

# Temperaturprogrammierte HPLC mit Mikrofluidik-Chips

In seiner mit dem Eberhard-Gerstel-Preis 2018 ausgezeichneten Arbeit stellt Dr. Josef Heiland das innovative Konzept der Temperaturprogrammierung in der Mikrochip-HPLC vor. Die geringe thermische Masse in der Lab-on-a-Chip-Technologie bedingt ihre Leistungsfähigkeit. Sie ermöglicht bislang unerreicht schnelle isokratische Trennungen, sogar in reinem Wasser, und eröffnet den Zugang zu anderen umweltfreundlichen Eluenten wie superkritischem Kohlendioxid und Ethanol. In seinem Gastbeitrag erläutert Dr. Josef Heiland die technischen Hintergründe.

Die moderne instrumentelle Analytik steht vor vielfältigen Herausforderungen. Sei es durch die Begrenzung der Probe in Art und Umfang oder im Hinblick auf die Dauer der Analyse. Mit dem Ziel einer grünen und nachhaltigen Chemie spielen zunehmend auch ökologische Aspekte eine Rolle, gerade bei kontinuierlich laufenden Prozessen in der instrumentellen chemischen Analytik.

Ein weitverbreitetes „Arbeitspferd“ hierbei ist die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), mit der sich auch komplexe Substanzgemische mittels Verteilungsgleichgewichten zwischen verschiedenen Phasen in ihre Einzelkomponenten auftrennen lassen.

Praktisch umgesetzt wird die Trennung mittels in Stahlröhren verpresster Silikapartikel, über die kontinuierlich eine mobile Phase gefördert wird. Moderne Entwicklungen gehen hin zu immer kleineren Dimensionen der Trennsäulen. In der Mikro- und Nano-LC wird derzeit mit Partikeldurchmessern im Bereich von 1,5 bis 3  $\mu\text{m}$  gearbeitet.

Neben geeignetem Phasenmaterial wird eine miniaturisierte Säule verwendet, meist in Form ummantelter Glaskapillaren. Vor allem bei sehr limitierten Probenmengen – beispielsweise im Bereich der „omics“-Forschung – sind solch kleine Säulendimensionen von großem Nutzen, da sie, im Gegensatz zu konventionellen Systemen, das Verdünnen der Probe unterbinden.

## Mikroelektronik als vergleichbares Konzept

Die Güte der Auftrennung eines Gemisches in seine Einzelkomponenten hängt bei dieser Technik allerdings stark von der Schärfe der Probenbande am Säulenkopf ab. Wird die Probe bei Eintritt in das Trennbett stark verzerrt, ergeben sich unterschiedliche Verweildauern innerhalb einer Substanzfraktion. Dieser Sachverhalt wirkt sich negativ auf die maximal zu erreichende Trennleistung

aus. Einen vielversprechenden Lösungsansatz hierfür bietet die sogenannte Lab-on-a-Chip-Technologie, bei der ein zweidimensionales Netzwerk aus Kanälen im Bereich von etwa 10 bis 500  $\mu\text{m}$  im Durchmesser in ein planares Substrat (hier Borosilikatglas, 45 x 10 x 2.2 mm Außenmaß) aufgebracht wird.

Das dem Konzept der Mikroelektronik vergleichbare System erlaubt es, verschiedene Prozesse eines chemischen Labors auf einem Mikrochip ablaufen zu lassen; daher die Bezeichnung Lab-on-a-Chip-Technologie.

Neben vielfältigen Anwendungsgebieten, etwa in der chemischen Synthese und der allgemeinen chemischen Analytik, können die analytischen Trenntechniken in besonderer Weise von dieser innovativen Technologieplattform profitieren. Im Gegensatz zu kapillarbasierten Systemen erlaubt die Lab-on-a-Chip-Technologie einen totvolumen- und damit verdünnungsfreien Transfer von Probenbanden. Die kleinen Dimensionen führen in der HPLC zu höchst effizienten Trennungen.

## Temperatur beeinflusst Trennleistung

Von besonderem Interesse ist in der HPLC seit Längerem die Einführung der Trenntemperatur als aktiver Parameter zur Optimierung der Trennleistung. Durch Erhöhung der Temperatur lassen sich physikalische Eigenschaften wie Diffusion und Viskosität positiv beeinflussen. Damit werden Austauschgleichgewichte beschleunigt und der Fließwiderstand der mobilen Phase gesenkt. Konventionelle Analysensysteme verfügen allerdings über große thermische Massen, was eine schnelle und homogene Temperaturverteilung im System erschwert.

Der Einsatz einer auf  $\mu\text{m}$ -Dimensionen reduzierten Technik, wie sie in der Mikrofluidik zur Anwendung kommt, ermöglicht durch vorteilhafte Skaleneffekte eine nahezu unverzügliche (instantane) Äquilibration der



Foto: Dr. Josef Heiland

Dr. Josef Heiland



Foto: Guido Deuling

Dr. Josef Heiland (3. v. l.), Träger des diesjährigen Eberhard-Gerstel-Preises, am GERSTEL-Messestand auf der „analytica 2018“, umringt von den Repräsentanten der Gesellschaft Deutscher Chemiker Prof. Dr. Werner Engewald (l) und Priv.-Doz. Dr. Katja Dettmer-Wilde (2. v. l.) sowie der Geschäftsführung von GERSTEL, die den Preis alle zwei Jahre stiftet: (v. r.) Ralf Bremer, Holger Gerstel und Eberhard G. Gerstel.

Temperatur in der Trennsäule. Hierzu wurde ein effizienter und leistungsfähiger Säulentermostat entwickelt, der bei einer maximalen Heizrate von bis zu 5 K/s in einem Bereich bis 200 °C arbeitet. Zwei unabhängige Heizregelkreise sind im direkten thermischen Kontakt mit der 35 mm langen Trennsäule. Das polymerbasierte Design ist auf kleinste thermische Massen optimiert und umschließt die Trennsäule vollständig, wobei die Heizelemente je nur in 1,1 mm Abstand zum Trennbett angebracht sind. Durch den unmittelbaren Wärmetransfer

ermöglicht das System einen unvergleichlich effizienten Gebrauch von Temperaturgradienten in der HPLC und stellt damit eine ökologische wie ökonomische Alternative zu herkömmlichen Lösungsmittelgradienten dar. Eine Testmischung aus sieben polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) konnte in weniger als 20 Sekunden basisliniengetrennt werden, was in dieser Geschwindigkeit mittels eines Lösungsmittelgradienten nicht möglich war.

## EGP-Jury unter neuer Führung

Vom Arbeitskreis Separation Science der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie wurde in diesem Jahr zum fünfnten Mal der Eberhard-Gerstel-Preis (EGP) für eine herausragende wissenschaftliche Arbeit auf dem Gebiet der analytischen Trenntechniken ausgeschrieben. Benannt nach Eberhard Gerstel, dem Gründer der GERSTEL GmbH & Co. KG in Mülheim an der Ruhr, wird der mit 2.000 Euro dotierte Preis seit 2010 auf der alle zwei Jahre in München stattfindenden „analytica conference“ verliehen. Die Idee zu diesem von GERSTEL gestifteten Preis entstand vor mehr als zehn Jahren anlässlich des 40. Firmenjubiläums; GERSTEL ist einer der weltweit führenden Anbieter von Systemen und Lösungen für die automatisierte Probenvorbereitung und Probenaufgabe in der GC/MS und LC/MS. In diesem Jahr hat der Initiator und bisherige Vorsitzende der Jury, Prof. Dr. Werner Engewald, die Leitung der EGP-Jury an Priv.-Doz. Dr. Katja Dettmer-Wilde übergeben. Nach dem Chemiestudium und der Promotion an der Universität Leipzig sowie einem Postdoc-Aufenthalt an der Universität von Kalifornien/USA ist Dr. Katja Dettmer-Wilde seit 2006 am Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg tätig, wo sie die Arbeitsgruppe Metabolomics leitet. Habilitiert ist Dr. Katja Dettmer-Wilde seit 2016 und gehört dem erweiterten Vorstand des Arbeitskreises Separation Science in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) an.

## Mehr Durchsatz bei gleicher Trennleistung

Einen weiteren Mehrwert dieser Herangehensweise bedeutet die Steigerung des Durchsatzes bei gleichzeitigem Erhalt der Trennleistung. Untersucht und bestätigt wurde dieser Sachverhalt im Rahmen isothermer Trennstudien im Bereich von 30 bis 80 °C. Neben der erfolgreichen Kopplung mit der Massenspektrometrie (MS) wurde auch der Aspekt der „grünen Chromatographie“ untersucht: Die erhöhte Temperatur wirkt sich günstig auf die Lösungsmittelviskosität aus, sodass sich anderenfalls unzugängliche, jedoch ökologisch nachhaltige Lösungsmittel wie Ethanol oder auch reines Wasser zum effizienten Betrieb der Mikrochip-HPLC verwenden lassen. Der innovative Ansatz der Lab-on-a-Chip-Technologie im Zusammenspiel mit der Hochtemperatur-HPLC bietet ein breites Anwendungsspektrum für weitere Untersuchungen, insbesondere auch für die Verwendung superkritischer Fluide als mobile Phase.

## Referenz

- [1] J. J. Heiland et al., Temperature Gradient Elution and Superheated Eluents in Chip-HPLC, *Anal. Chem.* 89 (2017), 6, 3266-3271, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.7b00142>