

Vertiefen Sie Ihr Wissen über Planar-Chromatographie

Es ist mehr als das, was es einmal war

2013 feiert die Planarchromatographie ihren 75. Geburtstag [1]. Es scheint sich um eine alte Methode zu handeln, die einen unwesentlichen Beitrag zur Lösung der analytischen Aufgaben von heute leistet. Gerade wegen ihrer Leistungsvielfalt wird die Planarchromatographie permanent kontrovers diskutiert.

Es hängt vom Grad der fortgeschrittenen Kenntnisse und von der Erfahrung des jeweiligen Analytikers ab, ob man sie als ein Chromatographieverfahren ohnegleichen für diffizile analytische Probleme oder als eine entbehrliche, unbedeutende Version der Flüssigkeitschromatographie betrachtet.

Anwendungen der Planar-Chromatographie haben in der Vergangenheit nicht die notwendige kritische Masse erreicht, um die Methode an sich voranzutreiben; sie ist nie in zufriedenstellender Weise gelehrt worden und hat folglich auch nie die entsprechende Anerkennung und Finanzierung erhalten. Die Aussage „Die meisten Menschen gehen eher gefühlsmäßig als mit Sachverstand an die Dünnschicht-Chromatographie (TLC) heran, mit der unvermeidlichen Folge riskanter Ergebnisse und Unwissenheit über das wahre Potenzial der Dünnschicht-Chromatographie.“ [2] ist immer noch aktuell.

Trotz dieser Hindernisse hat sich die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie (HPTLC) in den letzten Jahrzehnten signifikant weiterentwickelt. Konkurrenzlose Merkmale aufgrund des planaren, bildgebenden Formats weckten das Interesse der Analytiker an genauen Probenvergleichen. Eine Standardisierung der Methode führte zur Vergleichbarkeit von Chromatogrammen, was den Weg zur Einrichtung von Bild-datenbanken ebnete. Die kombinierte Kopplung an Bioassays und hochauflösende Massenspektrometrie ermöglichte den schnellen, direkten Verweis auf die Verbindungen, die die jeweilige Wirkung aufweisen (Wirkungsorientierte Analytik). Solch eine effektive Strategie könnte die Suche nach Naturstoffen revolutionieren. Man kann sogar schlussfolgern, dass die Planar-Chromatographie noch mit weiterem großen Potenzial aufwarten kann. Nicht nur die hohe Flexibilität in Hinsicht auf Kopplungen, sondern auch die neue Disziplin der Office Chromatographie (miniaturisierte Planar-Chromatographie) werden den Fortschritt der Methode durch die

Kombination mit innovativen Druck- und Medientechnologien fördern [3,4].

Automatisierung

Alle HPTLC-Schritte können automatisch durchgeführt werden, und das ist häufig die wesentliche Voraussetzung für eine erfolgreiche Lösung der jeweiligen analytischen Aufgabe. Alle Instrumente können in einer streng regulierten Umgebung über eine gemeinsame Software-Plattform bedient werden, was die Routineanwendung komfortabel macht. Heutzutage ist die Laborzeit auf die Zeit für den Plattentransfer zwischen den automatisierten Arbeitsstationen reduziert, sodass verglichen mit der Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) für bis zu 40 Proben parallel auf einer Platte nur wenige Minuten zusätzlich nötig sind. Derzeit weisen Laufstrecken (R_F -Werte) bei Verwendung intelligenter Entwicklungskammern eine Präzision von $\pm 0,5$ bis 1 mm auf verglichen mit den allgemein verwendeten Trogkammerentwicklungen. Bei Einsatz standardisierter HPTLC-Methoden (basierend auf automatisierten Entwicklungskammern mit Überwachung der Plattenaktivität) sind die Chromatogramme weltweit über Jahre hinweg vergleichbar.

Fragen zu Ähnlichkeiten oder Unterschieden zwischen den Proben, Pass/Fail-Angaben, das Identifizieren wichtiger aus einer Vielzahl von Proben usw. werden auf ideale Weise durch das verlässliche HPTLC-Bild gelöst. So können Retentionsdaten (R_F), Farbintensitäten (Signalintensitäten) und Farbnuancen (Absorptionswellenlängen) ohne weiteres als Bild verglichen oder einer multivariaten Datenanalyse unterzogen werden. Hoher Probendurchsatz und Kosteneffizienz kombiniert mit Zuverlässigkeit

GDCh Kurs 335/13: Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie-Massenspektrometrie (HPTLC-MS) und weitere Kopplungen

13. November, 2013 in Gießen
Ziele des Kurses:

- Potenzial der HPT LC erkennen
- Aktuelle Kopplungen der HPT LC kennenlernen
- Erkennen, wie Hyphenations (Kopplungen) in der HPT LC die Analytik effizient unterstützen
- HPTLC-UV/Vis/FLD-ESI-MS mit Experiment
- HPT LC-UV/Vis/FLD-Bioassay-ESI-MS mit Experiment
- HPT LC-UV/Vis/FLD-ATR -FTIR mit Experiment
- DC-HPLC-DAD -MS mit Experiment
- HPT LC-UV/Vis/FLD-MA LDI -TOF -MS mit Experiment
- HPT LC-UV/Vis/FLD-DART -MS mit Experiment
- Diskussion der unterschiedlichen Hyphenations

fb@gdch.de
www.gdch.de/fortbildung

(Verifizierung der HPTLC-Resultate durch Vergleich mit bewährten Methoden) haben die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie zum überlegenen Verfahren für Qualitätskontrollanalyse am Beispiel des Hydroxymethylfurfural-Gehalts in Honig gemacht, der ein Indikator für dessen Frische ist [5] (Abb. 2). Viele andere Vergleichsverfahren bestätigen die Verlässlichkeit [6–8].

Anwendung der Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie

In jüngsten Untersuchungen [9,10] wurden schnelle HPTLC-Trennungen diskutiert, die eine ähnliche Schnelligkeit aufwiesen wie schnelle

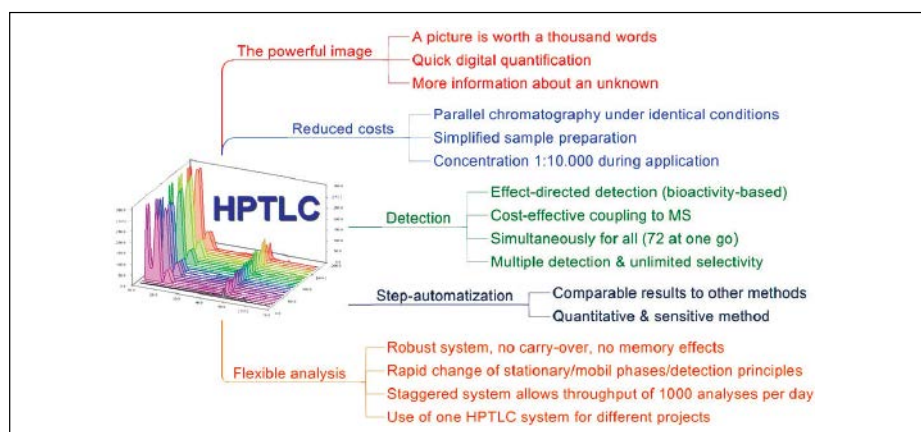


Abb. 1: Konkurrenzlose Eigenschaften der Planar-Chromatographie dank des planaren Formats.

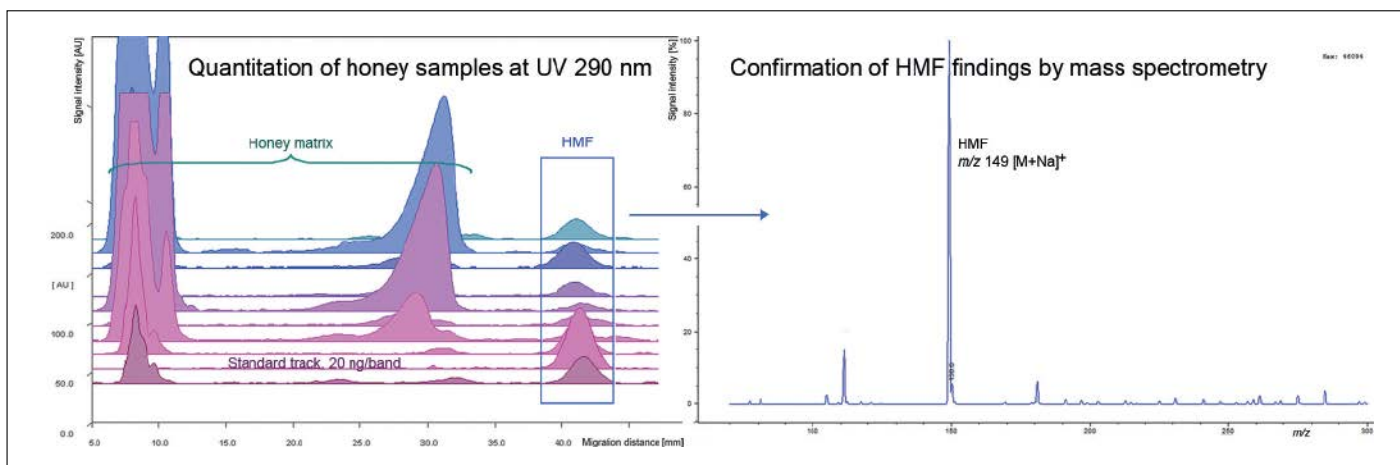


Abb. 2: Schnelle und zuverlässige HPTLC-Analytik von Hydroxymethylfurfural (HMF) in Honigproben.

HPLC. Dies wurde anhand von Parallelanalysen von bis zu 46 Bestimmungen innerhalb von 15 Minuten demonstriert (das sind 20 Sekunden pro Bestimmung), wobei 200 µl mobile Phase pro Bestimmung verbraucht wurden [5] (Abb. 3). Im Falle eines Lebensmittelskandals beispielsweise kann die HPTLC leicht ein erhöhtes Probenaufkommen von 1.000 Proben pro 8-Stunden-Tag bewältigen, wenn die automatisierten HPTLC-Schritte in einem 20-Minuten-Intervall synchronisiert werden.

Die ausschließlich auf die Dünnschicht-Chromatographie begrenzte Lehre führt zu einem erheblichen Mangel an fortgeschrittenen Kenntnissen über die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie und an praktischem Wissen über ihre vielen nutzbringenden Eigenschaften (Abb. 1). Im Allgemeinen wird zum Beispiel das Detektionsvermögen nicht voll ausgenutzt. Optionen wie großvolumige Anwendungen mittels flächenförmiger Auftragung, z.B. für matrixreiche Proben, Zonenfokussierung durch automatisierte Mehrfachentwicklung (AMD 2-System), Verwendung reduzierter Dicken oder Einsatz sensiblerer Derivatisierungsreagenzien würden im Bedarfsfall eine Sensitivitätssteigerung bis zu einem Faktor von z.B. 1.000 bieten. Sie werden aber selten eingesetzt.

Ein relativ neues Gebiet, das sich großen Interesses erfreut, schnell wächst und für Kopplungen mit Planar-Chromatographie attraktiv

ist, ist die Massenspektrometrie mit ambienten Ionisierungstechniken. Direkter Probenzugriff unter Umgebungsbedingungen und die Möglichkeit, innerhalb von einer Minute oder sogar innerhalb von Sekunden kontaminationsfreie Massenspektren von zu untersuchenden Zonen auf einer HPTLC-Platte zu erhalten, tragen erheblich zu den Fortschritten der Planar-Chromatographie bei.

Die Verbindung der Planar-Chromatographie mit der Massenspektrometrie war ein Verdienst des letzten Jahrzehnts und wird immer noch weiter entwickelt [11]. Die Erfindung von Ionenquellen, die unter Umgebungsbedingungen und atmosphärischem Druck funktionieren, erleichterte die Einführung eines planaren Objekts.

In der nahen Zukunft stattfindende Veranstaltungen wären eine ideale Gelegenheit, um herauszufinden, ob die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie eine geeignete Lösung für die eigenen analytischen Probleme oder Herausforderungen wäre. Einige wichtige Termine:

Analytiker können weiterführendes Wissen über HPTLC und die Kopplung mit anderen Methoden beim GDCh-Kurs am 13. November 2013 in Gießen erwerben (siehe Textkasten).

Mehr als 310 Teilnehmer aus über 40 Nationen besuchten das letzte HPTLC-Symposium 2011 in Basel. Die nächste Veranstaltung, HPTLC 2014, wird vom 2.–4. Juli 2014 in Lyon stattfinden (www.hptlc.com).

Literatur

- [1] Izmailov N. A. und Shraiber, M. S.: Farmatsiya 3 1-3 (1938)
- [2] Geiss F.: Fundamentals of TLC (1987)
- [3] Matheson A.: LCGC Europe 23 508–512 (2010)
- [4] Morlock G. et al.: Anal. Chem. 82 2940–2946 (2010)
- [5] Chemetsova E. S. et al.: Anal. Bioanal. Chem. 401 325–32 (2011)
- [6] Morlock G. und Oellig C.: J. AOAC Int. 92 745–756 (2009)
- [7] Morlock G. und Vega M.: J. Planar Chromatogr. 20 411–417 (2007)
- [8] Morlock G. und Gamlich F.: J. Planar Chromatogr. 25 244–250 (2005)
- [9] Morlock G. und Schwack W.: J. Planar Chromatogr. 20 399–406 (2007)
- [10] Morlock G. und Schwack W.: LC-GC July 366–371 (2008)
- [11] Morlock G. und Schwack W.: Trends in Anal. Chem. 29/10 1157–1171 (2010)

KONTAKT

Prof. Dr. Gertrud Morlock
Justus-Liebig-Universität Gießen
Institut für Ernährungswissenschaft
Gießen, Deutschland
gertrud.morlock@ernaehrung.uni-giessen.de
www.uni-giessen.de/fbr09/food

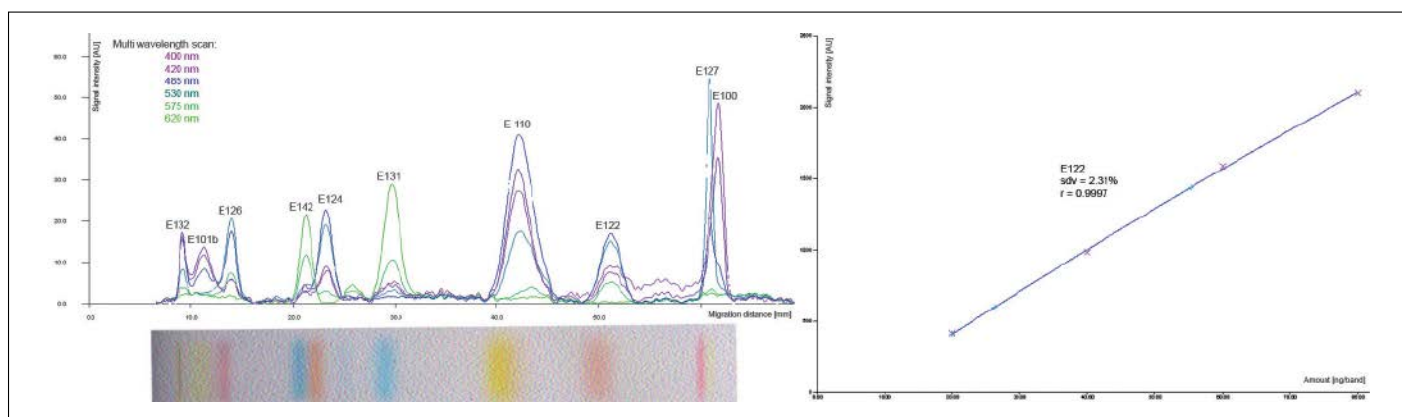


Abb. 3: Mehrwellenlängen-Scan einer Lebensmittelzusatzstoffmischung (Absorptionskurvenüberlagerung von 6 Wellenlängen); exemplarisch wird die Kalibrierfunktion von E122 (x) gezeigt, zur Quantifizierung von E122 in einer Fruchtsaftprobe (+).