

Inhaltsverzeichnis

1	Geschichte der Planarchromatographie	1
1.1	Die Geschichte der Chromatographie	2
1.2	Geschichte der Dünnschichtchromatographie (DC)	7
1.3	Geschichte der quantitativen Planarchromatographie	9
	Literatur	11
2	Theoretische Grundlagen der Dünnschichtchromatographie (DC)	15
2.1	Planar- und Säulenchromatographie	15
2.2	Die kapillare Fließbewegung in der DC	18
2.3	Verteilungsgleichgewichte in der DC	20
2.3.1	Adsorptionschromatographie	21
2.3.2	Verteilungschromatographie	22
2.4	Der Retentionsfaktor (R_f -Wert)	25
2.4.1	Der empirische R_f -Wert	25
2.4.2	Der thermodynamische R_f' -Wert	26
2.5	Die Phasenzusammensetzung in der DC-Schicht	28
2.6	Übertragung von DC-Trennungen auf HPLC-Säulen	30
2.7	Der R_m -Wert	31
2.8	Die Temperaturabhängigkeit von DC-Trennungen	32
2.9	Das allgemeine Chromatographiegesetz	33
2.10	Trennung und Signalauflösung	39
2.11	Die Signalverbreiterung in der DC	43
2.11.1	Der A -Term	43
2.11.2	Der A -Term	44
2.11.3	Der C -Term	45
2.11.4	Lokale Trennstufenhöhe H	45
2.11.5	Die <i>van-Deemter</i> -Gleichung	46
2.12	Optimale Trennbedingungen in der DC	48
2.13	Die Trennzahl nach R. E. Kaiser	50
2.14	Reale Plattenhöhen	53
	Literatur	54

3	Die stationäre Phase in der Dünnschichtchromatographie	57
3.1	Aktivierung und Deaktivierung der stationären Phase	58
3.2	Das Adsorptionsmodell nach L. R. Snyder	59
3.3	Die Schichtmaterialien	61
3.3.1	Die Plattschichtdicke (d_f)	64
3.3.2	Die mittlere Korngröße (d_p)	64
3.3.3	Die Korngrößenverteilung	65
3.3.4	Die spezifische Oberfläche ($O_s = V_s/d_p$)	65
3.3.5	Porenvolumen (V_p)	65
3.3.6	Der mittlere Poredurchmesser (P_d)	65
3.4	Die wichtigsten stationären Phasen in der DC	66
3.4.1	Aluminiumoxid	66
3.4.2	Magnesiumsilicat	66
3.4.3	Kieselgel	66
3.4.4	Gebundene Kieselgelphasen	70
3.4.5	Kieselgur	74
3.4.6	Cellulose	74
3.4.7	Polyamid	76
3.4.8	Ionenaustauscherharze	77
3.4.9	Chirale DC-Phasen	77
3.4.10	Fluoreszenzindikatoren in der Schicht	79
3.4.11	Selbst hergestellte Platten	79
3.5	Lichtabsorption an Plattenoberflächen	80
	Literatur	84
4	Die mobile Phase in Absorptions- und Verteilungschromatographie	87
4.1	Die Eigenschaften von Fließmitteln	88
4.2	Die Theorie der Fließmittel in der Adsorptionschromatographie (nach Snyder)	90
4.2.1	Die Fließmittelstärke (ε^0)	91
4.3	Die Theorie der Fließmittel in der Verteilungschromatographie	95
4.3.1	Theorie der Fließmittelstärke (nach Snyder)	96
4.3.2	Andere Methoden zur Fließmittelcharakterisierung	99
4.4	Optimierung der Fließmittelzusammensetzung	99
4.5	Das PRISMA-Modell (nach Sz. Nyiredy)	105
4.6	Fließmittel mit festen Zusätzen	107
	Literatur	111
5	Probenvorbereitung und Probeauftragung	113
5.1	Die Probenvorbereitung	113
5.1.1	Der QuEChERS-Ansatz	113
5.1.2	Stirbar Sorptive Extractions	114
5.1.3	Solid-phase-Extraktion (SPE)	115
5.2	Die Qualität der Auftragung (Q_D)	117
5.3	Die Wahl der Auftragestelle	121

5.4	Praktische Methoden der Auftragung	122
5.4.1	Auftragung mit Plattenkontakt	122
5.4.2	Auftragung ohne Plattenkontakt	123
5.4.3	Auftragung über Kontakt-Spotting	123
5.4.4	Plattenüberladung und unvollständiges Trocknen	125
Literatur		127
6	Entwicklungstechniken in der Dünnenschichtchromatographie	129
6.1	Der Einfluss der Dampfphase	129
6.2	Kammerarten	133
6.2.1	Die N-Kammer (Trogkammer)	133
6.2.2	Die S-Kammer (Schmalkammer)	134
6.2.3	Die Vario-KS-Kammer	135
6.2.4	Die H-Kammer (Horizontalkammer)	136
6.3	Steuerung über die Dampfphase	137
6.3.1	Entwicklung ohne Plattenvorbehandlung	137
6.3.2	Plattenvorbeladung über die Dampfphase	141
6.4	Zirkulare Trennungen	144
6.5	Gradienten in der DC	147
6.5.1	Theorie der Gradientenchromatographie	147
6.5.2	Dampfgesteuerte Gradientenentwicklung	154
6.5.3	Mehrfachentwicklungen in der DC	155
6.5.4	Automatische Mehrfachentwicklung (AMD)	156
6.6	Normalphasentrennung mit wasserhaltigen Fließmitteln	159
6.7	Plattenentwicklungen mit erzwungenem Fluss	159
6.7.1	Rotationsplanarchromatographie (RPC)	160
6.7.2	Overpressure Planar Layer Chromatography (OPLC)	160
6.8	Zweidimensionale DC	162
6.8.1	Orthogonale Entwicklungen	162
6.8.2	Grafted TLC	163
6.8.3	Stabilitätstest und TRT-Technik	165
6.9	Trocknen der Platte	167
Literatur		167
7	Spezifische Färbereagenzien	171
7.1	Chemische Umsetzungen vor der Trennung (prächromatographische Derivatisierungen)	173
7.1.1	Anreicherung durch prächromatographische Derivatisierung	174
7.1.2	Prächromatographische In-situ-Reaktionen	177
7.1.3	Prächromatographische Farbstoff- und Fluoreszenzderivatisierung	181
7.1.4	Reagenz im Fließmittel	186
7.2	Chemische Umsetzungen nach der Trennung (postchromatographische Derivatisierungen)	186

7.2.1	Reagenzien zur Verstärkung der Fluoreszenz	189
7.2.2	pH- und Redox-Indikatoren	190
7.2.3	Universell anwendbare Reagenzien (Charring-Reagenzien)	191
7.2.4	Aldehyd-Universalreagenzien	192
7.2.5	CH- und NH-aktive Reagenzien	195
7.2.6	CH- und NH-aktive Reagenzien	201
7.2.7	Basenreagenzien und Säurerreagenzien	204
7.2.8	Chloramin-T-Reagenzien	205
7.2.9	Diazotierungsreaktionen	206
7.2.10	Wurster-Reagenz und Iod-Stärke Reagenz	207
7.2.11	Reaktionen mit Metallkationen	209
7.2.12	Reagenzien für Metallkationen	213
7.3	Reaktionen über die Gasphase	215
7.3.1	Ammoniumbicarbonat-Reagenz	215
7.3.2	Zinn(IV)-chlorid-Reagenz	216
7.3.3	HCl-Reagenz	216
7.3.4	Trichloressigsäurerreagenz	217
7.3.5	Salpetersäurerreagenz	217
7.3.6	<i>tert</i> -Butylhypochlorit-Reagenz	218
7.4	Thermische Umsetzungen auf der Platte	218
7.5	Aktivitätsanalyse mit chemischen Reagenzien	219
7.5.1	Folin-Ciocalteu-Reagenz	219
7.5.2	Prüfung auf Radikalfänger-Aktivität mittels DPPH-Reagenz	220
7.5.3	Nucleophile Reaktionsfähigkeit	220
	Literatur	221
8	Wirkungsbezogene Umsetzungen auf der DC-Platte (direktes Bio-monitoring)	227
8.1	Prinzip der Methode	228
8.1.1	Schadstoffanalytik in Umwelt und Lebensmitteln und das Prinzip der wirkungsbezogenen Analytik	228
8.1.2	Zielvorgaben und Grundlagen der wirkungsbezogenen Analytik mit der Dünnschichtchromatographie	229
8.1.3	Dünnschichtchromatographie, ein geeignetes Verfahren für die wirkungsbezogene Analytik	229
8.1.4	Prinzip der wirkungsbezogenen Analytik in der Dünnschichtchromatographie	230
8.2	Allgemeine Voraussetzungen für die Analyse bioaktiver Substanzen	233
8.3	Enzymtests	234
8.3.1	Einflüsse der verschiedenen Sorbenzien auf die Enzymaktivität	234
8.3.2	Detektion von Inhibitoren der Cholinesterase	234

8.3.3	Verfahren zur Durchführung des Cholinesterasehemmtests mit der Dünnschichtchromatographie	236
8.3.4	Verfahren zur Bestimmung von Schwermetallen mittels des Enzyms Urease	243
8.3.5	Einsatz von Redox-Enzymen zur selektiven Detektion von Substraten	244
8.3.6	Definierte Bedingungen für Enzymtests auf der Dünnschichtplatte zur Quantifizierung von bioaktiven Stoffen und zur Validierung	245
8.3.7	Anwendungsbeispiele für den Einsatz enzymatischer Hemmteste mit der Dünnschichtchromatographie . .	248
8.4	Detektion von Herbiziden durch die Hemmung der Fotosynthese in Chloroplasten	253
8.4.1	Isolierung der Chloroplasten und Lagerung der Chloroplastensuspension	254
8.4.2	Durchführung des Fotosynthesehemmtests auf der Dünnschichtplatte	254
8.5	Detektion bioaktiver Stoffe mit <i>Photobacterium fischeri</i>	255
8.5.1	Herstellung einer Kultur Leuchtbakterien	257
8.5.2	Durchführung des Leuchtbakterienhemmtests auf der Dünnschichtplatte	258
8.5.3	Anwendungsbeispiele für den Einsatz des Leuchtbakterienhemmtests mit der Dünnschichtchromatographie	260
8.6	Detektion fungizider Substanzen mit Hefe- bzw. <i>Penicillium</i> -stämmen	262
8.6.1	Methodenbeschreibung zur Detektion von Fungiziden .	263
8.6.2	Reinheitskontrolle und Stabilitätstests von Standardsubstanzen	264
8.6.3	Detektion von fungizid wirkenden Stoffen im Oberflächengewässer	265
8.6.4	Detektion von Fungiziden in Lebensmittelproben .	266
8.7	Detektion von Substanzen mit antibiotischer Wirkung	268
8.7.1	Methodenbeschreibung zur Detektion von antibiotisch wirkenden Substanzen	269
8.7.2	Detektion von antibiotisch wirkenden Stoffen im Oberflächengewässer	271
8.8	Detektion östrogener Wirkung mit der Dünnschichtchromatographie (p-YES-Test)	273
8.8.1	Prinzip des p-YES-Tests	275
8.8.2	Darstellung der Methode und ihre Anwendungsbeispiele	276
8.8.3	Vorteile des p-YES-Testes und seine Anwendungsmöglichkeiten	278

8.9	Schlussfolgerungen und Ausblick	279
Literatur		280
9	Detektoren in der Dünnschichtchromatographie	285
9.1	Transmissionsmessungen in der Dünnschichtchromatographie	285
9.1.1	Das <i>Bouguer-Lambert-Beer-Gesetz</i>	286
9.2	Remissionsmessungen in der DC und HPTLC	287
9.2.1	Die Kubelka-Munk-Gleichung	288
9.3	Diodenarray-Scanner	291
9.3.1	Remissionsmessungen mittels Dioden-Array-Technik	291
9.3.2	Spezielle Lichtleiterinterfaces	291
9.3.3	Ortsauflösung auf der Platte	295
9.3.4	Spektrale Lichtverteilung auf der Platte	296
9.3.5	Transformationsalgorithmen in der Diodenarray-DC	297
9.3.6	2-D-Auswertungen	300
9.4	Videodensitometrie	302
9.4.1	CCD-Kameras	303
9.4.2	Flachbettscanner	305
9.4.3	Tipps zum Kauf eines CCD-Gerätes	309
9.4.4	Lumineszenzmessungen mit CCD-Kameras	311
9.5	Infrarot- und Raman-Detektion in der DC	315
9.5.1	DC-Messungen	
	durch diffuse Reflektions-Infrarotanalyse	315
9.5.2	DC-Analyse	
	durch Nahinfrarot-FT-Raman-Spektrometrie	315
9.5.3	Messung von DC-Spektren mittels Surface-Enhanced Raman Scattering Spectrometry (SERS)	316
9.6	Massenspektrometrische Detektion in der DC	317
9.6.1	Direkte Plattenextraktion (SSSP)	318
9.6.2	MALDI-Technik (MALDI-MS)	318
9.6.3	Atmosphärendruck-Massenspektrometrie	320
9.7	DC-Radiochromatographie (DC-RC)	322
9.7.1	Direkte Radioaktivitätsmessungen auf der Platte	322
9.7.2	Phosphorbildplatten-Speicherung	323
Literatur		325
10	Diffuse Reflexion an DC- und HPTLC-Platten	331
10.1	Das <i>Lambert'sche Kosinusgesetz</i>	331
10.2	Theorie der diffusen Reflexion	333
10.2.1	Der Spezialfall der Kehrwertgleichung	339
10.2.2	Der Spezialfall der Fluoreszenzformel	340
10.2.3	Der Spezialfall der Fluoreszenzformel	341
10.3	Masseabhängige Remission	342
10.4	Vereinfachte Formeln	347
Literatur		347

11	Fluoreszenz in der DC- und HPTLC-Schicht	349
11.1	Theorie der Fluoreszenz und der Phosphoreszenz	349
11.2	Fluoreszenzverstärkung auf der DC-Platte	351
11.3	Quantitative Fluoreszenzmessung auf der DC-Platte	354
11.3.1	Fluoreszenz in streuenden Medien bei niedriger Analytkonzentration	355
11.3.2	Fluoreszenz in streuenden Medien bei hoher Analytkonzentration	356
11.3.3	Kontourplot zur Fluoreszenzauswertung	357
11.4	Platten mit Fluoreszenzindikator	359
	Literatur	361
12	Chemometrie in der HPTLC	363
12.1	Bestimmung von R_f -Werten	363
12.2	Substanzidentifizierungen über UV-vis- und Fluoreszenzspektren	365
12.3	Korrelationsspektroskopie	367
12.3.1	Korrelationsrechnung	367
12.3.2	Kombinierte Substanzerkennung mittels R_f -Werten und UV-vis-Spektren	369
12.3.3	Überprüfung der Peakreinheit	370
12.4	Wahl der Auswertungswellenlänge	371
12.5	Statistischer photometrischer Fehler (Detektorvarianz)	373
12.5.1	Der Fehler im Kehrwertmodell	375
12.5.2	Der relative Fehler im Kubelka-Munk-Modell	376
12.5.3	Der relative Fehler im logarithmischen Absorptionsmodell	377
12.5.4	Der relative Fehler im Fluoreszenzmodell	377
12.5.5	Minimierung des statistischen Photometerfehlers	378
12.6	Bündeln von Dioiden und Glättung der Daten	380
12.7	Peakintegration: Fläche oder Höhe?	382
12.8	Mehrwellenlängen-Spektrometrie zur Mehrkomponentenanalyse	384
12.9	Neue Visualisierungsmethoden in der DC	388
	Literatur	389
13	Quantitative Auswertung in der HPTLC	391
13.1	Der Mittelwert	391
13.2	Varianz und Präzision	392
13.2.1	Die Definition der Varianz	393
13.2.2	Relative Varianz	394
13.2.3	Bestimmung der relativen Varianz	396
13.3	Präzision, Richtigkeit und Genauigkeit	397
13.4	Die Standardnormalverteilung (<i>Gauß-Funktion</i>)	398
13.4.1	Die Fläche der Gauß-Verteilung	399

13.4.2	Quantile der Gauß-Verteilung	399
13.4.3	Test auf Normalverteilung	401
13.5	Die Student-Verteilung (<i>t</i> -Verteilung)	402
13.6	Fehlerfortpflanzung in der DC	403
13.7	Kalibriermodelle	405
13.7.1	Lineare Kalibrierung (Geradenausgleich)	406
13.7.2	Bestimmung der Datenschwerpunkte	407
13.7.3	Bestimmung der Geradensteigung	409
13.7.4	Varianzbestimmung der Steigung und des Schwerpunktes	410
13.8	Der <i>F</i> -Test	411
13.9	Der Vertrauensbereich im Modell der „linearen Regression“	412
13.10	Die Analysenfunktion der linearen Regression	413
13.11	Quantitative Analyse über die Methode des externen Standards	416
13.12	Kalibrierfunktion eines Polynoms zweiten Grades	418
13.12.1	Vertrauensbereich des Polynoms zweiten Grades	418
13.12.2	Analysenfunktion des Polynoms zweiten Grades	421
13.13	Überprüfung auf systematische Fehler	423
13.13.1	Konstante systematische Abweichungen	423
13.13.2	Proportionale systematische Abweichungen	424
13.14	Methode des internen Standards	424
13.15	Standardadditionsverfahren	426
13.16	Mittelwert- <i>t</i> -Test	429
	Literatur	430
14	Analysenplanung und Validierung in der HPTLC	431
14.1	Begriffsdefinitionen bei der Validierung	431
14.2	Methodenvalidierung	433
14.2.1	Überprüfung der Selektivität	433
14.2.2	Anzahl der Messungen	435
14.2.3	DC-Auftragung und Messen einer Bahn	435
14.2.4	Die Kalibrierung in der DC	437
14.3	Die Präzision in der DC	441
14.4	Wie werden richtige Ergebnisse erhalten?	441
14.4.1	Die Wiederfindungsrate	442
14.4.2	Bestimmung der Richtigkeit über Aufstockungen	442
14.4.3	Die Wiederfindungsfunktion	443
14.5	Vertrauensbereich einer Messung	444
14.6	Bestimmungs- und Nachweisgrenze	445
14.6.1	Die Nachweisgrenze (LOD)	446
14.6.2	Die Bestimmungsgrenze (LOQ)	446
14.6.3	Die Bestimmungsgrenze (LOQ) und Nachweisgrenze (LOD), berechnet aus dem Vertrauensbereich der Kalibrierung	447

14.7	Robustheit der DC-Methode	449
14.8	Kontrollkarten in der Routineanalytik	450
Literatur		451
Erratum zu: Quantitative Dünnschichtchromatographie		E1
Sachverzeichnis		453