

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Geschichte der Planarchromatographie</b>	<b>1</b>
1.1	Die Geschichte der Chromatographie	2
1.2	Geschichte der Dünnschichtchromatographie (DC)	7
1.3	Geschichte der quantitativen Planarchromatographie	9
	Literatur	11
<b>2</b>	<b>Theoretische Grundlagen der Dünnschichtchromatographie (DC)</b>	<b>15</b>
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

<b>3</b>	<b>Die stationäre Phase in der Dünnschichtchromatographie</b>	<b>57</b>
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 Plattenschichtdicke ( $d_f$ )	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 Porendurchmesser ( $P_d$ )	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
<b>4</b>	<b>Die mobile Phase in Absorptions- und Verteilungschromatographie</b>	<b>87</b>
4.1	Die Eigenschaften von Fließmitteln	88
4.2	Die Theorie der Fließmittel in der Adsorptionsschichtchromatographie (nach Snyder)	90
4.2.1	Die Fließmittelstärke ( $\epsilon^0$ )	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
<b>5</b>	<b>Probenvorbereitung und Probeauftragung</b>	<b>113</b>
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 Auftragsstelle	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
<b>6</b>	<b>Entwicklungstechniken in der Dünnschichtchromatographie . . . . .</b>	<b>129</b>
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
<b>7</b>	<b>Spezifische Färbereagenzien . . . . .</b>	<b>171</b>
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 Säurereagenzien . . . . .	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	Trichloressigsäurereagenz . . . . .	217
7.3.5	Salpetersäurereagenz . . . . .	217
7.3.6	tert-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
<b>8</b>	<b>Wirkungsbezogene Umsetzungen auf der DC-Platte (direktes Bio- monitoring) . . . . .</b>	<b>227</b>
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 Hemmtests 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. Penicilliumstämmen . . . . .	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 östrogenen 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
<b>9</b>	<b>Detektoren in der Dünnschichtchromatographie</b>	<b>285</b>
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
<b>10</b>	<b>Diffuse Reflexion an DC- und HPTLC-Platten</b>	<b>331</b>
10.1	Das <i>Lambert'sche Kosinusetz</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

<b>11</b>	<b>Fluoreszenz in der DC- und HPTLC-Schicht</b>	<b>349</b>
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
<b>12</b>	<b>Chemometrie in der HPTLC</b>	<b>363</b>
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 Dioden und Glätten 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
<b>13</b>	<b>Quantitative Auswertung in der HPTLC</b>	<b>391</b>
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 <i>Student-Verteilung</i> ( <i>t-Verteilung</i> ) . . . . .	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-Test</i> . . . . .	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-Test</i> . . . . .	429
	Literatur . . . . .	430
<b>14</b>	<b>Analysenplanung und Validierung in der HPTLC . . . . .</b>	<b>431</b>
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
	<b>Erratum zu: Quantitative Dünnschichtchromatographie . . . . .</b>	<b>E1</b>
	<b>Sachverzeichnis . . . . .</b>	<b>453</b>