

# Analytische Chemie 2012/2013

*Kreative Jahre: Neues Säulenmaterial, mehrdimensionale Methoden, superkritische Fluidchromatographie und Chip-Techniken erhöhen die Trenneffizienz. Ramansonden eignen sich für endoskopische Diagnostik, Circular dichroismus detektiert mit neuen Sonden Chiralität; Nanopartikel erhöhen die Empfindlichkeit bei der Detektion von Schwermetallen, und elektrochemische Rastersondentechniken werden mit IR-Spektroskopie und Massenspektrometrie kombiniert. Chemometrie bekommt die Datenmengen in Griff.*

◆ In den Trenntechniken waren die Fortschritte 2012/2013 eher von einer evolutionären als revolutionären Entwicklung gekennzeichnet. Ultra-Hochleistungsflüssigchromatographie (UHPLC) mit sub-2- $\mu\text{m}$  total-porösen Kieselgel-Partikeln oder pelliculären Partikeln (1,3/1,7/2,6  $\mu\text{m}$ ), also mit solidem unzugänglichen Kern und dünner poröser Kieselgelschicht (Fused-Core, Core-Shell, Poroshell-Technologie), ist mittlerweile Standard.<sup>1)</sup> Kieselgel-Monolith-Säulen der zweiten Generation „Chomolith High Resolution“ versuchen dieser Dominanz zu trotzen.

Die Nutzung der Schlupfströmung (slip flow) könnte die Trenneffizienz bei der LC weiter verbessern. Dabei beobachtet man erhöhte Flussraten an der Wand des Fließkanals, anders als bei einem Hagen-Poiseuille-Profil in herkömmlichen Kanälen, bei dem die lokalen Flussvektoren an der Wand gegen null gehen (Abbildung 1a). Eine Schlupfströmung entsteht in Kieselgelkolloidkristallen (mit fcc-Domänen, Abbildung 1b) aufgrund der engen interstitiellen Kanäle (30 bis 40 nm). Kapillarsäulen, gepackt mit diesen Materialien (470 nm Partikeldurchmesser), erzielten bei Modelltrennungen zweier Proteine Trennstufenhöhen von etwa 20 nm und eine bessere Auflösung als UHPLC mit 1,7- $\mu\text{m}$ -Partikeln (Abbildung 1c).<sup>2)</sup>

Beherrschendes Thema in der GC, aber auch LC, war die multidimensionale (MD) Chromatographie. Komplementäre Trennphasen sind dabei entscheidend für den Erfolg. Kapillartrennsäulen mit dünnen Filmen diverser ionischer Flüssigkeiten zeigen großes Potenzial in der MDGC.

Zwei große Hersteller bieten nun Geräte für die superkritische Fluid-Chromatographie (SFC) an, sodass diese Technik derzeit eine Renaissance erfährt. Sie gilt zudem als grüne Technik. Die Verwendung von superkritischem  $\text{CO}_2$  (gegebenfalls plus Methanol) zeigt bei

gleicher Geschwindigkeit eine um den Faktor zwei höhere Trennleistung. Bei konstantem Druck und gleicher Auflösung verläuft die Trennung also viermal schneller, da die Viskosität der mobilen Phase geringer ist, die Diffusivität besser und der Massentransfer schneller.<sup>3)</sup>

Vielversprechende Weiterentwicklungen gab es auch bei den Chip-Trenntechniken in Richtung eines mikro-Totalanalysensystems ( $\mu\text{-TAS}$ ). Auf einem Polydimethylsiloxan-Chip mit integrierten gepackten Kanälen für parallele Chromatographie, Ventilen, programmierbarer Gradientenelution, Fluor-

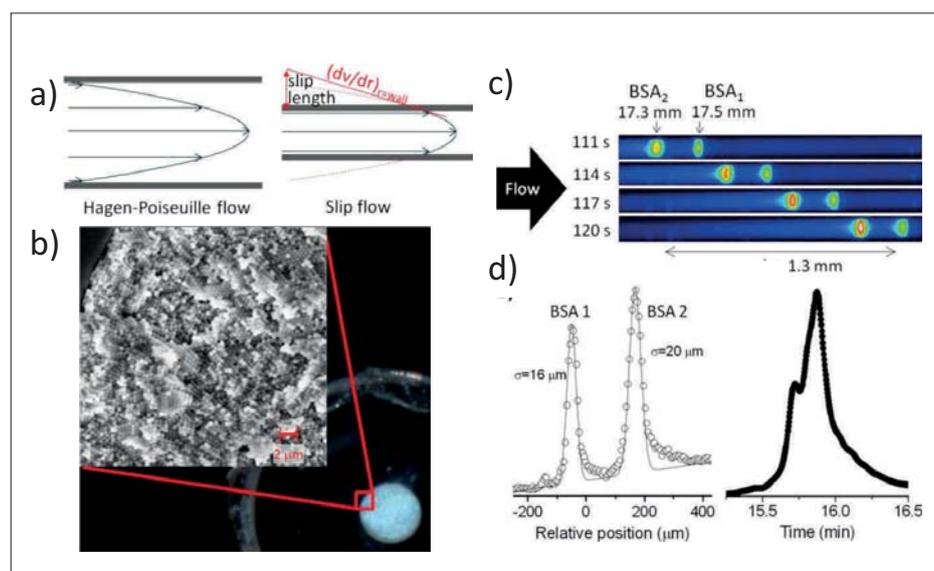


Abb. 1. a) Vergleich von Hagen-Poiseuille-Fluss (links) und Schlupfströmung; b) Ausschnitt aus der gepackten Säule mit den kolloidalen Silicakristallen (75  $\mu\text{m}$  ID  $\times$  21 mm), in der Schlupfströmung vorliegt; c) Trennung von fluoreszenzmarkiertem Rinderserumalbumin (BSA) mit on-column-Fluoreszenzdetektion. d) Chromatogramm von BSA1 und BSA2 (links) im Vergleich zum UHPLC-Chromatogramm (Hagen-Poiseuille-Fluss).<sup>2)</sup>

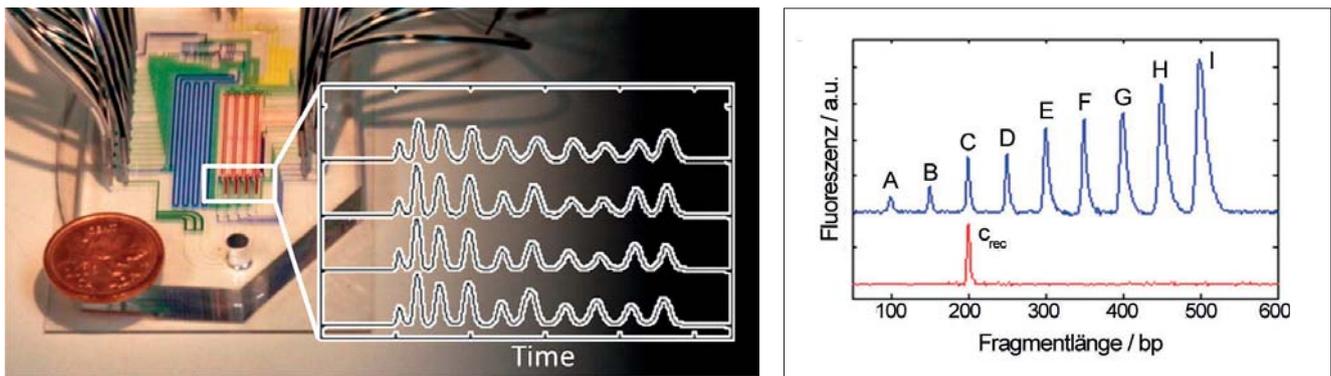


Abb. 2. Links, Foto: Integriertes mikrofluidisches Chromatographiesystem mit gepackten Trennkanälen (4-fach Array, rot), Gradientendeliverysystem (blau), Kontrollkanäle (grün), Reagenzieneinlass (gelb), Fraktionenkollektionssystem (vorne); Insert: Chromatogramme von vier Replikaten einer FAM-markierten ssDNA-Trennung mit 100 bis 500 bp in 50-bp-Inkrementen.

Rechts: Elektropherogramm der gesamten Leiter vor der Injektion (blau) und eines 200-bp-Fragments, das in einem Kanal getrennt gesammelt wurde.<sup>4)</sup>

reszenzdetektion und Fraktionen-sammler wurde DNA mit Anionen-austauschchromatographie aufgetrennt und mikropräparativ isoliert (Abbildung 2).<sup>4)</sup> Ein mögliches Anwendungsgebiet dieses Chips ist die medizinische Diagnostik.

Michael Lämmerhofer,  
Universität Tübingen

#### Literatur

- 1) A. C. Sanchez, G. Friedlander, S. Fekete et al., *J. Chromatogr. A* 2013, 1311, 90–97.
- 2) B. Wie, B. J. Rogers, M. J. Wirth, *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 10780–10782.
- 3) F. Gritti, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* 2013, 1295, 114–127.
- 4) J. Huft, C. A. Haynes, C. L. Hansen, *Anal. Chem.* 2013, 85, 2999–3005.

#### Ramanendospektroskopie

◆ Ramanbasierte Bildgebungsmethoden fanden in den letzten Jahren weitreichende Anwendungen in Biologie und Medizin, da sie nicht-invasiv und labelfrei sind sowie Bilder mit chemischem Kontrast, also hoher molekularer Selektivität liefern. Insbesondere dient die Ramanmikroskopie zur Charakterisierung pathologischer Gewebeproben, um durch Krankheiten verursachte biochemische Veränderungen genauer zu analysieren. Solche Anwendungen ramanmikroskopischer Bildgebung sind mittlerweile zahlreich und in der Literatur für praktisch alle Arten von Organen beschrieben.<sup>5–7)</sup>

Die In-vivo-Anwendung der Raman-spektroskopie erfordert jedoch einen endoskopischen Ansatz. Die Möglichkeit, Raman-spektren über lichtleitende Fasern auszulesen, bringt vielseitige Optionen, um sie mit katheterbasierten endoskopischen Verfahren der Medizin zu kombinieren.<sup>8,9)</sup> Endoskopie dient zur Untersuchung praktisch aller Hohlorgane und Gefäße. Besonders vielversprechend erscheint dabei die raman-spektroskopische Untersuchung atherosklerotischer Plaqueablagerungen in Herzkranzgefäßen.

Atherosklerose ist eine der häufigsten Krankheiten in alternden Gesellschaften. Mit dem Alter nimmt die Porosität der inneren Gefäßmembranen zu, und daran lagern sich Substanzen wie Choles-

terol, Triglyceride sowie kristalliner Kalk ab. Die biochemische Zusammensetzung atherosklerotischer Plaques ist komplex, eine genauere Kenntnis über diese würde helfen, das Risiko für den Patienten abzuschätzen und ihn gezielter medikamentös zu behandeln. Gegenwärtig erhalten Patienten bis zu einem Dutzend Medikamente oder Wirkstoffe, was gravierende Nebenwirkungen mit sich bringen kann. Zudem ist die Behandlung mit Stentimplantaten bei stabilen Plaques nicht immer zwingend.

Zur Beurteilung der Plaqueablagerungen sind in der Kardiologie heute bildgebende Methoden etabliert. An erster Stelle stehen die nichtinvasive Röntgenangiographie sowie die invasiven, katheterbasierten Techniken intravaskulärer Ultraschall und optische Kohärenztomographie.<sup>10)</sup> Diese Verfahren erkennen Plaques und unterstützen wesentlich operative Eingriffe. Sie liefern jedoch lediglich Kontrastbilder, die keinen Rückschluss über die chemische Zusammensetzung der Ablagerungen zulassen.

Die Raman-spektroskopie ergänzt nun die katheterbasierten Verfahren analytisch, denn die Hauptbestandteile der Ablagerungen sind raman-spektroskopisch leicht zu detektieren.<sup>11,12)</sup> Erste Erfolge für Anwendungen in vivo an Kaninchen sind vielversprechend.<sup>13,14)</sup> Abbildung 3a zeigt eine Röntgenaufnahme eines Kaninchens mit angezüchteter Hypercholesterin-

**GDCh-Kurs**  
**Einführung in die HPLC**  
 Basiskurs mit Experimenten (308/14)  
 23. - 26. Juni 2014, 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:**  
 Tel.: 069/7917-364  
 E-Mail: fb@gdch.de  
 www.gdch.de/fortbildung

ämie während der Untersuchung mit einer Ramansonde, die über einen Herzkatheter eingeführt wurde. Das dabei aufgenommene Ramanspektrum ist in Abbildung 3 zu sehen. Es zeigt deutlich ausgeprägte Ramansignale, die eindeutig Lipiden zuzuordnen sind. Der für den Versuch erforderliche Sonden-durchmesser von 1 mm ist gegenwärtig das technische Limit. Weitere Herausforderungen sind eine hohe Biegeflexibilität sowie eine Sondenlänge von 1 bis 2 m. Die bei dem Versuch eingesetzten Anre-gungsbedingungen von etwa 100 mW bei 785 nm sowie Anre-gungszeiten von 3 bis 10 s sind für Applikationen am Menschen durchaus realistisch.

Generell lassen sich Ramanson-den sehr gut mit gängigen Endo-skopiemethoden kombinieren. Da die Spektralinformation vor Ort und sofort verfügbar ist, unter-stützt diese Technik die schnelle Diagnose und Risikoabschätzung von verschiedensten Gewebeab-normalitäten.

Jürgen Popp, Leibniz-Institut für  
Photonische Technologien, Jena,  
Universität Jena

#### Literatur

- 5) C. Krafft, B. Dietzek, J. Popp, *Analyst* 2009, 134, 1046–1057.
- 6) A. Downes, A. Elfick, *Sensors* 2010, 10, 1871–1889.
- 7) C. Krafft, B. Dietzek, M. Schmitt, J. Popp, *J. Biomed. Opt.* 2012, 17 (4), 040801.
- 8) C. Krafft, S. Dochow, I. Latka, B. Dietzek, J. Popp, *Biomed. Spectrosc. Imaging* 2012, 1, 39–55.
- 9) I. Latka, S. Dochow, C. Krafft, B. Dietzek, J. Popp, *Laser Photonics Rev.* 2013, 7, 699–731.
- 10) C. M. Matter, M. Stuber, M. Nahrendorf, *Eur. Heart J.* 2009, 30, 2566–2575.
- 11) T. Römer, J. R. Brennan, G. Puppels et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000, 20, 478–483.
- 12) A. Lattermann, C. Matthäus, N. Bergner et al., *J. Biophoton* 2013, 6, 110–121.
- 13) J. Motz, M. Fitzmaurice, A. Miller et al., *J. Biomed. Opt.* 2006, 11, 021003.
- 14) C. Matthäus, S. Dochow, G. Bergner et al., *Anal. Chem.* 2012, 84, 7845–7851.

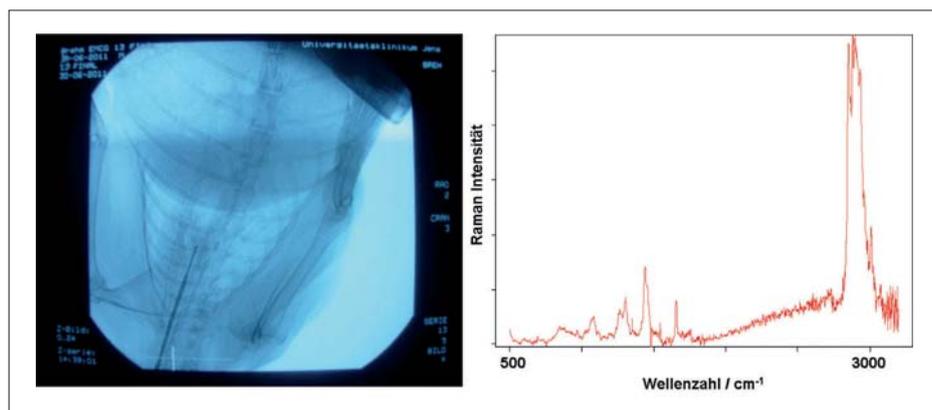


Abb. 3. Links: Röntgenaufnahme einer über die Halsschlagader eines Kaninchens eingeführten Ramansonde. Diese diente dazu, die biochemische Zusammensetzung von atherosklerotischen Plaquerablagerungen zu untersuchen. Die an dieser Stelle gemessenen Ramanspektren (rechts) lassen eindeutig auf Fetteinlagerungen schließen.

### Chiralitätsdetektion mit Circular-dichroismussonden

◆ Für die Detektion molekularer Chiralität gibt es neue Entwicklungen, die Circular-dichroismus (CD) als analytische Methode populärer machen. Viele chirale Bausteine wie Alkohole und Amine detektiert CD nicht direkt, da die einfachen funktionellen Gruppen keine Chromophore sind. Komplexere chirale aromatische Analyte, sowohl Wirkstoffe als auch Aminosäuren und Biopolymere, absorbieren zwar, allerdings häufig im harten UV-Bereich. Oft ist auch ihre Elliptizität als Maß für die CD-Aktivität recht schwach, sodass CD-Messungen nur mit höheren (mM-)Konzentrationen so zuverlässig sind, dass sie die Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen (ee) erlauben.

In biologischen Medien sind CD-Messungen im harten UV-Bereich aufgrund von Matrixeffekten nicht durchführbar. Das Repertoire an nichtchromatographischen Methoden, die Chiralität detektieren, ist eingeschränkt. Chemosensorische Ansätze zur selektiven Bindung von Enantiomeren an künstliche chirale Rezeptoren<sup>15)</sup> sind synthetisch schwierig und in ihrer Anwendung begrenzt: Für jeden neuen Analyten müsste auch ein eigener passender Rezeptor gefunden werden. Die Verwendung von biologischen Rezeptoren oder von Enzymen zur Chiralitäts-

detektion oder ee-Bestimmung ist für biologische Analyte bevorzugt, allerdings auch auf diese beschränkt.<sup>16)</sup>

Chemische Reaktionen der chiralen Analyten mit achiralen, chromophortragenden und somit potenziell CD-aktiven Sonden umgehen die genannten Probleme elegant. Idealerweise eignet sich die gleiche CD-Sonde für ganze Analytklassen; die Synthese analytenspezifischer und chiraler Rezeptoren oder Reaktanten entfällt somit. Bevorzugt sind die resultierenden CD-Signale der umgesetzten Sonde wesentlich stärker als die intrinsischen CD-Signale der Analyten, zumindest sollten sie deutlich rotverschoben sein, um die Sensitivität zu erhöhen und Matrixeffekte zu reduzieren.

Basierend auf frühen Arbeiten zu Zink-Porphyrin-Rezeptoren, die beispielsweise Aminosäuren durch Zucker binden,<sup>17)</sup> gibt es nun neue Entwicklungen des Messprinzips. Diese machen den Einsatz von CD-Sonden als analytische Methode in der asymmetrischen Synthese und enantioselektiven Katalyse attraktiv. Diese neuen Methoden sind in zwei Übersichtsartikeln gut dargestellt.<sup>18,19)</sup> Der Beitrag hier beschränkt sich auf anschauliche neue Beispiele<sup>20–23)</sup> und Weiterentwicklungsmöglichkeiten.

Das erste Beispiel ist die reversible Reaktion von chiralen sekundären Alkoholen mit einer Mehrkomponentenmischung aus Pyridin-

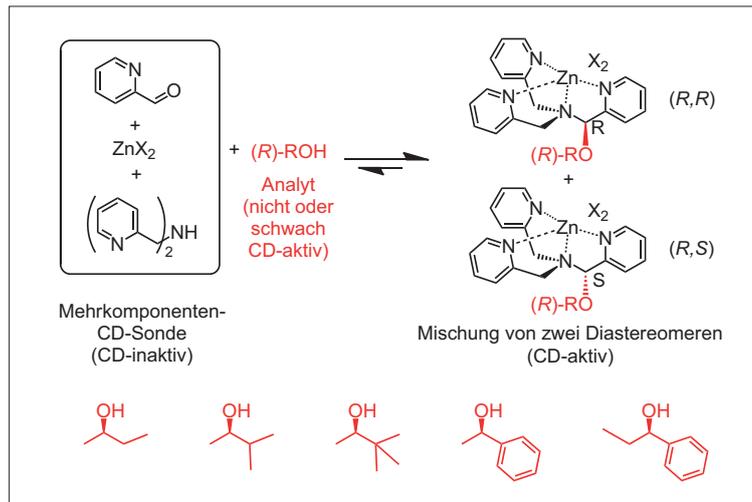


Abb. 4. Mehrkomponentensystem zur Chiralitätsdetektion von sekundären Alkoholen mit Circular dichroismus (CD). CD-inaktive oder schwach CD-aktive chirale Alkohole (Beispiel R-Stereochemie) werden durch reversible Reaktion in diastereomere, stark CD-aktive Zinkkomplexe umgewandelt ( $X$  = beliebiger Ligand). Untersuchte Analyte sind unten gezeigt.<sup>19)</sup>

2-carboxaldehyd, Di(2-picolyl)-amin und Zink(II).<sup>20,21)</sup> Dabei bilden sich diastereomere Metallkomplexe (Abbildung 4), die starke CD-Signale liefern und daher als CD-Sonden dienen. Verschiedene Alkohole liefern leicht unterschiedliche Spektren, sodass sie mit linearer Diskriminanzanalyse (LDA) zuverlässig voneinander zu unterscheiden sind.<sup>21)</sup>

Ein zweites Anwendungsbeispiel verwendet Binaphtholkomplexe mit  $Zn^{II}$  als CD-Sonde (Abbildung 5).<sup>22)</sup> Hiermit wurden Enantiomenüberschüsse von mehr als zehn chiralen Aminen, Diaminen und Aminoalkoholen mit Abweichungen von weniger als 4% gezeigt. Da die Ligandenbindung recht schwach und somit innerhalb weniger Minuten reversibel ist, resul-

tiert eine stereodynamische CD-Sonde, die Helizität der Biarylgruppe ist also dynamisch und passt sich der Chiralität des Analyten an. Dadurch kommt es zu einer chiralen Amplifikation und Signalverstärkung. Die Methode erfordert lediglich protische funktionelle Gruppen im Analyten als genügend starke Liganden für  $Zn^{II}$ . In einer Abwandlung der Methode lassen sich durch entsprechende Boratkomplexe chirale Aminosäuren und  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren detektieren.<sup>22)</sup>

Mit wenigen Ausnahmen ist der Einsatz von CD-Sonden noch auf Analyte mit Hydroxyl- oder Aminogruppen beschränkt, die sich in organischen Lösungsmitteln lösen. Solche Moleküle lassen sich auch mit chromatographischen Methoden oder durch Umsetzung mit chiralen Auxiliaren vergleichsweise leicht auf ihre Chiralität hin untersuchen. Ziele in der Methodenentwicklung sind also ein breiteres Analytspektrum und Echtzeitdetektion, letzteres um enantioselektive Reaktionen direkt zu verfolgen. Nach Immobilisierung der CD-Sonde sollte es auch möglich

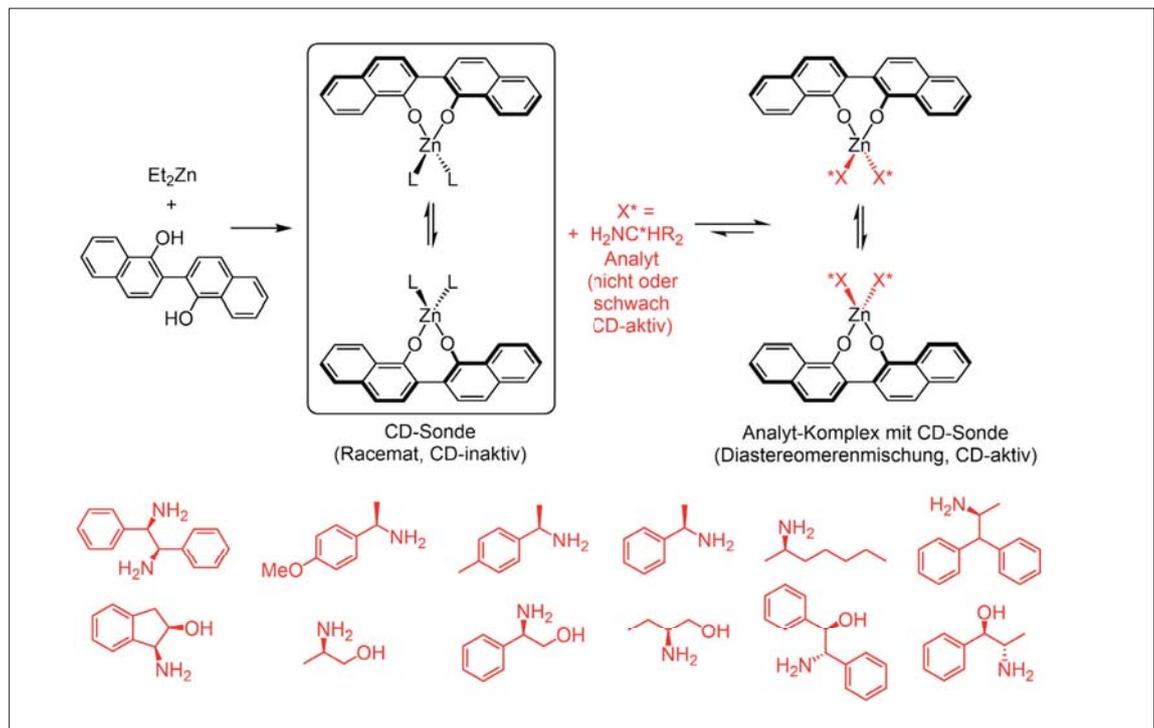


Abb. 5. System zur Chiralitätsdetektion von Aminen. CD-inaktive oder schwach CD-aktive chirale primäre Amine werden durch reversible Reaktion in diastereomere, stark CD-aktive Zinkkomplexe umgewandelt. Untersuchte Analyte sind unten gezeigt.<sup>7)</sup>

sein, im Durchfluss zu messen, was sich für die Detektion in der Flüssigchromatographie (HPLC-CD) eignet. Einige der bereits entwickelten CD-Sonden verhalten sich zwar durch die reversiblen kovalenten Bindungen (etwa unter Bildung von Iminen oder schwachen Metallkomplexen) dynamisch, benötigen allerdings noch Inkubationszeiten von im besten Falle mehreren Minuten.

Sobald neue CD-Sonden zur Verfügung stehen, die auch mit wässriger Lösung kompatibel sind, werden sich neue Möglichkeiten zur Detektion biologischer Analyten eröffnen.

*Suhang He, Werner Nau,  
Jacobs University, Bremen*

#### Literatur

- 15) G. A. Hembury, V. V. Borovkov, Y. Inoue, *Chem. Rev.* 2008, 108, 1–73.
- 16) D. M. Bailey, A. Hennig, V. D. Uzunova, W. M. Nau, *Chem. Eur. J.* 2008, 14, 6069–6077.
- 17) X. Huang, K. Nakanishi, N. Berova, *Chirality* 2000, 12, 237–255.
- 18) S. Shinoda, *Chem. Soc. Rev.* 2013, 42, 1825–1835.
- 19) C. Wolf, K. W. Bentley, *Chem. Soc. Rev.* 2013, 42, 5408–5424.
- 20) L. You, J. S. Berman, E. V. Anslyn, *Nat. Chem.* 2011, 3, 943–948.
- 21) L. You, G. Pescitelli, E. V. Anslyn, L. Di Bari, *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 7117–7125.
- 22) K. W. Bentley, Y. G. Nam, J. M. Murphy, C. Wolf, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 18052–18055.
- 23) F. A. Scaramuzzo, G. Licini, C. Zonta, *Chem. Eur. J.* 2013, 19, 16809–16813.

#### Nanopartikel in der Analytik

◆ Nanopartikel spielen weiterhin eine große Rolle in der Entwicklung neuer und verbesserter analytischer Methoden in Sensorik, Elektro- und Bioanalytik. Neben rein metallischen und Metalloxid-Nanopartikeln kommen Core-Shell- sowie oberflächen-funktionalisierte oder poröse Nanopartikel wie Silicapartikel zum Einsatz. In der Bioanalytik liegt das Hauptaugenmerk weiterhin auf funktionalisierten Goldnanopartikeln.<sup>24)</sup> Auch die Signalverstärkung bei der Ramanspektroskopie durch Gold- und Silbernanopartikel bleibt aktuell.<sup>25)</sup> In der Spurenanalytik dienen Nanopartikel meist zur Signalverstärkung der optischen Detektion mit Plasmonresonanz, Förster-Resonanzenergietransfer oder anderen Lumineszenzeffekten. Eine Anwendung, die viel untersucht wird, ist die Spurenanalytik von Schwermetallen.<sup>26)</sup>

Sensitivitätssteigerung und Miniaturisierung könnten die auf Nanopartikeln basierenden Detektionssysteme (Sensoren) in Umweltüberwachung und medizinischer Diagnostik zu einer Alternative zu klassischen Methoden der Elementanalytik werden lassen. Allerdings beschäftigen sich die meisten Arbeiten bislang nur mit simulierten Proben, also künstlichen Matrices wie gepufferten wässrigen Lösungen oder gespikten Proben.

Eine Herausforderung bleibt daher, solche Methoden zu entwickeln, die sich zur Anwendung in realen Matrices und relevanten Konzentrationen eignen. Da-

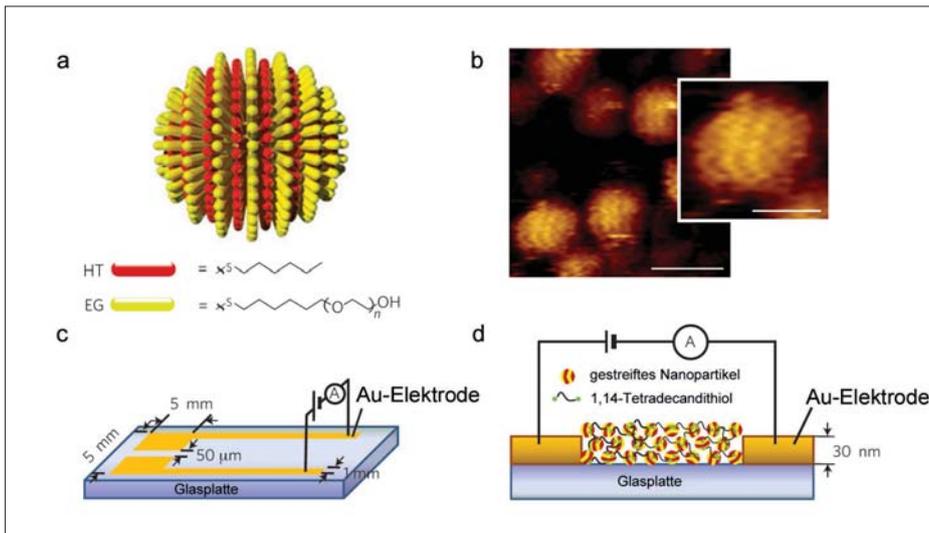


Abb. 6. a) Schema eines ideal gestreiften Nanopartikels; b) rastertunnelmikroskopische Aufnahme eines gestreiften Nanopartikels (Maßstab 10 nm in Hauptbild, 5 nm im eingesetzten Bild). c) Aufbau des Leitfähigkeitssensors und d) Seitenansicht des Messaufbaus.<sup>27)</sup>

bei sind die dort vorkommenden chemischen Spezies der Metalle (Oxidationszustände, Komplexe, alkylierte Metallspezies etc.) zu berücksichtigen. Ein Beispiel hierfür liefern Cho et al.<sup>27)</sup> Sie untersuchten die Änderung des Tunnelstroms entlang eines Films aus modifizierten Goldnanopartikeln in Wasserproben, die verschiedene, auch methylierte Metallspezies enthielten (Abbildung 6). Je nach Modifikation der Goldnanopartikel mit unterschiedlichen organischen Liganden, die als Streifen auf den Nano-

partikeln vorliegen, zeigt dieser Leitfähigkeitssensor besondere Selektivität für Monomethylquecksilber ( $\text{MeHg}^+$ ), Cadmium- ( $\text{Cd}^{2+}$ ) oder Zinkkationen ( $\text{Zn}^{2+}$ ).

Bei der selektiven und effektiven Trennung und Anreicherung von Analyten spielen Nanopartikel ebenfalls eine Rolle. Dabei finden vor allem magnetische<sup>28)</sup> und kohlenstoffbasierte<sup>29)</sup> Nanopartikel Anwendung. So gelingen Trennung und Anreicherung von Blei- und Cadmiumspuren aus Wasserproben über Festphasenextraktion mit dis-

pergierten mehrwändigen Kohlenstoffnanoröhren. Der Extrakt kann dann direkt mit Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzspektrometrie analysiert werden (Abbildung 7).<sup>29)</sup>

Kerstin Leopold, Universität Ulm

#### Literatur

- 24) R. de la Rica, M. M. Stevens, Nat. Nanotechnol. 2012, 7, 821.
- 25) M. Li, S. K. Cushing, J. Zhang et al., Nanotechnology 2012, 23, 115501.
- 26) M. Ling, H. Gou, I. Al-Ogaidi, N. Wu, ACS Sustainable Chem. Eng. 2013, 1, 713.
- 27) E. S. Cho, J. Kim, B. Tejerina et al., Nat. Mater. 2012, 11, 978.
- 28) A. Carpio, F. Mercader-Trejo, L. Arce, M. Valcárcel, Electrophoresis 2012, 33, 2446.
- 29) K. Kocot, B. Zawisza, E. Margui, I. Queralt, M. Hidalgo, R. Sitko, J. Anal. At. Spectrom. 2013, 28, 736.

#### Analytische Raster-sondentechniken

◆ In der elektrochemischen Rastersondenmikroskopie (scanning electrochemical microscopy, SECM) gab es in den letzten zwei Jahren sowohl Ansätze zur hochaufgelösten Abbildung als auch Fortschritte im Abrastern größerer Probensegmente.

Wittstock, Girault und Mitarbeiter haben das Konzept der weichen Mikroelektroden weiterentwickelt, um Mikroelektrodenarrays<sup>30,31)</sup> und miniaturisierte Elektrodensysteme mit Kanälen<sup>32)</sup> zur Applikation oder zum Absaugen von Flüssigkeiten herzustellen. Solche Elektrodensysteme basieren auf parallelen Mikrokanälen mit definierten Abständen, die entweder alle oder partiell mit leitfähigem Material (z. B. Kohlenstofftinte) gefüllt und mit einer dünnen Polymerschicht (Parylene C) isoliert werden. Elektroden und Kanäle wurden durch Schneiden freigelegt. Nähert man dieses Mikrosystem dann unter einem definierten Winkel an die Probenoberfläche, bis die dünne Polymerschicht die Probenoberfläche kontaktiert, ergibt sich ein definierter Abstand der aktiven Elektrodenfläche oder Mikrokanalöffnung zur Probe, der während des Abrasterns konstant bleibt.

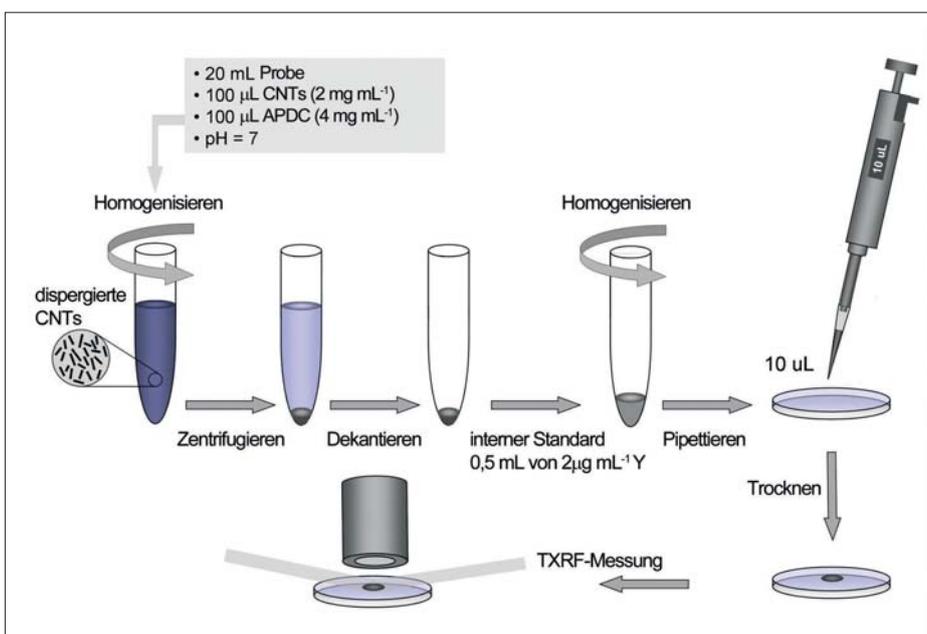


Abb. 7. Anreicherung und Messung von Blei- und Cadmiumspuren in Wasserproben mit Kohlenstoffnanoröhren.<sup>29)</sup>

Mit Hilfe weicher linearer Kohlenstoff-Mikroelektrodenarrays wurden komplexe Strukturen in Oberflächen mit selbstorganisierenden Schichten geschrieben.<sup>33)</sup> In Kombination mit Massenspektrometrie (Maldi-MS) ließen sich geringe Mengen Pikrinsäure, die als Modellsubstanz für Sprengstoffe diente, an einem Fingerabdruck orts aufgelöst nachweisen (Abbildung 8).<sup>5)</sup>

Eine weitere Aspekt in der orts aufgelösten Untersuchung reaktiver Oberflächen ist die Bildung lokaler elektrochemischer Zellen. Mit den beschriebenen miniaturisierten kombinierten Mikroelektroden/Mikrokanalsystemen kann die elektrochemische Zelle auf kleinstem Raum lokalisiert werden, sodass die restliche Probe nicht mit der Lösung in Kontakt kommt.<sup>3)</sup>

Das Konzept der lokalisierten elektrochemischen Zelle gab es bereits in den neunziger Jahren in der Korrosionsforschung. Heute zeigen hochaufgelöste Untersuchungen mit gezogenen Theta-Kapillaren mit Öffnungen um die 100 nm die lokale elektrochemische Reaktivität von polykristallinem Platin.<sup>35)</sup>

In den letzten beiden Jahren wurde vermehrt über miniaturisierte kohlenstoffbasierte Elektroden für Hybrid-Rastersondentechniken berichtet. Kombinierte Rastersondenexperimente nutzten dabei sowohl bordotierten Diamant<sup>36,37)</sup> als auch Elektroden in AFM-Spitzen sowie Kohlenstoffelektroden, die durch Pyrolyse von Polymeren wie Parylene C<sup>38)</sup> erzeugt wurden.

Erstmals wurde eine Kombination aus drei komplementären analytischen Messverfahren in ein multifunktionales Analysesystem integriert: Infrarotspektroskopie mit abgeschwächter Totalreflexion, Spektroelektrochemie und Rasterkraftmikroskopie (IR-ATR-SE-AFM). In diesem Konzept wurde ein hemisphärischer Diamant-Lichtwellenleiter als Einfachrefle-

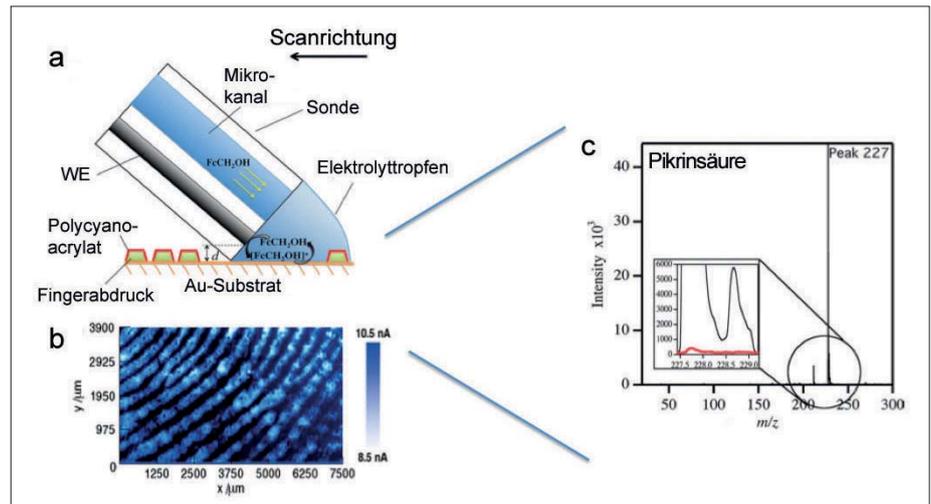


Abb. 8. Elektrochemische Abbildung eines mit Pikrinsäure kontaminierten Fingerabdrucks auf einer Goldoberfläche; a) Push-pull-Elektrodensystem aus Mikrokanal, Arbeitselektrode (WE) und Elektrolyttropfen; b) resultierendes Bild; c) Maldi-MS-Spektrum der über das Push-pull-System lokal gezogenen flüssigen Fraktion.<sup>34)</sup>

xions-ATR-Kristall mit einer bordotieren nanodünnen Diamantschicht (BDD) versehen. Diese IR-transparente Elektrode wurde dann in eine AFM-Flüssigmesszelle integriert (Abbildung 9). Damit ist die elektrochemisch induzierte Polymerisation von 3,4-Ethylendioxythiophen (EDOT) simultan infrarotspektroskopisch und topographisch analysierbar.<sup>39)</sup>

Christine Kranz, Universität Ulm

Literatur

30) F. Cortés-Salazar, D. Momotenko, A. Lesch, G. Wittstock, H. H. Girault, *Anal. Chem.* 2010, 82, 10037–10044.  
 31) A. Lesch, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar et al. *J. Electroanal. Chem.* 2012, 666, 52–61.  
 32) D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, A. Lesch, G. Wittstock, H. H. Girault, *Anal. Chem.* 2011, 83, 5275–5282.  
 33) A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, et al., *Angew. Chem.* 2012, 51, 10413–10416, S10413/1–S10413/23.  
 34) D. Momotenko, L. Qiao, F. Cortes-Salazar, A. Lesch, G. Wittstock, H. H. Girault, *Anal. Chem.* 2012, 84, 6630–6637.  
 35) B. D. B. Aaronson, C. Chen, H. Li, M. T. M. Koper, S. C. S. Lai, P. R. Unwin, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 3873–3880.  
 36) A. Eifert, W. Smirnov, S. Frittmann, C. Nebel, B. Mizaikoff, C. Kranz, *Electrochem. Commun.* 2012, 25, 30–34.  
 37) A. Avdic, A. Lugstein, M. Wu et al. *Nanotechnology* 2011, 22, 145306/1–145306/6.  
 38) R. Thakar, A. E. Weber, C. A. Morris, L. A. Baker, *Analyst* 2013, 138, 5973–5982.  
 39) D. Neubauer, J. Scharpf, A. Pasquarelli, B. Mizaikoff, C. Kranz, *Analyst* 2013, 138, 6746–6752.

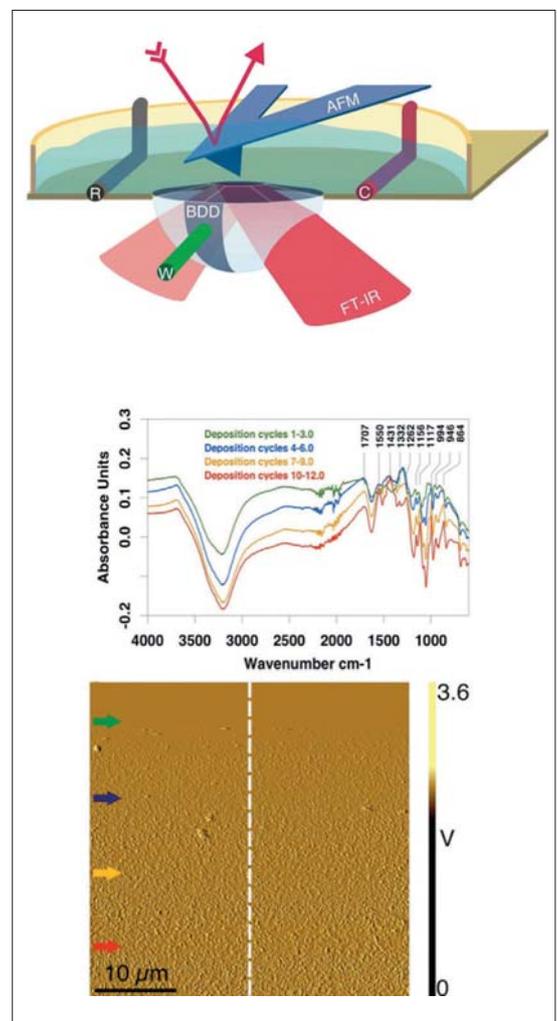


Abb. 9. Oben: multifunktionales Analysesystem aus Infrarotspektroskopie mit abgeschwächter Totalreflexion, Spektroelektrochemie und Rasterkraftmikroskopie (IR-ATR-SE-AFM). Simultane IR-spektroskopische (Mitte) und rasterkraftmikroskopische (unten) Analyse der elektrochemisch induzierten Polymerisation von 3,4-Ethylendioxythiophen (EDOT) an einer bordotierten Diamantelektrode (BDD).<sup>39)</sup>



## Chemometrik

◆ Dem wachsenden Gewicht der Chemometrik in der analytischen Chemie entspricht die weiterhin deutlich zunehmende Zahl von Veröffentlichungen auf diesem Gebiet. Zusätzlich finden chemometrische Methoden (oft, ohne dort so genannt zu werden) in beträchtlichem Umfang Anwendung in anderen Wissenschaften, vor allem in biochemischen Disziplinen, der Medizin sowie der Lebensmittelforschung, aber auch in der Prozesskontrolle und -steuerung. Chemometrische Arbeiten werden nicht nur in Spezialzeitschriften, wie *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* und *Journal of Chemometrics*, publiziert, sondern in praktisch allen renommierten analytischen Fachzeitschriften.

Eine Reihe internationaler Tagungen beschäftigt sich mit den Fortschritten und neuen Anwendungsgebieten der Chemometrik,<sup>40)</sup> aber auch die herkömmlichen analytischen Konferenzen geben der Chemometrik und ihren mannigfaltigen Anwendungen zunehmend Raum. Vor diesem Hintergrund ist die Tatsache, dass die geringe Zahl der Chemometriker in Deutschland zukünftig weiterhin abnehmen wird, äußerst kritisch zu sehen.

Neben der Elementarstatistik stellen Mustererkennung, multivariate Kalibration, Signalbehandlung und Versuchsplanung nach wie vor die wesentlichen chemometrischen Arbeitsgebiete in der analytischen Chemie dar.

Der Schwerpunkt der methodischen Arbeiten der letzten beiden Jahre liegt weiterhin auf dem Gebiet der Künstlichen Neuronalen Netze (ANN). Der leicht abnehmende Trend der Zahl der Publikationen weist aber darauf hin, dass der Zenit der Entwicklung und Anwendung dieser, insbesondere für nichtlineare Trennprobleme sehr gut einsetzbaren Methode offensichtlich überschritten ist. Lediglich die Zahl der Arbeiten zu den

self-organizing maps ist weiterhin zunehmend. Interessant ist der wachsende Einsatz von ANN im medizinischen Bereich, vor allem in der Hirnforschung (Ursprünglich ist das Konzept der ANN von den echten neuronalen Netzen adaptiert worden.).

Die Partial-least-squares-Regression (PLS) wird nach wie vor sehr häufig – meist in Kombination mit Methoden der Variablenselektion bzw. -reduktion, zum Beispiel genetischen Algorithmen, – eingesetzt. Oft wird diese Methode zur Auswertung von Raman- und IR-Spektren genutzt.

Die stärkste Entwicklung ist bei der Anwendung der support vector machines (SVM) zu verzeichnen. Der herausragende Vorteil dieser chemometrischen Methode liegt in der Fähigkeit, ineinander verschachtelte Datenmengen und -klassen optimal zu trennen. Die Originaldaten werden in hochdimensionale Räume transferiert und dort linear separiert. Anschließend erfolgt die Rücktransformation in die jeweiligen Originalräume. SVM werden sowohl in der analytischen Forschung als auch in der Prozessanalytik und der medizinischen Diagnostik, beispielsweise zur Identifizierung entarteter Zellen in gesunden Zellverbänden, angewendet.

Als aktuelle chemometrische Technik ist weiterhin die Imageanalyse zu erwähnen. Deren Bedeutung wird mit der Entwicklung bildgebender analytischer Verfahren, das heißt der orts aufgelösten Analytik, aber auch der Kopplung höherdimensionaler Trennverfahren mit hochauflösenden spektroskopischen Detektionsprinzipien weiterhin stark zunehmen. Der Einsatz von Mehrwegemethoden, wie die Mehrwege-PLS oder PARAFAC, zur Behandlung dieser komplexen Daten ist hier erforderlich. Zur Auflösung von Gemischspektren wie auch Chromatogrammen wird oft die multivariate Kurvenauflösung mit dem Alternating-least-squares-Algorithmus genutzt. Die Wavelettransformation wird

ebenfalls häufig zur Signalauflösung und -entrauschung eingesetzt.

Bisher sind chemometrische Vorbereitungen, Anwendungen und Aus- sowie Bewertungen analytischer Fragen meist Einzelstudien. Zur weiteren Verbreitung der Chemometrik ist es zwingend erforderlich, holistische, verallgemeinerungsfähige Strategien zur Vorbereitung und Anwendung chemometrischer Methoden zu entwickeln.

Die schnelle Entwicklung der Analytik vor allem bei den bildgebenden Verfahren und den Kopplungstechniken bedingt einerseits die Notwendigkeit der Entwicklung neuer chemometrischer Methoden, die eine effektive Datenkompression bei gleichzeitiger Rausch- und Redundanzeliminierung ermöglichen. Andererseits ist die Weiterentwicklung bestehender Softwarepakete und die Einführung neuer anwendungsfreundlicher rechentechnischer Lösungen zur Aus- und Bewertung der anfallenden sehr großen Datenmengen zu forcieren.

Eine detaillierte Übersicht über die jüngere Entwicklung der Chemometrik mit Quellenangaben wird von Lavine und Workman gegeben.<sup>40)</sup> Konkrete wissenschaftliche Arbeiten zu aktuellen chemometrischen Schwerpunkten sind im Jubiläumsheft des *Journal of Chemometrics* veröffentlicht.<sup>41)</sup>

Jürgen W. Einax, Universität Jena

### Literatur

- 40) B. K. Lavine, J. Workman Jr., *Anal. Chem.* 2013, 85, 705–714  
 41) P. Gemperline, (Hrsg.), *J. Chemometrics* 2012, 26, 6, Special Issue: 25th Anniversary.

**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. Seit 2007 ist er Professor für Analytische und Bioanalytische Chemie an der Universität Ulm. Im Auftrag der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie hat er den Trendbericht koordiniert.