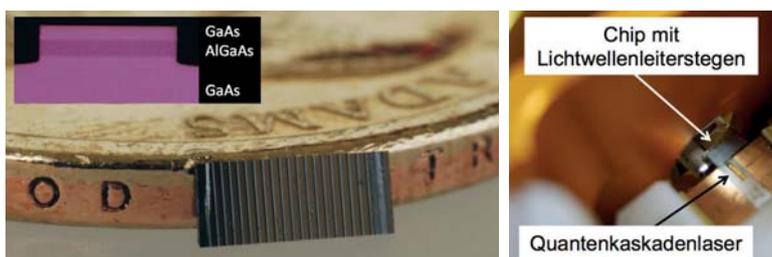


Abb. 6. Links: Lichtwellenleiterchip und SEM-Aufnahme der Querschnittstruktur eines Lichtwellenleiterstegs ($6\ \mu\text{m}$ GaAs als aktiver Lichtwellenleiter auf $6\ \mu\text{m}$ AlGaAs als optischer Pufferschicht auf GaAs-Wafer); rechts: Quantenkaskadenlaser in Kombination mit einem Lichtwellenleiterchip. (Fotos: IABC/Universität Ulm)

Sensorik eine leistungsstarke Diodenlaserlichtquelle, die mittlerweile für fast den gesamten MIR-Bereich bis in den Terahertz-Spektralbereich zur Verfügung steht. Ein wesentlicher Entwicklungsschritt ist hier die Einführung von breit abstimmbaren QCLs, wobei die Emissionswellenlänge durch die Kopplung der Laserdioden mit einer externen optischen Kavität und einem beweglichen Beugungsgitter über einen Spektralbereich von $>2\ \mu\text{m}$ abstimmbare ist. Somit werden Anwendungen wie die simultane Bestimmung von Laktat und Glukose in wässrigen Medien möglich²²⁾ oder die Zirkulardichroismus-Schwingungsspektroskopie (vibrational circular dichroism, VCD) im MIR zur Analyse von chiralen Molekülen, ebenfalls im wässrigen Medium.²³⁾

Eine wesentliche Steigerung der Sensitivität von Absorptionsmes-

sungen im evaneszenten Feld für hochsensitive, chip-integrierte MIR-Chemo- und Biosensoren und markierungsfreie Bioassays wurde durch die Entwicklung einer Dünnschicht-Lichtwellenleitertechnik, basierend auf dem Materialsystem GaAs/AlGaAs/GaAs, erzielt (Abbildung 6). Durch Mikrofabrikation lassen sich diese Lichtwellenleiter in ihrer Dimension an beliebige QCL-Emissionswellenlängen anpassen, um über optimale Führung der Lichtmoden die Energiedichte im evaneszenten Feld zu maximieren. Strukturierung von $6\ \mu\text{m}$ dünnen und 50 bis $200\ \mu\text{m}$ breiten Lichtwellenleiterstegen steigerte die Nachweisgrenze in der IR-Absorptionsspektroskopie über das evaneszente Feld bis in den Volumenbereich $<1\ \text{pL}$ oder eine Konzentration von wenigen Femtomol.²⁴⁾

Literatur

- 17) H. Amrania, A. P. McCrow, M. R. Matthews, S. G. Kazarian, M. K. Kuimov, C. C. Phillips, *Chem. Science* 2011, 2, 107–111.
- 18) J. M. Stiegler, Y. Abate, A. Cvitkovic, Y. E. Romanyuk, A. J. Huber, S. R. Leone, R. Hillenbrand, *ACS Nano* 2011, 8, 6494–6499.
- 19) A. Dazzi, F. Glotin, R. Carminati, *J. Appl. Phys.* 2010, 107, 124519 1–7.
- 20) C. Polcar, J. B. Waern, M.-A. Plamont, S. Clede, C. Mayet, R. Prazeres, J.-M. Ortega, A. Vessieres, A. Dazzi, *Angew. Chem.* 2011, 123, 890–894.
- 21) C. Mayet, A. Dazzi, R. Prazeres, J.-M. Ortega, D. Jaillard, *Analyst* 2010, 135, 2540–2545.
- 22) M. Brandstetter, A. Genner, K. Anic, B. Lendl, *Analyst* 2010, 135, 3260–3265.
- 23) S. Luedeke, M. Pfeifer, P. Fischer, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 5704–5707.
- 24) X. Wang, S.-S. Kim, R. Roßbach, M. Jetter, P. Michler, B. Mizaikoff, *Analyst* 2012, DOI: 10.1039/c1an15787f.

Ramanspektroskopie: plasmonische Strukturen als SERS-Substrat

Die Ramanspektroskopie zählt heute zu den leistungsstärksten laserspektroskopischen Methoden, die ihren Einsatz auf vielen Gebieten von den Lebens- und Naturwissenschaften bis hin zur Medizin gefunden hat.²⁵⁾ Ein Nachteil der Ramanspektroskopie ist die geringe Sensitivität, die eine Anwendung für ultrasensitive chemische und biochemische Fragen erschwert. Um diese Applikationsfelder dennoch zu adressieren, spielen plasmonische Effekte, hervorgerufen durch die Wechselwirkung von Licht mit metallischen Nanopartikeln^{26,27)} eine große Rolle. So wird die starke elektromagnetische Feldverstärkung an der Oberfläche metallischer Nanostrukturen für die oberflächenverstärkte Ramanspektroskopie (surface enhanced Raman spectroscopy, SERS) eingesetzt, die auf der effektiven Verstärkung des molekularspezifischen, aber inhärent schwachen Ramansignals um mehrere Größenordnungen beruht.^{28–30)} Somit kombiniert SERS die molekulare Fingerprintspezifität der Ramanspektroskopie mit erhöhter Sensitivität der nachzuweisenden Moleküle, die sich in unmittelbarer Nähe einer plasmonischen Nanostruktur befinden.

Die Entwicklung effizienter SERS-Substrate spielt für die Applikation der SERS-Technik eine große Rolle. Seit der Verwendung aufgerauter Silberelektroden als erstem SERS-Substrat³¹⁾ sind viele Bottom-up- und Top-down-Techniken zur Herstellung von SERS-aktiven Strukturen und Oberflächen entwickelt worden.^{30,32)} Häufig wird allerdings die niedrige Reproduzierbarkeit der SERS-Substrate als Grund angegeben, dass sich SERS bis heute in der Routineanalytik nicht etabliert hat. Als Faustregel gilt für viele SERS-Substrate, dass zu Gunsten eines höheren Verstärkungsfaktors auf die Reproduzierbarkeit verzichtet wird, und umgekehrt, dass zu Gunsten der Reproduzierbarkeit die Signalintensität

GDCh-Kurs
Einführung in die HPLC
 Basiskurs mit Experimenten (308/12)
 11. – 14. Juni 2012, Nürnberg
 Leitung: Prof. Dr. Joachim Kinkel

Highlights:
 Grundlagen der HPLC
 Apparatur und Bedienung
 Methoden- und Säulenwahl
 Strategien zur optimalen Trennung
 Detektieren und Quantifizieren

Anmeldung/Information:
 Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V.
 Fortbildung
 Tel.: 069/7917-364, Fax: 069/7917-475
 fb@gdch.de, www.gdch.de/fortbildung

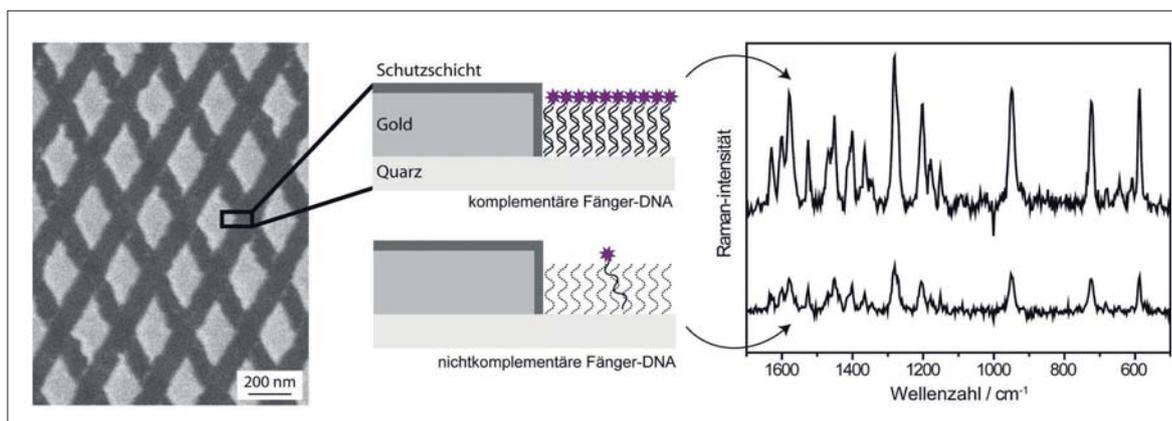


Abb. 7. Array aus Goldnanorhomben und deren Einsatz als SERS-Substrat; links: elektronenmikroskopische Aufnahme; Mitte: DNA-Hybridisierungsexperiment; korrespondierende SERS-Spektren mit höherer Signalintensität für den komplementären Fall.

ten meist geringer sind. Heute sind aber die benötigten Top-down-Techniken zur Herstellung reproduzierbarer metallischer Oberflächen so weit fortgeschritten, dass diese Strukturen einen hinreichend großen Verstärkungsfaktor für eine sensitive Analytik aufweisen.

Eine Methode, die akkurate Kontrolle der Nanostrukturen mit hoher Reproduzierbarkeit verbindet, ist die Elektronenstrahlolithographie (electron beam lithography, EBL).³³⁾ Zur strukturellen Bandbreite gehört die Realisierung periodisch angeordneter Nanostrukturen, wie Goldnanorhomben, Rechteckstrukturen und Nanopyramiden, sowie Nanohole- und Nanodreieck-Arrays oder aperiodische Anordnungen von metallischen Nanopartikeln.³²⁾ Als Beispiel zeigt Abbildung 7 die elektronenmikroskopische Aufnahme eines Arrays aus Goldnanorhomben und deren Verwendung in der Bioanalytik.³⁴⁾ Die Goldstrukturen sind mit EBL auf einem Quarzwafel hergestellt. Fänger-moleküle wurden über die Quarzoberfläche angebunden, da die Goldpartikel mit einer Oktanthiolschicht vor Anbindung geschützt sind. Ist das nachzuweisende Molekül komplementär zum Fänger, bindet es spezifisch. Im nichtkomplementären Fall reichern sich keine oder nur wenige Moleküle aufgrund unspezifischer Wechselwirkungen an. Die korrespondierenden SERS-Spektren, die vom Beitrag des Labels dominiert werden, spiegeln

dies anhand der höheren Signalintensität für den komplementären Fall wider.

Wenn die Leistungsfähigkeit eines solchen reproduzierbaren EBL-Arrays für die Anwendung als SERS-Substrat bestätigt wurde, bietet sich die Herstellung durch kostenreduzierte Verfahren mit hohem Durchsatz an, z. B. durch Nanoimprint-Lithographie.³⁵⁾ Dies ermöglicht die Applikation reproduzierbarer SERS-Substrate in der Routineanalytik.

Literatur

- 25) M. Schmitt, J. Popp, *J. Raman Spectrosc.*, 2006, 37, 20–28.
- 26) K. A. Willets, R. P. Van Duyne, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2007, 58, 267–297.
- 27) S. A. Maier, *Plasmonics: fundamentals and applications*, Springer, New York, 2007.
- 28) K. Hering, D. Cialla, K. Ackermann, T. Dorfer, R. Moller, H. Schneidewind, R. Mattheis, W. Fritzsche, P. Rosch, J. Popp, *Anal. Bioanal. Chem.* 2008, 390, 113–124.
- 29) W. E. Smith, *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 955–964.
- 30) D. Cialla, A. März, R. Böhme, F. Theil, K. Weber, M. Schmitt, J. Popp, *Anal. Bioanal. Chem.* 2012, im Druck, und die darin zitierten Publikationen.
- 31) D. Y. Wu, J. F. Li, B. Ren, Z. Q. Tian, *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 1025–1041.
- 32) R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, *J. Raman Spectrosc.* 2008, 39, 1313–1326.
- 33) N. Marquestaut, A. Martin, D. Talaga, L. Servant, S. Ravaine, S. Reclusa, D. M. Bassani, E. Gillies, F. Lagugné-Labarhet, *Langmuir* 2008, 24, 11313–11321.
- 34) D. Cialla, K. Weber, R. Böhme, U. Hübner, H. Schneidewind, M. Zeisberger, R. Mattheis, R. Möller, J. Popp, Beilstein, *J. Nanotechnol.* 2011, 2, 501–508.
- 35) D. Z. Lin, Y. P. Chen, P. J. Jhuang, J. Y. Chu, J. T. Yeh, J. K. Wang, *Opt. Express* 2011, 19, 4337–4345.

Ramanspektroskopie und Umweltanalytik

◆ Für chemische Messungen über eine Entfernung von mehreren Metern ist die Ramanspektroskopie als rein optische Messtechnik sehr viel versprechend: Sie liefert direkte molekülspezifische Information auch ohne jede Probenvorbereitung. Mit gepulsten Lasern, Teleskopen und Spektrographen mit zeitlich abgestimmter Detektion sind mittlerweile Ramanspektren von Proben aus großem Abstand möglich. So gelingt es, Spuren von chemischen Substanzen auf Oberflächen, Inhalte von Gebinden sowie Gase aus der Ferne zu identifizieren. Eine ausführliche Übersicht dazu erscheint in der Mai-Ausgabe der *Nachrichten aus der Chemie*.

Metallische Nanopartikel in der Analytik

◆ Alle Bereiche der analytischen Chemie setzen seit einigen Jahren vermehrt Nanopartikel ein. Insbesondere metallische Nanopartikel dienen dazu, analytische Methoden zu vereinfachen und zu



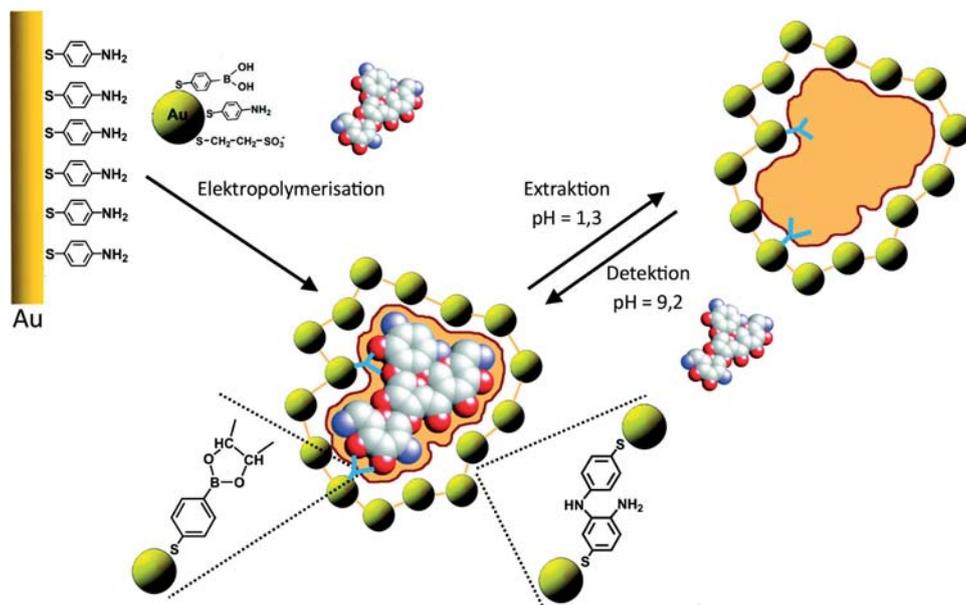


Abb. 8. Imprinting-Prozess für die Detektion von Antibiotikarückständen (z.B. Neomycin) durch Elektropolymerisation von Bisanilin-verbundenen Goldnanopartikeln auf einer Goldoberfläche.³⁷⁾

verbessern. Neben den bereits seit einigen Jahren bekannten Verfahren, wie Signalverstärkung bei der Ramanspektroskopie (surface- oder tip enhanced Raman spectroscopy, siehe S. 410) und des Imaging und Labeling in der medizinischen Diagnostik, werden metallische Nanopartikel vermehrt in Sensorik, Elektroanalytik, Bioanalytik und Spurenanalytik eingesetzt. Dabei werden je nach Methode der Plasmoneneffekt, der Resonanzenergietransfer oder die katalytische Aktivität von Me-

tallnanopartikeln genutzt. Eine Übersicht der Einsatzmöglichkeiten von Nanopartikeln in Spektroskopie, Detektion und Trenntechnik geben beispielsweise Zamborini et al.³⁶⁾

Die Größe und Form der Partikel spielt dabei eine ebenso große Rolle wie die gezielte Modifikation ihrer Oberfläche. Egal ob Nanopartikel der Lumineszenzverstärkung oder Anreicherung von Zielanalyten dienen, überall geht der Trend zu komplexen Hybrid-systemen. Dabei werden die

Wechselwirkungen organischer oder Biomoleküle mit Metallnanopartikeln und dem Analyten genutzt, um gezielt Selektivität aufzubauen. Oftmals werden die Interaktionen solcher Hybride mit einer Plattform, z.B. einer Elektrodenoberfläche oder einem Adsorbens, zur Detektion oder Anreicherung genutzt. Mehrere Techniken sind z.B. in der von der Gruppe um Willner entwickelten Methode kombiniert, die Antibiotikarückstände in Milch über verlinkte Goldnanopartikel detektiert, die als molecular-imprinted Kompositmaterial wirken (Abbildung 8).³⁷⁾

In der anorganischen Spurenanalytik z. B. von Schwermetallionen werden vermehrt Metallnanopartikel-unterstützte Verfahren entwickelt (beispielsweise Lit.³⁸⁾). Ein Beispiel für eine Anwendung in der Trenntechnik ist die von Cao et al.³⁹⁾ entwickelte Methode zur Trennung von Peptiden und Proteinen mit monolithischen Polymerkapillarsäulen, die mit Goldnanopartikeln modifiziert sind. An die Oberfläche der Goldnanopartikel werden thiolhaltige Liganden gebunden, und durch Ligandenaustausch sind so einfach verschiedene Separationsmodi zu realisieren (Abbildung 9).

Generell gehören die gezielte Funktionalisierung von Metallnanopartikeln und der Aufbau von Hybrid-systemen für hohe Selektivität neben der erwünschten Signalverstärkung zu den wichtigsten Forschungsschwerpunkten in diesem Bereich. Auch an der Bereitstellung robuster und reproduzierbarer Synthesemethoden für metallische Nanopartikel von definierter Größe und Form sowie deren Einbindung in Komposite wird aktuell gearbeitet. Zwar gibt es zahlreiche erfolgreiche Ansätze zur Synthese solcher Systeme; die Aufklärung der Mechanismen und somit die exakte Kontrolle der ausschlaggebenden Reaktionsbedingungen der Nanopartikelsynthese stehen jedoch erst am Anfang.^{40,41)}

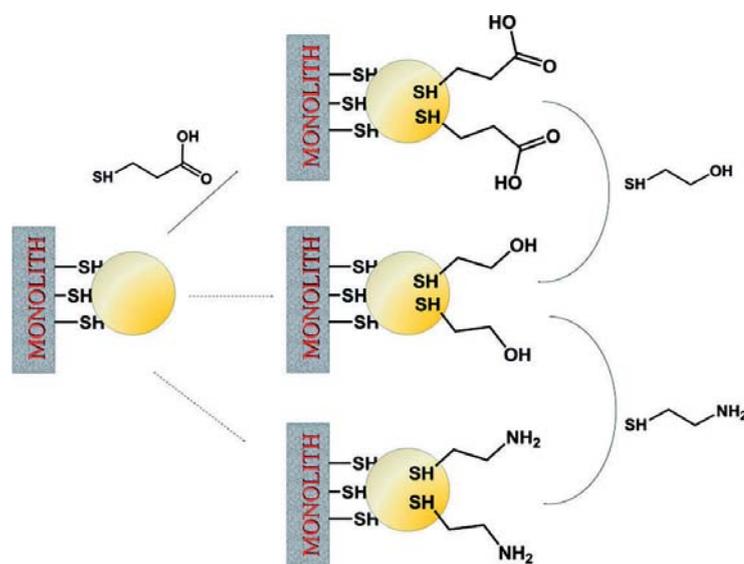


Abb. 9. Oberflächenmodifikation an Goldnanopartikeln, die an einen Polymermonolithen gebunden sind, zur Einstellung unterschiedlicher Separationsmodi.³⁹⁾

Nachweis metallischer Nanopartikel

◆ Der breite Einsatz von Nanopartikeln in Konsumprodukten, insbesondere von Metallnanopartikeln (20 Prozent aller Nanotechnologieprodukte enthalten Nanosilber), lässt erwarten, dass diese Stoffe vermehrt in die Umwelt und womöglich in die Nahrungskette des Menschen gelangen. Auch der direkte Eintrag in Nahrungsmittel durch die Verwendung von Metallnanopartikeln in der Lebensmittelindustrie, z. B. in Verpackungsmaterial, wird diskutiert. Deshalb haben besonders Umwelt- und Lebensmittelanalytik Metallnanopartikel als Zielanalyten erkannt. Diese Entwicklung spiegelt sich z. B. darin wider, dass die Zeitschrift *Trends in Analytical Chemistry* ihre Januar- und Märzausgabe 2011 dem Thema „Characterization, Analysis and Risks of Nanomaterials in Environmental and Food Samples“ widmete.⁴²⁾

Methoden zur Charakterisierung von Nanopartikeln wurden bislang hauptsächlich zur Qualitätsüberprüfung von Nanomaterialien eingesetzt, also für einfache und vor allem bekannte Probenzusammensetzungen mit hohen Konzentrationen an Nanopartikeln. Jetzt gilt es, diese Techniken für komplexe Probenmatrices und niedrige Konzentrationen anzupassen und entsprechende Probenvorbereitungstechniken zu entwickeln.⁴³⁾ Die größte Schwierigkeit liegt daher in der Trennung und Anreicherung der anthropogenen Metallnanopartikel aus komplexen Matrices, in denen sowohl (gleich große) natürliche Nanopartikel als auch verschiedene Spezies ein und desselben Metalls vorhanden sind (z. B. Ionen). Dabei werden diverse Ansätze verfolgt, etwa Querstromfiltration, Cloudpoint-Extraktion, Fest- und Flüssig-Flüssigextraktion, Elektrophorese, Größenausschlusschromatographie oder Feldflussfraktionierung. Bislang gibt es wenige Beispiele, in denen eine vollständige Charakterisierung (Größe, Form, chemische Zusammensetzung) mit der Quantifizierung der identifizierten Nanopartikel einhergeht. Ein Beispiel für einen umfassenden Ansatz zur größenabhängigen, elementspezifischen und quantitativen Bestimmung von Nanogoldpartikeln in Suspensionen bedient sich der asymmetrischen Feldflussfraktionierung, gekoppelt mit mehreren Detektionstechniken.⁴⁴⁾ Eine selektive Abtrennung und Anreicherung von Silbernanopartikeln neben Silberionen aus kommunalen Abwasserproben gelang mit Cloudpoint-Extraktion mit nicht-ionischen Tensiden (Abbildung 10, S. 414).

Generell sind Methoden, die lediglich eine Eigenschaft der Partikel zur Selektion nutzen, bei komplexen Matrices weniger erfolgreich. Daher geht der Trend hin zu Verfahren, welche die spezifischen chemischen und physikalischen Eigenschaf-

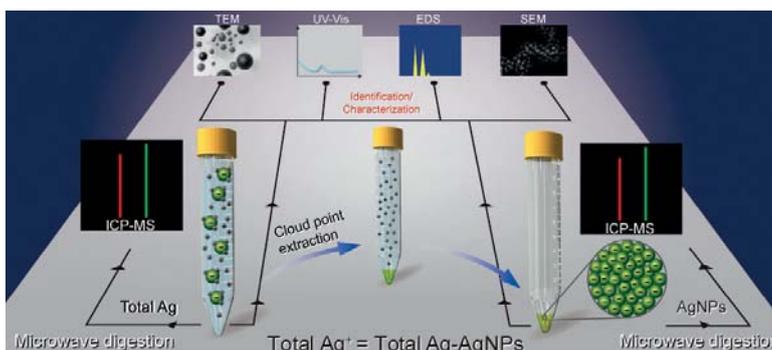


Abb. 10. Ansatz zur selektiven Anreicherung von Silbernanopartikeln aus wässrigen Suspensionen mit Cloudpoint-Extraktion.⁴⁵⁾

ten der Nanopartikel kombinieren. Somit steht die Entwicklung koppelbarer Techniken, die sich langfristig für das Lebensmittel- und Umweltmonitoring eignen, im Vordergrund.

Literatur

- 36) F. P. Zamborini, L. Bao, R. Dasari, *Anal. Chem.* 2012, 84, 541–576.
- 37) M. Frascioni, R. Tel-Vered, M. Riskin, I. Willner, *Anal. Chem.* 2010, 82, 2512–2519.
- 38) G. D. Huy, M. Zhang, P. Zuo, B. C. Ye, *Analyst*, 2011, 136, 3289–3294.
- 39) Q. Cao, Y. Xu, F. Liu, F. Svec, J. M. J. Fréchet, *Anal. Chem.* 2010, 82, 7416–7421.
- 40) Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak, *Angew. Chem.* 2009, 121, 62–108.
- 41) M. Harada, N. Tamura, M. Takenaka, *J. Phys. Chem. C* 2011, 115, 14081–14092.
- 42) *Trends Anal. Chem.* 2011, 30, 1–164; 415–568.
- 43) A. G. Howard, *J. Environ. Monit.* 2010, 12, 135–142.
- 44) H. Hagendorfer, R. Kaegi, J. Traber, S. F. L. Mertens, R. Scherrers, C. Ludwig, A. Ulrich, *Anal. Chim. Acta* 2011, 706, 367–378.
- 45) J. Chao, J. Liu, S. Yu, Y. Feng, Z. Tan, R. Liu, Y. Yin, *Anal. Chem.* 2011, 83, 6875–6882.

Biosensoren, Biochips und biomimetische Sensoren

◆ Die dynamische Entwicklung auf dem Gebiet der Bioanalytik mit immobilisierten Erkennungselementen hat sich auch in den letzten Jahren fortgesetzt. Die Zahl der wissenschaftlichen Publikationen hat sich auf mehr als 6000 pro Jahr erhöht, und der Impact Factor von *Biosensors and Bioelectronics* war mit 5,4 zeitweise höher als für *Analytical Chemistry*. Zwei neue Online-Journale mit „Biosensors“ im Titel versuchen sich zu etablieren.

Der gegenwärtige Weltmarkt für In-vitro-Diagnostik beträgt 40 Mrd. US-Dollar pro Jahr mit einem Anteil für Biosensoren von 13 Mrd. US-Dollar. Davon entfallen etwa 90 Prozent auf die Bestimmung von Blutzucker, wobei etwa 100 Hersteller nichtinvasive Sensoren

entwickeln, diese kamen aber noch nicht zum Einsatz.⁴⁶⁾

Im Gegensatz zu den etablierten Enzymen für die Glucosebestimmung wird der effektive direkte Elektronentransfer von Cellobiose-Dehydrogenase in Enzymelektroden der dritten Generation direkt zur Signalerzeugung genutzt.⁴⁷⁾ Der Einsatz von Graphen und/oder ionischen Flüssigkeiten hat elektrochemische Biosensoren graduell verbessert, während optische Sensoren durch Gold-Nanosphers, plasmonische Kristalle und Quantum Dots eine neue Qualität erreicht haben.⁴⁸⁾ Viele chinesische Beiträge profitieren von den starken Materialwissenschaften, wobei aber der Fortschritt für die Analytik nicht immer sichtbar wird.

Beim Drug Monitoring und für Metabolismusstudien gelang es, neuartige Sensoren mit direktem Elektronentransfer von Cytochrom-P450-Mutanten und Fusionsproteinen zu realisieren.⁴⁹⁾ Aromatische Peroxygenasen und Mikroperoxidasen haben das Potenzial, diese Leberenzyme in Biosensoren zu ersetzen.⁵⁰⁾

Molekular geprägte Polymere (MIPs) haben den Weg zur praktischen Anwendung in der Chromatographie genommen und stehen auch vor der Anwendung in Bindungsassays und Senso-

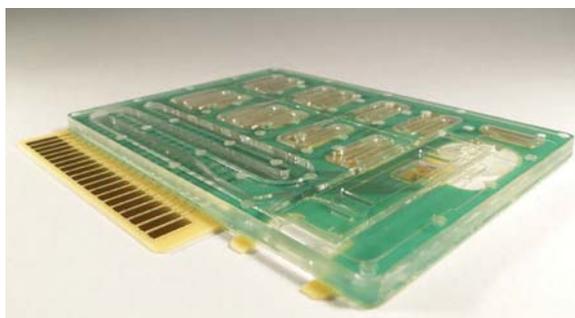


Abb. 11. Parallelisierung und Miniaturisierung von Techniken führen zu neuen Anwendungsgebieten; hier beispielhaft die Fraunhofer-ivD-Plattform, welche die parallele Analyse von bis zu 500 Parametern durch Immobilisierung von Fängermolekülen auf einem optischen Transducer ermöglicht.

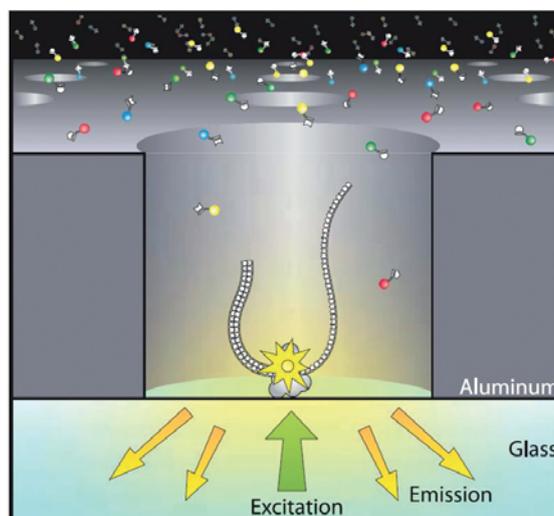


Abb. 12. Next Generation Sequencing am Boden einer Nanopore durch eine immobilisierte Polymerase.⁵²⁾

ren.^{51,52)} Monoklonale MIPs,⁵³⁾ contact printing und das Oberflächen-Imprinting durch dünne Filme von Elektropolymeren⁵⁴⁾ brachten den Durchbruch für die Erkennung von Proteinen, Nucleinsäuren, aber auch von Viren und das Typisieren von Zellen.⁵⁵⁾

Nukleotidbasierte Aptamere wurden auf 250 Analyte erweitert, die Metallionen, Antibiotika, Farbstoffe, Aminosäuren, Pharmaka, aber auch Biopolymere umfassen.⁵⁶⁾ Die Integration der Signalerzeugung auf molekularer Ebene (molecular beacons) und die hohe Austauschrate machen Sensorregenerierung und Online-Messungen zugänglich.

Für die personalisierte Medizin werden sowohl Protein- als auch genomische Marker⁵⁷⁾ zur Charakterisierung des Phäno- und Genotyps mit neuartigen

Lab-on-a-Chip-Plattformen detektiert (Abbildung 11). Next Generation Sequencing erlaubt es, durch extreme Parallelisierung und Miniaturisierung den persönlichen genetischen Code schnell zu identifizieren zu einem Preis von 5000 US-Dollar.⁵⁸⁾

Die Synthese des komplementären DNA-Strangs auf einem Wellenleiter aus fluoreszenzmarkierten Nucleotiden durch einzelne Polymerasemoleküle (Abbildung 12) oder die Messung des elektrischen Widerstands beim Passieren eines DNA-Strangs durch eine Nanopore erlauben die Sequenzierung auf Einzelmolekülebene.^{59,60)}

Literatur

46) J. D. Newman, A. P. F. Turner, *Biosensors 2010 20th Anniversary World Congress on Biosensors, Abstract 06C.3, Glasgow, UK.*

47) R. Ludwig, W. Harreither, F. Tasca, L. Gorton, *ChemPhysChem* 2010, 11, 2674

48) M. Li, R. Li, C.M. Li, N. Wu, *Front Biosci (Schol. Ed.)* 2011, 3, 1308.

49) S.J. Sadeghi, A. Fantuzzi, G. Gilardi, *Biochim. Biophys. Acta* 2011, 1814, 237.

50) A. Yarman, L. Peng, Y. Wu et al., *Bioanal. Rev.* 2011, 3, 67.

51) www.mipttechnologies.com.

52) U. Athikomrattanukul, N. Gajovic-Eichelmann, F. W. Scheller, *Anal. Chem.* 2011, 83, 7704.

53) B. Tse Sum Bui, K. Haupt, *Anal. Bioanal. Chem.* 2010, 398, 2337.

54) V. Suryanarayanan, C.-T. Wu, K.-C. Ho *Electroanal.* 2010, 22, 1795.

55) M. Polreichova, Usman Latif, F. L. Dickert, *Aust. J. Chem.* 2011, 64, 1256.

56) T. Hianik, J. Wang, *Electroanal.* 2010, 21, 1223.

57) S. Schumacher, *Lab Chip* 2012, 12, 464.

58) www.illumina.com/services/genome_net/work.ilmn.

59) J. Eid, A. Fehr, J. Grey et al., *Science* 2009, 323, 133–138.

60) www.nanoporetech.com.



Elektrochemische Analytik

◆ Mit Nanoporentechnologie lassen sich einzelne Moleküle elektrochemisch detektieren, dabei gehen die Anwendungen über das bloße Sequenzieren von DNA hinaus. Durch Anlegen einer Spannung zwischen zwei mit Elektrolytlösung gefüllten Kammern, die über eine Nanopore verbunden sind, wird ein Strom erzeugt, dessen Stärke proportional zum Ionenfluss durch die Pore ist. Wenn ein DNA-Strang die Pore passiert, nimmt der Ionenfluss ab, dabei blockieren die vier Basen den Fluss jeweils unterschiedlich. Über dieses unterschiedliche Ausmaß der Blockierung kann die Sequenz des DNA-Strangs bestimmt werden. Der Schlüssel zur Auflösung und Dauer der Sequenzierung liegt in der sorgfältigen Anpassung der Poreneigenschaften. Ein viel versprechender Weg ist die Verwendung des Proteins α -Hämolsin als Nanopore, wobei mit ortsspezifischer Mutagenese und Wirt-Gast-Wechselwirkungen präzise Veränderungen im Inneren der Pore eingeführt werden können.⁶¹⁾ Auch Graphen⁶²⁾ (Abbildung 13) oder einwandige Kohlenstoffnanoröhren⁶³⁾ als Ausgangsmaterial ermöglichen es, Nanoporen mit maßgeschneiderten Poreneigenschaften herzustellen.

Neben der DNA-Sequenzierung wurde die Bestimmung von Kokain

durch Detektion einzelner Kokainmoleküle in Nanoporen realisiert.⁶⁴⁾ Zunächst erkennt ein Aptamer den Analyten, das mit großer Selektivität an das Kokainmolekül bindet. Dies verhindert die Migration des Aptamers durch die Pore. Die Pore verstopft, und der weitere Ionenfluss wird gestoppt (Abbildung 14). So wurde eine Kokainkonzentration von nur $300 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ bestimmt. Das Messprinzip kann grundsätzlich auf alle Moleküle ausgeweitet werden, für die ein Aptamer existiert oder entworfen werden kann.

In der elektrochemischen Biosensorik sind patientennahe Diagnostik und Umweltüberwachung immer noch die wichtigsten Triebkräfte für die Entwicklung von Sensoren. Glukosesensoren im Taschenformat zur Messung des Blutzuckerspiegels sind gut etabliert und zu niedrigen Preisen verfügbar. Die neuesten Fortschritte bei der Entwicklung von Sensorchips in der Gruppe von Whitesides werden die Kosten pro Messung auf bis zu 2 Cent verringern.⁶⁵⁾ Elektroden und Mikrofluidkanäle werden direkt auf Papier gedruckt. Durch Kombination dieser Papier-Sensorchips mit handelsüblichen Blutzuckermessgeräten lassen sich verschiedenste Verbindungen mit physiologischer Relevanz wie Glukose, Cholesterin, Laktat oder Ethanol schnell und quantitativ analysieren.

Das Prinzip des Blutzuckermessgeräts wurde auf eine größere Breite von Analyten ausgeweitet.⁶⁶⁾ Anstatt den Analyten direkt zu messen, basiert die Methode auf einer analytinduzierten Freisetzung von Invertase aus einem Konjugat aus Invertase und funktioneller DNA. Die freigesetzte Invertase setzt Sukrose zu Glukose um, die der Glukosesensor detektiert. Vier verschiedene Klassen von Analyten konnten so gemessen werden: ein kleines organisches Molekül (Kokain), ein Nukleosid (Adenosin), ein Protein (Interferon Gamma) und ein Metallion (Uran). Durch entsprechende funktionelle DNA als Bindungspartner (Aptamere, DNAzyme, Aptazyme) sollte diese Strategie auch für die Bestimmung vieler anderer Spezies anwendbar sein.

Literatur

- 61) A. Banerjee, E. Mikhailova, S. Cheley, L.-Q. Gu, M. Montoya, Y. Nagaoka, E. Gouaux, H. Bayley, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2010, 107, 8165–8170.
- 62) S. Garaj, W. Hubbard, A. Reina, J. Kong, D. Branton, J. A. Golovchenko, Nature 2010, 467, 190–193.
- 63) H. Liu, J. He, J. Tang, H. Liu, P. Pang, Di Cao, P. Krstic, S. Joseph, S. Lindsay, C. Nuckolls, Science 2010, 327, 64–67.
- 64) R. Kawano, T. Osaki, H. Sasaki, M. Takinoue, S. Yoshizawa, S. Takeuchi, J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 8474–8477.
- 65) Z. Nie, F. Deiss, X. Liu, O. Akbulut, G. M. Whitesides, Lab Chip 2010, 10.
- 66) Y. Xiang, Y. Lu, Nat. Chem. 2011, 3, 697–703.

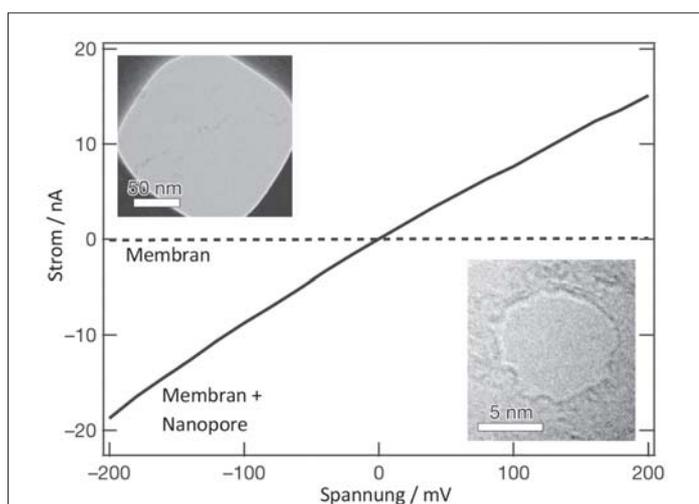


Abb. 13. Strom-Spannungs-Kurven an einer durchgängigen Graphenmembran (gestrichelte Linie) und einer Graphenmembran mit einer 8 nm großen Pore (durchgezogene Linie) sowie TEM-Bilder der Membran (links oben) und der Nanopore (rechts unten).⁶²⁾

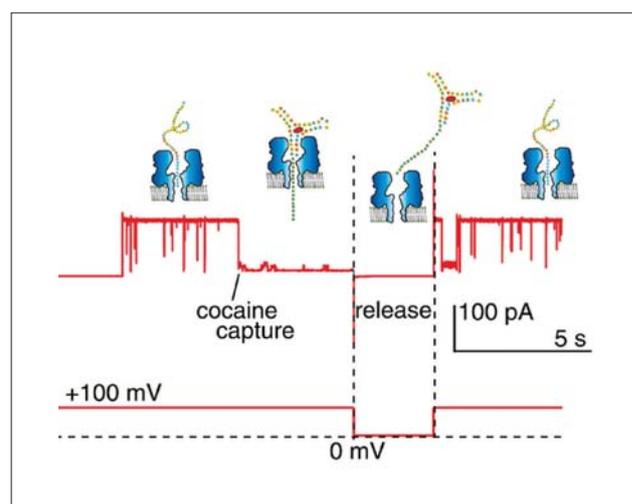


Abb. 14. Typische Strom-Zeit-Kurve an einer Nanopore in einer Lösung von DNA-Aptameren und Kokain im Phosphatpuffer.⁶⁴⁾

Molekulare Erkennung

◆ Eine viel versprechende Erweiterung des analytisch-chemischen Repertoires ist der zunehmende Einsatz künstlicher Rezeptoren und Strukturelemente zur molekularen Erkennung. So hat die supramolekulare Chemie der Cyclodextrine, Calixarene und Cucurbiturile deren Einsatzmöglichkeiten um den fluorimetrischen Nachweis von Kohlenwasserstoffen in Wasser,⁶⁷⁾ den Einsatz in Enzym-Assays⁶⁸⁾ und bei der Immobilisierung,⁶⁹⁾ Markierung⁷⁰⁾ und Charakterisierung⁷¹⁾ von Biomolekülen und Nanopartikeln erweitert. Ein innovativer Enzymassay basiert auf einem multivalent verknüpften Netzwerk von mit Cyclodextrinen beladenen Goldnanopartikeln.⁷²⁾ Die Oxidation der Liganden durch Meerrettichperoxidase führt dazu, dass sich das Netzwerk auflöst, was sich anhand der Verschiebung der Plasmonenresonanzabsorption verfolgen lässt.

Zugabe eines stärker bindenden, aber monovalenten Liganden drängte die Kooperativität der multivalenten Quervernetzung so zurück, dass sich die Empfindlichkeit um vier Größenordnungen erhöhte.

Ein biomimetischer Ansatz zur Entwicklung neuer Analysenplattformen ist der Einbau künstlicher Rezeptoren in die Oberfläche von Vesikelmembranen. So wurde gezeigt, wie eine analytinduzierte Reorganisation der Membran als vielseitiger Mechanismus zur Fluoreszenzmodulation genutzt werden kann.^{73,74)} Darüber hinaus war eine signifikante Erhöhung der Affinität des membrangebundenen Rezeptors zum Analyten zu beobachten. Sowohl die Membranreorganisation als auch die erhöhte Affinität an der Membranoberfläche sind dabei bekannte Mechanismen der molekularen Erkennung an Zelloberflächen. Inspiriert von den Mechanismen zur Zelltransfektion wurden in einem kombinatorischen Senso-

renarray zahlreiche Duftstoffe anhand ihrer DNA-Transporteffizienz klassifiziert (Abbildung 15).⁷⁵⁾ Dabei waren sogar Enantiomere spektroskopisch unterscheidbar, was für die Entwicklung von Hochdurchsatzverfahren zur Suche nach neuen asymmetrischen Katalysatoren entscheidend ist, wie Ansyn in einem kürzlich erschienenen Übersichtsartikel betonte.⁷⁶⁾ Im Allgemeinen bieten dynamisch-kombinatorische Ansätze und Sensorenarrays eine Möglichkeit, das aufwändige rationale Design hochselektiver Rezeptoren zu umgehen.^{77,78)}

Molekular geprägte Polymere (MIPs) sind dabei eine weitere Alternative, die auch aufgrund ihrer Robustheit vermehrt Einzug in analytisch-chemische Anwendungen findet. Aktuelle Herausforderungen bei der Entwicklung von MIPs sind ihre Kompatibilität mit wässrigen Lösungsmitteln und die molekulare Erkennung von Protei-

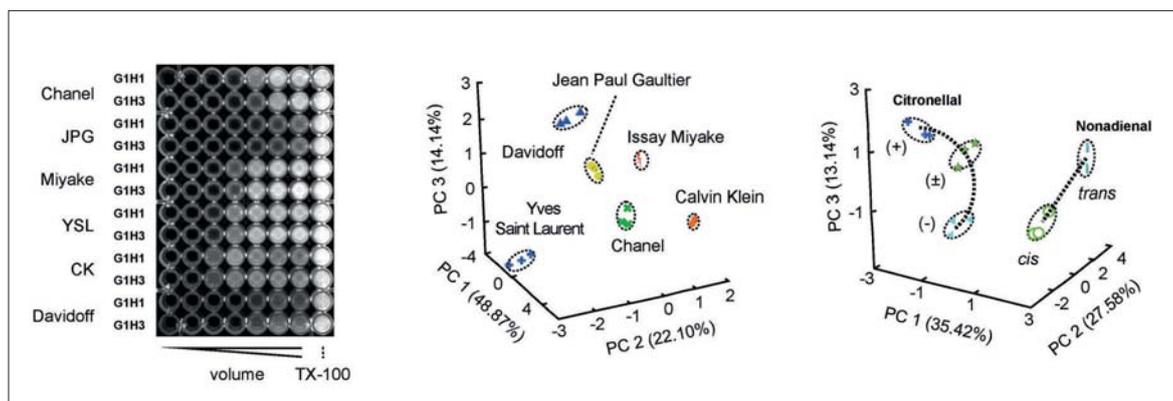


Abb. 15. Fluoreszenzbild einer Mikrotiterplatte und zugehöriger PCA-Score-Plot zur Unterscheidung verschiedener Parfums sowie der PCA-Score-Plot von isolierten Duftstoffen (Citronellal (+) und (-)-Enantiomer sowie eine racemische Mischung und cis- und trans-Nonadienale).⁷⁵⁾

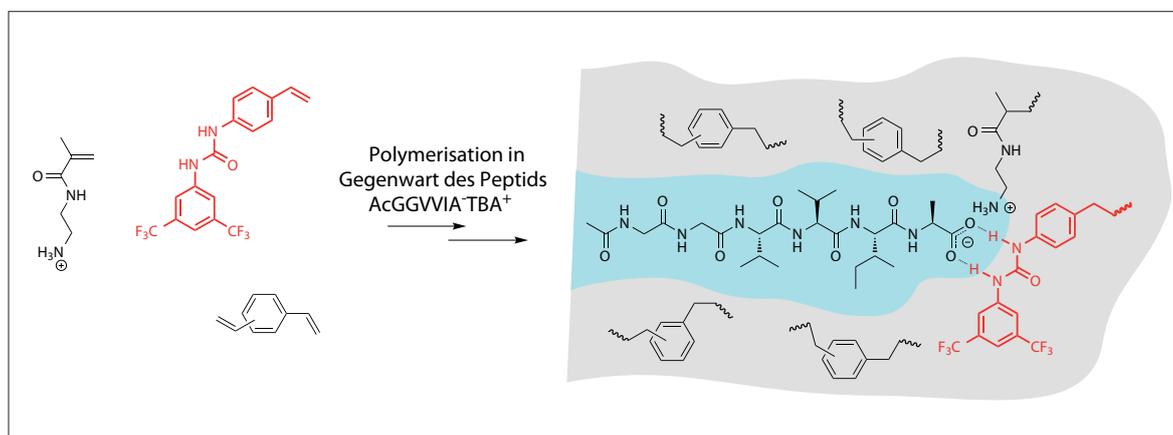


Abb. 16. Verwendung eines Oxyanionen-bindenden Rezeptormotivs bei der Herstellung von MIPs zur Erkennung des C-terminalen Restes des β -Amyloid-Peptids.⁸¹⁾

nen.⁷⁹⁾ Desweiteren werden konzeptuelle Richtlinien benötigt, die eine rationale Wahl von Monomeren für die Polymerisation erlauben.⁸⁰⁾ In einem Einzelbeispiel wurde bei der Herstellung von MIPs zur Erkennung der C-terminalen Domäne des β -Amyloid-Peptids nicht nur eine Mischung von Wasserstoffbrücken bildenden und hydrophoben Monomeren verwendet, sondern auch gezielt ein Oxyanionen bindendes Rezeptormotiv zugesetzt (Abbildung 16).⁸¹⁾

Literatur

- 67) M. Florea, W. M. Nau, *Angew. Chem.* 2011, 123, 9510–9514.
 68) D.-S. Guo, V. D. Uzunova, X. Su, Y. Liu, W. M. Nau, *Chem. Sci.* 2011, 2, 1722–1734.
 69) J. F. Young, H. D. Nguyen, L. Yang, J. Huskens, P. Jonkheijm, L. Brunsveld, *ChemBioChem* 2010, 11, 180–183.
 70) S. S. Agasti, M. Liong, C. Tassa, H. J. Chung, S. Y. Shaw, H. Lee, R. Weissleder, *Angew. Chem.* 2012, 124, 450–454.
 71) A. Hennig, A. Hoffmann, H. Borcherdig, T. Thiele, U. Schedler, U. Resch-Genger, *Chem. Commun.* 2011, 47, 7842–7844.
 72) R. de la Rica, R. M. Fratila, A. Szarpak, J. Huskens, A. H. Velders, *Angew. Chem.* 2011, 123, 5822–5825.
 73) B. Gruber, S. Stadlbauer, A. Späth, S. Weiss, M. Kalinina, B. König, *Angew. Chem.* 2010, 122, 7280–7284.
 74) J. Wu, A. Zawistowski, M. Ehrmann, T. Yi, C. Schmuck, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 9720–9723.
 75) T. Takeuchi, J. Montenegro, A. Hennig, S. Matile, *Chem. Sci.* 2011, 2, 303–307.
 76) D. Leung, S. O. Kang, E. V. Anslyn, *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 448–479.
 77) S. Rochat, K. Severin, *J. Comb. Chem.* 2010, 12, 595–599.
 78) Z. Rodriguez-Docampo, E. Eugenieva-Ilieva, C. Reyheller, A. M. Belenguer, S. Kubik, S. Otto, *Chem. Commun.* 2011, 47, 9798–9800.
 79) L. Chen, S. Xu, S.; J. Li, *Chem. Soc. Rev.* 2011, 40, 2922–2942.
 80) M. Zayats, M. Kanwar, M. Ostermeier, P. C. Se arson, *Macromolecules* 2011, 44, 3966–3972.
 81) J. L. Urraca, C. S. A. Aureliano, E. Schillinger, H. Esselmann, J. Wiltfang, B. Sellergren, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 9220–9223.

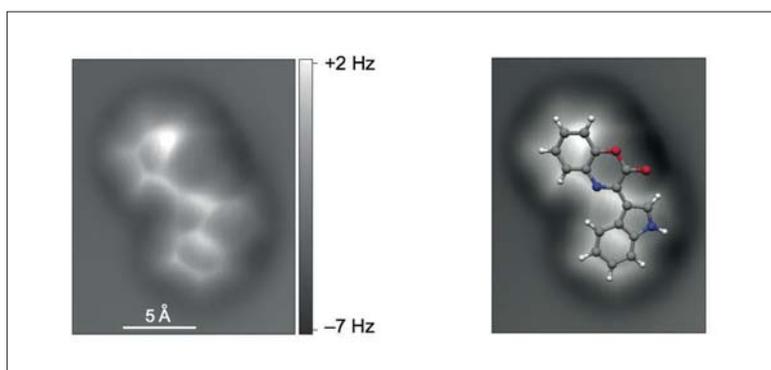


Abb. 17. Konstante-Höhen-AFM-Abbildung von Cephalandol A; links: Rohdaten der unbekannt isolierten Substanz; rechts: Überlagerung der Rohdaten mit dem molekularen Strukturmodell.⁸²⁾

Analytische Rastersondentechniken

◆ Die Rastersondenmikroskopie ist weiterhin ein wichtiger Bereich der Oberflächenanalytik. So zeigten Gross et al. die Strukturbestimmung mit Rasterkraftmikroskopie (AFM) anhand der Einzelmolekülabbildung von Cephalandol A, einem Stoffwechselprodukt des Tiefseebakteriums *Dermacoccus abyssi* (Abbildung 17).⁸²⁾ Cephalandol A ist ein Indolalkaloid und wurde auch aus Orchideen (*Cephalantheropsis gracilis*) isoliert. Die Summenformel $C_{16}H_{10}N_2O_2$ des isolierten unbekanntes Stoffwechselproduktes wurde mit Massenspektrometrie bestimmt, während vier mögliche Konformationen mit 2D-Kernresonanzspektroskopie (COSY, HMBC) ermittelt wurden, wobei jedoch eine eindeutige Zuordnung der Struktur nicht möglich war. Bei tiefen Temperaturen wurden nun mit einer Kohlenstoffmonoxid-modifizierten AFM-Spitze die einzelnen Atome und die strukturelle Anordnung bestimmt. Die Messungen wurden mit einem STM/AFM mit qPlus-tuning-fork-sensor-Design durchgeführt, wobei die Cephalandol-A-Moleküle auf zwei Monolagen NaCl auf Kupfer(111) adsorbiert waren. Die Zuordnung des sauerstoffhaltigen Laktorings haben dichtefunktionaltheoretische (DFT) Berechnungen bestätigt.

Interessante Entwicklungen gab es bei der Rasterionenleitfähigkeitsmikroskopie (scanning ion conductance microscopy, SICM). Durch

optimierte Herstellung von Nanopipetten,⁸³⁾ die Verwendung von Dualpipetten mit Öffnungen von einigen hundert bis zu zehn Nanometern⁸⁴⁾ und die Möglichkeit der Kombination mit Fluoreszenzmikroskopie oder weiteren Rastersondentechniken (hyphenated scanning probe techniques) eröffnen sich neue Anwendungsmöglichkeiten. Pipetten mit Porenöffnungen im Nanometerbereich erlauben die Untersuchung von Ionenströmen an Nanoporen⁸⁵⁾ und erzielen Auflösungen in flüssigen Medien ähnlich wie mit AFM.⁸⁶⁾ Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist die kontaktfreie Abbildung, die sie für die artefaktfreie Untersuchung weicher Proben wie nicht fixierter Zellen interessant macht, die mit AFM oft schwierig ist. So konnten mit SICM-FRET (Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer) Einfluss und Mechanismus von β 1- und β 2-adrenergen Rezeptoren an der Oberfläche von Herzmuskelzellen auf die Regulierung des sekundären Botenstoffes zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) untersucht werden, der bei Herzversagen eine zentrale Rolle spielt.⁸⁷⁾

Über die Kombination der elektrochemischen Rastersondenmikroskopie (scanning electrochemical microscopy, SECM) mit Rasterionenleitfähigkeitsmikroskopie haben mehrere Gruppen berichtet (Abbildung 18).^{84,88–90)} Sie verwendeten entweder gezogene Theta-Kapillaren, wobei eine Pipette mit Elektrodenmaterial gefüllt ist,⁸⁴⁾ oder Pipetten mit einer Metallschicht und einer Isolierung. Durch

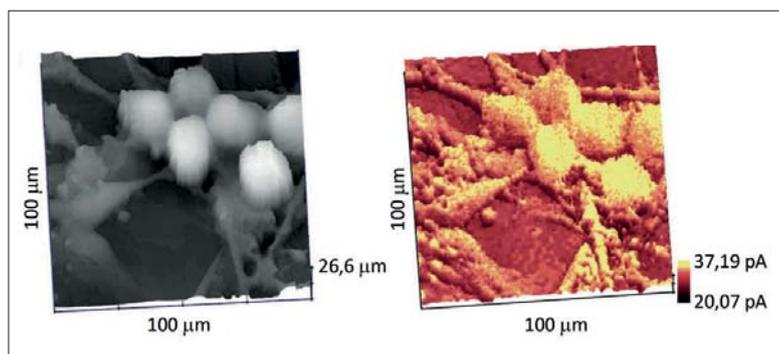


Abb. 18. Simultan erhaltene SICM- (Topographie) und SECM-Abbildung von Neuronen in 0,5 mM FcCH_2OH in Hanks gepufferte Salzlösung (HBSS). An die SECM-Elektrode war ein Potenzial von 500 mV und an die SICM-Pipette ein Potenzial von 200 mV vs. Ag/AgCl-Referenzelektrode angelegt.⁸⁴⁾

Bearbeitung mit fokussiertem Ionenstrahl (focused ion beam, FIB) wird anschließend eine Ringmikroelektrode und eine definierte Pipettenöffnung erzeugt.^{88,89)} Kombinierte SECM-SICM-Messungen mit Dual-Pipetten, deren eine Pipette durch Pyrolyse mit Kohlenstoff gefüllt wurde, wurden zur topographischen und elektrochemischen Abbildung von Nanoporen sowie zur lokalisierten Stimulation und Detektion der Neurotransmitterfreisetzung an PC12-Zellen eingesetzt.⁸⁴⁾ Kombinierte SICM-SECM-Pipetten mit integrierten Ringelektroden wurden auch zur simultanen Abbildung der Topographie und der enzymatischen Aktivität von Oxidoreduktasen angewendet.⁸⁹⁾

Fortschritte bei der lateralen Auflösung und elektrochemischen Lokalisierung gab es bei kombinierten AFM-SECM-Messungen.^{91,92)} Forscher am CNRS zeigten, dass sich Ferrocen-modifizierte AFM-SECM-Spitzen zur orts aufgelösten elektrochemischen und topographischen Untersuchung eignen.⁹²⁾ Proteine, die mit Ferrocen via Polyethylenglykol (PEG)-Kette modifiziert waren und auf einer leitfähigen Oberfläche immobilisiert wurden, konnten mit kombinierten AFM-SECM-Spitzen elektrochemisch sichtbar gemacht werden.⁹³⁾

Eine weitere interessante Kombination mit SECM haben Schuhmann et al. in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Eisenforschung gezeigt: Sie entwickelten ein integriertes Rasterkelvin-SECM (integrated scanning

kelvin probe-scanning electrochemical microscope), das an der gleichen Probenstelle die Messung der Kontaktpotenzialdifferenz (CPD) unter ambienten Bedingungen wie auch die lokale elektrochemische Messung in Lösung ermöglicht.⁹⁴⁾

Literatur

- 82) L. Gross, F. Mohn, N. Moll, G. Meyer, R. Ebel, W. M. Abdel-Mageed, M. Jaspars *Nat. Chem.* 2010, 2, 821–825.
- 83) P. Elsamadisi, Y. Wang, J. Velmurugan, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* 2011, 83, 671–673.
- 84) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, Y. Zhang, N. Ebejer, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, A. J. Pollard, D. Roy, C. A. Clifford, H. Shiku, T. Matsue, D. Klenerman, Y. E. Korchev, *Angew. Chem.* 2011, 123, 9812–9816.
- 85) C.-C. Chen, Y. Zhou, L. A. Baker, *ACS Nano*, 2011, 5, 8404–8411.
- 86) J. Rheinlaender, N. A. Geisse, R. Proksch, T. E. Schaeffer, *Langmuir* 2011, 27, 697–704.
- 87) V. O. Nikolaev, A. Moshkov, A. R. Lyon, M. Miragoli, P. Novak, H. Paur, M. J. Lohse, Y. E. Korchev, S. E. Harding, J. Gorelik, *Science*, 2010, 327, 1653–1657.
- 88) D. J. Comstock, J. W. Elam, M. J. Pellin, M. C. Hersam, *Anal. Chem.* 2010, 82, 1270–1276.
- 89) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, Y. Murakami, H. Shiku, Y. E. Korchev, T. Matsue, *J. Amer. Chem. Soc.* 2010, 132, 10118–10126.
- 90) C. A. Morris, C.-C. Chen, L. A. Baker, *Analyst* 2012, im Druck.
- 91) S. E. Pust, M. Salomo, E. Oesterschulze, G. Wittstock, *Nanotechnology*, 2010, 22, 117–124.
- 92) A. Anne, E. Cambil, A. Chovin, C. Demaille, *Anal. Chem.* 2010, 82, 6353–6362.
- 93) A. Anne, A. Chovin, C. Demaille, M. Lafouresse, *Anal. Chem.* 2011, 83, 7924–7932.
- 94) A. Maljusch, B. Schonberger, A. Lindner, M. Stratmann, M. Rohwerder, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* 2011, 83, 6114–6120.



Chemometrik

◆ Die Zahl chemometrisch orientierter Publikationen wächst weiter in sehr starkem Maße. Der Schwerpunkt der Arbeiten verschiebt sich dabei aus der Chemie beziehungsweise der analytischen Chemie zunehmend mehr in periphere Anwendungsbereiche wie biochemische und -medizinische Untersuchungen, genetisches Screening, Drogenkontrolle und Forensik, Prozesskontrolle und -steuerung sowie Qualitätssicherung. Die Anwendung multivariater Methoden wird dabei zunehmend Standard. Es existiert eine große Palette anwendungsbereiter chemometrischer Algorithmen und Methoden. Das Vorhandensein zahlreicher, meist recht nutzerfreundlicher Softwarepakete und leistungsfähiger Computer ermöglicht die nutzbringende Anwendung chemometrischer Methoden ohne Programmieraufwand. Das Ziel chemometrischen Arbeitens besteht einerseits im Design optimaler und damit informativer chemischer Experimente beziehungsweise analytischer Messungen und andererseits in der effizienten Extraktion von Information aus den erhaltenen Daten.

In der Fachliteratur dominieren derzeit deutlich die anwendungsorientierten Arbeiten. Im Bereich der chemometrischen Grundlagenforschung wird vor allem über Modifikationen und Verbesserungen bereits bekannter Methoden berichtet.

Die Schwerpunkte der aktuellen Entwicklung liegen vor allem im Bereich der Mustererkennung und Klassifikation, der multivariaten Kalibration sowie der multivariaten Kurvenauflösung und der Signalbehandlung. Einen detaillierten Überblick dazu geben Lavine und Workman⁹⁵⁾ in ihrer zweijährlich erscheinenden Literaturübersicht.

Im Bereich der Mustererkennung und Klassifikation sind eine Reihe von Arbeiten zu Modifikationen bestehender Algorithmen erschienen. Prinzipien der Kernel-Metho-

den, der orthogonalen Signalkorrektur, der robusten Statistik sowie der Support-Vektor-Maschinen werden angewendet, um nichtlineare Projektionen sowie effektive Dimensionserniedrigungen zur besseren Visualisierung komplexer Datensätze zu erreichen. Im Vordergrund steht die Auswertung chromatographischer und spektroskopischer Daten. Ein Problem dabei ist die Behandlung der großen Datenmengen (effektive Merkmalsreduzierung), die z. B. bei Metabolomik-Untersuchungen mittels TOF-SIMS auftreten.

Die Partial-Least-Squares-Regression ist nach wie vor das Hauptinstrument der multivariaten Kalibration. Neben Anwendungen in der NIR- und MIR-Spektroskopie ist auch der Einsatz in der Chromatographie, der Ionenmobilitätsspektroskopie sowie im Rahmen der QSPR-Modellierung beschrieben. Modifizierte PLS-Algorithmen basieren auf Kernel-Methoden, der robusten Statistik sowie der Fuzzy-Theorie und beziehen auch Techniken der Merkmalsselektion ein. Komplexe Datensätze können mit nichtlinearen bzw. Mehrweg-Methoden ausgewertet werden. Viele chemometrische Publikationen beschäftigen sich nach wie vor mit der Anwendung neuronaler Netze, jedoch mit deutlich rückläufiger Tendenz.

Boris Mizaikoff, Jahrgang 1965, studierte Chemie an der TU Wien, wo er 1996 promovierte. Nach seiner Habilitation im Jahr 2000 war er von 2001 bis 2007



Professor für analytische Chemie am Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA. 2007 nahm er den Ruf auf den Lehrstuhl für Analytische und Bioanalytische Chemie an der Universität Ulm an. Seine Forschung beschäftigt sich mit analytischen Methoden in der Umwelt-, Prozess- und Bioanalytik, speziell mit Infrarotspektroskopie und -sensorik, mit der Entwicklung multifunktionaler Messplattformen, der Synthese und Anwendung von synthetischen molekularen Erkennungsmaterialien sowie mit der Miniaturisierung und Integration von analytischen Messverfahren. Im Auftrag der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie hat er den Trendbericht koordiniert.

Mit der stark zunehmenden Nutzung vieler Analysenprinzipien, z. B. der IR-, der Raman- und der Fluoreszenz-Spektroskopie oder der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie, als Imaging-Techniken gewinnen Methoden der multivariaten Kurvenauflösung deutlich an Bedeutung. Für die Auflösung von Gemischspektren werden die multivariate Kurvenauflösung mittels Alternating-least-squares-Algorithmus ebenso wie die PARAFAC-Technik zur Auswertung von Mehrwege-Daten genutzt. Das Anwendungsfeld der Kurvenauflösung wird ebenfalls ausgedehnt auf die Auswertung chromatographischer Daten. Die Wavelet-Transformation stellt ebenfalls eine sehr vielversprechende Technik zur Signalauflösung und -entrauschung dar.

Das Angebot an chemometrischer Literatur wurde in letzter Zeit durch weitere Monographien verbessert, als Beispiele seien genannt Lit.^{96–98)}

Literatur

- 95) B. Lavine, J. Workman, *Anal. Chem.* 2010, 82, 4699.
 96) K. Backhaus, B. Erichson, W. Plinke, R. Weiber, *Multivariate Analysenmethoden: Eine anwendungsorientierte Einführung*, 13. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, 2010.
 97) V. E. Vinzi, W. W. Chin, J. Henseler, H. Wang, (Hrsg.) *Handbook of Partial Least Squares*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2010.
 98) M. Reichenbacher, J. W. Einax, *Challenges in Analytical Quality Assurance*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2011.

Boris Mizaikoff, Ulm

Michael Lämmerhofer, Tübingen

José A.C. Broekaert, Hamburg

Jürgen Popp, Jena

Bernhard Lendl, Wien

Kerstin Leopold, Ulm

Frieder W. Scheller, Aysu Yarman,

Soeren Schumacher, Potsdam

Nicolas Plumeré, Bochum

Andreas Hennig, Berlin,

Werner Nau, Bremen

Christine Kranz, Ulm

Jürgen W. Einax, Jena