

APRIL 2023 • 67. JAHRGANG • ANALYTICALSCIENCE.WILEY.COM



© BillionPhotos.com / stock.adobe.com

**Sonderteil**

HPLC-Special

**Schwerpunkt**

Bioanalytik

**WILEY**



Mikroskopie



Spektroskopie



Separation



Ausrüstung



Laborautomation

# Bleiben Sie informiert, mit unseren themenfokussierten Newslettern.

Zusätzlich zu den deutsch- und englischsprachigen „Digest“-Newslettern, die einen Gesamtüberblick über das breite Feld der analytischen Chemie und der Laborbranche geben, bieten wir passend zu unseren fünf Themengebieten englischsprachige Newsletter an. Diese informieren über aktuellen Trends und Techniken in den Feldern Mikroskopie, Spektroskopie, Separationstechniken, Ausrüstung und Laborautomation.

Registrieren Sie sich unter:  
<https://bit.ly/WAS-Registrierung-NL>





## Ein spannendes Feld

**B**ereits in den 1960er Jahren entwickelt, ist die HPLC aus der Wissenschaft nicht mehr wegzudenken. Als flüssigchromatographische Methode in der Chemie dient sie der Analyse von schwerflüchtigen oder nicht flüchtigen Substanzen. Insbesondere in den letzten Jahren bereicherte sich die HPLC immer größerer Beliebtheit. Neben den unterschiedlichen Trennprinzipien wie beispielsweise der Normalphasen-, der Umkehrphasen-, der Ionenaustausch- und der Größenausschlusschromatographie gewinnt seit einiger Zeit insbesondere auch die UHPLC an Bedeutung. Gefordert ist ein immer höherer Probendurchsatz mit immer kleineren Probenvolumina. Und auch bei den Kopplungstechniken ist die HPLC als Bestandteil sehr wichtig.

So ist es beispielsweise mittels spektroskopischer Detektion wie der magnetischen Kernspinresonanz- oder der Infrarot-Spektroskopie in der Flüssigchromatographie auch möglich, Analyten aufzutrennen und dabei gleichzeitig zu charakterisieren. Die Arbeitsgruppe von Professor Wilhelm vom Karlsruher Institut für Technologie (KIT) forscht seit 2008 an der Kopplung von Niederfeld-NMR-Geräten mit der HPLC. Im letzten Jahr sind sie für die innovative Forschung auf dem Gebiet der Flüssigchromatographie von der Firma Knauer sogar mit dem Herbert Knauer Science Award ausgezeichnet worden. Lesen Sie mehr dazu auf Seite 14.

Der Einsatz von Antibiotika in der Tierhaltung und die damit verbundenen Folgen für die Umwelt ist ein sehr ernstzunehmendes Problem. Zwar sind die Bemühungen zur Reduzierung deutlich gestiegen, doch sind die Abgabemengen von Antibiotika in der Tiermedizin nach wie vor hoch [vgl. 1]. Um die behördlichen Rückstandshöchstmenge sicher nachweisen zu können, sind immer wieder neue innovative Analytik-Methoden erforderlich, dieser Meinung ist auch Dr. Stephanie Zergiebel vom Institut für Pharmazie der Friedrich-Schiller-Universität in Jena, wie sie in ihrem Fachartikel ab Seite 15 erläutert.

Doch nicht nur bei Tierarzneimitteln, auch bei Lebensmittelanalysen ist die HPLC ein integraler Bestandteil. Die Arbeitsgruppe „Bioanalytik“ am Biotechnologisch-Biomedizinischen Zentrum der Universität Leipzig untersucht im Kontext von Diabetes durch Glucose und Fructose posttranslational modifizierte Proteine mittels LC-MS-basierter Proteomik. Die Ergebnisse präsentieren Dr. S. Schmutzler und Prof. Dr. R. Hoffmann ab Seite 24.

Eine Steigerung des Probendurchsatzes bei gleichzeitiger Reduzierung der Kosten ist ebenso in der Bioanalytik ein sehr großes Thema. So präsentiert Prof. Dr. Petra Dittrich *et al.* in ihrem Fachartikel ab Seite 21 tropfen-

basierte Mikroarrays, in denen nicht nur die Proben und die Reagenzien kostbar sind, sondern auch multiple Methoden zur Analyse und Beobachtung der Proben eingesetzt werden. Mit diesem Thema wird die Wissenschaftlerin der ETH Zürich eine Plenary Lecture bei der diesjährigen HPLC halten.

Die angesprochenen Artikel unseres Sonderteils zum Thema HPLC in dieser Ausgabe der GIT Labor-Fachzeitschrift zeigen nur in Ansätzen, welche immense Bedeutung der Flüssigchromatographie mittlerweile zukommt. Für alle, die mehr darüber erfahren möchten, bietet die HPLC, welche vom 18.–22. Juni in Düsseldorf stattfinden wird, eine gute Möglichkeit den Vorträgen beizuwohnen und sich mit den Wissenschaftler\*innen auszutauschen. Mehr Informationen erhalten Sie unter: [www.hplc2023.com](http://www.hplc2023.com)

Doch auch der eigentliche Schwerpunkt der Ausgabe bietet viele spannende Einblicke: das Thema Bioanalytik.

T. Flieder *et al.* thematisieren in ihrem Fachartikel (ab Seite 25) Durchflussskammer-Modelle, die es ermöglichen, die gesamte Hämostase und besonders die Plättchenfunktion unter Flussbedingung und damit nahe der *in vivo*-Situation zu untersuchen.

Die Herausforderungen der Interpretation klinischer Multiomik-Analyse und das Erfordernis fortgeschrittener Mathematik, um solch komplexe Daten überhaupt korrekt zu bewerten, stellen Prof. Dr. C. Gerner und Kollegen in ihrem Beitrag ab Seite 28 vor.

Um Antikörper geht es gleich in zwei Artikeln: Martin D. Kläßen *et al.* präsentieren ab Seite 31 ein neues Verfahren zum Wischprobenmonitoring, wohingegen Dr. M. Strengert *et al.* ab Seite 34 multiplex-basierte Antikörpernachweise thematisieren.

Und zu guter Letzt geht es im Beitrag von Dr. Elen Tolstik (ab S. 37) um den Einsatz von spektroskopischen Bildgebungsverfahren in der Biomedizin, welcher die Möglichkeit zur Krankheitsanalyse durch die Identifizierung krankheitsspezifischer Biomarker eröffnet.

*Literatur:* [https://bit.ly/Vorwort-GIT\\_0423](https://bit.ly/Vorwort-GIT_0423)

Es erwartet Sie eine Ausgabe, vollgepackt mit spannenden Artikeln.  
Viel Freude beim Lesen.  
Corinna Herbst

C. Herbst

Magazin

**VORWORT**  
Ein spannendes Feld  
*C. Herbst* 3

**VERANSTALTUNGEN**  
Labvolution 6

Internationale Konferenz für  
Nahinfrarot-Spektroskopie (NIR) 7

Internationale Konferenz zum  
Non-Target Screening 7

**LESESWERT**  
Bioinformatik 8

LIFE SCIENCE IM VEREIN DEUTSCHER  
INGENIEURE  
Deutscher Ingenieurtag 9

20 MINUTEN 10

**STANDPUNKT**  
Der exponentielle Anstieg von  
Forschungsdaten 12

Marktplatz

**PRODUKTPROFILE**  
Lovibond:  
Sichere und energieeffiziente  
Wasseranalytik im Labor 46

YMC Europe:  
IEX-Säulen von YMC – auch verfügbar  
im (semi)präparativen Maßstab 47

**PRODUKTE** 48

**BUYERS GUIDE** 50

VORSCHAU Ausgabe 5–6/2023

**Schwerpunkte: Umweltanalytik**  
Biopolymer für eine  
umweltfreundliche Sensorik  
Elektrochemische Detektion von Cd<sup>2+</sup>- und  
Pb<sup>2+</sup>-Ionen mit Chitosan-modifizierten  
Dickschichtelektroden  
*A. Svirepa*

Anzeigenschluss: 22.05.2023  
Erscheinungstermin: 12.06.2023

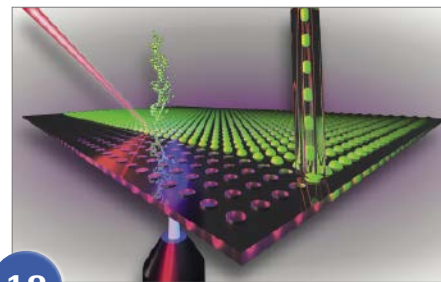


12

Standpunkt

**Der exponentielle Anstieg  
von Forschungsdaten**

In den zurückliegenden Jahrzehnten ist der Umfang von Forschungsdaten stetig gewachsen. Fast alle Messgeräte sind heute digitalisiert und liefern so per se schnell entsprechende und oftmals riesige Datenmengen. Daten mit einer komplexen Struktur, die zudem untereinander in vielfältiger Weise verknüpft sind, ermöglichen und erfordern neue Methoden der Datenauswertung.



18

HPLC-Special

**Winzige Tröpfchen, riesiger Durchsatz!**

Tropfen-Mikroarrays fassen im Gegensatz zu herkömmlichen Mikrotiterplatten bis zu hunderttausende individuelle Proben. Die drastische Miniaturisierung ermöglicht eine massive Steigerung des Probendurchsatzes bei gleichzeitiger Reduzierung der Kosten für die Reagenzien. In den letzten Jahren konnte die Automatisierung dieser Technologie und der Analytik von Tropfen-Mikroarrays kontinuierlich verbessert werden. Unter den vielseitigen Anwendungen ist die Analyse von biochemischen Proben und einzelnen Zellen besonders vielversprechend.

Fachartikel

HPLC-Special

**Portrait: Spektroskopische Detektion für die Flüssigkeitschromatographie** 14  
*M. Wilhelm*

**HPLC-Spurenanalytik von Tierarzneimitteln** 15  
Tetracyclinrückstände in Lebensmitteln schnell quantifizieren  
*S. Zergiebel*

**Winzige Tröpfchen, riesiger Durchsatz!** 18  
Arrays aus nL- und pL Tropfen für die Bioanalytik  
*M. Breitfeld et al.*

**Eine Frage des Zuckers** 22  
Trennung von Glykierungsisomeren  
*S. Schmutzler und R. Hoffmann*

SCHWERPUNKT: Bioanalytik

**Mikrofluidik Durchflusskammer – Modellein der Thrombozytenforschung** 25  
Ein Überblick der Möglichkeiten und Limitationen  
*T. Flieder et al.*

**Perspektiven klinischer Multiomik-Analysen** 28  
Kausale Modelle erlauben ungeahnte Vorhersage-Leistungen  
*C. Gerner et al.*

Willkommen im Wissenszeitalter. Wiley pflegt seine 200-jährige Tradition durch Partnerschaften mit Universitäten, Unternehmen, Forschungseinrichtungen, Gesellschaften und Einzelpersonen, um digitale Inhalte, Lernmittel, Prüfungs- und Zertifizierungsmittel zu entwickeln. Wir werden weiterhin Anteil nehmen an den Herausforderungen der Zukunft – und Ihnen die Hilfestellungen liefern, die Sie bei Ihren Aufgaben weiterbringen. Die GIT-Laborfachzeitschrift ist ein wichtiger Teil davon.

WILEY



© IUTA

31

Bioanalytik

### Wischprobenmonitoring für monoklonale Antikörper

Therapeutische monoklonale Antikörper gehören zum Standardrepertoire der modernen Medizin. Bei der Herstellung von Infusionslösungen unter aseptischen Bedingungen kann es zu Kontaminationen der Arbeitsumgebung kommen. Um diese zu identifizieren, wurde ein neues Verfahren zum Wischprobenmonitoring entwickelt.



© Peter Boeker

40

Gaschromatographie

### Hyper-Fast Gaschromatographie

Alle Analytiker kennen die Gaschromatographie – so gut, dass sie meist zum reinen Werkzeug geworden ist, das man nicht weiter hinterfragt. Seit nun 70 Jahren werden wie selbstverständlich Trennsäulen in Öfen eingebaut und Stoffe aufgetrennt. Nachteile wie lange Analysenzeiten und hohe Wärmeentwicklung der massiven Öfen verliert man leicht aus den Augen – vermeintlich mangels praxistauglicher Alternativen. Doch ein innovatives Konzept beweist, dass es auch anders geht.

asecos®

**ENERGETISCH  
NACHHALTIG**

### Wischprobenmonitoring für monoklonale Antikörper

Eine „coole“ Verbindung zwischen Apotheke und Labor  
*Martin D. Kläßen et al.*

31

### Multiplex-basierte Antikörpernachweise

SARS-CoV-2-Serologie jenseits der klinischen Routine  
*A. Dulovic et al.*

34

### Biospektroskopie für Herzgewebecharakterisierung

Raman-Spektroskopie in der kardiovaskulären Forschung und Diagnostik  
*E. Tolstik und K. Lorenz*

37

### Gaschromatographie

#### Hyper-Fast Gaschromatographie

Robust, sensitiv und nachhaltig – im Sekundenmaßstab  
*T. Havelt und P. Boeker*

40

### Chemometrie

#### Datenwissenschaft für biomedizinische Studien auf Grundlage des Raman-Effekts

Chemometrische Analyse von Raman-Spektren – von der Versuchsplanung bis zur auf maschinellem Lernen basierenden Modellierung  
*D. Storozhuk et al.*

43

**#StayAtHome**

**Nutzen Sie unser  
kostenfreies ePaper!**

<https://bit.ly/Printausgabe-GIT>



**NEU:  
V-LINE Multirisk**

» ersetzt drei herkömmliche **Sicherheitsschränke**

» spart **404,45 €** pro Jahr\*

\*Nähere Informationen finden Sie auf [asecos.com](http://asecos.com)

[www.asecos.com](http://www.asecos.com)



© Deutsche Messe

# Labvolution

9. – 11. Mai 2023, Hannover

**N**ach vier Jahren Zwangspause ist es wieder so weit – die Labvolution wird vom 9. bis 11. Mai 2023 in Hannover stattfinden. Digitalisierung, Künstliche Intelligenz und Nachhaltigkeit stehen dieses Mal im Zentrum der Veranstaltung.

Die Leitmesse richtet sich an die ganze Welt des Labors. Dies umfasst Labortechnik, Laborinfrastruktur und Analytik für Anwender\*innen aus den Industrien Chemie, Pharma, Life Sciences, Biotechnologie, Umwelt, Lebensmittel und Medizin sowie aus den Bereichen Forschung und Entwicklung. Bereits in der Vergangenheit war der Anteil an Besucher\*innen aus Wissenschaft und Forschung sehr hoch. Dies ist besonders wichtig, denn nur so sind alle auf dem neuesten Stand, was aktuelle Forschungsergebnisse betrifft, sagen die Veranstalter. Als weitere Zielgruppe sollen auch IT- und Software-Ingenieur\*innen angesprochen werden, da das Thema Digitalisierung in den Laboren angekommen ist und daher die Art der Arbeitsplätze angepasst werden muss.

Als Sonderschau skizziert das smartLAB seit 2015 praxisrelevante Beispiele für das intelligente Labor der Zukunft. In diesem Jahr werden die Veranstalter gemeinsam mit 14 ausstellenden Unternehmen in fünf Use-Cases und einer VR-Area neue Lösungen zu den Themen Laborautomatisierung und Labordigitalisierung präsentieren.

Auch das Thema Nachhaltigkeit spielt in diesem Jahr eine besondere Rolle. In der Forschung und in den Laboren rücken grüne Themen immer mehr in den Vordergrund. So geben Aussteller\*innen und Expert\*innen beim ersten LAB Sustainability Summit Denkanstöße und konkrete Lösungsansätze für eine nachhaltigere Laborwelt. Die Veranstalter berichten, dass schon bei der digitalen Veranstaltung smartLAB connects im vergangenen Jahr der Konferenzteil zum Thema Nachhaltigkeit sehr gut besucht war. Daher möchten sie mit dem dreitägigen Summit auf der diesjährigen Labvolution der aktuellen Nachfrage gerecht werden. Aber auch in anderen Konferenzen findet das Thema Anklang – so bringen beispielsweise Vortragende aus den Bereichen Molekulare Zellbiologie und Genome Editing neueste Fakten und Potenziale zur Gestaltung einer nachhaltigeren Landwirtschaft mit. Neben Green Elephant Biotech, die ein Zellkultursystem aus PLA präsentieren und GC Biotech, die ein Pipettenspitzen-Waschgerät vorstellen, werden sicherlich noch weitere Firmen das Thema aufgreifen.

Insgesamt präsentieren sich in diesem Jahr zwölf innovative Unternehmen und kreative Start-ups an einem Gemeinschaftsstand. Viele der Erstaussteller kommen aus dem Bereich Digitalisierung, was die Organisatoren aufgrund des Schwerpunktes der Veranstaltung besonders freut. Insgesamt sind zum jetzigen Zeitpunkt be-

reits 75% der Ausstellerzahlen der Vorveranstaltung erreicht. Das ist für die erste Veranstaltung nach Corona und vier Jahre nach der letzten Live Labvolution eine super Zahl, so Carola Triebtsch vom Team der Deutschen Messe.

Es ist natürlich unser Wunsch, dass ganz viele neugierige Besucher\*innen aufs Gelände kommen, die offen für neue Themen sind und sich inspirieren lassen wollen – damit unsere Aussteller ebenso zufrieden sein werden und sich die Teilnahme für alle lohnt. Wir sind klein, aber fein, und man kann in 1-3 Tagen sehr viele aktuelle Inhalte kompakt erleben, ergänzt Saskia Krolop. Hierbei sei vor allem das Netzwerken auf der After Work Party am Mittwoch nicht zu vergessen.



## ● KONTAKT |

**Carola Triebtsch**  
Deutsche Messe AG  
Hannover, Deutschland  
carola.triebtsch@messe.de  
www.labvolution.de/de

# Internationale Konferenz für Nahinfrarot-Spektroskopie (NIR)

20. – 24. August 2023, Innsbruck, Österreich

**V**on Sonntag bis Donnerstag, den 20. – 24. August, wird im Congress Innsbruck, Österreich, die internationale Konferenz für Nahinfrarot-Spektroskopie (NIR 2023 Innsbruck) stattfinden.

Die NIR-Symposiumsreihe findet zweijährlich statt und ist weltweit bekannt für diese schnell wachsende Technologie. Es werden weit über 500 Besucher erwartet.

Das Programm wird von den Grundlagen der Spektroskopie über methodische und technologische Fortschritte bis hin zur Integration der breiten Palette von Anwendungen reichen. Das Symposium wird Workshops, Tutorien, Plenarsitzungen, Keynotes und Forschungsvorträge von Wissenschaftlern auf diesem Gebiet umfassen. Vorträge und Posterpräsentationen werden

aus den eingereichten Abstracts ausgewählt, um sicherzustellen, dass die Teilnehmer ausreichend Gelegenheit finden, ihre neuesten Erkenntnisse in einer anregenden Atmosphäre mit dem Publikum zu teilen und zu diskutieren. Als integraler Bestandteil des NIR2023 Innsbruck wird eine repräsentative Ausstellung der führenden Anbieter auf diesem Gebiet organisiert, um das Konzept des Symposiums abzurunden und das Programm zu ergänzen.

2023 kommt die NIR-Symposiumsreihe erstmals nach Österreich und Innsbruck, die Hauptstadt des Landes Tirol, im Herzen der Alpen. Die Veranstalter freuen sich, die Teilnehmer in Innsbruck begrüßen zu dürfen.

Weitere Informationen und Anmeldung unter: <https://bit.ly/GIT-NIR-2023>



## ● KONTAKT |

**Univ.-Prof. Mag. Dr. Christian W. Huck**

Leiter des Instituts für Analytische Chemie und Radiochemie

Abteilungsleiter Spektroskopie

Universität Innsbruck, Österreich

[Christian.W.Huck@uibk.ac.at](mailto:Christian.W.Huck@uibk.ac.at)

# Internationale Konferenz zum Non-Target Screening

16. – 19. Oktober 2023, Erding und online

**I**m Jahr 2021, während der Pandemie, wurde die erste internationale Konferenz zum Non-Target-Screening (ICNTS) in einem hybriden Stil durchgeführt. Die Veranstaltung wird dieses Format ebenso wie das breite Spektrum der Teilnehmenden beibehalten.

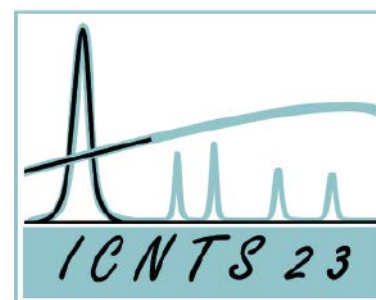
Die Konferenz wird internationale Wissenschaftler\*innen aus verschiedenen Konsortien und Disziplinen zusammenbringen. Sie ist ein Ort für freie Laboratorien und industrielle sowie akademische Forschende, um sich mit anderen Kolleg\*innen international, interdisziplinär und interkulturell auszutauschen. NTS-Anwender\*innen aus der ganzen Welt und Anbieter aus dem Bereich der instrumentellen Analyse und Softwareentwicklung werden ihre neuesten Ergebnisse und Ideen in Hauptvorträgen, Vortragssitzungen und Postersitzungen vorstellen.

Sie können sich bis zum 31. Mai 2023 für eine Präsentation bewerben. Um auch jüngere

Wissenschaftler\*innen für die Teilnahme mit Postern zu ermutigen, werden Rabatte gewährt.

Die ICNTS23 will über die NTS-Strategien und -Arbeitsabläufe der einzelnen Disziplinen informieren, diese kombinieren und harmonisieren, um den NTS-Horizont zu erweitern und allen die Möglichkeit zu geben, „über den Tellerrand zu schauen“. Teilnehmende aus verschiedenen Disziplinen wie Chemie, Umwelt, Lebensmittel, Forensik, Informatik, Metabolomik, Wasser und instrumentelle Analyse werden gemeinsam die neuesten Entwicklungen mit Schwerpunkt auf Qualitätsstandards in der Analyse und Datenverarbeitung diskutieren. Das Programm bietet eine lösungsorientierte Diskussionsstrategie mit Überblicksvorträgen und Podiumsdiskussionen in jedem Zeitfenster. Jede Podiumsdiskussion – eine Spezialität der ICNTS23 – wird geleitet und bindet die Teilnehmer\*innen stark ein. Die Veranstalter freuen sich, die Besucher in Erding begrüßen zu dürfen.

Zur Registrierung und Einreichung für Abstracts: <https://bit.ly/GIT-ICNTS-2023>



## ● KONTAKT |

**Dr. Thomas Letzel**

Geschäftsführer / Executive Director

Analytisches Forschungsinstitut für Non-Target Screening GmbH

Augsburg, Deutschland

[t.letzel@afin-ts.de](mailto:t.letzel@afin-ts.de)

[www.afin-ts.de](http://www.afin-ts.de)

# Bioinformatik

## Grundlagen, Algorithmen, Anwendungen

**D**ie Bioinformatik ist mittlerweile eine Kerndisziplin der modernen Lebenswissenschaften, ohne die es in der Molekulargenetik, der Zellbiologie, der Strukturbiochemie oder der Systembiologie nicht mehr geht. Das bekannte Lehrbuch von Rainer Merkl erklärt sowohl die mathematischen als auch die biologischen Grundlagen der gängigen Bioinformatik-Tools und Verfahren und ist damit für Studierende der Biologie wie

der Informatik gleichermaßen geeignet. Die neue Auflage zeigt anhand zahlreicher aktueller Beispiele die vielfältigen Anwendungen der Bioinformatik in der Forschung und darüber hinaus. Als besonderes Schmäckerl finden sich auf der begleitenden Webseite interaktive Lernmodule mit mehr als 120 Übungsaufgaben. Ein Exemplar können Sie bei dem Gewinnspiel auf Seite 10 gewinnen.

### GIT: Was sind Ihre Forschungsschwerpunkte bzw. wissenschaftlichen Interessen?

**Merkl:** Meine Arbeitsgruppe hat sich mit rechnerbasiertem Proteindesign und der Evolution von Proteinen beschäftigt, wobei wir häufig mit biochemisch arbeitenden Gruppen kooperierten. Wir nutzten große Sequenzmengen und maschinelle Lernverfahren, um evolutionär bedingte Sequenzunterschiede zu charakterisieren oder in Form von Randbedingungen in Designverfahren zu integrieren. In den letzten Jahren untersuchten wir schwerpunktmäßig, wie sich „moderne“ Proteinfunktionen aus älteren Vorläuferproteinen entwickelt haben. Hierfür wurden mithilfe evolutionärer Modelle die Sequenzen von Vorläufern rekonstruiert; die korrespondierenden Proteine wurden experimentell charakterisiert.



Rainer Merkl

studierte biomedizinische Technik und Informatik. Er war am MPI für Biochemie in Martinsried und an der Universität Göttingen tätig. Zuletzt war er von 2012 bis 2020 Professor für Bioinformatik an der Universität Regensburg. Neben seiner Lehrtätigkeit für Biologen und Biochemiker bildete er an der Fernuniversität in Hagen Informatiker im Fach Bioinformatik aus.

### GIT: Was hat sich seit der letzten Ausgabe des Buches geändert?

**Merkl:** Alle Kapitel wurden aktualisiert, um den Stand der Technik und aktuelle Entwicklungen in der Bioinformatik zu repräsentieren. Aufgrund der enorm gewachsenen Bedeutung des maschinellen Lernens wurden die Kapitel zu neuronalen Netzen und Big Data komplett überarbeitet und erheblich erweitert. Neu hinzu gekommen ist eine Darstellung von Moleküldynamiksimulationen.

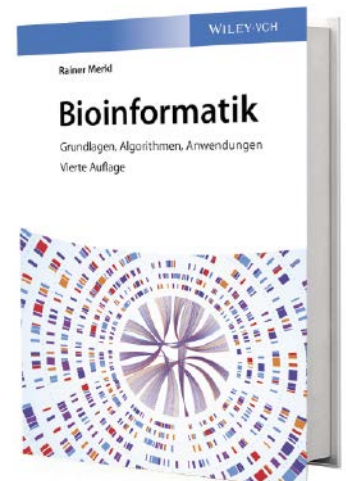
### Wie groß sind die Anfangsschwierigkeiten bei den Studierenden? Was fällt besonders schwer?

**Merkl:** Grafische Schnittstellen machen es einfach, gängige Programme zu bedienen, sodass nach einer Schulung bioinformatische Methoden zur Analyse von Datensätzen in allen Bereichen der Lebenswissenschaften genutzt werden können. Wesentlich schwieriger ist es, ein tieferes Verständnis für die Algorithmen und deren Limitationen zu entwickeln: Aufgrund der Interdisziplinarität des Faches müssen sowohl die Eigenschaften der zu untersuchenden Objekte, als auch die der Algorithmen verstanden werden. Solch fachübergreifendes Wissen benötigen alle, die Bioinformatik fehlerfrei anwenden, aber insbesondere diejenigen, die neue Methoden entwickeln wollen.

### Wie sehen Sie die Rolle von Künstlicher Intelligenz in der Zukunft für Ihr Fachgebiet?

**Merkl:** In ein Anwendungsfach wie die Bioinformatik werden geeignete Algorithmen sehr schnell übernommen; dies gilt auch für maschinelle Lernverfahren, da für etliche Fragestellungen hinreichend viele Trainingsdaten verfügbar sind. Ein eindrucksvolles Beispiel ist die spektakuläre Performanz von AlphaFold 2 in der Proteinstrukturvorhersage, die in vielen Fällen experimentelle Strukturaufklärung ersetzen kann. Für den wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn wäre wichtig, komplexe KI-Verfahren nicht einfach als „black box“ zu nutzen. Techniken zur Interpretation und zum Verständnis dessen, was ein Modell gelernt hat, müssen auch in der Bioinformatik Bestandteil der Algorithmenentwicklung werden.

Bioinformatik  
Grundlagen, Algorithmen, Anwendungen  
Merkl, Rainer  
4. Auflage August 2022  
Hardcover  
79,90 €  
ISBN: 978-3-527-34949-4



Weitere Lesenswert-Bücher:  
<https://bit.ly/WAS-Lesenswert>



Das komplette Interview finden Sie unter:  
<https://bit.ly/Lesenswert-Merkl>





Abb.: Auf dem DIT 2023 am 25. Mai betrachten Experten und Expertinnen mit der VDI-Community die Zukunftsfähigkeit Deutschlands.

# Deutscher Ingenieurtag

**D**er Deutsche Ingenieurtag (DIT) des VDI bringt alle zwei Jahre Expertinnen und Experten aus Wirtschaft, Wissenschaft, Politik und Gesellschaft mit der VDI-Community zusammen. Aus unterschiedlichen Perspektiven stehen die Herausforderungen unserer Zeit auf dem DIT 2023 im Fokus. Die Veranstaltung findet am 25. Mai 2023 als Hybrid-Event statt. 7.000 Teilnehmende werden erwartet.

Nachhaltige Lösungsansätze zu identifizieren, erfordert es den Menschen als Individuum, aber auch als Teil der Gesellschaft in den Mittelpunkt der Betrachtung zu stellen. Beim DIT 2023 werden VDI-Mitglieder und Gäste über Perspektiven, mögliche Zielbilder und Ausprägungen des Zukunftsstandorts Deutschland diskutieren. Was bedeutet es, Perspektiven für den Zukunftsstandort Deutschland im Kontext Europas und der Welt zu entwickeln? Aufgrund der disruptiven Ereignisse erscheint eine Extrapolation der Vergangenheit nicht mehr sinnvoll. In den zurückliegenden Jahren gab es wiederholt Anlässe für die Erkenntnis, dass wir unsere Gesellschaft und die sie tragende Volkswirtschaft transformieren müssen – als Teil Europas und der sich fundamental ändernden Weltordnung.

Es stellt sich die Frage, wie gemeinsam zu einem attraktiven Zukunftsstandort Deutschland beigetragen werden kann, an dem sich das Leben lohnt. Dies soll gemeinsam mit Expertinnen und Experten aus Wissenschaft, Wirtschaft, Politik und Gesellschaft diskutiert werden, so VDI-Präsident Prof. Dr. Lutz Eckstein. Zukunftsfähige Lösungen für Mensch, Umwelt und Wirtschaft stehen im Fokus des Deutschen Ingenieurtages

am 25. Mai 2023. Erwartet werden unter anderem Bundesministerin für Bildung und Forschung, Frau Bettina Stark-Watzinger, Prof. Dr. Achim Truger, Mitglied des Sachverständigenrates Wirtschaft – Die fünf Wirtschaftsweisen sowie Prof. Dr. Sami Haddadin, Executive Director MIRMI, Technische Universität München (TUM).

Das hybride Event umfasst neun fachliche Breakout-Sessions – unter anderem zu Themen wie Wasserstoffnutzung, Energie, Mobilität der Zukunft und New Work. Die Präsenzveranstaltung findet im Radial System in Berlin statt. Zudem besteht die Möglichkeit, dem Programm der vier DIT Regional Hubs in Bonn, Braunschweig, Frankfurt-Höchst und München beizuwohnen. Der Deutsche Ingenieurtag wird somit zu einem bundesweiten Event.

Im Mittelpunkt steht die Frage, wie Ingenieurinnen und Ingenieure ihre Motivation, Kompetenz und Wissen dafür nutzen, eine nachhaltige Zukunft mitzugestalten. Gemeinsam werde nach Strategien und Antworten auf die Herausforderungen von heute und morgen gesucht, so Lutz Eckstein.

## ● KONTAKT |

**Dr. Martin Follmann**  
Verein Deutscher Ingenieure (VDI)  
Düsseldorf, Deutschland  
tls@vdi.de  
www.vdi.de/tls



Weitere Informationen  
zum Programm unter:  
<https://bit.ly/GIT-DIT>

**CANDOR**  
The ELISA Experts



**CANDOR – Originator of  
LowCross-Buffer®**

- innovative solutions
- highest quality standards
- expert technical support

**for optimizing reliability  
of your immunoassays**

CANDOR Bioscience GmbH

www.candor-bioscience.com

**Hall 19, Stand A79**  
09 – 11 May 2023



© PhotosG - stock.adobe.com



## Kuriositäten

➔ Wer der/dem Liebsten Komplimente macht, fühlt sich selbst besser. Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler des Universitätsklinikums Heidelberg konnten mithilfe von funktioneller Magnetresonanztomographie die zugrundeliegenden neuronalen Reaktionen, während sich Paare liebevolle Textnachrichten schrieben, beobachten.

<https://bit.ly/GIT-Komplimente>

➔ An der TU Wien wurde eine neuartige Batterie erfunden: Die Sauerstoff-Ionen-Batterie soll ohne seltene Elemente auskommen und das Problem der Brandgefahr lösen. Sie ermöglicht zwar nicht ganz so hohe Energiedichten wie die Lithium-Ionen-Batterie, aber dafür nimmt ihre Speicherkapazität im Laufe der Zeit nicht unwiderruflich ab: Sie lässt sich regenerieren und ermöglicht damit eine extrem lange Lebensdauer.

<https://bit.ly/GIT-Sauerstoff-Batterie>

➔ Ein Team von Forschenden um Martin Fussenegger vom Departement Biosysteme der ETH Zürich in Basel hat nun eine futuristisch anmutende Idee verwirklicht: Sie haben eine implantierbare Brennstoffzelle entwickelt, die überschüssigen Blutzucker (Glukose) aus dem Gewebe nutzt, um daraus elektrische Energie zu erzeugen. Die Brennstoffzelle wiederum kombinierten die Forschenden mit künstlichen Beta-Zellen, die wie ihre natürlichen Vorbilder in der Bauchspeicheldrüse Insulin produzieren und den Blutzuckerspiegel wirksam senken.

<https://bit.ly/GIT-Blutzucker>

## Science for Kids

➔ Die Deutsche Bundesstiftung Umwelt fördert an der Uni Konstanz die Entwicklung eines digitalen Schüler-Labors zu Nachhaltigkeitsfragen. Die Plattform ist für das gemeinsame Lernen konzipiert und bietet Einheiten, die sich individuell zusammenstellen lassen. Die Themen Klimawandel, Plastikproblematik, Energiewende, Recycling und Chemikalien in der Umwelt werden durch Erklärvideo, Live-Interaktionen und Augmented Reality-Elemente behandelt.

<https://bit.ly/GIT-Schullabor>

➔ Viele Insekten sind vom Aussterben bedroht oder kämpfen mit Klimaveränderungen. Dabei sind Wildbienen, Hummeln, Florfliegen und Co. wichtig für die Natur. Im Garten bestäuben sie Blüten und fressen Schädlinge. Ein Insektenhotel kann ihnen beim Überleben helfen, zur Überwinterung und als Nisthilfe dienen. Mit unterschiedlichen Materialien, etwas Geschick und Hilfe lässt sich ein gemütlicher Unterschlupf für Insekten bauen.

<https://bit.ly/GIT-Insektenhotel>

## App Tipp!

Mit der neuen kostenlosen App „Up & Go“ können ältere Menschen ab sofort ihre persönliche Kraft und das eigene Gleichgewicht testen. Die App wertet die Ergebnisse aus und weist auf mögliche Probleme hin, beispielsweise die Gefahr eines Sturzes. Ziel der App ist es, dass Menschen auch im hohen Alter mobil bleiben, ihre individuelle Gesundheitssituation richtig einschätzen und ein Monitoring zu Hause durchführen können“, sagt Professor Clemens Becker, Leiter der Abteilung Digitale Geriatrie an der Universitätsklinik Heidelberg.

<https://bit.ly/GIT-Up-and-Go>

© Wiley Credit: Photographica/Shutterstock

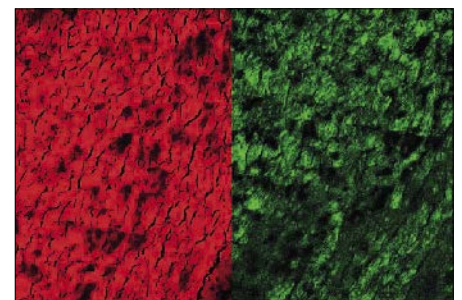


## Buch zu gewinnen!

Finden Sie das Originalbild zu diesem Bildausschnitt im Heft und schicken Sie uns den Titel des Beitrags über [git-labor@wiley.com](mailto:git-labor@wiley.com) Betreff: Lesenswert GIT04/23. Mit etwas Glück gewinnen Sie ein Exemplar „Bioinformatik“ von Rainer Merkl auf Seite 8.

**Einsendeschluss: 12. Juni 2023**

Bei mehreren Einsendungen entscheidet das Los.



### Gewinner!

Zum Gewinn der GIT Labor-Fachzeitschrift 1-2/2023 gratulieren wir:

**Alex Schreiber aus Nürnberg**

## Sikaku!

								2		
						12		6		4
										4
				18	2			6		
									2	4
	21									2
		2								4
4				9		8		4	3	
4										
					30					
	3									3
	2							10		

www.crauswords.com

## Veröffentlichung

Erfahrungen in DDR-Kinderheimen,  
Bewältigung und Aufarbeitung

Zwischen 1949 und 1990 waren in der DDR etwa eine halbe Million Kinder und Jugendliche in Kinderheimen und Jugendwerkhöfen untergebracht. Ihre Erfahrungen in diesen Einrichtungen, deren Folgen und Bewältigung, waren bislang nicht umfassend erforscht. Der Testimony-Forschungsverbund unter Federführung der Uni Leipzig untersuchte in enger Zusammenarbeit mit Betroffenen die gesammelten Erfahrungen. Jedoch nicht nur die negativen und traumatisierenden, sondern auch deren Bewältigungsleistungen. Zum Abschluss des Projekts veröffentlichen die Wissenschaftler\*innen die wichtigsten Ergebnisse in der Leipziger Erklärung.



©Photographiee.eu/Shutterstock

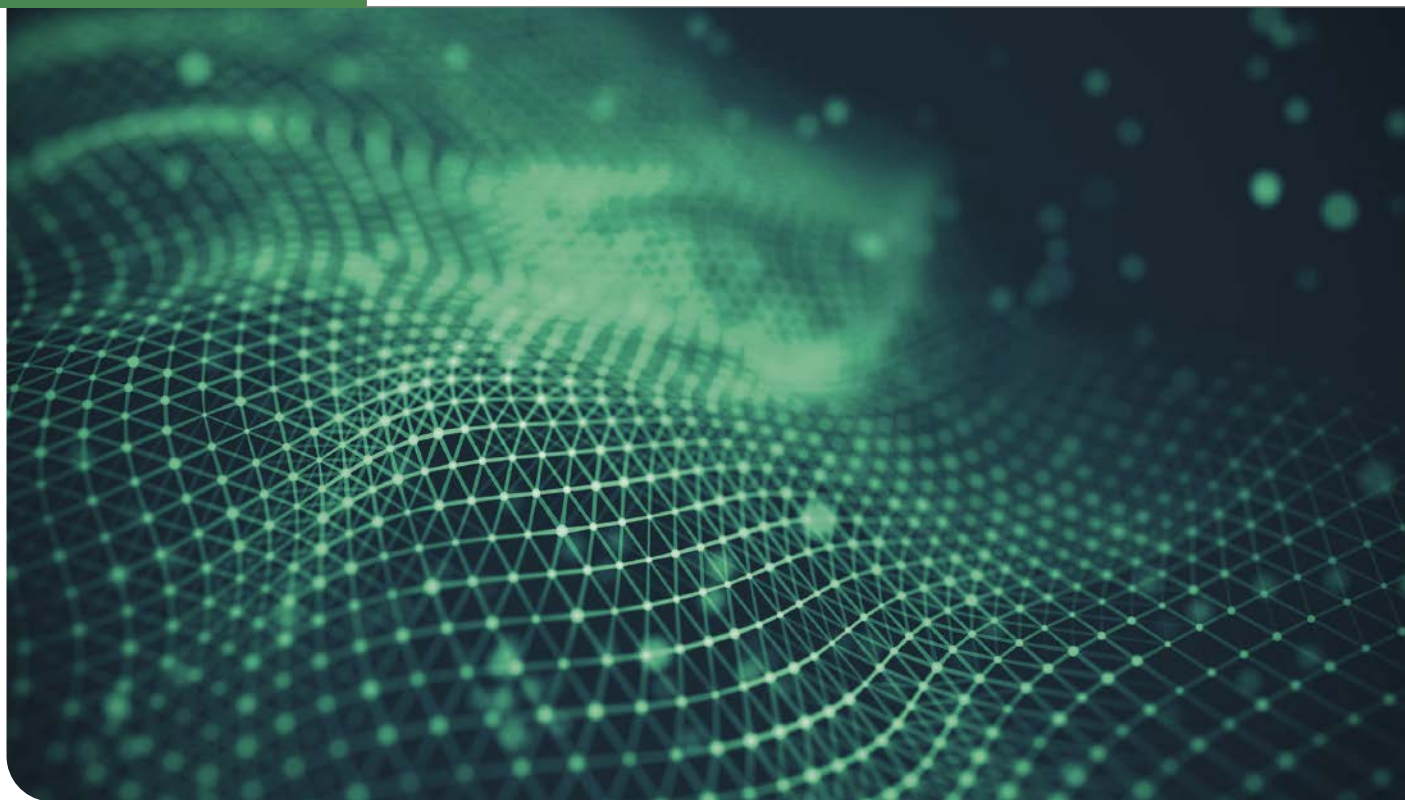
<https://bit.ly/GIT-Kinderheime>

## Bilderrätsel

Ganz genau hinsehen, ist die Aufgabe bei diesem Rätsel. Wir haben das rechte Bild manipuliert. Finden Sie alle **acht Fehler**, die wir für Sie versteckt haben. Schicken Sie das Bild mit den markierten Fehlern an [git-labor@wiley.com](mailto:git-labor@wiley.com) (Betreff: Bilderrätsel GIT04/23). Wir verlosen unter allen richtigen Einsendungen eine kleine Überraschung. Einsendeschluss ist der 12. Juni 2023.



© ulza – stock.adobe.com



# Der exponentielle Anstieg von Forschungsdaten

In den zurückliegenden Jahrzehnten ist der Umfang von Forschungsdaten stetig gewachsen. Fast alle Messgeräte sind heute digitalisiert und liefern so per se schnell entsprechende und oftmals riesige Datenmengen. Daten mit einer komplexen Struktur, die zudem untereinander in vielfältiger Weise verknüpft sind, ermöglichen und erfordern neue Methoden der Datenauswertung. „Big Data“ und „KI“ (künstliche Intelligenz) sind zumindest als Wortschöpfung allgemein bekannt. Im Rahmen dieser Entwicklung, die zuweilen auch euphorische Züge annimmt, kommt der konsequente richtige Umgang und insbesondere das Aufbewahren der Daten viel zu kurz. Das Forschungsdatenmanagement (engl.: Research Data Management – RDM) wird immer mehr zur Herausforderung.

Das Forschungsdatenmanagement ist eine Voraussetzung, um den Fortschritt bei Experimenten und die Datenerfassung zu unterstützen. Viele Geldgeber verlangen zwar ein Forschungsdatenmanagement, jedoch werden Daten nur selten nachhaltig für die Nachwelt hinterlegt. Noch immer sind Notizbücher auf Papier üblich oder die Forschungsdaten werden in nicht standardisierten Dateiformaten und zudem ohne besonderen

Kontext gespeichert. Erforderlich sind Vereinfachungen und Standards zum Forschungsdatenmanagement (siehe auch [1]). Trotz einiger Bemühungen fehlen sowohl entsprechende Leitlinien, als auch häufig das Verständnis dafür. Ein kritischer Blick auf die derzeitige Situation ist angebracht. Die Frage wird sein, bekommen wir das Management der Forschungsdaten noch so in den Griff, dass sie später sicher und vor allem richtig angewendet werden können oder sind wir bereits auf dem Weg in das Datenchaos?

## Forschungsdatenmanagement

Eine allgemeine Definition für den Begriff Forschungsdatenmanagement gibt es nicht. Es gibt aber sehr wohl einen gewissen fachübergreifenden Konsens in der wissenschaftlichen Gemeinschaft, was man darunter versteht. Erfreulicherweise haben viele Universitäten sogar Richtlinien und Empfehlungen für das Forschungsdatenmanagement erstellt. Auch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) hat eine entsprechende Empfehlung herausgegeben [2]. Hervorzuheben ist ebenso, dass es ein gemeinsames Informationsportal [3] vieler Einrichtungen zum Forschungsdatenmanagement gibt, in dem auch für die Chemie gebündelt

eine Reihe von aktuellen Informationen zu finden sind. Leider ist das Portal überwiegend nur Insidern bekannt, zumal der Schwerpunkt auch ganz klar auf Seite der Informationsbereitstellung und weniger auf praktische Aspekte des Forschungsdatenmanagement liegt. Das generelle Forschungsdatenmanagement ist in der Abbildung 1, welche online bereitgestellt ist, schematisch gezeigt. Mit geringen Abweichungen findet sich dieses Schema in nahezu allen Empfehlungen wieder. Soweit die Theorie!

Bei der nachfolgenden kritischen Betrachtung der Praxis wird das Forschungsdatenmanagement der industriellen oder kommerziellen Forschung außen vorgelassen. Hier finden sich im Gegensatz zu der universitären Forschung überwiegend strikte Vorgaben beziehungsweise ist der Umgang aufgrund des Geheimnisschutzes nicht weiter bekannt. Viel bunter ist das Datenleben in den akademischen Einrichtungen. In gewisser Weise spiegelt das Datenmanagement die gesetzlich verankerte Freiheit von Universitäten wider. Forschungsdaten entspringen zumeist geplanten Projekten, verbunden mit studentischen und Graduiierungsarbeiten. Individuelle Ziele müssen sich hier mit Projektzielen engagieren. Zeitdruck, vor allem zum Ende eines Projekts, ist nicht selten eine bestimmende Größe. Hinzu kommt, dass bei der Planung und Beantragung

von Fördergeldern zwar die Generierung und Auswertung von Daten gutachterkonform präzise beschrieben wird, der Umgang mit den Daten jedoch vor allem nach dem Projekt fast nie erwähnt wird. Das oberste Ziel eines Forschungsprojekts ist in der Regel eine „ordentliche“ wissenschaftliche Publikation, mindestens ein Vortrag auf einer wissenschaftlichen Konferenz. Und danach? Sicher, die ausgewerteten und publizierten Daten liegen irgendwo auf Speichermedien. Wenn man Glück hat, findet man noch die Originaldaten und vielleicht sogar noch die Dokumentation der Auswertung. Oftmals schlummern aber gerade die wichtigen Informationen zu den Daten, also die Metadaten, anonym auf Tablets, unauffindbar, wenn weder das Medium noch das Passwort bekannt ist. Systemabstürze können zum Totalverlust führen. Ein anders Problem betrifft die Frage, welche Daten tatsächlich abgelegt werden. Grundsätzlich sollten gewonnene Rohdaten wegen der notwendigen Reproduzierbarkeit archiviert werden. Gelegentlich ist selbst das ein Problem. So wird zum Beispiel in der vielfach angewendeten Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie die Frage, was genau Rohdaten sind, unterschiedlich beantwortet: sind es die aufgenommenen Interferogramme oder die daraus berechneten (Roh)Spektren?

Bei der kritischen Bestandsaufnahme des Forschungsdatenmanagements kommt man daher zu dem Schluss, dass weder das Erheben noch die Auswertung, sondern vielmehr das Aufbewahren und Speichern der Daten, einschließlich der Informationen zu diesen, die gegenwärtigen Schwachpunkte in der Kette sind. Als Hochschullehrer in der Chemie habe ich den Eindruck, dass die hohe Kunst der ordentlichen und vollständigen Führung eines Laborjournals zunehmend weniger beherrscht wird. Sehr wahrscheinlich trägt dieses Manko mit zu den Problemen im Forschungsdatenmanagement bei.



## *Bekommen wir das Management der Forschungsdaten noch so in den Griff, dass sie später sicher und vor allem richtig angewendet werden können?*

### **Herausforderung: Aufbewahrung von Forschungsdaten**

Es klingt wie eine Banalität: erhobene, ausgewertete Daten werden gespeichert, gesichert und alles ist getan. Nach den DFG-Richtlinien wären hierfür auch mindestens 10 Jahre einzuplanen. In der Realität sieht es aber viel zu oft ganz anders aus. Welche Daten initial überhaupt gespeichert werden, obliegt häufig individuellen Entscheidungen der Projektmitarbeiter. Selbst bei der Mentalität „erst einmal alles zu speichern“ fehlen nach einiger Zeit wertvolle Informationen zu den Daten selbst. Spätestens mit Ende eines Projektes stellt sich die Frage nach den „Säubern“ von Festplatten und Speichermedien. Auch hier sind wieder subjektive Faktoren bestimmend. Schließlich wird auch alles noch vom finanziellen Rahmen verfügbarer entsprechender Speicher- und Archivierungsmedien bestimmt. Am Ende bleibt die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auf der Strecke. Auch wenn das beschriebene Szenario nicht verallgemeinert werden kann und viele Forschungsdaten vorbildlich abgelegt, beziehungsweise archiviert werden, so müssen wir uns bei den stetig steigenden Datenaufkommen deutlich stärker den Herausforderungen eines effektiven Forschungsdatenmanagement widmen.

### **Was müssen wir angehen?**

- Das Labor- beziehungsweise das Forschungsdatenmanagement muss in das Curriculum naturwissenschaftlicher Studienrichtungen aufgenommen werden. Bislang finden sich hierzu nur spärliche, zumeist fakultative Kurse.
- Fachgesellschaften sind aufgerufen Richtlinien und Maßstäbe eines fachspezifischen Forschungsdatenmanagements zu erstellen.

● **Gerald Steiner** ist Professor und Gruppenleiter für Spektraldiagnostische Forschung an der TU Dresden, Fakultät Medizin. Er arbeitete viele Jahre in der Analytischen Chemie. Seine allgemeinen Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der optischen Spektroskopie, des Biosensing und der Analyse hochdimensionaler Datensätze. Seine Forschung konzentriert sich auf die In-situ-Biospektroskopie, einschließlich neuer Bildgebungsmodalitäten und markierungsfreiem Nachweis funktioneller und pathologischer biologischer Substanzen.

Das schließt zusätzlich den Umgang mit erhobenen Rohdaten und letztlich die Archivierung auch nicht publizierter Daten ein.

- Das Datenmanagement muss explizit bei Forschungsprojekten berücksichtigt und bei der Antragstellung mit begutachtet werden. Standardisierte Aussagen zum „Umgang mit den erzielten Daten“ sind hier weder zeitgemäß noch zielführend.
- Es besteht Forschungsbedarf, wie die zu erwartenden riesigen Forschungsdaten in Zukunft so aufbewahrt werden können, dass nicht nur ein Wiederfinden, sondern auch eine Verifizierung und Nutzung möglich sind.
- Akademische Einrichtungen müssen die Infrastruktur zur sicheren Datenarchivierung deutlich ausbauen. Hier sind die Träger gefordert entsprechende Ressourcen bereitzustellen. Am 9. Dezember 2022 hat die Bundesregierung erste Punkte einer Gründungskommission für Ideen zu einem Dateninstitut auf dem Digital-Gipfel vorgestellt [4]. Damit ist vielleicht ein erster, wichtiger Schritt zur Beherrschung des Forschungsdatenmanagements getan.

### **Auf den Punkt**

Nachdem im chemischen Labor das handschriftliche Laborbuch ausgedient hat, nimmt das digitale Forschungsdatenmanagement eine zentrale Funktion ein. Es hat den Anschein, dass wir den damit verbundenen Herausforderungen noch nicht gerecht werden. Defizite bestehen vor allem in dem Ablegen und Archivieren von Daten ebenso aber auch in der Verknüpfung von erhobenen Messdaten mit Metadaten einschließlich der Auswertung. Hier sind die Universitäten in der Lehre und die Träger in der Bereitstellung der erforderlichen Ressourcen gefordert. Andernfalls können wir früher oder später im Datenozean nicht mehr sicher manövrieren.

*Zur Online-Version des Beitrages:  
<https://bit.ly/GIT-Standpunkt-Steiner>*

### ● KONTAKT |

**Prof. Dr. rer. nat. habil. Gerald Steiner**  
Abteilung Klinisches Sensing und MonitorinKlinik und Poliklinik für Anästhesiologie und IntensivtherapieMedizinische Fakultät und Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Technische Universität Dresden Dresden, Deutschland  
[gerald.steiner@tu-dresden.de](mailto:gerald.steiner@tu-dresden.de)



# Spektroskopische Detektion für die Flüssigkeitschromatografie

**M**ittels spektroskopischer Detektion wie der magnetischen Kernspinresonanz- (NMR) oder der Infrarot- (IR) Spektroskopie ist es in der Flüssigkeitschromatografie möglich, Analyten aufzutrennen und dabei gleichzeitig zu charakterisieren. Neben der chemischen Identifizierung der Analyten ist auch die chemische Zusammensetzung, beispielsweise von Copolymeren, bestimmbar.

Der Arbeitskreis von Prof. Wilhelm (AK-Wilhelm) ist einer von vier Arbeitsgruppen, welche zusammen das Institut für Technische Chemie und Polymerchemie (ITCP) am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) bilden. Der Fokus des Arbeitskreises liegt im Bereich der physikalischen Chemie innerhalb der Polymerwissenschaften. Erforscht werden Zusammenhänge zwischen der molekularen Struktur von polymeren Materialien und deren Effekt auf makroskopische Materialeigenschaften. Zur Charakterisierung der molekularen Struktur werden insbesondere neue Methoden im Bereich der Rheologie und Flüssigkeitschromatografie entwickelt. Polymere stellen komplexe Systeme dar, welche eine Verteilung in der molekularen Größe, der chemischen Zusammensetzung, sowie der Funktionalisierung aufweisen. Zur Bestimmung der molekularen Größenverteilung in Polymeren wird in der Regel die Größenausschlusschromatografie (SEC) verwendet. Um zusätzlich Informationen über die Verteilung der chemischen Zusammensetzung oder der Funktionalisierung zu erhalten, beschäftigt sich der AK-Wilhelm seit über 15 Jahren mit Methoden zur spektroskopischen Detektion für die Größenausschlusschromatografie (SEC). Untersucht wurden dabei die Kopplung mit einem Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometers (FTIR), eines External Cavity Quantenkaskadenlasers (ECQCL) sowie Niederfeld-NMR-Spektrometer mit Feldstärken von 20–80 MHz. Zur Erweiterung der spektroskopischen Detektion auf kleine Moleküle begann der AK-Wilhelm in Jahr 2020 die Untersuchung der Kopplung der Flüssigkeitsadsorptionschromatografie (LAC) mit einem speziell optimierten 80 MHz NMR-Spektrometer.

## Fourier-Transformation-Flüssigkeitschromatographie

Die Flüssigkeitschromatografie zeigt die beste Trennleistung (Selektivität) bei niedrigen Analytkonzentrationen, wohingegen die Empfindlichkeit der NMR-Detektion (Sensitivität) mit steigender Analytkonzentration zunimmt. Um eine genügend hohe Sensitivität der NMR-Detektion unter Beibehaltung der chromatografischen Integrität zu gewährleisten, liegt der Fokus des AK-Wilhelm auf dem Entwickeln von Methoden in der Chromatografie, der Spektroskopie und der Datenauswertung, um die Sensitivität in der gekoppelten Analyse zu steigern. Eine vom AK-Wilhelm entwickelte chromatografische Methode zur Sensitivitätssteigerung ist die Fourier-Transformations-Flüssigkeitschromatographie (FTLC). Diese Methode basiert auf einer kontinuierlichen Probeninjektion mit sinusförmigen Analytkonzentrationsprofil. Aufgrund der durchgängigen Nutzung der Säule wird, verglichen mit der konventionellen Injektionsmethode, mehr Analyt pro Zeiteinheit analysiert, wodurch die Sensitivität um einen Faktor 50 gesteigert werden konnte.

## Herbert Knauer Science Award

Für die innovativen Forschung auf dem Gebiet der Flüssigkeitschromatografie wurde an den Doktoranden Markus Matz des AK-Wilhelms im Jahr 2022 von der Firma Knauer der „Herbert Knauer Science Award“ verliehen.



© Nico Dingenouts

● **Die Arbeitsgruppe** von Prof. Wilhelm am Institut für Technische Chemie und Polymerchemie (ITCP), Karlsruher Institut für Technologie (KIT), forscht seit 2008 an der Kopplung von Niederfeld-NMR-Geräten mit der HPLC. Ziel der Forschung ist es, Methoden zur Probencharakterisierung während einer HPLC-Trennung für ein breites Anwenderspektrum zugänglich zu machen. Weitere Forschungsschwerpunkte sind die Entwicklung rheologischer Methoden, die Charakterisierung von selbst synthetisierten Modellpolymeren sowie neuen Anwendungsgebieten polymerer Materialien.

Der Preis beinhaltet einen Gutschein für wissenschaftliche Geräte des Unternehmens im Wert von 20.000 Euro. Stellvertretend für den AK-Wilhelm reiste Herr Matz zum 60jährigen Firmenjubiläum nach Berlin, um den Preis entgegenzunehmen.

## Ausblick

Ein Bestreben des AK-Wilhelm ist es, die Forschung auf dem Gebiet der SEC/LAC-NMR und FT-LC weiterzuentwickeln und schließlich diese beiden neuen Methoden zu kombinieren. Es wird erwartet, dass aufgrund dieser Kombination die Sensitivität in der HPLC-NMR-Kopplung, unter Beibehaltung der chromatografischen Integrität, signifikant gesteigert werden kann und somit tiefere Detektionsgrenzen für Analyte erreicht werden, womit sich neue Anwendungsgebiete für die gekoppelte Analyse eröffnen. Daneben sollen Methoden zur 2D-NMR-Detektion in der SEC/LAC entwickelt werden. Durch die zusätzliche spektrale Dimension in der 2D-NMR-Detektion sind weitere molekulare Informationen zur Struktur oder zur Größe der untersuchten Moleküle erhältlich.

*Lesen Sie mehr über die Kopplung eines Benchtop-NMR-Spektrometers und der HPLC im Fachartikel von Markus Matz et al. auf Wiley Analytical Science: <https://bit.ly/WAS-Matz>*

## ● KONTAKT |

### Prof. Manfred Wilhelm

Institut für Technische Chemie und Polymerchemie (ITCP)  
Karlsruher Institut für Technologie  
Karlsruhe, Deutschland  
manfred.wilhelm@kit.edu  
<https://www.itcp.kit.edu/wilhelm/>



© bramshavpudal/Shutterstock

# HPLC-Spurenanalytik von Tierarzneimitteln

## Tetracyclinrückstände in Lebensmitteln schnell quantifizieren

Stephanie Zergiebel

**E**in seit Jahrzehnten bekanntes Problem ist der exzessive Einsatz von Antibiotika in der Tierhaltung und die daraus für die Umwelt resultierenden Folgen. Trotz starker Bestrebungen der letzten Jahre in Richtung einer sorgfältigeren und verantwortungsvolleren Anwendung, sind die Verordnungsmengen immer noch sehr hoch [1,2]. Um die behördlichen Rückstandshöchstmengen sicher nachweisen können, sind immer wieder neue innovative Analytik-Methoden erforderlich.

Im Jahr 2020 wurden allein in Deutschland 701 t Antibiotika von pharmazeutischen Unternehmen an Tierärzte abgegeben. Wie auch in den vorangegangenen Jahren waren die beiden Wirkstoffklassen Penicilline (278 t) und Tetracycline (148 t) die Spitzenreiter [1]. Trotz der Vermeidungsstrategien der EMA [2] mit dem Ziel des sorgfältigen und verantwortungsvollen Einsatzes von Antibiotika bei Tieren in Europa ist deren Verbrauch in Deutschland im Jahr 2020 erstmals seit 2011 wieder gestiegen. Die breite Anwendung von Antibiotika in der Tiermast hat nicht nur das Ziel der Prävention und Heilung von Krankheiten. Gerade Tetracycline werden bevorzugt als Zusatzstoffe in Tierfutter verwendet, da sie ein schnelles Wachstum und eine schnelle Gewichtszunahme fördern [3]. Bei der Verwendung in der Veterinärmedizin werden Tetracycline hauptsächlich über den Urin ausgeschieden. Darüber hinaus erfolgt

eine Exkretion in Milch und Eier sowie eine Anreicherung im Gewebe [4]. Diese verbreitete Anwendung von Tetracyclinen und deren Eintrag in die Umwelt führt zu spezifischen Problemen für den Menschen. Durch die übermäßige Freisetzung von Antibiotika in subtherapeutischen Mengen können Resistenzen gegenüber Krankheitserregern entstehen [5]. 2019 gab es weltweit knapp 5 Millionen Todesfälle im Zusammenhang mit Erregersresistenzen. Damit ist dies eine der häufigsten Todesursachen weltweit [6]. Antibiotika-Rückstände in der Umwelt stellen auch darüber hinaus schwerwiegende Risiken für den Menschen dar, wie beispielsweise allergische Reaktionen, Leberschäden oder Magen-Darm-Störungen [7].

Milch, Milchprodukte und Eier sind eine tragende Säule für eine gesunde und ausgewogene Ernährung. Aus diesem Grund befassen sich über 50% der publizierten Methoden zur Lebensmittelanalytik von Tetracyclinen mit dieser Gruppe von Nahrungsmitteln [7]. Aber auch Fleischerzeugnisse, Honig und Fisch zählen für einen Großteil der Menschen zur täglichen Ernährung und können ebenfalls mit Tetracyclinen verunreinigt sein. Aufgrund der Gefahren, die eine übermäßige und unkontrollierte Aufnahme von Antibiotika aus diesen Lebensmitteln birgt, wurde die erlaubte Menge an Tetracyclinen in Lebensmitteln begrenzt. Die Europäische Union hat beispielsweise eine Rückstandshöchstgrenze von  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  und die FDA von  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  für Tetracyclin (TC),

Oxytetracyclin (OTC) und Chlortetracyclin (CT) in Milch festgelegt [8, 9]. Trotz dieser Höchstmengenbegrenzung ist eine schädliche Wirkung auf den menschlichen Organismus nicht auszuschließen, daher ist eine routinemäßige Kontrolle der Grenzwerte sowie eine Bestimmung der absoluten Tetracyclinverunreinigung auch in Bereichen unterhalb der Rückstandshöchstgrenze sehr wichtig. Um diese Untersuchungen schnell und sicher durchführen zu können, sind immer wieder neue und verbesserte Probenvorbereitungs- und Analysemethoden notwendig.

### Herausforderungen und Ziele der Lebensmittelanalytik

Das Hauptziel des Analyseverfahrens ist eine robuste Methode, welche zeitsparend und kostengünstig eine Vielzahl verschiedener Tetracycline mit nur einer Messung quantifizieren kann. Eine Möglichkeit, dies zu erreichen, ist der Einsatz von immer empfindlicheren und spezifischeren Detektoren. So brachte der Einsatz der LC-MS/MS in den 2000er Jahren einen Durchbruch in der Messung immer niedrigerer Konzentrationsniveaus. Einige Einschränkungen der LC-MS können durch die hochauflösende Quadrupol-Time-of-flight-Massenspektrometrie (Q-TOF) umgangen werden [10]. Der Einsatz hochentwickelter Detektoren mit dem Ziel, eine immer geringere Nachweis- und Bestimmungsgrenze zu erreichen, hat den Nachteil der hohen Anschaf-

Lit.	Lebensmittel	Probenvorbereitungszeit [min]	Analysenzeit [min]	Anzahl untersuchter Tetracycline	stationäre Phase	Säulenbezeichnung	Apparatur
[14]*	Milch, Quark, Joghurt, Skyr, Kefir, Frischkäse, Buttermilch	8	9	6	C18 mit polaren eingebetteten Gruppen	phenomenex Synergi Fusion-RP (150 × 4.6 mm, 4 µm)	HPLC-UV
[16]	Milch, Garnelen	25	12	3	C8 mit polarem Endcapping	MacMod Hydrobond PS C8 (150 mm × 4.6 mm, 5 µm)	HPLC-UV
[17]	Wasser	75	27	4	C18	Kromasil 100 C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm)	HPLC-(ESI)MS
[18]	Milch, Wasser	45	15	3	C18	BaseLine Co. Ltd., C18, (250 mm × 4.6 mm)	HPLC-UV
[19]	Milch	35	15	3	C18	Supelcosil C18 (150 mm × 4.6 mm, 3 µm)	HPLC-UV

Tab. 1: Exemplarische Übersicht ausgewählter Methoden zur Bestimmung von Tetracyclinen in Lebensmitteln. \*Derzeit mit Abstand die schnellste Untersuchungsmethode, mit vergleichsweise geringem apparativem Aufwand und gleichzeitig der größten Zahl von Analyten [14].

fungs-, Betriebs- und Energiekosten dieser hochtechnologierten Geräte. Im Bereich der chromatografischen Effizienz besitzt die fortschrittlichere UHPLC Vorteile gegenüber der HPLC, was maximale Trennleistung in kürzester Zeit betrifft. Allerdings liegen die Anschaffungskosten für eine HPLC-Anlage deutlich unter denen für eine UHPLC-Anlage. Darüber hinaus können die Kosten für den Betrieb einer UHPLC-Anlage im direkten Vergleich das Doppelte betragen [11].

Eine nachhaltige Lebensweise gewinnt in der Gesellschaft immer mehr an Bedeutung. Ziel sollte es deshalb sein, die Vorteile hochentwickelter instrumentell-analytischer Geräte für komplexe Fragestellungen und Spezialanalytik zu nutzen. Bei einer Hochdurchsatz- Routineanalytik sollte, wenn mit validen Ergebnissen möglich, die ressourcensparende und damit umweltschonendere Standardanalytik bevorzugt werden. Diese hat darüber hinaus den Vorteil der breiten Anwendbarkeit, da nur Standard-Laborequipment benötigt wird.

Die Untersuchung von Lebensmittelproben erfordert nicht nur eine präzise Analytik, sondern auch eine entsprechend validierte Probenvorbereitung zur Abtrennung der Matrixkomponenten. Ziel ist es hierbei, eine Methode zu entwickeln, die für viele verschiedene Matrices anwendbar und gleichzeitig einfach, schnell und umweltfreundlich ist.

### Probenvorbereitungsmethoden

Die Extraktion von Tetracyclinen aus Lebens- und Futtermitteln ist nach wie vor eine Herausforderung, da die verschiedenen Matrixeffekte dabei ein großes Problem darstellen. Die am häufigsten verwendeten Probenvorbereitungsarten sind die Flüssigextraktion (liquid extraction, LE) und die Festphasenextraktion (solid-phase extraction, SPE). Der Vorteil der SPE liegt in der Möglichkeit, sehr verdünnte Proben aufzukonzentrieren. Nachteilig bei

dieser Methode ist der relativ hohe Kosten-, Lösungsmittel- und Zeitaufwand, sowie die im Vergleich geringere Reproduzierbarkeit aufgrund der chargenbedingten Schwankungen der Säulenfüllmaterialien [7]. Die LE ist selektiver und robuster als die SPE, bei etwas niedrigerem Lösungsmittelverbrauch. Jedoch ist hierbei ein zeit- und energieaufwendiges Evaporieren der Probe erforderlich [7]. Eine Weiterentwicklung der LE ist mit der QuE-ChERS-Methode (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) gelungen. Sie ist ursprünglich basierend auf einer Flüssig-Flüssig-Verteilung in Acetonitril/Wasser, bei der Salze zur Verbesserung der Phasentrennung zugegeben

werden [12]. Die Extraktionsbedingungen müssen auf die jeweilige Matrix und nachzuweisende Stoffklasse angepasst werden.

### Quantifizierung mittels HPLC

HPLC-Analytik ist die am häufigsten verwendete Technik zum Nachweis von Tetracyclinen in Lebensmitteln [7]. Eine chromatographische Trennung dieser Substanzklasse in kurzer Zeit ist komplex, da sich die einzelnen Derivate strukturell sehr ähneln. Die Grundstruktur der Tetracycline ist ein Octahydronaphthalen-Ringsystem, welches sich je nach Derivat

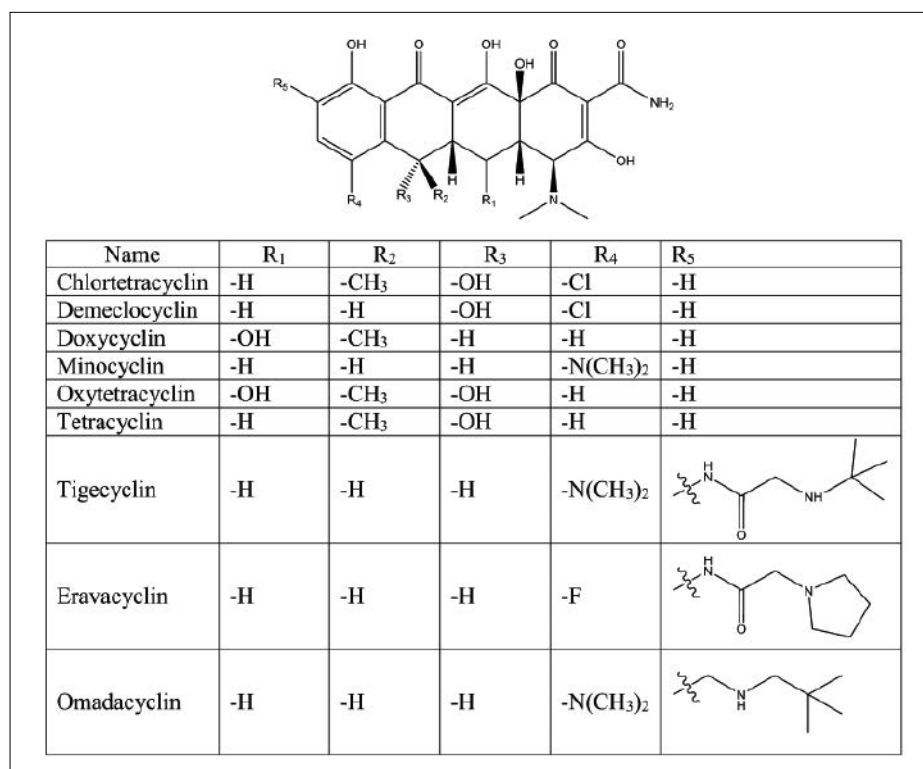


Abb. 1: Chemische Strukturen der Tetracycline. Tigecyclin, Eravacyclin, Omadacyclin und Minocyclin gelten laut WHO als Reserveantibiotika und haben daher eine untergeordnete Rolle in der Routineanalytik von Lebensmitteln [15].



## IRSpirit



# Raumwunder

Kleiner Fußabdruck, große Empfindlichkeit – das kompakte IRSpirit FTIR-Spektrophotometer passt selbst in beengte Räume und bringt dabei die Leistung eines Großgeräts.

- **Flexibel erweiterbar**  
durch den breitesten Probenraum seiner Klasse
- **Applikative Vielfalt**  
durch zahlreiches eigenes Zubehör sowie von Drittanbietern
- **Einfache Qualitätssicherung**  
durch Pass/Fail-Bewertung
- **Automatisierung**  
mit selbsterstellbaren Mess- und Analysemakros
- **Sorgenfrei bedienbar**  
durch elektrochemische Entfeuchtungseinheit

nur durch Substituenten in vier verschiedenen Positionen unterscheidet (Abb. 1). Die vielen polaren Gruppen bedingen die gute Wasserlöslichkeit, weshalb ein hoher wässriger Anteil der mobilen Phase Voraussetzung für ein RP-Trennung ist. Der pH-Wert der mobilen Phase ist ein entscheidender Faktor für die Güte der Trennung, da die Substanzen eine saure vinyloge Carbonsäure, eine enolisches Hydroxylfunktion sowie eine, respektive zwei, basische Dimethylaminogruppen enthalten. Darüber hinaus ist die Stabilität der Tetracycline in wässriger Lösung ebenfalls stark pH-abhängig. Das Stabilitätsoptimum liegt bei pH 2,5. Bei höheren pH-Werten tritt eine zügige Zersetzung ein [13]. Tetracycline sind starke Komplexbildner, welche mit zwei- und dreiwertigen Metallkationen Chelatkomplexe bilden. Die Intensität der Komplexbildung nimmt ebenfalls mit steigendem pH-Wert zu. Die Komplexbildung über das Phenol-Diketon-System (Position C10-C12) erfolgt im pH-Bereich 3-7,5. Bei darüber hinaus steigendem pH-Wert kann durch die Deprotonierung der Dimethylaminogruppe gemeinsam mit der benachbarten cis-ständigen Hydroxygruppe (Position C12a) eine weitere Komplexbildung erfolgen [13]. Diese Komplexbildungstendenz hat in der Vergangenheit zu Schwierigkeiten bei der chromatografischen Trennung (starkes Tailing, Adsorption auf der Säule) geführt und den Zusatz von stärkeren Chelatbildnern, wie Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) oder Oxalsäure, zur mobilen Phase nötig gemacht. Moderne Kieselgelsäulen weisen nur noch eine sehr geringe Metallionenkontamination auf, weshalb bei entsprechender Auswahl der Säule, keine komplexbildenden Zusätze zum Fließmittel mehr nötig sind. Zur Quantifizierung eines Tetracyclins ist eine Standard RP-18 oder RP-8 Säule gut nutzbar. Sollte jedoch die Trennung mehrerer Tetracycline in kurzer Analysezeit angestrebt

werden, sind modifizierte Füllmaterialien zu bevorzugen, beispielsweise die Verwendung von polar-encapped Säulen. Diese bieten durch die eingebetteten polaren Gruppen eine polare und gleichzeitig hydrophobe Selektivität, wodurch eine bessere Retention polarer organischer Verbindungen erreicht wird. Es gibt eine große Vielzahl von Publikationen, welche sich mit Rückstandsbestimmung von Tetracyclinen in verschiedenen Lebensmitteln befassen. Tab. 1 zeigt exemplarisch eine Übersicht ausgewählter Säulen, die Anzahl der getrennten Tetracycline und deren resultierende Analysenzeiten. Außerdem ist angegeben, zur Untersuchung welcher Lebensmittel die Methode entwickelt wurde und welche Extraktionszeit benötigt wird, um eine injektionsfertige HPLC-Probe zu erhalten.

### Fazit

Trotz intensiver Forschung auf diesem Gebiet sind Multirückstandsmethoden, die gleichzeitig mehr als ein Tetracyclin in Milch und anderen Matrices innerhalb einer extrem kurzen Probenvorbereitungszeit bestimmen, noch selten. Die in Tab. 1 vorgestellte Extraktionsmethode [14] kombiniert erstmals eine ultraschnelle, ressourcensparende Microextraktion, die auf verschiedene Milchprodukte anwendbar ist, mit einer schnellen und reproduzierbaren Quantifizierung von sechs Tetracyclinen mittels HPLC-UV. Die hohen Wiederfindungsraten in unterschiedlichen Matrices zeigen, dass die Methode auch für weitere Lebensmittel adaptiert werden kann.

### ● KONTAKT |

**Dr. Stephanie Zergiebel**  
Institut für Pharmazie,  
Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Jena, Deutschland  
stephanie.zergiebel@uni-jena.de

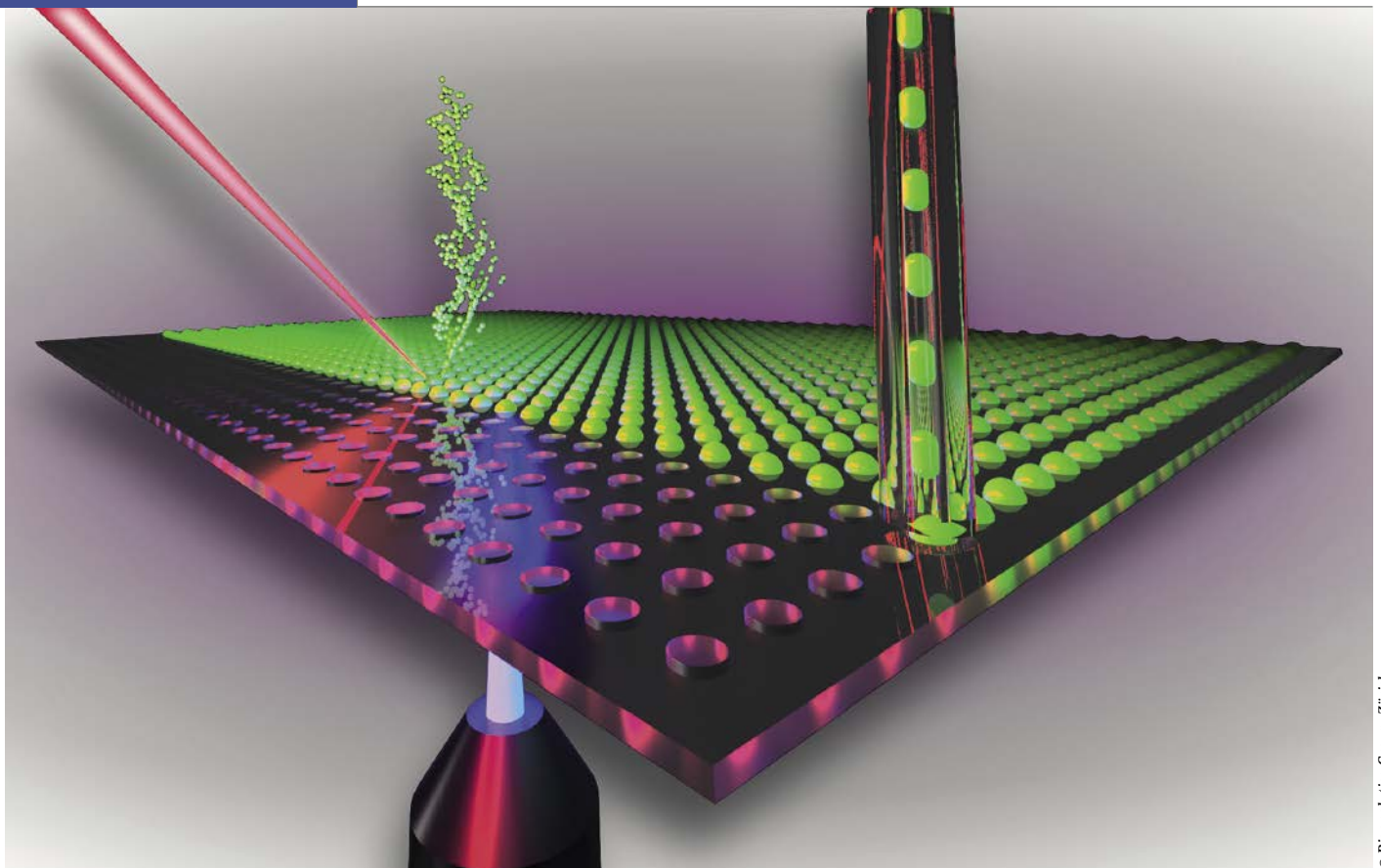


Weitere Beiträge  
zum Thema: [https://  
bit.ly/WAS-D-HPLC](https://bit.ly/WAS-D-HPLC)



Literatur:  
[https://bit.ly/  
GIT-Zergiebel](https://bit.ly/GIT-Zergiebel)





# Winzige Tröpfchen, riesiger Durchsatz!

Arrays aus nL- und pL Tropfen für die Bioanalytik

Maximilian Breitfeld<sup>1</sup>, Simon F. Berlanda<sup>1</sup>, Petra S. Dittrich<sup>1</sup>

**T**ropfen-Microarrays fassen im Gegensatz zu herkömmlichen Mikrotiterplatten bis zu hunderttausende individuelle Proben. Die drastische Miniaturisierung ermöglicht eine massive Steigerung des Probedurchsatzes bei gleichzeitiger Reduzierung der Kosten für die Reagenzien. In den letzten Jahren konnte die Automatisierung dieser Technologie und der Analytik von Tropfen-Microarrays kontinuierlich verbessert werden. Unter den vielseitigen Anwendungen ist die Analyse von biochemischen Proben und einzelnen Zellen besonders vielversprechend.

## Ein Labor im Mikrochip

Mikrotiterplatten sind in biochemischen, mikrobiologischen und biologischen Analysen die Standardplattform, insbesondere bei einer großen Anzahl an Proben. Üblicherweise haben die Platten 96 oder 384 „Näpfchen“, die mit Probenvolumina im Bereich von Mikro- bis Millilitern gefüllt werden.

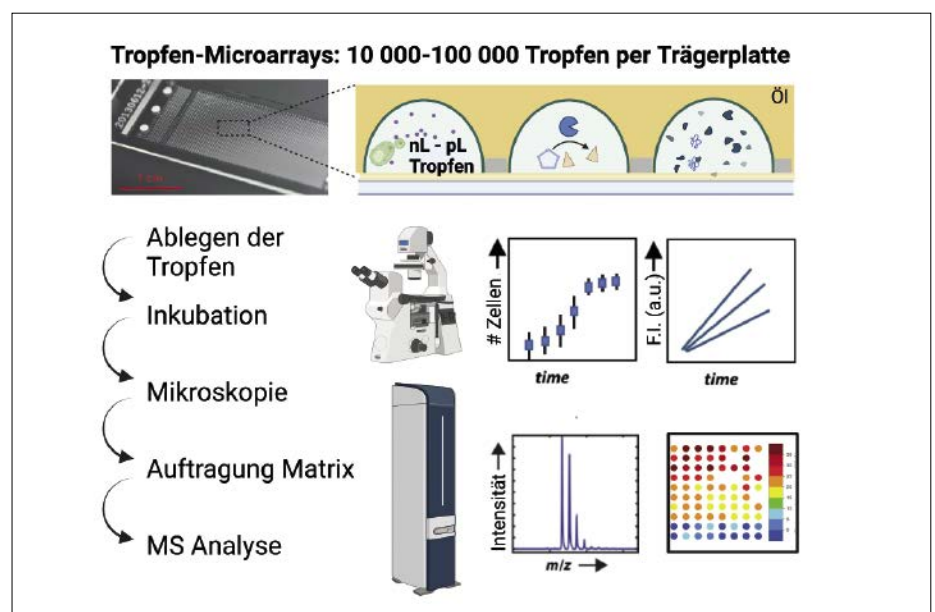


Abb. 1: Die Tropfen-Microarrays werden auf einer speziell angefertigten Glasplatte erzeugt. Bis zu 100 000 Tropfen werden auf einer Fläche, die der Größe eines Objektträgers entspricht, aufgebracht. Die Tropfen werden anschließend auf einem Mikroskop beobachtet und mit einem Massenspektrometer analysiert. (Bild erzeugt mit BioRender, Copyright Bioanalytics Group, ETH Zürich).



*Auf einer Platte lassen sich tausende bis 100.000 Tropfen erzeugen, die jeweils für sich einen Miniaturreaktor darstellen. Die Tropfen können mit Substanzen befüllt oder mit Zellen versehen werden.*

In der Analytik für den Hochdurchsatz, in denen tausende Proben getestet werden sollen, werden entsprechend viele dieser Platten in Kombination mit Pipettierrobotern und automatisierten Auslesegeräten benötigt.

In den letzten zwei Jahrzehnten haben sich durch die Mikrofluidik neue Alternativen eröffnet, um die Handhabung ultra-kleiner Flüssigkeitsmengen zu realisieren [1]. Mehrere Arbeitsschritte, z. B. mischen, inkubieren, trennen von Substanzen, können in mikrofluidische Systeme integriert werden, weshalb sich auch der Begriff Lab-on-chip-Technologie etabliert hat.

Ein Teilgebiet der Mikrofluidik ist die tropfenbasierte Mikrofluidik. Diese erlaubt die kontrollierte Herstellung von monodispersen Emulsionen. Durch Injektionen von wässrigen Proben in eine fließende Ölphase werden tausende Tropfen pro Sekunde gebildet. Typische Anwendungen liegen in Gebieten, in denen hoher Durchsatz erforderlich ist. Dazu gehören die Einzelzell-Analyse, zum Beispiel für die gerichtete Evolution [2,3], Einzelzell-Sequenzierung [4], Zytometrie und Zell-Sortierung [5] und chemische Synthesen einschließlich der Herstellung von Nanopartikeln [6]. Die Analyse der Tropfen ist allerdings zumeist beschränkt auf optische Methoden, vor allem auf die Fluoreszenz-Spektroskopie, die schnell, sensitiv und einfach integrierbar ist. Viele andere Routineschritte zum Beispiel die Zugabe von Reagenzien oder Trennung von Substanzen [7] können nur unter

**YMC**  
EUROPE GMBH  
The Selectivity Company

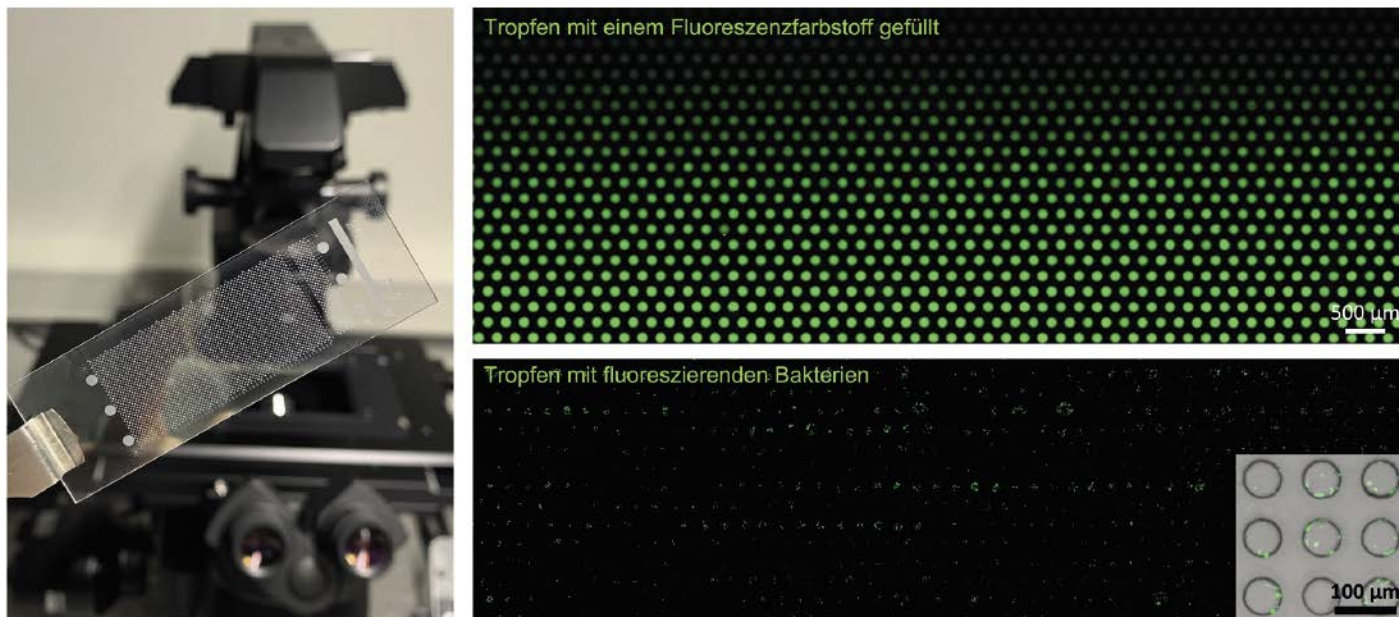
**Experten für Reproduzierbarkeit**

- **Robuste Bio-RP (U)HPLC**  
Scharfe Peaks von Proteinen/Peptiden, Oligonukleotiden oder mAbs.
- **IEX mit hoher Recovery**  
Exzellente Auflösung und niedrige Adsorption bei Protein-, mAb und Oligonukleotid-Analysen.
- **Hocheffiziente HIC & SEC**  
Verschiedene Selektivitäten für schnelle und verlässliche Analytik von Proteinen, mAbs und ADCs.

**BioLC Workshop mit Theorie & Praxis**  
26.–27. September 2023  
**Jetzt Platz sichern!**

Entdecken Sie unsere Website: [www.ymc.eu](http://www.ymc.eu)  
**Aktuelle Infos und umfassender Support**  
E-Mail [support-ica@ymc.de](mailto:support-ica@ymc.de) · Telefon +49 2064 427-0





**Abb. 2:** Tropfen-Mikroarrays können in verschiedenen analytischen Fragestellungen eingesetzt werden. Zu sehen sind hier zwei Beispiele, in denen jeweils ein Ausschnitt der Platte gezeigt ist. Im oberen Mikroskopiebild ist anhand einer fluoreszierenden Lösung gezeigt, wie die Tropfen zunehmend mit einer höheren Konzentration eines Farbstoffes versehen werden. In der unteren Abbildung sind Bakterienzellen als grüne Punkte sichtbar, deren Wachstum über mehrere Stunden verfolgt werden kann. Um möglichst einzelne Zellen einzuschließen, wird eine sehr verdünnte Suspension eingesetzt und viele Tropfen bleiben leer. Copyright Bioanalytics Group, ETH Zürich

weiterer Integration von Modulen auf dem Mikrochip erfolgen.

Tropfenbasierte Mikroarrays überwinden einige dieser Einschränkungen. Die Tropfen werden auf einer Platte in der Größe eines Objektträgers unter Öl abgesetzt und bleiben dabei ähnlich wie die Proben auf Mikrotiterplatten von oben offen und zugänglich. Ein Tropfen-Mikroarray kann hunderttausende Tropfen enthalten, mit Volumina im Bereich von Pico- oder Nanolitern. Somit umfassen alle Proben eines Mikroarrays zusammengefasst nur einen Bruchteil des Volumens einer einzigen Mikrotiterplatte mit 96 oder 384 Einzelgefäßen. Aufgrund des offenen Systems und der räumlichen Anordnung ist es möglich einzelne Tropfen zu adressieren und den Tropfen weitere Substanzen hinzuzufügen. Überdies ist die Verwendung von Analysemethoden möglich, bei denen die Probe zugänglich sein muss, wie zum Beispiel bei der MALDI-MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry) (Abb. 1).

#### Herzstück der Technologie: Mikrostrukturierte Trägerplatten

Ein wichtiger Teil der Tropfen-Mikroarrays ist die Platte, auf der die Tropfen abgelegt werden. Diese ist aus Glas und so vorbereitet, dass hydrophile Bereiche für die Anlagerung der Tropfen von einer hydrophoben Oberfläche umgeben sind. Dieses Muster

erfüllt zwei Funktionen. Erstens, definiert es die Struktur und räumliche Anordnung der Tropfen, die sich auf den hydrophilen Bereichen absetzen. Zweitens, verteilt sich das vor Verdunstung schützende Öl gleichmäßig um die abgelegten Wassertropfen.

Die Platten werden in einem fotolithographischen Verfahren im Reinraum hergestellt, in dem ein aufgetragener (sogenannten negativen) Fotolack durch eine Fotomaske belichtet und entwickelt wird, so dass sich der Fotolack in den unbelichteten Flächen auflöst. Die abgetragenen Flächen lassen dabei eine hydrophile Glasoberfläche zurück, der ausgehärtete Fotolack ist dagegen hydrophob. Größe und Abstand der hydrophilen Flächen sind durch die Fotomaske genau definiert. Typische Durchmesser der runden Flächen liegen zwischen 50-250 µm. Weitere Prozess-Schritte werden nach Bedarf eingesetzt. Für die Kombination mit MALDI-MS wird die Glasplatte mit einer leitfähigen und zugleich transparenten Schicht aus Indiumzinnoxid versehen.

#### Ablauf der Analysen

Die Probenlösungen können auf unterschiedliche Weise auf die Platte aufgebracht werden. Zum Beispiel wird eine Emulsion vorproduziert und dann tröpfchenweise durch eine Kapillare auf der Platte abgelegt, oder die gesamte wässrige Phase wird über die Platte verteilt und mit einer geraden Kante abgestrichen. Je nach Verfahren und Anwen-

dung wird eine Platte innerhalb von Minuten oder langsam über mehrere Stunden gefüllt. Die Datenaufnahme erfolgt auf einem inversen Mikroskop, wo durch digitale Bilder und Aufnahmen von Fluoreszenzsignalen einzelne Tropfen ausgewertet werden. Für Temperatur-kritische Anwendungen wird die Platte in ein temperiertes Ölbad gelegt, das auf dem Mikroskopisch positioniert wird.

Vor der Analyse im Massenspektrometer wird das Öl dekantiert und die Matrix appliziert (durch Spray oder Bedampfung). Die Auswertung der hohen Anzahl an Spektren erfordert eine spezielle Software.

#### Anwendungsbeispiele

Die Plattform ist sehr flexibel verwendbar, was sich in der Vielzahl der Applikationen widerspiegelt.

Auf einer Platte lassen sich tausende bis 100.000 Tropfen erzeugen, die jeweils für sich einen Miniaturreaktor darstellen. Die Tropfen können mit Substanzen befüllt oder mit Zellen versehen werden. Reagenzien zum Starten einer Reaktion, oder pharmazeutisch-aktive Wirkstoffe können hinzugegeben werden. In den letzten Jahren wurde diese Methode bereits für die Untersuchung von Reaktionen [8], sowie von Proteinen und deren posttranslationalen Modifikationen eingesetzt [9].

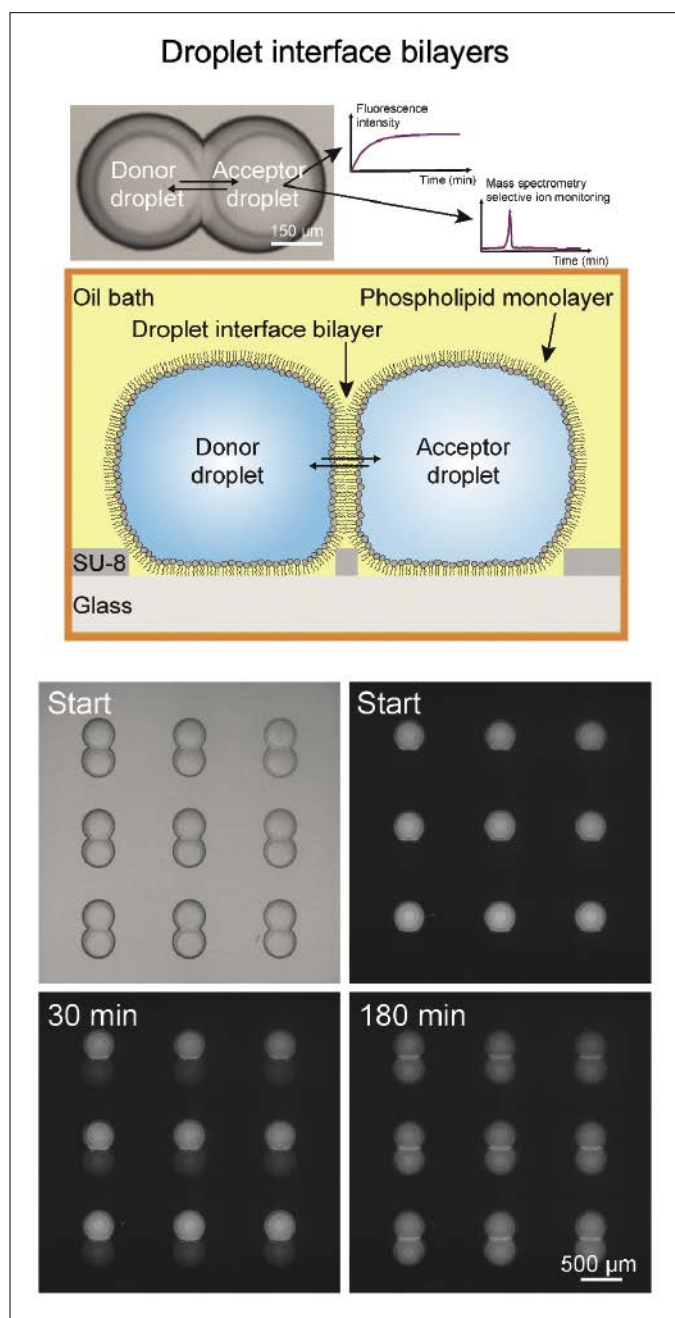
Der in Abbildung 2 gezeigte Ausschnitt einer Platte zeigt die Möglichkeit, Tropfen

mit unterschiedlichen Konzentrationen einer Substanz (hier eines Fluoreszenzfarbstoffes) aufzutragen. Der Gradient verläuft über die gesamte Platte und ermöglicht es, systematisch das Mischungsverhältnis von Substanzen zu verändern.

Ein großes Potential haben Tropfen-Mikroarrays für die miniaturisierte und automatisierte Zellanalyse vor allem der Analyse einer einzelnen Zelle. Durch das eingesetzte inerte Öl verdunsten die Tröpfchen nicht und erlauben des Weiteren einen Gasaustausch. Dies ermöglicht es eukaryotische oder prokaryotische Zellen über einen längeren Zeitraum zu kultivieren, bis das Medium der Tropfen aufgebraucht ist (Abb. 2, unten). In dieser Zeit können Wirkstoffe getestet oder sekretierte Substanzen in den Tropfen aufgefangen und analysiert werden.

Es konnten beispielsweise Enzyme und Proteine, die von Hefezellen produziert und in den Tropfen sekretiert wurden, sowohl mittels einer fluorogenen Reaktion auf dem Fluoreszenzmikroskop, als auch durch MALDI-MS in einer nicht-fluorogenen Reaktion nachweisen werden [10]. Dieses eröffnet neue Möglichkeiten in der Assay-Entwicklung, die im bioanalytischen Bereich oftmals auf der Anbindung von Fluorophoren oder der Erzeugung fluoreszenter Signale in einer Reaktion basieren und dadurch eingeschränkt sind. Durch geschickte Trennung von Zellen und Überstand vor der Analyse bleiben überdies die Zellen erhalten und können weiter kultiviert werden.

Eine weitere interessante Anwendung ist die Erzeugung von künstlichen Lipid-Membranen zwischen zwei Tröpfchen [11]. Hierbei ist die Möglichkeit der genauen Tropfen-Positionierung entscheidend. Liegen zwei Tropfen eng beieinander, vorgegeben durch das Muster der hydrophilen Flächen, können sie in Kontakt kommen. Da in diesem Fall die Tropfen mit einer Schicht aus Lipiden stabilisiert werden, fusionieren sie nicht, sondern bilden eine zell-



**Abb. 3:** Erzeugung von Lipid-Membranen an der Kontaktstelle zweier Tropfen, auch Droplet interface bilayer genannt [11]. Eine Substanz, die nur in einem Tropfen eingeschlossen ist, kann über die Lipid-Membran den benachbarten Tropfen erreichen. In den unten gezeigten Mikroskopie-Bildern sind 9 Tropfenpaare gezeigt. Der Übertritt einer fluoreszierenden Substanz kann zeitaufgelöst verfolgt werden.  
Copyright Bioanalytics Group, ETH Zürich

ähnliche Lipid-Doppelschicht aus (Abb. 3). Auf diese Weise können Paare oder Netzwerke von Tropfen erzeugt und die Diffusion von Substanzen über

die Lipid-Membrane beobachtet werden. Das Beispiel in Abbildung 3 zeigt zwei verknüpfte Tropfen. In einem Tropfen ist eine fluoreszierende Substanz

eingeschlossen, die über die Membran diffundiert und nach mehreren Stunden im zweiten Tropfen sichtbar wird. Das System erlaubt ebenfalls, Wirkstoffe ohne angehängte Fluorophore in den Tropfen mittels MS nachzuweisen. Es ist davon auszugehen, dass diese Labelfreie Verfolgung von Permeation das Verständnis für die Aufnahme von Substanzen in Zellen erheblich verbessern kann und sich insbesondere für ein schnelles Screening neuer potenzieller Wirkstoffe eignet.

## Fazit

Winzige Tropfen ermöglichen Analytik im Hochdurchsatz, die in vielen angewandten und fundamentalen Fragestellungen benötigt wird. Die in diesem Artikel vorgestellten Tropfen-basierten Mikroarrays sind optimal für bioanalytische Fragestellungen, in denen nicht nur die Probe und die Reagenzien kostbar sind, sondern auch multiple Methoden zur Analyse und Beobachtung der Proben eingesetzt werden sollen. Es wird daran gearbeitet, die Technologie noch weiter zu verbessern, so dass es zukünftig möglich sein wird, Tropfen-Mikroarrays einfach und routinemäßig in vielfältigen analytischen Methoden und Prozessen zu integrieren.

## Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Departement Biosysteme, ETH Zürich, Schweiz

## ● KONTAKT |

Prof. Dr. Petra S. Dittrich

Departement Biosysteme  
ETH Zürich

Basel, Schweiz

ORCID: 0000-0001-5359-8403

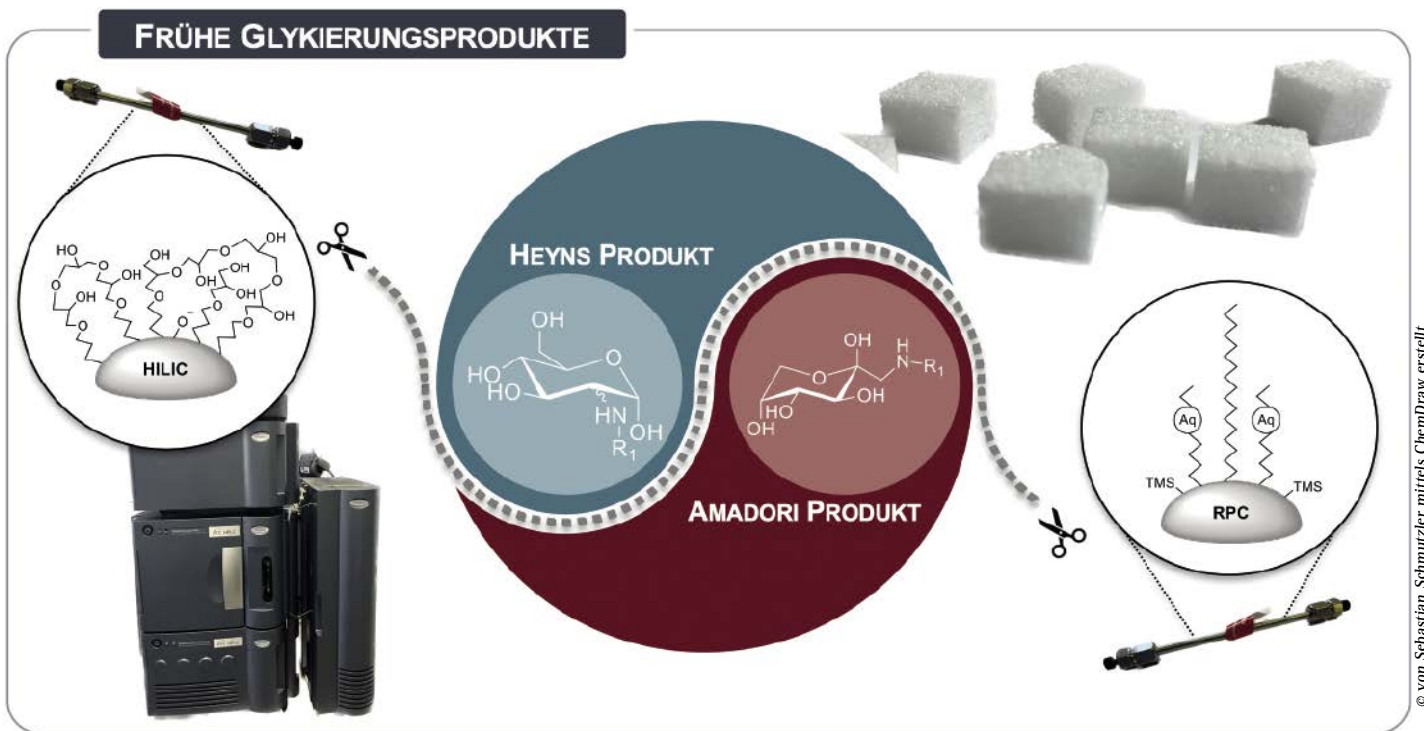
petra.dittrich@bsse.ethz.ch



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-D-HPLC>

[1]

Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Dittrich>



© von Sebastian Schmutzler mittels ChemDraw erstellt

# Eine Frage des Zuckers

## Trennung von Glykierungsisomeren

Sebastian Schmutzler<sup>1,2</sup> und Ralf Hoffmann<sup>1,2</sup>

Die peptidbasierte Proteomanalyse positionsspezifisch modifizierter Plasmaproteine erscheint vielversprechend für die Suche nach zirkulierenden Markern, die das Ausmaß der nicht-enzymatischen Glykierung (Maillard-Reaktion) durch Fructose *in vivo* widerspiegeln. Eine analytische Herausforderung stellt die Unterscheidung peptidgebundener Glykierungsisomere von Glucose und Fructose dar, welche aufgrund ihrer identischen Massen vor der massenspektrometrischen Identifizierung chromatographisch getrennt werden müssen. Daher wurde das Retentionsverhalten von sieben Peptidfamilien, jeweils bestehend aus unmodifizierten, Glucose- und Fructose-modifizierten Peptiden, in der RP-HPLC und HILIC untersucht. Während HILIC unter Verwendung einer vernetzten stationären Diol-Phase meist eine Basislinientrennung der glykierten und entsprechenden unmodifizierten Peptiden erreichte, ermöglichte die RP-HPLC mit C<sub>18</sub>-gebundenen Kieselgelphasen und phosphatgepufferten Eluenten eine sequenzunabhängige Trennung der Glucose- und Fructose-modifizierten Peptide.

### Die Maillard-Reaktion

Das Sauerteigbrot, die Schweinshaxe, das Grillsteak, sie alle sind durch eine appetitliche Bräunung gekennzeichnet, die meist mit einem charakteristischen Aroma verbunden ist. Die Eigenschaft, bei hohen Temperaturen eine ausgeprägte Kruste und Farbe zu entwickeln, verdanken diese Lebensmittel der Reaktion reduzierender Zucker mit Aminogruppen, beispielsweise in Proteinen. Diese nicht-enzymatische Glykierung von Proteinen ist Teil einer mehrstufigen Reaktionskaskade, die als Maillard-Reaktion bekannt ist und bei der sehr viele Produkte entstehen, die für Textur, Geschmack, Geruch und

Aussehen verantwortlich sind [1]. Während diese Reaktion beim Backen, Kochen oder Grillen erwünscht sein mag, ist sie zugleich ein wichtiger Aspekt unseres Alterungsprozesses – unter weniger drastischen, physiologischen Bedingungen (37 °C) verändert sie langsam unsere Zellen und somit auch alle Organe und Gewebe „von innen heraus“. In Abhängigkeit des Zuckers werden die ersten stabilen Intermediate der Maillard-Reaktion für Glucose als Amadori- (ARP) und für Fructose als Heyns-Umlagerungsprodukte (HRP) bezeichnet. Diese frühen Glykierungsprodukte können in komplexen irreversiblen Reaktionen zu fortgeschrittenen Glykierungsprodukten (AGEs) reagieren, die

mitunter farbig oder fluoreszent sind und teils durch Quervernetzungen die Struktur und Funktion von Proteinen irreversibel verändern können [2]. Die daraus resultierenden Aggregate, vor allem langlebiger Proteine, die unter hyperglykämischen Konditionen verstärkt gebildet werden, sind typisch für zahlreiche Gefäßerkrankungen [3].

### Relevanz der Fructose

Glucose hat sich evolutionär als universelle Energiequelle etabliert und dominiert bei der Glykierung (vor allem) im Kontext von Diabetes [4]. Als vermeintlich gesünderer Zucker hat sich die ursprünglich saisonal konsumierte Fructose, besser bekannt als Fruchtzucker, als ein fester Bestandteil unserer täglichen Ernährung eingeschlichen [5]. Ob in Form von Saccharose oder Isoglucose (fructosereicher Maissirup, HFCS), der Konsum des süßesten natürlich vorkommenden Zuckers hat bedenkliche Ausmaße angenommen. Dabei ist längst bekannt, dass Süßstoffe auf Basis von Fructose aufgrund ihres besonderen Stoffwechsels die Entwicklung von Fettleibigkeit [6], Diabetes [7] und der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) begünstigen [8]. Fructose wird zudem eine stärkere Beteiligung an Glykoxydationsprozessen und damit

an der Bildung von AGEs zugeschrieben als Glucose [9], was jedoch durch die mehr als 100fach geringere Konzentration der Fructose im Blutplasma relativiert wird [10]. Es stellt sich daher die Frage, ob Fructose durch eine gesteigerte exogene Aufnahme oder durch endogene Effekte wie einen aktivierten Sorbitol-Stoffwechselweg einen signifikanten Beitrag zur Glykierung *in vivo* leistet.

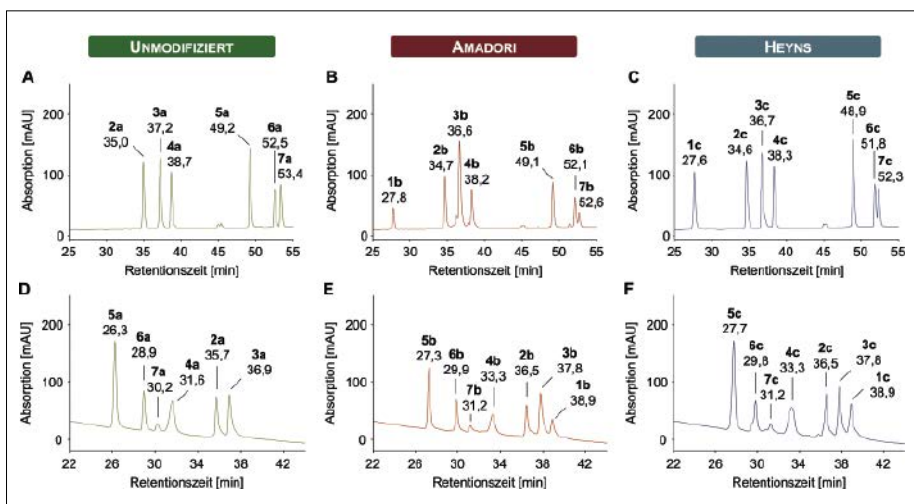
### Analyse peptidgebundener Glykierungsprodukte

Als besonders herausfordernd stellt sich die Unterscheidung der ausgehend von Glucose und Fructose gebildeten Fructosamine (1-Amino-1-deoxy-2-fructose, ARP) und Glucosamine beziehungsweise Mannosamine (2-Amino-2-deoxy-1-aldosen, HRP) dar – Konstitutionsisomere, mit sehr ähnlichen physikochemischen Eigenschaften. Die Aminosäureanalyse erlaubt eine gute globale Quantifizierung glykierter Aminosäuren in Proteinhydrolysaten, liefert jedoch keine Hinweise auf die glykierten Positionen und wichtige Modifikations-Hotspots. Diese Einblicke ermöglicht die peptidbasierte Proteomanalyse, die jedoch wegen der hohen Komplexität nach einem Protease-Verdau sehr herausfordernd ist, insbesondere für isomere Peptide. Glykierte Spaltpeptide bestehen zum Teil aus mehr als 20 Aminosäuren, so dass eine Modifikation durch Glucose oder Fructose an einem Lysinrest die hydrophoben Wechselwirkungen und damit die Retention der Peptide in der Umkehrphasenchromatographie (RPC) nur minimal verändert. Dies erschwert ihre

Trennung von den homologen unglykierten Peptiden und insbesondere die Trennung isomerer Amadori- und Heyns-Peptide.

### Chromatographische Trennung isomerer Amadori- und Heyns-Peptide

Zur systematischen Untersuchung des Retentionsverhaltens von Amadori- und Heyns-Peptiden unter verschiedenen chromatographischen Bedingungen wurden insgesamt sieben glykierte Sequenzen ausgewählt, die im tryptischen Verdau humaner Plasmaproben identifiziert und als unmodifizierte und Glucose- sowie Fructose-modifizierte Peptide synthetisiert wurden. Zunächst wurden die Standardbedingungen der RP-HPLC unter Verwendung einer  $C_{18}$ -Silikatphase und eines Acetonitril-Gradienten in der Gegenwart der Ionenpaarreagenzien Trifluoressigsäure oder Ameisensäure zur Analyse der Peptide bei einer Säulentemperatur von 60°C getestet. Diese Bedingungen konnten effizient Peptide unterschiedlicher Sequenzen und teilweise auch unmodifizierte von glykierten Peptiden trennen, während Glykierungs-isomere koeluierten. Selbst ein sehr flacher Gradient ermöglichte nur für zwei hydrophobe Sequenzen eine partielle Trennung der Glucosamin-, Mannosamin- und Fructosamin-Peptid-isomere an einer nanoRP-UPLC. Eine bessere Trennleistung wurde auf einer  $C_{18}$ -Silikatphase mit polar eingebundenen Gruppen und phosphatgepufferten Eluentensystemen beobachtet. Bei neutralem pH-Wert wurden mit den zuvor verwendeten Gradienten und Säulentemperaturen teilweise



**Abb. 1:** Ausschnitte der RP- (Panel A-C) und HILIC-Chromatogramme (Panel D-F) von sechs unmodifizierten (a, Panel A/D) und sieben durch Glucose (b, Panel B/E) oder Fructose (c, Panel C/F) glykierten Peptiden. Die Trennungen in der RP-HPLC erfolgten auf einer Jupiter  $C_{18}$ -Säule bei 60°C und einer Flussrate von 0,2 mL/min unter Verwendung wässriger Acetonitril-Gradienten (0,6%  $CH_3CN/min$ ) in Gegenwart von Trifluoressigsäure (0,1% v/v). Die Trennungen in der HILIC erfolgten auf einer Luna-HILIC-Säule bei Raumtemperatur und einer Flussrate von 0,2 mL/min unter Verwendung wässriger Acetonitril-Gradienten (0,6%  $H_2O/min$ ) in Gegenwart von Ammoniumformiat (5 mmol/L, pH 3,2). Die Absorption wurde bei 214 nm gemessen.

# LABVOLUTION

9. – 11. Mai 2023  
Hannover • Germany  
labvolution.de

## Unsere Highlights:

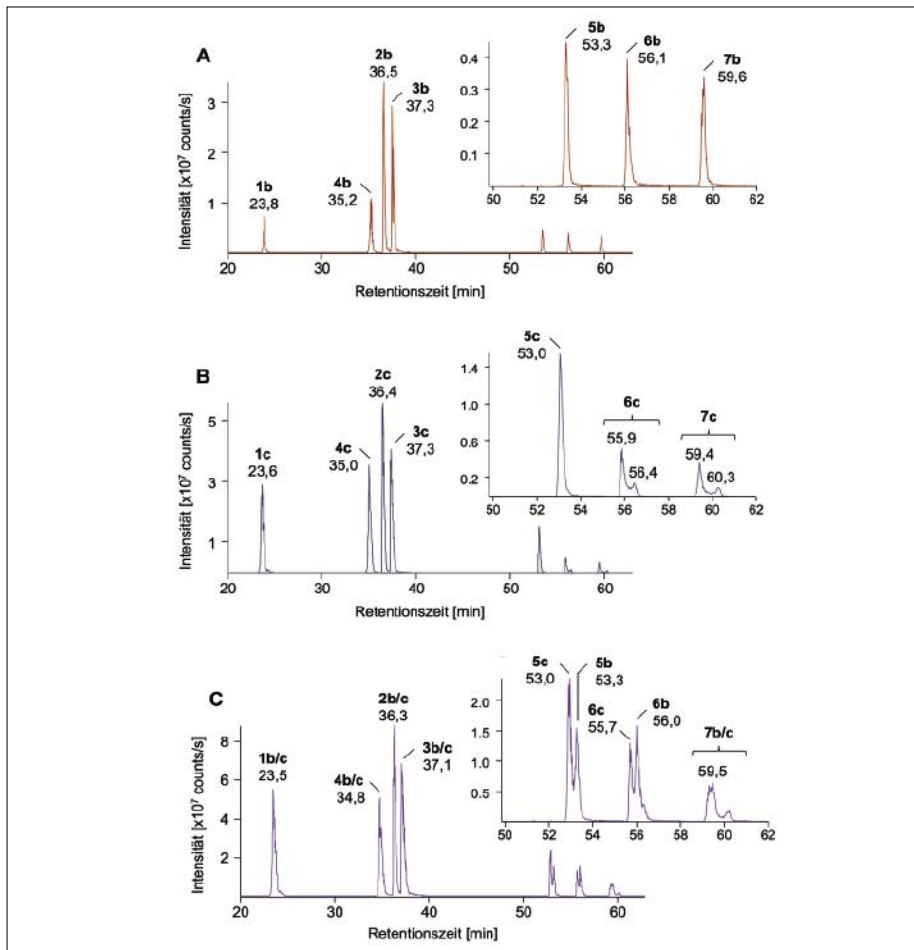
- **smartLAB**  
Das intelligente Labor der Zukunft
- **LAB Sustainability Summit**  
Forschungs- und Laborprozesse nachhaltig gestalten
- **LIMS & Software Area**  
Vorträge von Herstellern und Experten zum aktuellen Stand der Laborsoftware



direkt zur  
Ticket-Registrierung

Jetzt  
Gratis-Ticket  
sichern:  
mYpmJ





**Abb. 2:** Extrahierte Ionenchromatogramme von sieben durch Glucose (b, Panel A) oder Fructose (c, Panel B) glykierten Peptiden sowie einer Mischung aller 14 modifizierten Peptide (Panel C). Die Trennungen erfolgten auf einer Acquity UPLC BEH  $C_{18}$ -Säule bei 30 °C und einer Flussrate von 0,4  $\mu$ L/min unter Verwendung wässriger Acetonitril-Gradienten (0,425 %  $CH_3CN$ /min) in Gegenwart von Ameisensäure (0,1 % v/v). Die Detektion erfolgte mittels online-gekoppelter ESI-Orbitrap-MS.

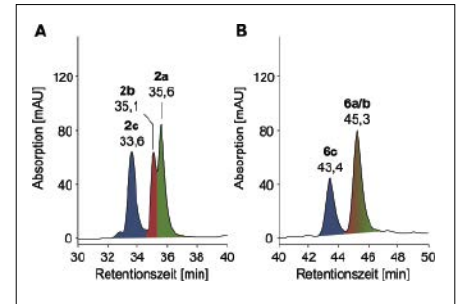
eine Basislinientrennung für isomere Amadori- und Heyns-Peptide erzielt. Sechs der sieben Heyns-Peptide eluierten 0,7 min bis 1,6 min vor den entsprechenden Amadori- und unmodifizierten Peptiden. Da die Trennung isomerer Amadori- und Heyns-Peptide nur in Gegenwart von Phosphat, nicht aber von Ammoniumacetat bei gleichem pH-Wert beobachtet wurde, lässt sich eine spezifische Wechselwirkung der Hydrogenphosphationen mit den *trans*-ständigen Hydroxylgruppen der in Lösung gebildeten Halbacetalformen der Heyns Umlagerungsprodukte vermuten.

Um eine Interaktion der polaren Zuckerreste mit der stationären Phase zu ermöglichen, wurden die Peptidstandards auch an einer quervernetzten Diolphase unter Bedingungen der hydrophilen Interaktionschromatographie (HILIC) getrennt. In einem wässrigen Acetonitril-Gradienten in Gegenwart von Ammoniumformiat (pH 3,2) wurden die Peptide bei Raumtemperatur mit steigendem Wassergehalt eluiert. Erneut konnten Peptide unterschiedlicher Sequenz als scharfe Peaks über einen vergleichsweise engen Retenti-

onsbereich getrennt werden, selbst für steilere Gradienten. Erwartungsgemäß eluierten die Analyten in der Regel in umgekehrter Reihenfolge, wobei glykierte Peptide wegen der Wechselwirkung der polaren Zuckereinheiten mit der stationären Phase 1 min bis zu 1,7 min später eluierten als die unglykierten Analoga, was einem Unterschied im Wassergehalt von 0,6% bis 1,02% entspricht. Dagegen eluierten die isomeren Amadori- und Heyns-Peptide nahezu zeitgleich.

### Zusammenfassung

Eine exzessive Zufuhr von Fructose, insbesondere über fructosehaltige Getränke, kann mit der Zeit Organe wie die Leber und das Herzkreislauf-System schädigen. Trotz des Wissens um die vermehrte Bildung vermeintlich



**Abb. 3:** Ausschnitt der Umkehrphasenchromatogramme der unmodifizierten (a), Glucose- (b) und Fructose-modifizierten (c) Peptide der Peptidfamilien #2 (ADLAKYIC<sub>CAM</sub>ENQD-SISSK, Panel A) und #6 (AEFAEVSKLVT-DLTK, Panel B). Die Trennung erfolgte auf einer Synergi-Fusion-RP-Säule bei 60 °C und einer Flussrate von 0,2 mL/min unter Verwendung wässriger Acetonitril-Gradienten (0,6 %  $CH_3CN$ /min) in Gegenwart von Natriumphosphat (10 mmol/L, pH 7,2). Die Absorption wurde bei 214 nm gemessen.

schädlicher fortgeschrittener Glykierungsprodukte (AGEs) durch Fructose ist es schwierig, den Anteil der Fructose- und Glucose-induzierten Modifikationen zu differenzieren. Als potentielle Vorstufen zahlreicher, teils identischer AGEs wurde daher die Trennung der frühen Glykierungsprodukte, das heißt Amadori- und Heyns-Peptide, mittels RP-HPLC und HILIC untersucht. Dabei wurden Bedingungen gefunden, die eine gute Trennung von modifizierten und unmodifizierten Peptiden oder der Amadori- und Heyns-Isomere für verschiedene Sequenzen erlauben. Während erstere für die präparative Reinigung synthetischer Peptide von Vorteil ist, erlaubt die Trennung der Isomere Aussagen über den Beitrag von Glucose und Fructose in glykierten Proteinen, beispielsweise in Serum- oder Plasmaproben.

### Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Institut für Bioanalytische Chemie, Fakultät für Chemie und Mineralogie, Universität Leipzig, Deutschland

<sup>2</sup>Biotechnologisch-Biomedizinisches Zentrum, Universität Leipzig, Deutschland

### KONTAKT |

#### Dr. Sebastian Schmutzler

Institut für Bioanalytische Chemie  
Fakultät für Chemie und Mineralogie  
Universität Leipzig, Deutschland  
ORCID: 0000-0003-2686-9348  
sebastian.schmutzler@uni-leipzig.de



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-HPLC>




Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Schmutzler>



# Mikrofluidik Durchflusskammer – Modelle in der Thrombozytenforschung

Ein Überblick der Möglichkeiten und Limitationen

*Tobias Flieder<sup>1</sup>, Cornelius Knabbe<sup>1</sup>, Ingvild Birschmann<sup>1</sup>*

A microscopic image showing numerous platelets (thrombocytes) in a flow chamber. The platelets are dark red, disc-shaped cells, some appearing to be in motion or interacting with the chamber walls. The background is a lighter, textured surface, possibly the chamber wall or a substrate.

**D**ie Untersuchung von Thrombozyten unter Flussbedingungen ist mit der mittlerweile einfachen Erstellung von Mikrofluidik Durchflusskammer-Modellen weit verbreitet und bietet eine große Vielfalt an Anwendungsmöglichkeiten. Durch das individualisierbare Design lässt sich die Durchflusskammer auf die jeweilige Fragestellung gezielt anpassen und ist dank des geringen benötigten Probenvolumens unter anderem für Mausmodelle interessant. Im Vergleich zu anderen Tests der Thrombozytenfunktion bietet dieser den großen Vorteil einer besseren Abbildung der *in vivo*-Situation und die Möglichkeit, mit Live Imaging die primäre Hämostase über einen zeitlichen Verlauf zu beobachten.

## Durchflusskammer-Modelle – in vivo einen Schritt näher

Thrombozyten stellen in der Hämostase eine zentrale Rolle dar, da sie bei einer Gefäßverletzung an die freigelegte extrazelluläre Matrix adhären und mit weiteren Thrombozyten einen primären Wundverschluss bilden. Seit einigen Jahren haben sich in der Hämostaseforschung, insbesondere im Bereich der Thrombozytenforschung, Durchflusskammer-Modelle etabliert. Mit der zunehmenden Anwendung der Soft Lithographie in Laboratorien ist es einfacher geworden, diese Modelle zu designen und herzustellen. Grundlegend soll ein Durchflusskammer-Modell ein Blutgefäß beziehungsweise den Blutfluss im Gefäßsystem simulieren. Dazu wird ein Polymer mit den ausgesparten Kanälen auf einen Objektträger aufgebracht und das Blut hindurch gepumpt (Abb. 1). Der Aufbau und die Formen der Modelle haben sich mit der Zeit stark weiterentwickelt. Waren es zu Beginn meist rechteckige, gerade verlaufende Kanäle, sind mittlerweile komplexere Strukturen möglich. Es gibt Modelle mit Stenosen oder Bifurkationen, Microspots oder auch Änderungen in der z-Ebene, um nur einige zu nennen. Die präzise Fertigung erlaubt es, Modelle zu erstellen, welche genau auf die zu untersuchende Fragestellung abgestimmt sind. Die Dimensionen dieser Modelle liegen zwischen 50–200  $\mu\text{m}$  in der Höhe und 100  $\mu\text{m}$ –3 mm in der Breite der Kanäle, durch die das Blut fließt. Dadurch werden nur geringe Probenvolumen benötigt, weshalb beispielsweise auch Experimente mit Materialien von Mäusen möglich sind. Als beliebtes Material zum Abformen der Durchflusskammer hat sich Polydimethylsiloxan (PDMS) etabliert. Da es sich dabei um ein durchsichtiges Polymer handelt, ist neben klassischer Immunfluoreszenzmikroskopie (Abb. 2) auch mikroskopisches Live Cell Imaging möglich. Dies ermöglicht es auch, abseits der Hämostase, Modelle für Zellkulturen zu entwickeln. Mit einem Durchflusskammer-Design von Höving *et al.* konnten Einzelzellen in kleinen, seitlich von einem Hauptkanal abgehenden Kammern kultiviert und mikroskopiert werden, während sie konstant mit frischem Medium versorgt wurden [1]. Im Vergleich zu anderen verbreiteten Methoden zur Bestimmung der Thrombozytenfunktion wie beispielsweise Lichttransmissions-/Impedanzaggregometrie oder Durchflusszytometrie haben die Durchflusskammer-Modelle den Vorteil, dass die Flussbedingungen die *in vivo*-Situation besser widerspiegeln. Zudem können auch Interaktionen mit dem Endothel oder den Leukozyten untersucht werden. Mit der Höhe der verwendeten Flussrate kann festgelegt werden, ob die Flusssituation eher eine Arterie oder eine Vene widerspiegeln soll.



Abb. 1: Durchfluss-Modell mit vier parallel verlaufenden Kanälen. Per Lithographie wird eine Maske für das Modell erstellt, welche anschließend mit PDMS abgeformt wird. Die kovalente Bindung des PDMS an den Objektträger erfolgt durch Sauerstoff-Plasma-Behandlung.

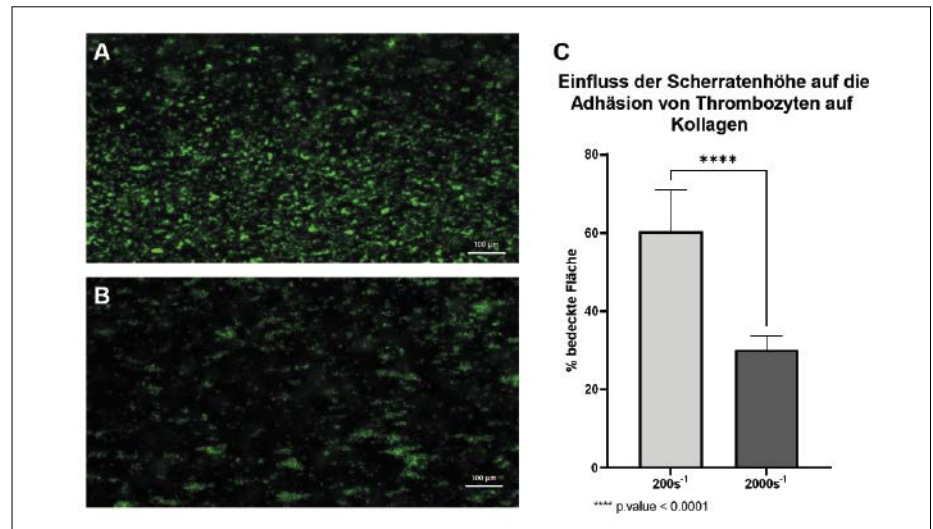


Abb. 2: Immunfluoreszenzmikroskopie und Auswertung eines Durchflusskammer-Experiments. Mit PPACK antikoagulierte Vollblut wurde durch eine mit Kollagen beschichteten Flow Chamber über 3 Minuten gepumpt. Die Kanäle hatten eine Dimension von 100  $\mu\text{m}$  Höhe und 1000  $\mu\text{m}$  Breite. Nach 3 Minuten wurden die Thrombozyten fixiert und das Zytoskelett mit Phalloidin gefärbt. A) Die Scherrate betrug  $200\text{s}^{-1}$ . B) Die Scherrate betrug  $2000\text{s}^{-1}$ . C) Bei einer Scherrate von  $2000\text{s}^{-1}$  ist die von Thrombozyten bedeckte Fläche signifikant kleiner als bei einer Scherrate von  $200\text{s}^{-1}$ . Es wurden für jede Bedingung eine 3-fach Bestimmung durchgeführt und jeweils 10 Bilder aus dem zentralen Bereich des Kanals ausgewertet (insgesamt  $n=30$ ). Die Auswertung erfolgte mittels ImageJ und für die Statistik wurde ein Mann-Whitney-U Test gerechnet.

## Großer Erkenntnisgewinn – schlechte Vergleichbarkeit

Die Verbreitung von Durchflusskammer-Modellen führte zu einem größeren Verständnis über das Verhalten der Thrombozyten unter Flussbedingungen. Dazu sind nicht immer komplexe Strukturen erforderlich, wie das Modell aus einem geraden und einem parallel dazu verlaufenden stenotischen Flusskanal mit einer 90%igen Verengung beweist. Anhand des Aufbaus der Kammer konnte eine Arbeit von Receveur *et al.* zeigen, dass die Höhe der Scherrate nicht ausschließlich die Adhäsionsfähigkeit von Thrombozyten beeinflusst, sondern die Beschleunigung von einer niedrigen zu einer hohen Scherrate einen entscheidenden Einfluss auf die Adhäsion der Zellen hat. In weiteren Versuchen dieser Arbeitsgruppe wurde ein Modell einer bi-phasischen Thrombusbildung bei Scherstressgradienten entwickelt [2]. Diese Arbeit soll beispielhaft

zeigen, welche Möglichkeiten diese Modelle bieten, die mittels anderer Methoden bisher nicht erfasst werden konnten.

Die Vielzahl an eingesetzten Durchflusskammer-Modellen kann zwar spezifische Fragestellungen beantworten, leidet aber an einer schlechten Vergleich- und Reproduzierbarkeit. Die Gründe dafür sind vielfältiger als auf den ersten Blick ersichtlich. Offensichtlich sind zunächst die Unterschiede im Design und den Dimensionen der Modelle. Probenmaterial und Auswertung der Versuche können ebenfalls stark zwischen den Experimenten variieren. Das Probenmaterial ist in der Regel Vollblut, welches mit einem Antikoagulant versetzt worden ist. Die verwendeten Antikoagulantien unterscheiden sich dabei schon in dem Wirkmechanismus. Es gibt Substanzen, die Calcium-Ionen binden (Citrat, EDTA), Thrombin (PPACK, Heparin, Hirudin) oder den Faktor XIIa inhibieren (Corn-Trypsin Inhibitor). Außerdem wird bei Verwendung



*Grundlegend soll ein Durchflusskammer-Modell ein Blutgefäß beziehungsweise den Blutfluss im Gefäßsystem simulieren. Dazu wird ein Polymer mit den ausgesparten Kanälen auf einen Objektträger aufgebracht und das Blut hindurch gepumpt.*

von Citrat das Vollblut vor dem Experiment teilweise wieder recalcifiziert. Die Auswertung der Experimente erfolgt in den meisten Fällen mikroskopisch über die von adhärenierten Thrombozyten bedeckte Fläche. Wie genau diese Fläche bestimmt wird, ist nicht immer ganz klar. Teilweise wird auf Software wie ImageJ verwiesen oder es wird ein selbst geschriebenes Script zur Auswertung verwendet.

All die genannten Faktoren zeigen, wie individuell Aufbau und Nutzung von Durchflusskammer-Modellen sind. Um Ergebnisse deshalb richtig einordnen zu können, ist ein genauer Blick in die Methodik ratsam. Eine Standardisierung scheint zum jetzigen Zeitpunkt noch in weiter Ferne. Im Forschungskontext mag das akzeptabel sein, um Fragestellungen gezielt beantworten zu können, im klinischen Alltag hingegen werden sich die Modelle ohne klare Rahmenbedingungen nicht durchsetzen. Erste Schritte für eine bessere Standardisierung gibt es mittlerweile von Seiten der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) aus dem Jahre 2019 [3] und ersten kommerziellen Geräten.

### Der Weg in die Klinik

Ein Blick in die aktuelle Forschung zeigt also eine Vielzahl von unterschiedlichen

Durchflusskammer-Modellen zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion oder der gesamten Hämostase unter Flussbedingungen. Die Forschungsdesigns eignen sich selten für die Anwendung in der Routinediagnostik. Selbst die Modelle, die potentiell auf eine Anwendung in der Klinik ausgelegt sind, erfordern zusätzliches Personal, das mit Technik und Auswertung vertraut ist. In vereinzelt Kliniken werden die ersten kommerziellen Geräte eingesetzt, um die Komplexität der Gerinnung besser nachzustellen und zum Beispiel die gesamte Wirkung auf die Hämostase von Thrombozytenaggregationshemmern und Inhibitoren der sekundären Hämostase zu erfassen. Diese globale Erfassung der gesamten Hämostase ist sowohl Vor- als auch Nachteil der Methode und daher eignen sich diese Geräte aktuell insbesondere als gute Ergänzung zu bereits etablierten Methoden [4]. Größere, multizentrische Studien zu definierten Kollektiven sind jedoch nötig, um einen gezielteren Einsatz abzuleiten.

### Ausblick

Durchflusskammer-Modelle sind in der Hämostase- und Thrombozytenforschung inzwischen weit verbreitet und haben zu einem besseren funktionellen Verständnis

beitragen. Die individuelle Anpassung der Modelle an präzise Fragestellungen ist eine große Stärke für die Forschung, aber auch eine Limitation bei der Vergleichbarkeit. Wenn sich durch Guidelines zum Beispiel der ISTH bestimmte Rahmenbedingungen durchsetzen, wäre das ein wichtiger Schritt für die Methodik und würde die Vergleichbarkeit erleichtern.

### Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen, Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum, Bad Oeynhausen, Deutschland

### ● KONTAKT |

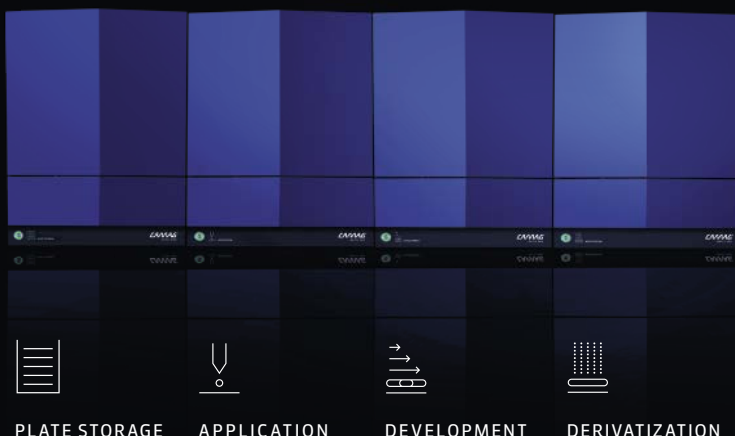
#### Tobias Flieder

Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen  
Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum  
Bad Oeynhausen, Deutschland  
TFlieder@hdz-nrw.de

[1]

Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Flieder>

**CAMAG®**



## CAMAG® HPTLC PRO

Das weltweit erste vollautomatisierte HPTLC-System für den Routineeinsatz in der Qualitätskontrolle



Entdecken Sie das volle Potenzial der Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie auf [www.camag.com](http://www.camag.com)



© catalin - stockadobe.com

# Perspektiven klinischer Multiomik-Analysen

Kausale Modelle erlauben ungeahnte Vorhersage-Leistungen

Christopher Gerner<sup>1,2</sup>, Andrea Bileck<sup>1,2</sup>, Samuel Meier-Menches<sup>1,2</sup>

**G**roße und multidimensionale Daten, wie sie typischerweise von der Massenspektrometrie bereitgestellt werden, bieten fantastische Möglichkeiten. Aber die große Anzahl potenzieller Korrelationen kann zu falschen Schlussfolgerungen führen. Die Forschung auf dem Gebiet der künstlichen Intelligenz bietet zuverlässige Mittel zur Erkennung von Drittvariablen und zur Unterscheidung von Störfaktoren, Kollatoren und Mediatoren. Die Anwendung von Kausalnetzwerken auf Multiomik-Daten ermöglicht wichtige Korrekturen und ist der Schlüssel zur gewünschten prognostischen Aussagekraft solcher Untersuchungen.

Moderne Multiomik-Analysemethoden verschränken Informationen von Transkripten, Proteinen und Metaboliten und erlauben die Generierung von sehr umfassenden Daten. Die große Anzahl an Datenpunkten bedingt auch eine große Anzahl an Korre-

lationsmöglichkeiten, die logisch fundierte Auswertestrategien erfordern, um mögliche Fehlinterpretationen zu vermeiden. Der Einsatz von kausalen Netzwerken sichert die Korrektheit von interpretierenden Aussagen und unterstützt die Emulation von Interventionen.

## Das Black-Box-Problem

Im Rahmen wissenschaftlicher Forschungsprojekte werden häufig die Eigenschaften komplexer Systeme, wie etwa eines neuen Verbundmaterials oder eines lebenden Organismus, untersucht. Um den Einfluss einer Variablen auf die Eigenschaften eines derartigen Systems aus Beobachtungsdaten richtig zu interpretieren, die von Omik-Technologien stammen, sind allerdings Kenntnisse über das System erforderlich. Fehlen derartige Kenntnisse, kann es durch die große Anzahl an möglichen Korrelationen zu Fehl-

interpretationen kommen. Als illustratives Beispiel sei hier das Drug Titration Paradox genannt. In der klinischen Praxis kann sich dabei eine im *in vitro* Experiment leicht nachweisbare positive Dosis-Wirkungsbeziehung tatsächlich umdrehen, das heißt eine niedrigere Dosis ist dann mit einem höheren Effekt assoziiert [1]. Als mögliche Erklärung wurde festgestellt, dass es sich um ein Simpson'sches Paradoxon [2] handelt, das sich aus einer Konditionierung nach einer dritten Größe ergab, mit der zwei Beobachtungsdaten, nämlich Dosis und Effekt, korreliert waren [3]. Es stellte sich heraus, dass die Sensitivität gegenüber dem Wirkstoff als Störfaktor zu diesem scheinbaren Effekt geführt hat. Grundsätzlich kann eine unerkannte Gruppen-Heterogenität zu beobachtbaren paradoxen Resultaten führen [4]. In komplexen Systemen mit unbekannt inneren Strukturen werden aber solche Confounder (Störvariablen) nicht leicht erkannt, da hier auch die menschliche Intuition nicht

mehr anwendbar ist. Dieses Problem kann als Black-Box-Problem bezeichnet werden (Abb. 1). Zusätzlich müssen Confounder neben als dritte Größen auch Collider und Mediatoren berücksichtigt werden, die wiederum eine andersartige Datenkorrektur erfordern [4,5]. Ohne solche notwendigen Korrekturen können tatsächlich unzutreffende Schlussfolgerungen gezogen werden, wie sie etwa auch im Falle von Covid-19 Risikoabschätzungen dokumentiert sind [6]. Sind wichtige Einflussfaktoren aufgrund mangelnder Kenntnisse des untersuchten komplexen Systems unbekannt, können auch scheinbar widersprüchliche Resultate entstehen. Das wohlbekannte Replikationsproblem aktueller Forschungsaktivitäten [7] weist auf die Dringlichkeit dieser Problematik hin. Analytische Erkenntnisse können hier wichtige Lösungsansätze liefern, wie etwa anhand unerwartet starker Effekte von batch-abhängigen, schwankenden Eicosanoid-Gehalten in fötalem Kälberserum gezeigt werden konnten [8].

#### Post-genomische Daten weisen im Vergleich zu Genen eine fundamental andere Datenstruktur auf

Die moderne Bioinformatik hat sich ursprünglich im Bereich der Genomik entwickelt. Hier gibt es oft nur eine relativ kleine Zahl von Zustandsparametern, welche jeweils mit unterschiedlichen stabilen Phänotypen assoziiert werden können, zum Beispiel charakteristische Mutationen eines Gens im Vergleich zum Wildtyp (Abb. 2). Die mathematischen Verfahren zur Behandlung

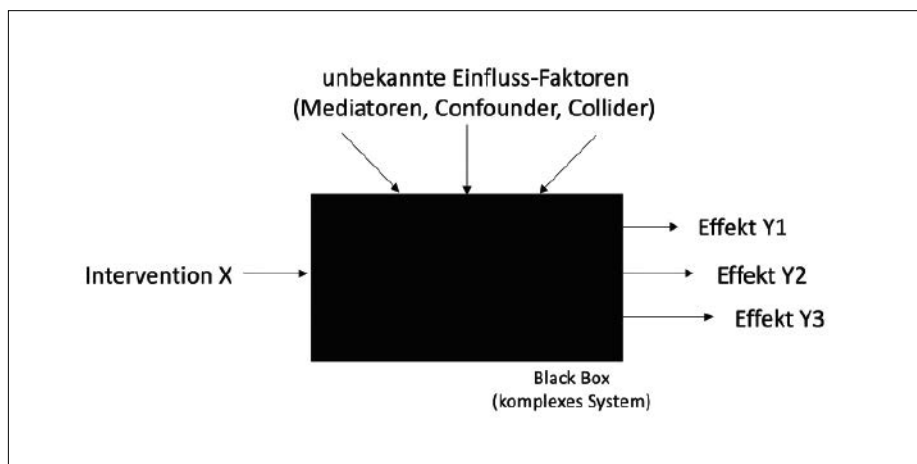


Abb. 1: Sind wichtige Einflussfaktoren auf ein komplexes System nicht ausreichend bekannt, können die Effekte einer Intervention nicht nur stark variieren, sondern auch falsch interpretiert werden.

dieser Art von Daten sind jedoch nicht automatisch für post-genomische Daten geeignet. Hier gibt es bis auf wenige Ausnahmen, zum Beispiel genetische Stoffwechselerkrankungen, kaum ähnlich monokausale Relationen von „veränderter Molekülstatus“ zu „veränderter Systemstatus“ (Abb. 2). Wenn nun etwa post-genomische Daten mit Algorithmen bearbeitet werden, die für andere Relationen geschaffen wurden, kann es somit zu unkorrekten Aussagen kommen.

#### Kausale Modelle bieten Lösungsansätze

Diese fundamentalen Unterschiede liegen hauptsächlich an der unterschiedlichen reversen Wahrscheinlichkeit der Assozi-

ation eines Attributs (Analyseresultat) zu Phänotyp. Die bedingte Wahrscheinlichkeit für eine gegebene Mutation, wenn Krebs vorliegt, kann durchaus vergleichbar sein zur (reversen) Wahrscheinlichkeit für Krebs, wenn die Mutation vorliegt. Bei post-genomischen Analyseresultaten unterscheiden sich reverse Wahrscheinlichkeiten viel stärker von den primären, bedingten Wahrscheinlichkeiten. Die algorithmische Auseinandersetzung mit bedingten und reversen Wahrscheinlichkeiten hat die Entwicklung von Bayes'schen Netzwerken forciert, die heute bereits in zahllosen Algorithmen eingesetzt werden. Ergänzt durch eine kausale Richtung (etwa eine Infektion verursacht Fieber, Fieber verursacht aber keine Infektion), ent-

# Miele

## The perfect fit. Der neue SlimLine Laborspüler

Miele Professional. Immer Besser.

PASST IMMER: AUCH AUF WENIG PLATZ  
KÖNNEN SIE DIE AUFBEREITUNG VON  
LABORGLAS EFFIZIENT GESTALTEN.

Der neue SlimLine Laborspüler PLW 7111  
bietet hohe Beladungskapazität. Dank dem  
modularen Beladungssystem EasyLoad  
erzielen Sie einen maximalen Durchlauf.

EASYLOAD



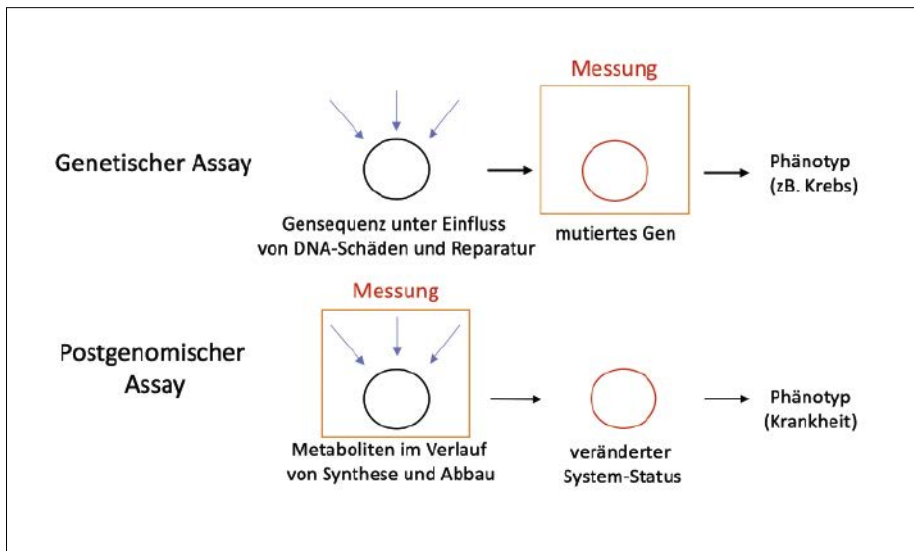


Abb. 2: Die Datenstruktur zwischen Genen und Metaboliten unterscheidet sich grundlegend. Während Gene stabile und dominante Zustände aufweisen, werden Proteine und Metaboliten durch eine Vielzahl von Einflussfaktoren (Pfeile) ständig verändert. Ein veränderter Systemstatus (etwa eine Krankheit) ist nur in Ausnahmefällen durch zum Beispiel einen veränderten Metaboliten ausreichend gekennzeichnet.

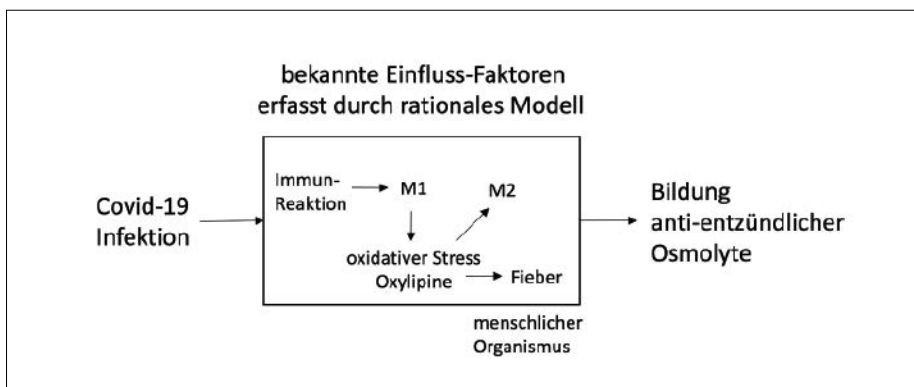


Abb. 3: Sind in einem komplexen System die wichtigsten Einflussfaktoren erfasst und zugeordnet, sind eindeutige, verifizierbare, interpretierende (Vor-)Aussagen möglich. Gezeigt ist ein stark vereinfachtes Modell für LCS. M1, entzündlich aktivierte Makrophagen (Observable: Zytokine); M2, alternativ polarisierte Makrophagen (Observable: anti-entzündliche Lipide und Metabolite). Als anti-entzündliche Osmolyte wurden Taurin und Hypaphorin im Blutplasma beschrieben [10].

stehen daraus kausale Netzwerke, die vor erst etwa zwei Jahrzehnten in der Artificial Intelligence-Forschung entwickelt wurden und heute bereits Einsatz in der biomedizinischen Forschung finden [9]. Der Einsatz solcher kausalen Netzwerke ermöglicht die Bestimmung der Eigenschaften involvierter Störfaktoren, die letztendlich für die notwendigen Korrekturverfahren erforderlich sind.

**Kausal Modelle bieten Lösungsansätze**

Das Long Covid Syndrom (LCS) mag hier als Beispiel für diese Vorgangsweise dienen. Die Ursache für LCS ist noch immer unklar, woraus sich auch eine grundsätzliche Unsi-

cherheit in der Entwicklung von Therapien ergibt. In einer umfassenden Multiomik-Studie konnten wir eine große Zahl an signifikant veränderten Molekülen im Plasma von LCS-Patient\*innen finden [10]. Eine funktionelle Klassifikation legte nahe, dass adaptive Reaktionen des Immunsystems auf eine ursprünglich überschießende Immunantwort gegen die virale Infektion für die Symptome verantwortlich sein könnten. Dadurch ist man in der Lage, Vorschläge für kausale Netzwerke für LCS zu erstellen und zu evaluieren. Dabei werden physiologische Prozesse durch experimentelle Beobachtungen in Verbindung gebracht (Abb. 3). So ein, entsprechend erweitertes, Modell kann sowohl die hohe inter-individuelle Varianz, den Einfluss von Alter und Begleiter-

krankungen erklären als auch etwa, warum eine überstandene Covid-Infektion für eine gewisse Zeit mit einem erhöhten Herzinfarktrisiko assoziiert sein kann. Mit einer entsprechenden Zahl an Beobachtungsdaten kann nicht nur eine rigide Plausibilitätsüberprüfung durchgeführt werden, sondern die Art und die Beiträge einzelner Einflussfaktoren exakt bestimmt werden. Modellbasierte, kausale Netzwerke können zudem durch neue Daten stetig erweitert und verbessert werden. Laut Pearl [4] ist es somit sogar möglich, den Effekt therapeutischer Interventionen *in silico* zu emulieren und somit eine bislang völlig unerreichte Effizienz in der Medikamentenentwicklung zu erreichen.

**Ausblick**

Die Interpretation von Multiomik-Daten von komplexen Systemen erfordert den Einsatz von kausalen Netzwerken, um korrekte mathematische Analysen durchführen zu können und Resultate korrekt zu interpretieren. Solche Modelle sind nicht zwingend vollständig, aber praktisch immer zielführend, denn sie erlauben eine stete Verbesserung im Verständnis von grundlegenden Abläufen im zu untersuchenden System. Die Erhebung qualitativ hochwertiger experimenteller Analysedaten unterstützt somit nicht nur die Identifikation von (Patho-) Mechanismen, sondern möglicherweise ebenso die Entwicklung rationaler Interventionsstrategien auch bei sehr komplexen Herausforderungen wie etwa bei chronischen Erkrankungen.

**Zugehörigkeiten**

- <sup>1</sup>Institut für Analytische Chemie, Fakultät für Chemie, Universität Wien, Österreich
- <sup>2</sup>Joint Metabolome Facility, Universität Wien und Medizinische Universität Wien, Österreich

**KONTAKT |**

**Prof. Dr. Christopher Gerner**  
 Institut für Analytische Chemie  
 Fakultät für Chemie  
 Universität Wien  
 Wien, Österreich  
 ORCID: 0000-0003-4964-0642  
 christopher.gerner@univie.ac.at

**[1]** Literatur: <https://bit.ly/GIT-Gerner>



AnalytikTag  
des IUTA  
9. November 2023

© IUTA

# Wischprobenmonitoring für monoklonale Antikörper

Eine „coole“ Verbindung zwischen Apotheke und Labor

Martin D. Klaßen<sup>1</sup>, Lars M. H. Reinders<sup>1</sup>, Max Jochums<sup>1</sup>, Claudia vom Eyser<sup>1</sup>, Jochen Türk<sup>1</sup>, Thorsten Teutenberg<sup>1,\*</sup>

**T**herapeutische monoklonale Antikörper gehören zum Standardrepertoire der modernen Medizin. Bei der Herstellung von Infusionslösungen unter aseptischen Bedingungen kann es zu Kontaminationen der Arbeitsumgebung kommen. Um diese zu identifizieren, wurde ein neues Verfahren zum Wischprobenmonitoring entwickelt.

## Monoklonale Antikörper und Zytostatika

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden neue antineoplastische Wirkstoffe entwickelt, die sich in vielerlei Hinsicht von den konventionellen Wirkstoffen unterscheiden und in der passiven, spezifischen Krebsimmuntherapie eingesetzt werden. Es handelt sich dabei um therapeutisch wirksame monoklonale Antikörper (mAk), das heißt gentechnisch veränderte Immunglobuline der Klasse G, die in der Lage sind, an überexprimierten Oberflächenmarkern maligner Zellen zu binden. Durch die Interaktion von Antigen und Antikörper wird das körpereigene Immunsystem stimuliert, das in der Folge die markierten Zellen als fremd erkennt und bekämpft [1]. Es handelt

sich demzufolge um einen zielgerichteten Wirkmechanismus.

Im Gegensatz dazu haben Zytostatika, die bereits seit mehreren Jahrzehnten in der Krebstherapie eingesetzt werden, eine systemische und ungerichtete Wirkungsweise. Zytostatika sind im Vergleich zu monoklonalen Antikörpern hochpotente und toxische Wirkstoffe, so dass ein deutlich höheres Gefährdungspotenzial für das pharmazeutische Personal besteht.

Während die Analyse niedermolekularer Zytostatika im Rahmen von Arbeitsschutzuntersuchungen und Reinigungsvalidierungen im Gesundheitswesen bereits gelebte Praxis ist, werden Biopharmazeutika nicht erfasst. Ein Grund hierfür ist, dass das Gefährdungspotenzial der Biopharmazeutika kontrovers diskutiert wird. Halsen und Krämer, die eine Risikoabschätzung für Mitarbeitende des Gesundheitswesens zu ermitteln versuchten, verweisen auf das teratogene Potential eines einzelnen Biopharmazeutikums und führen an, dass die geringe Datenlage keine sinnvolle Risikoabschätzung ermöglicht. Daher soll nach Empfehlung der Autoren mit Biopharmazeutika nach dem Vorsorgeprinzip umgegangen werden [6, 11]. Konkret bedeutet dies, dass Biopharmazeu-

tika unter Sicherheitswerkbänken oder Isolatorn zubereitet werden sollten.

Die Verabreichung von Zytostatika und Immuntherapeutika erfolgt im Rahmen einer personalisierten Therapie parenteral oder oral. Für die parenterale Applikation werden Infusionslösungen benötigt. Das pharmazeutische Personal stellt zunächst eine hochkonzentrierte Stammlösung aus den festen Wirkstoffen her, sofern diese nicht bereits in flüssiger Form vorliegen. Anschließend werden diese Lösungen verdünnt, um die patientenindividuelle Wirkstoffdosis einzustellen [2]. Diese Arbeitsschritte werden in der Regel unter einer Sicherheitswerkbank beziehungsweise in einem Isolator durchgeführt. Dies trägt zum einen den hohen Anforderungen an den Arbeitsschutz Rechnung und ermöglicht zum anderen eine aseptische Arbeitsweise.

## Wischprobenmonitoring

Zur Identifizierung unbeabsichtigt freigesetzter Zytostatika wird ein Umgebungsmo- nitoring mittels Wischproben eingesetzt. Die Probenahme erfolgt entweder vor einer Reinigung, um die Expositionssituation zu erfassen, oder nach der Reinigung, um das Reini-

gungsverfahren zu verifizieren. Anschließend werden die Proben zur Analyse in ein entsprechend qualifiziertes Labor transportiert. Das Institut für Umwelt & Energie, Technik & Analytik (IUTA) ist bereits seit vielen Jahren ein verlässlicher Partner in Bezug auf die spezifische Analyse von Wischproben für Apotheken, Krankenhäuser, ambulante Zentren und die pharmazeutische Industrie [3, 4]. Die Ergebnisse umfangreicher Studien haben unter anderem zu Handlungsempfehlungen wie validierten Reinigungsprotokollen geführt und die Arbeitssicherheit deutlich verbessert. Ein besonders hervorzuhebendes Forschungsvorhaben ist die Monitoring-Effekt-Studie für Wischproben in Apotheken (MEWIP), in welcher der Kontaminationsgrad von Oberflächen sowie effektive Methoden zur Reduzierung von Zytostatika-Kontaminationen untersucht wurden. Folgestudien wurden unter anderem mit der suva (Schweizerische Unfallversicherungsanstalt) und ESOP (European Society of Oncology Pharmacy) im Rahmen des MASHA-Projektes durchgeführt [3–5].

Alle erhobenen Daten und Handlungsempfehlungen basieren auf Studien mit Zytostatika. Für monoklonale Antikörper gibt es keine Daten, da kein geeignetes Verfahren zur Wischprobenahme von monoklonalen Antikörpern zur Verfügung stand. Ein solches Verfahren wurde erst im Rahmen weiterer Forschungsprojekte entwickelt [7,8].

### Analytik von monoklonalen Antikörpern

Die Analytik von monoklonalen Antikörpern mit einem Molekulargewicht bis zu 150.000 Da unterscheidet sich grundlegend von der Bestimmung kleiner Moleküle wie Zytostatika mit einem Molekulargewicht < 1.000 Da. Die Identifizierung intakter Proteine ist mit hochauflösender Massenspektrometrie möglich, jedoch ist die Methode nicht ausreichend empfindlich. Dies ist auf

das hohe Molekulargewicht und die damit verbundene Fähigkeit der Proteine, eine Vielzahl von Ladungen zu stabilisieren, zurückzuführen [7].

Um eine niedrige Nachweisgrenze zu erreichen, erfolgt die Analyse indirekt auf Peptidebene. Dazu wird der monoklonale Antikörper, wie in Abbildung 1 schematisch dargestellt, mit Enzymen wie Trypsin verdaut.

Durch den tryptischen Verdau entstehen mehr als 100 Peptide. Für die Quantifizierung eines monoklonalen Antikörpers reicht es jedoch aus, ein einziges spezifisches Peptid zu analysieren. Dieses Peptid ist dadurch gekennzeichnet, dass es nur in einem bestimmten therapeutischen monoklonalen Antikörper vorkommt [7–9]. Mit diesem Workflow und einem Anreicherungsschritt wurden je nach Antikörper Bestimmungsgrenzen von 0,8–42 ng mL<sup>-1</sup> erreicht. Dies entspricht bei der üblichen Probenahme fläche von 30 x 30 cm einer Konzentration im Bereich von 0,03–1,5 ng cm<sup>-2</sup>.

### Anwendung des Wischprobenmonitorings

Bei der Anwendung des validierten Wischprobenmonitorings für die monoklonalen Antikörper Cetuximab, Daratumumab, Omalizumab, Rituximab und Trastuzumab wurden in drei antikörperzubereitenden Apotheken im Rahmen einer ersten Proof-of-Concept Studie insgesamt 18 Wischproben genommen. Alle drei Apotheken haben bei der Herstellung von Infusionslösungen Maßnahmen zur Minimierung des Freisetzungspotenzials getroffen, wie zum Beispiel die Verwendung von Druckausgleichssystemen (Spikes). Die Auswertung der Daten ergab, dass keine Kontaminationen festgestellt werden konnten.

Dieses Ergebnis war aufgrund der Arbeit mit Druckausgleichssystemen zu erwarten. In vorangegangenen Untersuchungen mit luftgetragenen monoklonalen Antikörpern konnte die Wirksamkeit von Spikes durch

den Vergleich der Arbeitsweise mit und ohne Spikes nachgewiesen werden [7]. Somit zeigt diese erste Studie, dass Maßnahmen zur Verringerung des Freisetzungspotenzials sowohl für Zytostatika als auch für monoklonale Antikörper anwendbar sind. Entsprechend können Wischproben eingesetzt werden, um das Expositionspotenzial zu ermitteln, die Reinigungseffizienz zu überprüfen und damit den Arbeitsschutz zu verbessern.

### Einfluss der Temperatur

Die Wischproben werden vor Ort durch das pharmazeutische Personal genommen. Der Versand dieser Wischproben an das Analyselabor erfolgt in gekühlten Transportboxen. Für die Richtigkeit der Analyseergebnisse muss sichergestellt sein, dass die Kühlkette nicht unterbrochen wird. Eine kontinuierliche Temperaturüberwachung von Transportprozessen und von der darauffolgenden Lagerung ist daher unerlässlich.

Vor diesem Hintergrund wurden verschiedene Systeme zur Überwachung der Transport- und der Lagertemperatur getestet. Im Einzelnen handelte es sich um Ein- beziehungsweise Mehrweg-Datenlogger, welche mittels USB oder drahtloser Kommunikation die Daten übertragen. Im Gegensatz zu einfachen USB-Datenloggern zeichnen drahtlose Datenlogger sowohl die Temperatur als auch die korrespondierenden GPS-Daten bis zur Ankunft der Proben im Labor auf. Diese sogenannten Sensor-Beacons werden den Paketen für den Probenversand beigelegt. Sowohl der Starttermin zur Aufzeichnung der Daten als auch der Abholort des Probenpakets werden mit Hilfe einer App oder über eine Weboberfläche vor dem Probentransport konfiguriert. Sobald das Paket in der Probenannahme des Labors eintrifft, baut das Beacon automatisch eine Verbindung mit dem im Labor installierten Hub (Abbildung 2) auf. Auf diese Weise werden alle erfassten Daten automatisiert in ein Labor-Informations-Management-System (LIMS) oder Labor-Ausführungs-System (LES, Laboratory Execution System) hochgeladen [10]. Mit Hilfe dieser Technologie ist es somit möglich, potenzielle Schwachstellen in der Kühlkette während des Probentransports zu identifizieren.

Für die Überwachung der Lagertemperatur der Proben wurde ebenfalls ein in ein LES vollständig integrierbares Sensorsystem etabliert. Dieses System zeichnet sich dadurch aus, verschiedene Sensortypen in einem sogenannten kabellosen Sensorpot (Abbildung 2) zu vereinen. Neben der Messung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit ermöglichen Magnetkontakte sowie Vibrationsensoren die genaue Erfassung der Zeitpunkte und Dauer der Türöffnung von zum Beispiel Kühlräumen.

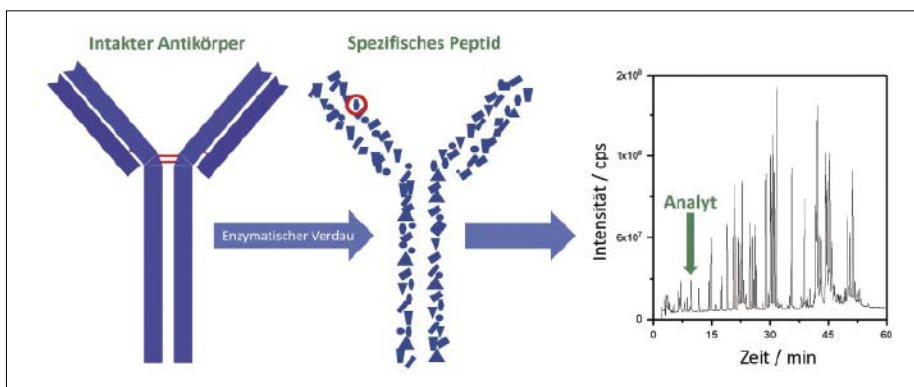


Abb. 1: Schematische Darstellung der Peptidanalyse. Der intakte monoklonale Antikörper (links) wird mittels Trypsin enzymatisch verdaut und in kleinere Bruchstücke (Peptide) „zerlegt“ (Mitte). Rechts dargestellt ist das komplexe Chromatogramm. Die Quantifizierung erfolgt auf Basis der sensitiven Tandem-Massenspektrometrie.



Die Kombination von vollautomatisierten Datenloggern und einem kontinuierlichen Monitoring vor Ort ermöglicht somit eine lückenlose Temperaturüberwachung, so dass das Risiko einer potenziellen Substanzdegradation bewertet und die Richtigkeit der Analyseergebnisse sichergestellt werden kann.

## Fazit

Die sensitive Quantifizierung von monoklonalen Antikörpern stellt eine Herausforderung für die moderne Analytik dar. Aufgrund ihres hohen Molekulargewichts können monoklonale Antikörper nur nach komplexer Probenvorbereitung analysiert werden.

Bei der Anwendung des entwickelten Wischprobenahmekits für monoklonale Antikörper in Apotheken konnten keine Kontaminationen detektiert werden, was die gute Herstellungspraxis und die hohen Sicherheitsstandards widerspiegelt. Das Verfahren kann für Reinigungsvalidierungsstudien entsprechend der im EU-GMP-Leitfaden, Annex 1 „Herstellung von sterilen Arzneimitteln“ 2022 neu eingeführten Reinigungskontrollstrategie CCS (Contamination Control Strategy) verwendet werden.

Am Beispiel eines kontinuierlichen Temperaturmonitorings konnten die Vorteile der Digitalisierung für alle einzelnen Teilschritte von der Lagerung von Arzneimitteln und Proben bis zum vollständig rückverfolgbaren Transport der Wischproben erfolgreich demonstriert werden. Diese Digitalisierungsbestrebungen münden im Rahmen des Projektes FutureLab.NRW des IUTA in eine vollständige und herstellerunabhängige Vernetzung aller Laborgeräte und Monitoringsysteme [12].

## Danksagung

Die Forschungsprojekte „Sensitives Verfahren zum Nachweis luftgetragener Proteine“



Abb. 2: SensorSpot der Firma essentim (vorne links) sowie ein SmartHub der Firma Tec4Med (vorne rechts) zum automatisierten Upload der Temperatur- und GPS-Daten in das Temperaturdashboard des Labor-Ausführungs-Systems der Firma Labforward (Hintergrund).

(FKZ 49VF170039) sowie „Wischprobenmonitoring für monoklonale Antikörper“ (FKZ: 49MF200005) wurden über die Projektförderung „INNO-KOM“ durch den Projektträger EuroNorm vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz (BMWK) gefördert. Die Zuwendung des Landes NRW für das Forschungsvorhaben FutureLab.NRW (FKZ: EFRE-04000124) erfolgt unter Einsatz von Mitteln aus dem Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE) 2014 – 2020 „Investitionen in Wachstum und Beschäftigung“.

## Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Institut für Umwelt & Energie, Technik & Analytik (IUTA), Duisburg, Deutschland

## KONTAKT |

### Dr. Thorsten Teutenberg

Abteilungsleiter Forschungsanalytik & Miniaturisierung  
Institut für Umwelt & Energie,  
Technik & Analytik e. V. (IUTA)  
Duisburg, Deutschland  
teutenberg@iuta.de




Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-monoklonale-AKS>



Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Klassen>



The Original   
Filter Papers since 1883

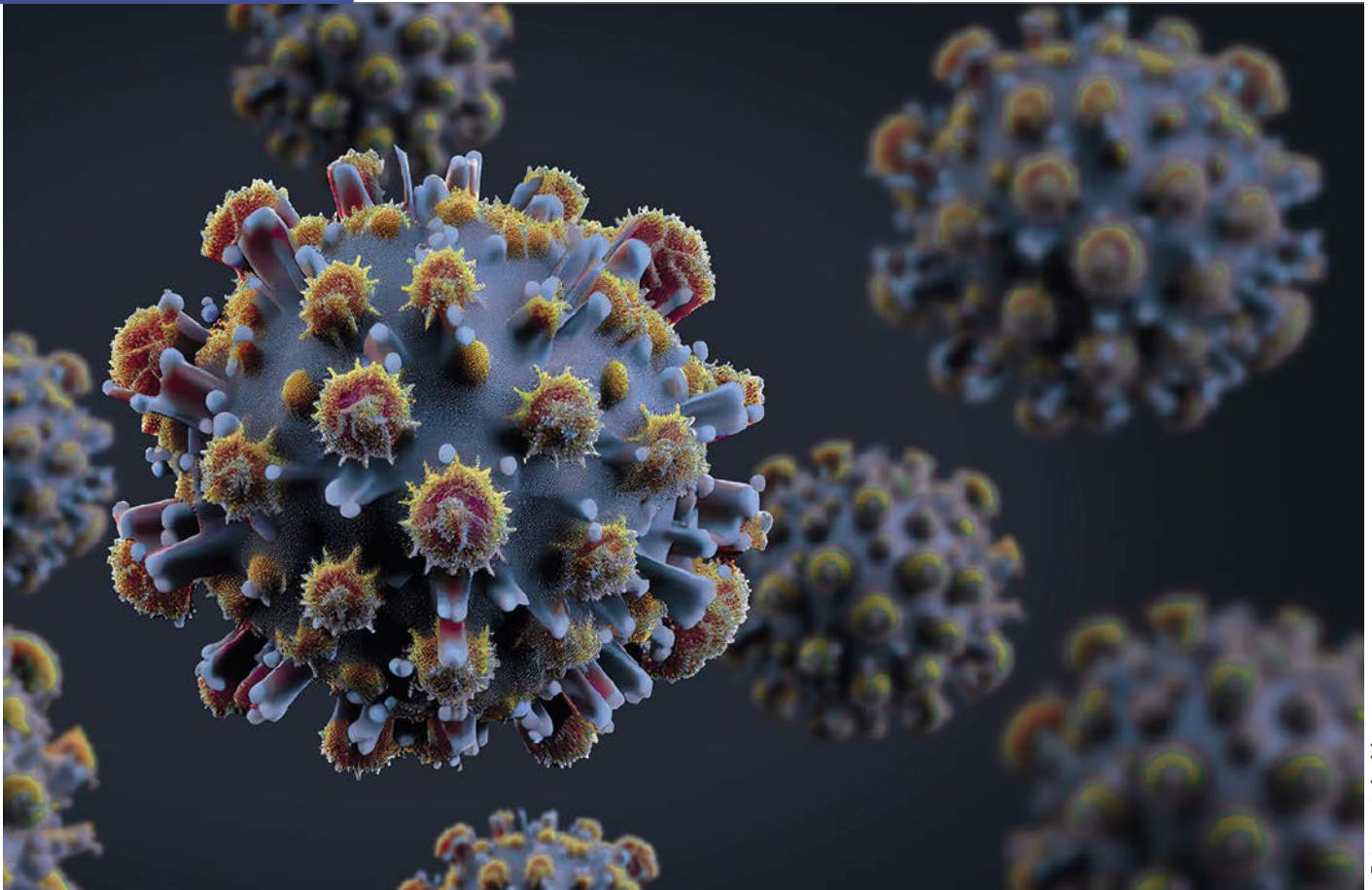
Go and explore our range of  
high-quality products!

- Filter papers
- Thimbles
- Membranes
- Syringe Filters



Diagnostic  
Environment  
Food & Beverage  
Microbiology  
Molecular Biology

[lifescience.hahnemuehle.com](https://lifescience.hahnemuehle.com)



© Enteng - stock.adobe.com

# Multiplex-basierte Antikörpernachweise

## SARS-CoV-2-Serologie jenseits der klinischen Routine

Alex Dulovic<sup>1</sup>, Nicole Schneiderhan-Marra<sup>1</sup>, Monika Strengert<sup>2</sup>

**M**it Hilfe von Ergebnissen aus zwei komplementären SARS-CoV-2 Antikörpernachweisverfahren, die aufgrund der Covid-19-Pandemie entwickelt wurden, wird demonstriert wie multiplex-basierte Assaysysteme als robuste, hochdurchsatzfähige, antigen- und probensparende Plattformtechnologie einsetzbar sind, um die Komplexität und Diversität von Antikörperantworten nach Infektionen und Impfungen in einer einzigen Messung darzustellen.

### Multiplex-basierte Serologie

Serologische Immunnachweisverfahren spielen eine zentrale Rolle für Fragestellungen in vielen Forschungsgebieten: sie finden in epidemiologischen Studien Anwendung, um zurückliegende Expositionen mit Krankheitserregern in der Bevölkerung festzustellen, werden dafür eingesetzt, um die Rolle von Antikörpern im Krankheitsverlauf zu verstehen oder unterstützen die Entwick-

lung von neuen Therapeutika und Impfstoffen. Anstelle von konventionellen Einzelanalyt-Nachweisverfahren, fokussiert sich der vorliegende Bericht auf die Entwicklung und Verwendung von ressourcen- und zeitsparenden bead-basierten Multipleximmunnachweisverfahren. Durch die Nutzung von magnetischen Luminex-Beads, welche durch die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen in unterscheidbare Gruppen aufgetrennt werden, ist die parallele Analyse von bis zu 500 Messpunkten möglich (Abb. 1). Außerdem benötigen Multiplexverfahren nur ein geringes Probenvolumen von maximal 5 µL und sind deshalb ideal für den Einsatz in Studien, bei denen nur wenig Probenmaterial gewonnen werden kann.

### Multiplex-Immunoassays für Bindungsanalysen und funktionale Charakterisierung von Antikörperantworten

Direkt nach dem Auftreten von SARS-CoV-2 im Jahr 2020 wurde Multicov-AB

(Multiplex Differentieller Coronavirus Antikörpertest), der mittlerweile über 25 Coronavirusantigene enthält, entwickelt [1]. Die Kombination aus trimerem SARS-CoV-2 Spikeprotein, seiner S1-, S2- und Rezeptorbindungs-Domäne und dem Nukleokapsidprotein erlaubt eine grundlegende Charakterisierung von Antikörperantworten nach Impfungen oder Infektionen. Die Verwendung von S1- und Nukleokapsid-Antigenen der saisonalen Coronaviren NL63, HKU1, OC43 und 229E ermöglicht zusätzlich die Analyse von Kreuzimmunitäten [1, 2]. Multicov-AB kann mittlerweile neben der Messung von humanen Seren und Plasmen auch mit Speichel verwendet werden und ermöglicht so einen Einblick in die Immunabwehr an der Eintrittsstelle von SARS-CoV-2 in den Organismus [3]. Außerdem können auch Proben von anderen Säugerspezies im Rahmen von präklinischen Studien untersucht werden [4, 5]. Mit dem Fortschreiten der Covid-19-Pandemie rückte die funktionelle Charakterisierung von vorhandenen Antikörpern zunehmend in den Vor-

dergrund, deshalb wurde RBDCoV-ACE2 entwickelt [6]. RBDCoV-ACE2 ist ein kompetitiver zell- und virusloser Inhibitions-Assay zur funktionalen Analyse von SARS-CoV-2 Antikörpern und deren Kapazität, die Bindung zwischen ACE2 und der Rezeptorbindungsdomäne des ursprünglichen Wuhanisolates und von neuauftretenden Virusvarianten zu blockieren (Abb. 2). Aufgrund der hohen Mutationsrate von SARS-CoV-2 wird das Antigenpanel beider Assays kontinuierlich um Rezeptorbindedomänen neuer Varianten erweitert. Diese Flexibilität ermöglichte es in einem diversen Probenkollektiv Antikörperbindungs- und ACE2 Inhibitionsanalysen der Omicronvariante innerhalb eines Monats nach deren Klassifikation als besorgniserregend durchzuführen [7].

#### Differenzielle Analyse von Infektions- und Impfmunität

Multicov-AB und RBDCoV-ACE2 wurden nach der initialen Entwicklung in ein semi-automatisiertes Format übertragen. Durch den so möglichen Durchsatz von über 6000 Proben pro Woche, wurden beide Assays für die Analyse von Proben aus diversen Studien eingesetzt [3, 5, 7-13]. Multicov-AB wurde beispielsweise im Rahmen der größten deutschen SARS-CoV-2 Seroprävalenzstudie MuSPAD verwendet [11, 14, 15] oder eingesetzt, um die Unterschiede in Antikörperantworten nach SARS-CoV-2-Infektionen bei Kindern und Erwachsenen in einer Haushaltsübertragungsstudie zu definieren [16]. Nach der Zulassung von mehreren SARS-CoV-2 Impfstoffen wurden beide Assays aber verstärkt dazu verwendet, um Impfantworten zu analysieren. Während die Verwendung des Nukleokapsid- und des Spikeproteins als Antigene es erlauben, impf- und infektionsinduzierte Antikörper voneinander zu unterscheiden [2],

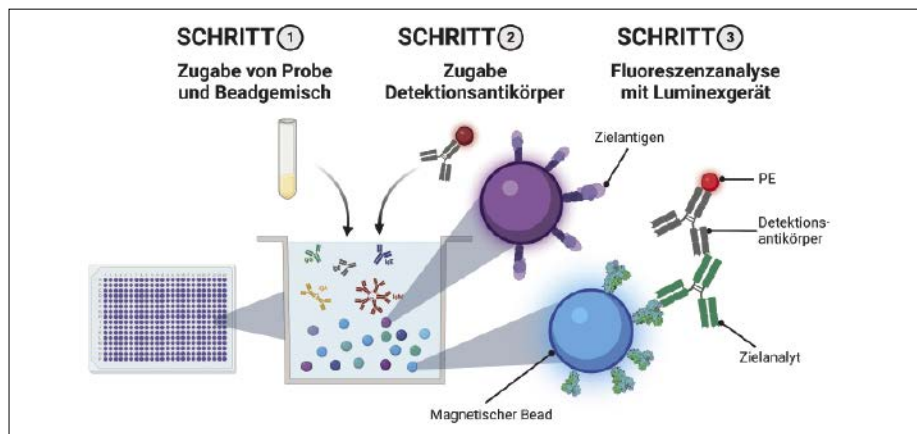


Abb. 1: Arbeitsablauf von multiplex-basierten Antikörpernachweisverfahren. Nach der Antigenimmobilisierung auf spektral unterscheidbare Luminex-Beads werden diese zusammen mit Bioproben inkubiert. Sobald reaktive Antikörper an die immobilisierten Antigene gebunden haben, werden nicht-reaktive Antikörper durch Waschen entfernt. Die Analyse erfolgt durch fluoreszenz-markierte spezies-spezifische Sekundärantikörper mit einem laser-basierten Detektionssystem (copyright Monika Strengert, created with biorender.com).

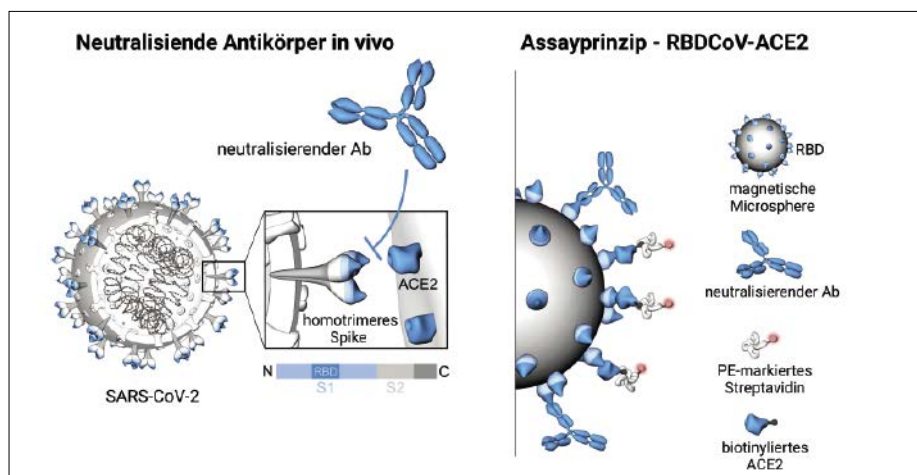


Abb. 2: Hochdurchsatzfähiger zellfreier RBDCoV-ACE2-Assay zur funktionellen Charakterisierung von Antikörperantworten. Gepoolte Beads gekoppelt mit verschiedenen SARS-CoV-2 RBDs werden mit Patientenserum inkubiert, welches in Puffer verdünnt wurde, der biotinyliertes ACE2 beinhaltet. Nach der Detektion des RBD-ACE2-Komplexes durch phycoerythrin-gelabeltes Streptavidin, wird die gemessene Fluoreszenzintensität mit einer Kontrolle normalisiert, die nur biotinyliertes ACE2 enthält, um so die Neutralisierungsfähigkeit von RBD-spezifischen Antikörperantworten zu bestimmen (copyright NMI Natural and Medical Sciences Institute at the University of Tübingen).

## Thomapren®-EPDM/PP-Schläuche – FDA konform

[www.rct-online.de](http://www.rct-online.de)



### Elastischer Pumpen-, Pharma- und Förderschlauch für höchste Ansprüche

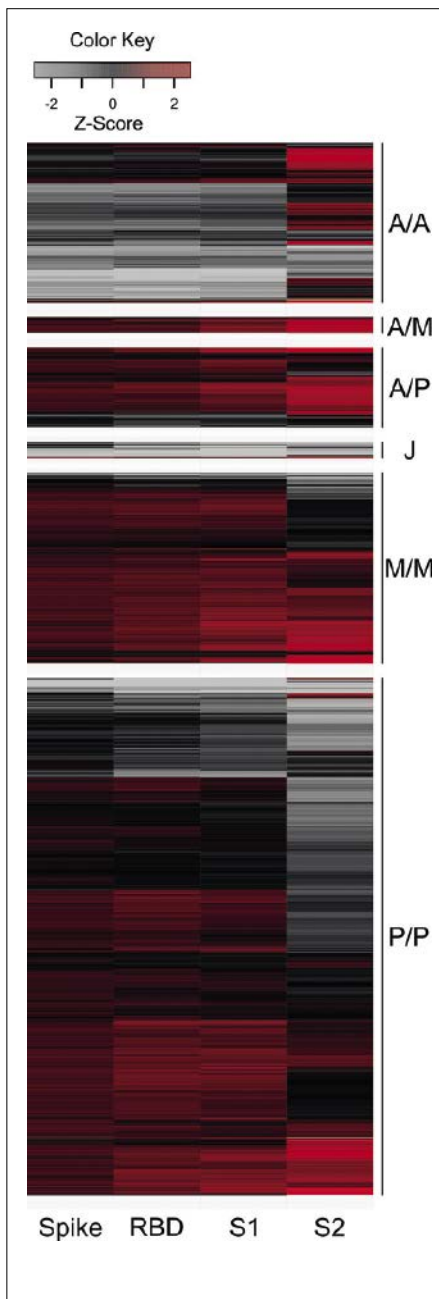
- **High-Tech-Elastomer EPDM/PP:** Temperaturbeständig bis +135 °C, UV-beständig, chemikalienresistent, niedrige Gaspermeabilität
- **Für Schlauchquetschventile und Peristaltikpumpen:** Bis zu 30 mal höhere Standzeiten gegenüber anderen Schläuchen
- **Biokompatibel und sterilisierbar:** Zulassungen nach FDA, USP Class VI, ISO 10993, EU 2003/11/EG



**Reichelt  
Chemietechnik  
GmbH + Co.**

Englerstraße 18  
D-69126 Heidelberg  
Tel. 0 62 21 31 25-0  
Fax 0 62 21 31 25-10  
[rct@rct-online.de](mailto:rct@rct-online.de)





**Abb. 3:** Antigenprofilung nach SARS-CoV-2 Impfungen mit Multicov-AB. Antigen-spezifische Antikörpertiter von 1400 geimpften Teilnehmern der MuSPAD-Studie 7-65 Tage nach der Impfung wurden mit Multicov-AB gemessen. Skalierte und zentrierte Antigenantworten wurden dann per Impfstoff geordnet und im Anschluss als Heatmap dargestellt. Negative Werte repräsentieren unterdurchschnittliche und positive Werte überdurchschnittliche Titer pro Antigen. Grau- zu Rotfarbschattierungen stellen eine niedrige zu hohe Werteverteilung dar. A/A – 2 Dosen AZD1222. A/M – 1. Dose AZD1222, 2. Dose mRNA-1273. A/P – 1. Dose AZD1222, 2. Dose BNT162b2. M/M – 2 Dosen mRNA-1273. P/P – 2 Dosen BNT162b2. J – 1 Dose Ad26.CoV2.S (copyright: 2022 [11]).

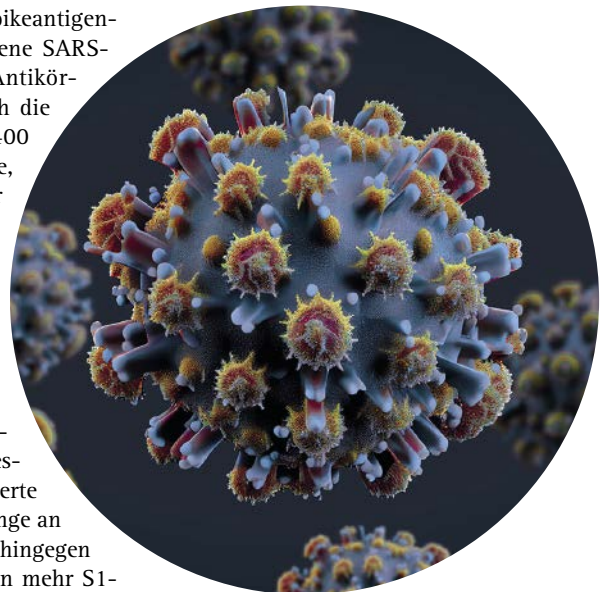


*Serologische Immunnachweisverfahren spielen eine zentrale Rolle für Fragestellungen in vielen Forschungsgebieten.*

ermöglichen die eingesetzten Spikeantigenvarianten, die durch verschiedene SARS-CoV-2 Impfstoffe gebildeten Antikörperprofile, zu definieren. Durch die Analyse von Proben von 1400 Probanden der MuSPAD-Studie, die alle in Deutschland von der STIKO-autorisierten Impfstoffkombinationen erhalten hatten, konnte wie von anderen Forschungsgruppen bereits bezeugt, bestätigt werden, dass RNA oder kombinierte RNA-Vektorimpfstoffe zu höheren Antikörpertitern führen als Vektorimpfstoffe alleine [11]. Interessanterweise führten vektor-basierte Impfstoffe zu einer erhöhten Menge an S2-spezifischen Antikörpern, wohingegen RNA oder heterologe Impfungen mehr S1- und RBD-spezifische Antikörper erzeugten (Abb. 3) [11]. In Anbetracht der Tatsache, dass RBD- und S1-spezifische Antikörper den Zelleintritt von SARS-CoV-2 blockieren, stellen die vorliegenden Erkenntnisse eventuell einen molekularen Zusammenhang zu den unterschiedlichen klinischen Effizienzen dieser Impfstoffe her. Neben der Analyse von Impfantworten in der Bevölkerung lieferten beide Multiplex-Assays auch Informationen zum Immunstatus nach Impfung in Risikogruppen für einen schweren Covid-19 Verlauf wie Dialysepatienten [3, 12, 13].

#### Fazit

Unter Verwendung der Expertise und Erkenntnissen aus der Covid-19-Pandemie wird zurzeit an der Entwicklung weiterer multiplex-basierten Antikörpernachweisverfahren gegen Erreger anderer Atemwegsinfektionen wie RSV and Influenzavirus gearbeitet. Insgesamt zeigt die erfolgreiche Entwicklung und Nutzung von Multicov-AB und RBDCoV-ACE2 als hochdurchsatzfähige Analysemethoden wie neuartige Technologien ihren Beitrag zu Impfpfleh-



© Enteng - stock.adobe.com

lungen, der Entwicklung von adaptierten Impfstoffen und dem Verständnis der Rolle von Antikörperantworten zum Krankheitsverlauf leisten können.

#### Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Gruppe Multiplexe Immunoassays, NMI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen, Reutlingen, Deutschland

<sup>2</sup>Abteilung für Epidemiologie, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig, Deutschland

#### ● KONTAKT |

##### Dr. Monika Strengert

Abteilung für Epidemiologie  
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung  
Braunschweig, Deutschland  
ORCID: 0000-0003-1001-8020  
monika.strengert@helmholtz-hzi.de



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-Immunoassay>



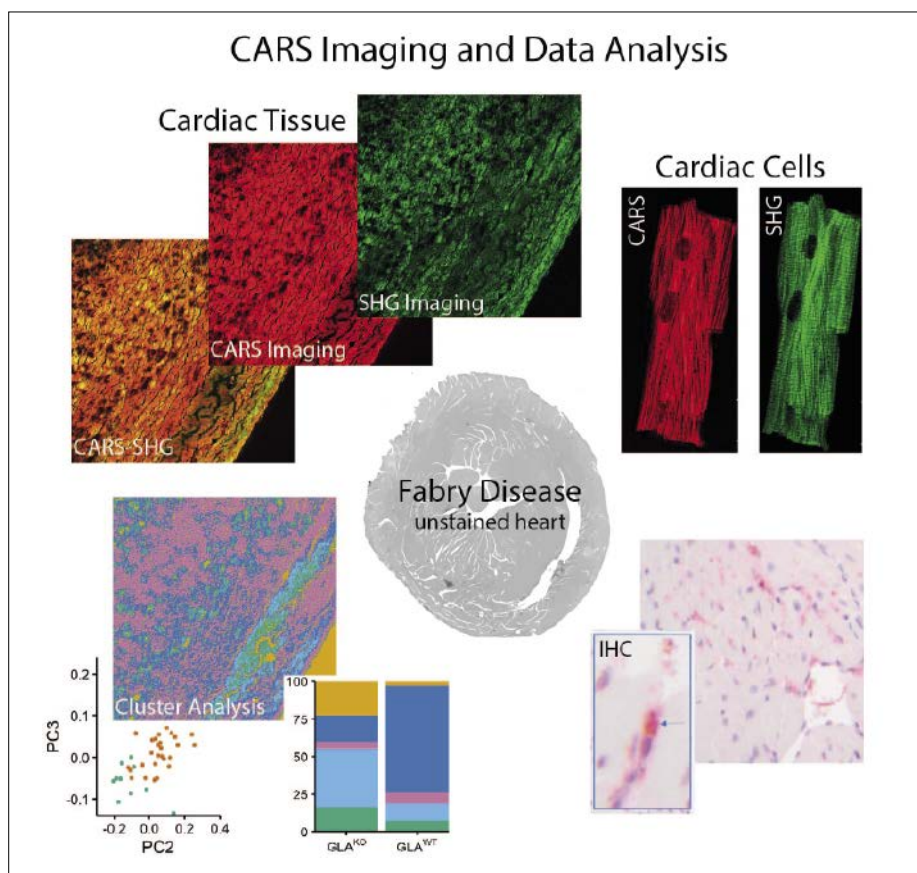
Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Strengert>

# Biospektroskopie für Herzgewebecharakterisierung

Raman-Spektroskopie in der kardiovaskulären Forschung und Diagnostik

Elen Tolstik<sup>1</sup> und Kristina Lorenz<sup>1,2</sup>

Der Einsatz von spektroskopischen Bildgebungsverfahren in der Biomedizin eröffnet die Möglichkeit der Krankheitsanalyse durch die Identifizierung krankheitsspezifischer Biomarker. Neuerdings hat sich die Raman-Spektroskopie als wichtige biomedizinische Technik in der Onkologie-, Neurologie- sowie Herz-Kreislauf-Forschung und -Diagnostik etabliert. Basierend auf dem markierungsfreien Nachweis der chemischen Zusammensetzung von Proben und deren krankheitsspezifische Veränderungen hilft die Raman-Spektroskopie, Krankheiten mit Protein- oder Lipidakkumulationen im frühen Stadium der Entwicklung zu erkennen. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf der biochemischen Analyse der Herzbeteiligung bei seltenen Speicherkrankheiten, wie zum Beispiel der Fabry-Krankheit. Konkret werden lineare und nichtlineare schwingungsspektroskopische Methoden in Mausmodellen zur Diagnose von Herzveränderungen verwendet, um Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen und herzbezogenen Biomarkern zu identifizieren. Dazu gehört auch eine umfangreiche Datenanalyse, die eine sichere Diagnose ermöglicht.



## Biomedizinische Spektroskopie und ihre Anwendungen

Die biomedizinische Spektroskopie hat in den letzten Jahren enorme Fortschritte gemacht. Man kann heute mit hochauflösenden, spektroskopischen und sensiblen Instrumenten sehr genaue Messungen von Maus- und auch Humanproben durchführen. Damit erwies sich die Spektroskopie als gute Ergänzung zu den etablierten Diagnoseverfahren. Es gibt verschiedene Arten von biomedizinischer Spektroskopie, die sich in ihrem Anwendungsbereich und der Art der gemessenen Strahlung unterscheiden. Zu den bekanntesten gehören die Infrarotspektroskopie (sie basiert auf dem Absorptionsvermögen von Molekülen für infrarotes Licht), die Kernspin-Resonanz-Spektroskopie (NMR, die auf der Messung des magnetischen Moments von Kernen beruht) und die Raman-Spektroskopie. Die Raman-Spektroskopie nutzt das Phänomen der Raman-

Streuung, bei der Licht von einem Molekül unelastisch gestreut wird, wodurch das Molekül von einem Energieniveau in ein anderes übergeht. Daher hat die gestreute Strahlung eine andere Wellenlänge als das ursprüngliche Licht. Durch ihre Messung erhält man detaillierte Informationen über die chemische Zusammensetzung und Struktur sowie die molekulare Dynamik der Moleküle. Die Raman-Spektroskopie wird häufig in der pharmazeutischen Industrie eingesetzt, um die Qualität von Arzneimitteln zu überprüfen, oder in der Diagnostik, um krankheitsspezifische Marker bei der Analyse von Blut, Gewebe, isolierten Zellen oder Urinproben zu erkennen.

Bei der kohärenten Anti-Stokes-Raman-Spektroskopie (CARS – Coherent anti-Stokes Raman spectroscopy) wird im Gegensatz zur einfachen Raman-Spektroskopie mit zwei

intensiven Laserstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge gearbeitet, wobei eine bestimmte Molekülschwingung selektiv angeregt wird. Die Interaktion dieser Laserstrahlen mit dem Material führt zu einer kohärenten Strahlung, die mit deutlich höherem Signal tiefer in die Gewebeschichten eindringen und so schneller die großen Strukturen analysieren kann. So ermöglicht CARS die Gewebe-Messung von Spektren im Kohlenstoff-Wasserstoff-(CH-) Streckbereich ( $2800 - 3050 \text{ cm}^{-1}$ ) mit hoher spektraler Selektivität, wodurch die Proben ausreichend starke Unterschiede zwischen den  $\text{CH}_2$  und  $\text{CH}_3$ -Streckschwingungen aufweisen und damit die Lipid-/Proteindichte in der Probe unterschieden werden kann [1, 2]. Dank der Nah-Infrarot-Bestrahlung ermöglicht die CARS-Bildgebung eine hohe Eindringtiefe des Lichts in biologisches Gewebe mit geringer Autofluoreszenz. Beide Techniken, Raman-

und CARS-Spektroskopie, bieten eine nicht-invasive Möglichkeit, die chemische Zusammensetzung von Gewebe und Flüssigkeiten zu analysieren und sind daher neuartige Tools in der kardiovaskulären Forschung.

### CARS-Bildgebung unterstützt die Frühdiagnose der kardialen Manifestation der Fabry-Krankheit

In einem der Forschungsprojekte wurde das Potenzial der CARS-Mikroskopie für den Nachweis biomolekularer Veränderungen in Herzproben im Falle der Fabry-Krankheit untersucht. Die Fabry-Krankheit ist eine seltene, genetisch bedingte Stoffwechselerkrankung, die durch einen Defekt in einem Enzym namens Alpha-Galaktosidase A ( $\alpha$ -Gal A) verursacht wird [3]. Dies führt zu einer Ansammlung von Lipiden (z.B. Globotriaosylceramid, kurz Gb3) in den Zellen des Körpers, insbesondere in den Nieren, dem Herzen und dem Gehirn. Da die Krankheit mehrere Organe betrifft, hängen die Symptome sehr von den Organen und betroffenen Regionen ab und führen zu einer sehr individuellen Ausprägung der Erkrankung. Dies bedeutet eine spätere Diagnose und schlechtere Heilungs-

chancen für die betroffenen Patienten. Allerdings stehen heute wirksame pharmakologische Behandlungen zur Verfügung, darunter die Enzymersatztherapie und die Chaperontherapie. Beide können das Fortschreiten der Krankheit aufhalten, verlangsamen oder sogar teilweise umkehren, wenn Morbus Fabry diagnostiziert und die Therapie früh genug eingesetzt wird, bevor ein irreversibler fibrotischer Umbau stattgefunden hat. Die Manifestation im Herzen ist die häufigste Todesursache bei Fabry-Patienten. Die Therapie sollte bei solchen Patienten rechtzeitig starten, das heißt bevor die fibrösen Ablagerungen im Herzen stark ausgebreitet sind.

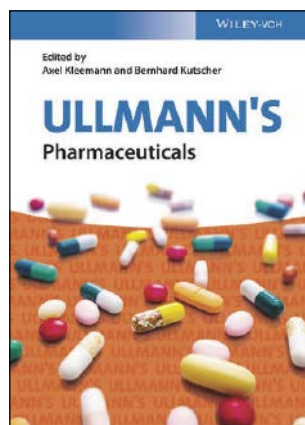
Die konventionelle pathologische Routinediagnose von Biopsien bei Fabry-Patienten stützt sich auf grundlegende mikroskopische Techniken und Standardfärbemethoden. Die hohe Arbeitsbelastung der Pathologen drängt auf die Entwicklung alternativer oder zusätzlicher Nachweismethoden, die es ermöglichen, die Proben direkt am Tag der Probenentnahme zu untersuchen und zusätzliche qualitative und quantitative biochemische Informationen zu liefern. So könnte beispielsweise die spektroskopische Überwachung die genaue biochemische Zusammensetzung der Biopsie-Probe

als Ergänzung zur histopathologischen Voruntersuchung liefern. Aufgrund der zerstörungsfreien spektroskopischen Messungen könnten diese auch gut mit anderen bildgebenden Verfahren kombiniert werden.

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die CARS-Bildgebung die Möglichkeit bietet, die Fabry-Krankheit in einem frühen Stadium am Mausmodell zu diagnostizieren [2]. Die CARS-Mikroskopie als kohärentes nichtlineares Hochgeschwindigkeits-Raman-Imaging eignet sich gut für die großflächige Darstellung von Biopsien. Außerdem liefern starke CARS-Signale aliphatischer CH-Streckschwingungen, das heißt die Raman-Resonanzen bei 2850  $\text{cm}^{-1}$  und 2940  $\text{cm}^{-1}$ , wichtige Einblicke in die Lipid-/Proteinverteilungen. Somit ermöglicht CARS die Visualisierung und Lokalisierung von Verbindungen auf Lipidbasis mit hohem Kontrast, da sie eine große Anzahl von CH-Bindungen enthalten.

Während des Forschungsprojekts wurden Herz-Bioproben von  $\alpha$ -Gal A-Knockout (abgekürzt GLA<sup>KO</sup>) und Wildtyp-Mäusen (abgekürzt GLA<sup>WT</sup>) im Alter von 20 Wochen mittels CARS untersucht [2], also zu einem frühen Zeitpunkt, wenn die phänotypischen Anomalien noch recht unspezifisch sind.

## An indispensable guide to all major marketed drugs and therapeutics



Edited by Axel Kleemann,  
Bernhard Kutscher

ISBN: 978-3-527-34252-5  
Hardcover | March 2022  
\$435.00 | €379.00 | £315.00

 Also available as Ebook

Based on the WHO's Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system, virtually all marketed therapeutics are covered here in 48 topical sections. Each section contains a general introduction to the therapeutic class, current developments, and challenges, followed by a systematic listing of all important marketed products. For each therapeutic, up-to-date information on compound structure, mechanism, formulation, clinical use, time on market, and production methods is provided, complete with references to the scientific and patent literature.

With ULLMANN's being one of the most renowned and trusted references in the field of industrial chemistry, this selection of ULLMANN's articles is an indispensable guide for every professional in the pharmaceutical and medical sector and provides reliable data on more than 3,500 pharmaceutical products marketed up to 2021.

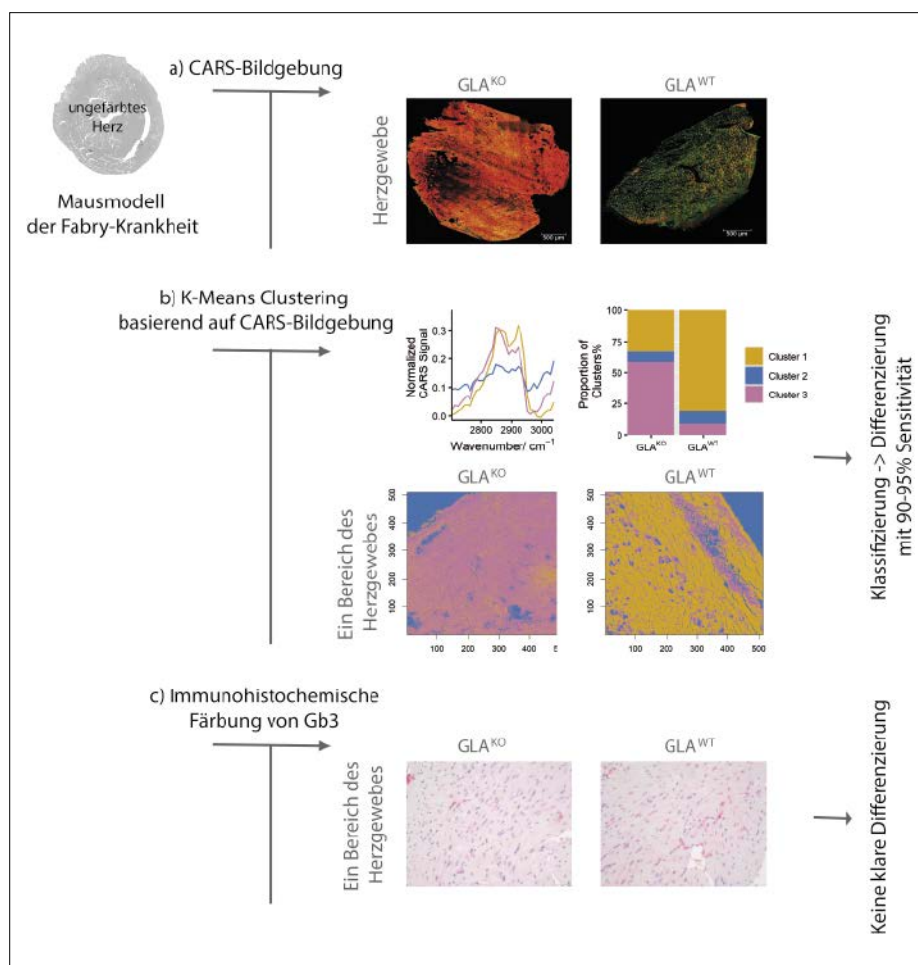
Die spektroskopischen CARS-Messungen wurden durch eine multivariate Datenanalyse mit Bildvorverarbeitung, Clustering und datengesteuerter Modellierung unterstützt (siehe Abb. 1). Für die visuelle Darstellung der Ergebnisse in den Herzschnitten wurden die jeweiligen Spektren als Farbkarten rekonstruiert. Diese Farbkarten ermöglichten eine klare visuelle Unterscheidung zwischen den beiden Genotypen, das heißt zwischen dem Herzgewebe von  $GLA^{KO}$ - und  $GLA^{WT}$ -Mausmodellen, die in den repräsentativen Bildern in Abbildung 1b zu sehen sind. Die CARS-Cluster-Karte zeigte zum Beispiel ein vorherrschendes gleiches Protein-Lipid-Signal (in gelb dargestellt) in  $GLA^{WT}$ -Gruppe. Im Gegensatz dazu wies das  $GLA^{KO}$ -Herzgewebe ein hohes Lipid-Signal auf (in rosa dargestellt). Dies unterstützt das Vorhandensein stärkerer schwingender  $CH_2$ -Signale (Raman-Resonanzen bei  $2850\text{ cm}^{-1}$ ) im Zusammenhang mit der Lipidakkumulation in allen Herzabschnitten von  $GLA^{KO}$ -Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Gewebe.

Die CARS-Mikroskopie ermöglicht nicht nur eine klare Unterscheidung zwischen den beiden Genotypen, sondern sie gibt auch Aufschluss über die räumliche Auflösung der verschiedenen Cluster und Substanzen in Fabry-Biopsien. Ähnliche Clusterproportionen und Farbkarten wurden mit Nierenschnitten dieser Mäuse erhalten, einem Organ, das in diesem Mausmodell stärker betroffen ist. In den Nieren wurden wesentlich stärkere oszillierende  $CH_2$ -Signale festgestellt. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen also gut mit den Lipidablagerungen überein, die im Herzgewebe von Fabry-Patienten festgestellt wurden, das heißt mit dem stärkeren Lipidsignal in  $GLA^{KO}$ -Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen.

Die klassische immunhistochemische (IHC) Färbung von Gb3 bei Herzen und Nieren wurde ebenfalls durchgeführt (Abb. 1c). Während die IHC-Analyse von Herzabschnitten kein spezifisches Gb3-Signal ergab, wurden signifikante Lipid-/Proteinveränderungen durch CARS-Mikroskopie mit einer durchschnittlichen Sensitivität von bis zu 95 % identifiziert [2].

## Ausblick

Die CARS-Bildgebung ist ein schnelles, nicht-invasives und hochpräzises Verfahren, das die Analyse der chemischen Zusammensetzung von Gewebe ermöglicht und wichtige Informationen für die Diagnose und Behandlung von Krankheiten liefert. Da die CARS-Bildgebung eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Lipid-/Proteinverschiebungen aufweist, wurde CARS als Diagnoseinstrument eingesetzt, um die Manifestation



**Abb. 1:** Anwendung der CARS-Mikroskopie auf Herzgewebe von Mäusen mit Morbus Fabry ( $GLA^{KO}$ ) und Wildtyp-Mäusen ( $GLA^{WT}$ ). Der Arbeitsablauf umfasst (a) CARS-Messungen der ungefärbten Herzproben und (b) multivariate Datenanalyse (Clustering und Klassifizierung) mit dem Ziel, zwischen den beiden Mäusegruppen zu unterscheiden. (c) Zusätzlich wurde eine pathologische Kontrolle durch immunhistochemische Färbung des Herzens durchgeführt und mit den CARS-Bildergebnissen verglichen [2] [Veröffentlichung mit freundlicher Genehmigung des International Journal of Molecular Sciences des MDPI-Verlags, Referenz doi: 10.3390/ijms23105345].

der kardialen Fabry-Krankheit in einem Mausmodell zu beurteilen. Gemeinsam mit dem Morbus-Fabry-Experten und leitenden Oberarzt Peter Nordbeck wurden die potentiellen klinischen Anwendungen der entwickelten Methode und den Ansatz der Analysealgorithmen und deren Relevanz für andere Speicherkrankheiten mit Lipid-/Proteinanreicherung, bei denen eine frühzeitige Diagnose für die Patientenprognose besonders wichtig ist, diskutiert. Die Integration der automatisierten Raman-Spektroskopie in die klinische Verarbeitung kann die Qualität und Genauigkeit der Vorhersage verbessern, indem sie molekularbasierte Ergänzungen zu histologischen Analysen liefert. Potenziell könnten spektroskopische Tech-

niken *in vivo* oder sogar *in situ* angewendet werden.

## Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Leibniz Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS, Dortmund, Deutschland

<sup>2</sup>Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Würzburg, Deutschland

## ● KONTAKT |

Dr. Elen Tolstik

Leibniz Institute für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.

Dortmund, Deutschland

ORCID: 0000-0003-0873-4335

elen.tolstik@isas.de



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-CARS>

[1]

Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Tolstik>



© Peter Boecker

# Hyper-Fast Gaschromatographie

Robust, sensitiv und nachhaltig – im Sekundenmaßstab

Thomas Havel<sup>1</sup> und Peter Boecker<sup>1,2</sup>

**A**lle Analytiker kennen die Gaschromatographie – so gut, dass sie meist zum reinen Werkzeug geworden ist, das man nicht weiter hinterfragt. Seit nun 70 Jahren werden wie selbstverständlich Trennsäulen in Öfen eingebaut und Stoffe aufgetrennt. Nachteile wie lange Analysenzeiten und hohe Wärmeentwicklung der massiven Öfen verliert man leicht aus den Augen – vermeintlich mangels praxistauglicher Alternativen. Doch ein innovatives Konzept beweist, dass es auch anders geht.

## Von der GC zur Hyper-Fast GC

Die Absicht, die gewohnte Gaschromatographie zu beschleunigen und effizienter zu machen, motiviert diverse Forscher und Unternehmen schon seit vielen Jahren. Immer wieder taucht das Thema der Fast-GC auf, entweder im Kontext der Verwendung von Wasserstoff oder, um den Analysendurchsatz deutlich zu erhöhen. Konzepte wie die Vakuum-GC (auch low pressure GC genannt) versuchen, schnellere Ergebnisse mit den klassischen Luftbadöfen konventioneller GCs zu erzeugen.

Weitere Ansätze versuchten sich an der Abkehr von den traditionellen Luftbadöfen, beispielsweise in Form der widerstandsbeheizten Säulenbündel (LTM-GC) oder auch

mit der direkten Kontaktbeheizung flachgewickelter Trennsäulen. Aus der Nutzersperspektive ist dabei nachteilig, auf spezielle Trennsäulen der Hersteller angewiesen zu sein und sich somit in der freien Auswahl der geeigneten Trennsäule deutlich einschränken zu lassen. Außerdem verzichtet der Nutzer bei diesen Konzepten zwangsweise auf viele bewährte Maßnahmen, wie zum Beispiel das Kürzen von Trennsäulen nach der Analyse stark verschmutzter Proben. Auch gibt es eine Reihe von physikalischen Argumenten, nach denen diese Konzepte nicht auf dem optimalen chromatographischen Niveau betrieben werden können.

Aber Pragmatismus und Vorbehalte verhinderten eine Übernahme solcher Konzepte in der Breite. Tatsächlich gibt es einige durchaus valide Argumente gegen diese Art der schnellen Gaschromatographie, darunter die geringere Kapazität der dünneren Trennkapillaren, die vermeintlich schwierigere Probenaufgabe oder die vermutet hohen notwendigen Splitverhältnisse – um nur die wichtigsten Einwände zu nennen.

## Der räumliche Gradient

Seit 2013 wurde an der Universität Bonn ein Gaschromatographiesystem entwickelt, das – zusätzlich zur zeitlichen Tempera-

turprogrammierung einen räumlichen Temperaturverlauf entlang der Trennsäule enthält. Der Temperaturverlauf vom Wärmeren zum Kälteren längs der Säule führt zu einigen sehr vorteilhaften Effekten. Es kommt zu einer Fokussierung der chromatographischen Bänder, da die Front eines Substanzbandes immer eine etwas geringere Temperatur hat, daher langsamer läuft, das Ende des Bandes dagegen wärmer ist und etwas schneller läuft. So schiebt sich das Band beim Transport zusammen. Die Verbreiterung durch Diffusion wird damit überkompensiert. Der zweite Vorteil des Verfahrens ist es, dass der Transport bei viel niedrigeren Temperaturen erfolgt. Etwas idealisiert betrachtet, bewegt sich jede Substanz in etwa mit einer spezifischen und konstanten Temperatur über die Trennkapillare. Eine darüber hinaus ansteigende Temperatur, wie es beim klassischen Verfahren unvermeidbar ist, sehen die Analyten nicht. So bewegen sich viele Analyten parallel über die Trennkapillare – jeder folgt im zeitlichen und räumlichen Temperaturprogramm seiner ganz spezifischen Lauftemperatur. Diese Temperaturgradienten-Gaschromatographie ist daher für sehr schnelle Trennungen und auch für die Trennung sehr hochsiedender Stoffe besonders geeignet.

Die praktische Umsetzung dieser Theorie erfolgt durch das Verfahren des simultanen Heizens und Kühlens der Trennsäule in einem Strömungsfeld. Die Trennsäule





*Etwas idealisiert betrachtet, bewegt sich jede Substanz in etwa mit einer spezifischen und konstanten Temperatur über die Trennkapillare.*

wird dafür zunächst in eine Kapillare eingeschoben, welche elektrisch beheizt werden kann. Die aufgeheizte Kapillare wird daraufhin mit unterschiedlich starken Luftströmungen angeströmt. Auf diese Art wird der zunächst lokal gleichbleibend beheizten Trennsäule abhängig von ihrer Säulenposition Wärmeenergie entzogen, und ein kontinuierlicher Gradient entsteht. Dieses Prinzip konnte mit einer einfachen Anordnung, wie in Abbildung 1 dargestellt, technisch realisiert werden. In ein Rohr mit einem helixförmigen Kanal wird von unten Luft eingeblasen. Durch einen Strömungswiderstand im Rohr ergibt sich eine von unten nach oben kontinuierlich geringer werdende Abströmung der Luft durch den Helixkanal. Diese Luft umströmt die im Kanal fixierte Heizkapillare, die dadurch unten mehr gekühlt wird, als oben. Im Ergebnis ergibt sich der gewünschte räumliche Temperaturverlauf. Das erzeugte Flussfeld und der resultierende Temperaturgradient sind namensgebend für diese Technologie der Flussfeld-Temperaturgradienten-Gaschromatographie (oder kurz, FF-TG-GC bzw. Hyper-Fast GC).

#### Das Potential der Hyper-Fast GC

Das Konzept der Hyper-Fast GC führte schon früh zu weitreichender Anerkennung der Analytikszene, beginnend bei Pat Sandra, welcher die erste Publikation mit dem

Thema FF-TG-GC bereits 2015 als Paper of the Year auszeichnete [1]. 2018 wurde dem mittlerweile als „HyperChrom GC“ vermarktetes Gerät der erste Platz des Innovation Award des Magazins The Analytical Scientist verliehen und die Entwicklung der Hyper-Fast GC als größte gaschromatographische Innovation des letzten Vierteljahrhunderts beschrieben, die Gaschromatographie allgemein viel schneller, empfindlicher und selektiver macht [2]. Auch die Wissenschaftler der Shell Global Solutions International sprachen im Rahmen des 17th International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Separation Technology über die Vorteile der Hyper-Fast GC [3].

Tatsächlich ist es möglich, mit dieser Hyper-Fast GC den Großteil der klassischen GC-Anwendungen abzubilden – und dabei deutlich weniger Analysenzeit in Anspruch zu nehmen. Je nach Anwendung sind Analysen mit einer Zykluszeit von unter 60 Sekunden durchführbar – passend für Anwendungen, die in hoher Anzahl gemessen werden oder eine schnelle Reaktion erfordern. Die Auflösung der Hyper-Fast GC kommt dabei, der verringerten Säulenlänge geschuldet, nicht ganz an die der „großen Schwester“, der klassischen Gaschromatographie, heran. Die Auflösung der Hyper-Fast GC entspricht etwa derjenigen, die in der klassischen GC mit einer 20 Meter langen Trennsäule (Innendurchmesser 0,25 mm) erreicht

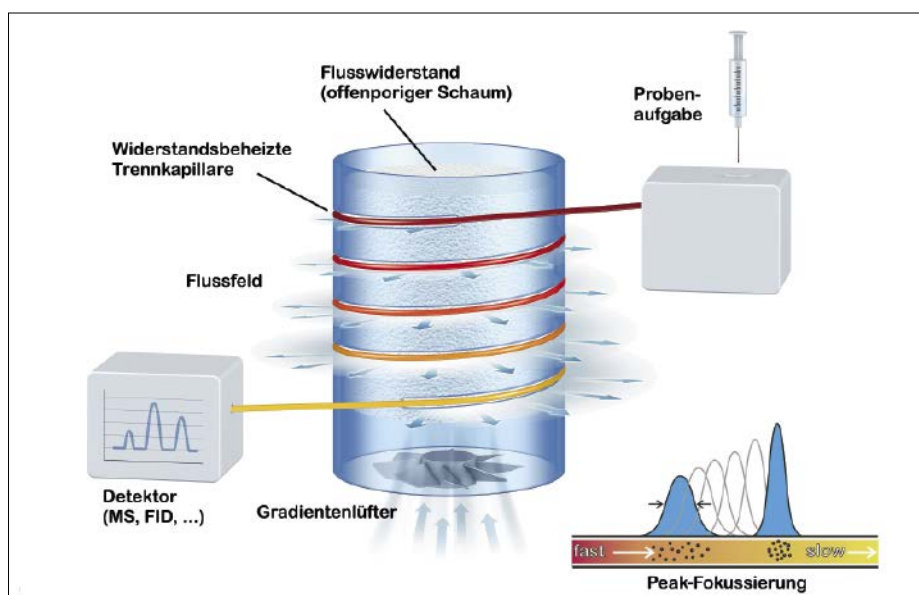


Abb. 1: Konzept der Flussfeld-Temperaturgradienten-Gaschromatographie.



# Jetzt LESER werden!

Lesen Sie die inspect oder messtec drives Automation jederzeit und überall.

Registrieren Sie sich auf:  
[www.wileyindustrynews.com](http://www.wileyindustrynews.com)



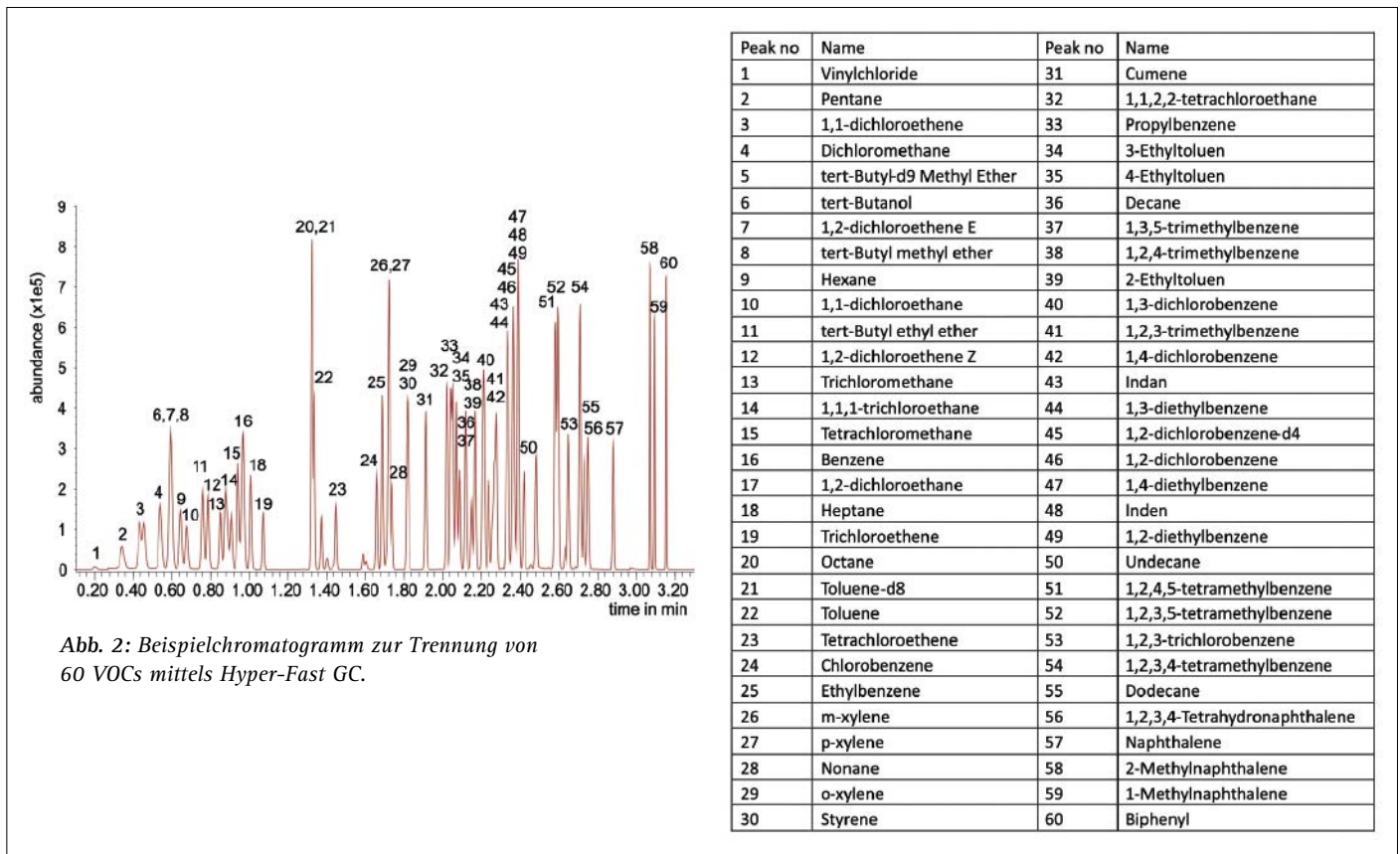


Abb. 2: Beispielchromatogramm zur Trennung von 60 VOCs mittels Hyper-Fast GC.

werden kann. Für die meisten Anwendungen ist das mehr als ausreichend. Als eindrucksvolles Beispiel zeigt Abbildung 2 die Trennung von 60 verschiedenen VOCs von Vinylchlorid bis Biphenyl in gut 3 Minuten mit Hilfe eines klassischen Single Quad Massenspektrometers.

Ein Konzept ist gereift

Bereits im Prototypenstatus konnte die FF-TG-GC zeigen, dass sie nicht nur eine vergleichbare Trennleistung wie die klassische GC erreicht, sondern auch die Elutionstemperatur schwerflüchtiger Analyten um bis zu 55 °C senken kann [4]. Seitdem sind 8 Jahre vergangen, in denen die enthaltene Technik stetig weiterentwickelt worden ist, um den Anforderungen von Industrie und Forschung gerecht zu werden. So hat beispielsweise das Herzstück des Systems, der Helix-turm, eine Wasserkühlung enthalten, die durch schnelles Abtransportieren von entstehender Wärme gleichbleibende Umgebungsbedingungen in der Nähe der Säule sicherstellt und ein schnelles Abkühlen der Säule von 400 °C auf 30 °C in 10 Sekunden ermöglicht. Gemeinsam mit der Luftströmung des thermischen Gradienten wird so eine sehr kurze Zykluszeit und eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht – trotz der Tatsache, dass das System offen und transparent gehalten ist, unter anderem um Service

und Wartung zu erleichtern. Das System bietet eine breite Kompatibilität. Der Anwender hat die freie Wahl der Verbrauchsmaterialien vom Liner bis zur Säule und kann außerdem verschiedenste Peripherie verwenden. Dazu zählen der eigens für das Instrument entwickelte FID der Firma Ackision oder Massenspektrometer und Probenaufgabesysteme verschiedenster namhafter Hersteller. Der robuste Aufbau des Geräts und die freie Wahl von Verbrauchsmitteln, insbesondere die Nutzung wesentlich kürzerer Säulenstücke im Vergleich zur konventionellen GC, machen das System zu einer ernstzunehmenden Alternative. Besonders auffällig ist zudem der geringe Stromverbrauch, der gegenüber den klassischen Luftbadofen-GCs etwa 90 % niedriger liegt. In Anbetracht aller Fakten, ist es durchaus denkbar, dass die Hyper-Fast GC der konventionellen GC in diversen Applikationen den Rang ablauen könnte.

Fazit

Das ursprünglich an der Universität Bonn initiierte und als HyperChrom GC verfügbare

Hyper-Fast GC-System wurde in den letzten Jahren zu einem nützlichen Werkzeug für moderne Labore weiterentwickelt. Mit sehr kurzen Messzeiten und einer Chromatographiequalität, die jener herkömmlicher GC-Analysen entspricht, ist diese Technik für eine Vielzahl von Anwendungen trotz ihrer noch verhältnismäßig kurzen Entwicklungs- und Optimierungshistorie bereits jetzt schon bestens geeignet.

Zugehörigkeit(en)

<sup>1</sup>HyperChrom Deutschland, Bonn, Deutschland

<sup>2</sup>Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Universität Bonn, Deutschland

● KONTAKT |

PD Dr. Peter Boeker

HyperChrom Deutschland GmbH  
Bonn, Deutschland

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

Universität Bonn, Deutschland  
peter.boeker@hyperchrom.com



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-Gaschromatographie>



Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Boeker>

# Datenwissenschaft für biomedizinische Studien auf Grundlage des Raman-Effekts

Chemometrische Analyse von Raman-Spektren – von der Versuchsplanung bis zur auf maschinellem Lernen basierenden Modellierung

*Darina Storozhuk<sup>1,§</sup>, Oleg Ryabchykov<sup>1,§</sup>, Thomas Bocklitz<sup>1,2,3</sup>*

**S**pektroskopische Techniken werden zunehmend in verschiedenen Disziplinen wie zum Beispiel der Biologie, der Biomedizin und der Diagnostik eingesetzt. Diese Anwendungszunahme wird unter anderem durch die Entwicklung computergestützter datenwissenschaftlicher Methoden getriggert. Mit Hilfe dieser datenwissenschaftlichen Methoden ist die Extraktion von Informationen und Wissen aus kleinen Unterschieden in Raman-Spektren möglich. Um das volle Potenzial der Raman-Spektren zu nutzen, ist der gesamte Datenlebenszyklus der spektroskopischen Daten von der Erzeugung über die Datenmodellierung bis hin zur Archivierung wichtig und muss ganzheitlich betrachtet werden. Relevante Punkte innerhalb des Datenlebenszyklus sind die Versuchsplanung, die Datenvorbehandlung, chemometrische und auf maschinellem Lernen basierende Datenmodellierung. Alle Verfahren werden in einer Datenpipeline kombiniert, welche die Daten standardisiert und zuverlässige Informationen aus den Raman-Spektraldaten extrahiert.

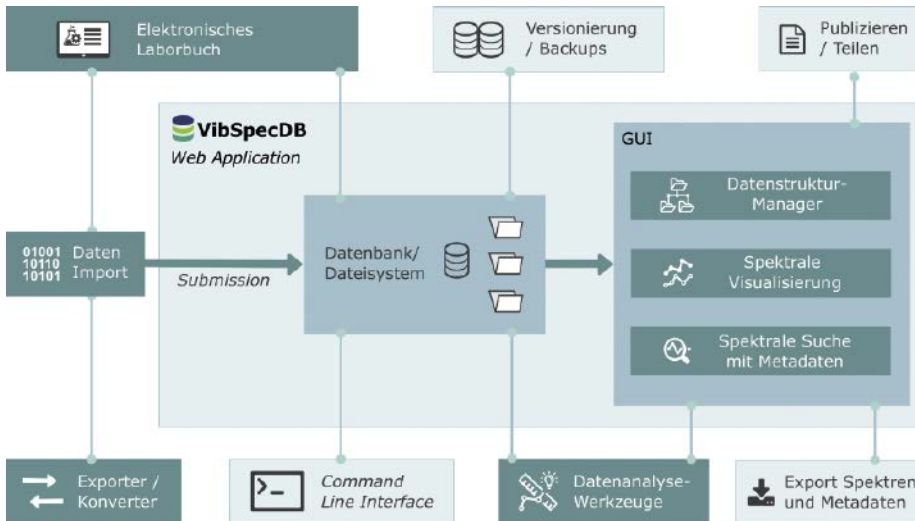


Abb. 1: Datenanalysepipeline für Raman-Spektren.

## Einführung Datenwissenschaften

Datenwissenschaften beziehungsweise Data Science bezeichnet die Wissenschaft, die sich mit der Extraktion von Wissen aus Daten beschäftigt, um daraus zu lernen und basierend auf diesem Wissen Entscheidungen zu treffen. Datenwissenschaften ist ein interdisziplinäres Wissenschaftsfeld, welches Methoden und Techniken zur Extraktion von Erkenntnissen und Wissen aus sowohl strukturierten als auch unstrukturierten Daten erforscht. Historisch wurde diese Wissensfeld im Artikel „The Future of Data Analysis“ von John W. Tukey [1] umrissen und durch C. F. Jeff Wu wurde der Begriff Data Science geprägt, wobei er schon früher benutzt wurde. In einem Vortrag 1997 mit dem Titel „Statistik = Datenwissenschaft?“ definierte C. F. Jeff Wu Datenwissenschaften als Kombination der drei Teile: Datenerfassung, Datenmodellierung und die Entscheidungsfindung. Wird dieses Konzept auf photonische Daten angewandt, entstehen die photonischen Datenwissenschaften, welche Ähnlichkeiten zur Chemometrie haben. Auch im photonischen Sub-Feld der Datenwissenschaften ist der Zweck der Extraktion von Wissen aus (photonischen) Daten um dieses Wissen dann vorhersagend zu nutzen.

## Datenanalyse-Protokoll für Raman-Daten

Die photonische Datenwissenschaft ist wichtig, um Messmethoden und Daten, die auf optischen und photonischen Prozessen basieren, in verschiedenen Applikationsszenarien anzuwenden. Im Falle der Raman-Spektroskopie umfassen diese Applikationsszenarien zum Beispiel die Biologie, die Forensik, die Diagnostik, die Pharmazie und die Lebensmittelwissenschaft. Um Raman-Spektren für

diese Zwecke zu verwenden, sind datenwissenschaftliche Methoden, wie chemometrischer Verfahren, maschinelle Lernmethoden und Dateninfrastrukturen, nötig [2]. Dabei sind die chemometrischen Verfahren und die maschinellen Lernmethoden Verfahren, die dazu dienen, subtile Unterschiede in Raman-Spektren der verschiedenen Proben zu erkennen und daraus Informationen zu gewinnen. Diese Informationen können beispielsweise genutzt werden, um herauszufinden, ob eine Mischung von Bakterienzellen verschiedene Arten enthält oder ob eine eukaryotische Zelle gesund ist oder nicht.

Um Raman-Spektren und im generellen photonischen Daten auszuwerten, werden verschiedenen Methoden und Prozeduren zum Korrigieren und Standardisieren der Daten mit maschinellen Lernmethoden und Evaluierungsverfahren sowie Modelltransfermethoden in einer Datenpipeline kombiniert. Für Raman-Spektren ist diese Datenanalyse-Pipeline noch nicht standardisiert, und es gibt viele Fallstricke, die eine Datenanalyse beziehungsweise Datenmodellierung unbrauchbar machen können. Daher wurde versucht, ein erstes Datenanalyse-Protokoll für eine Raman-Spektraldatenanalyse [3] zu erstellen, welche als Startpunkt für weitere Entwicklungen dienen soll (Abb. 1). Das Protokoll gliedert sich in vier Teile: Versuchsplanung, Datenvorverarbeitung, Datenlernen und Modellübertragung. Im Artikel werden in allen vier Teilen die Best-Practice sowie mögliche Fehler und deren Vermeidungsstrategien beschrieben. Zum Beispiel wird besprochen, wie in der Versuchsplanung einen Fallzahlplanung durchgeführt werden sollte und wie dafür die Lernkurve genutzt werden kann [4]. Auch wird diskutiert, welcher Einfluss die Kombination verschiedener Datenvorbehandlungsprozeduren auf das Ergebnis haben [5] und wie man die Modelle am besten evaluiert, um

eine gute Schätzung der Generalisierungsfähigkeit von Klassifikations- und Regressions-techniken zu erhalten [6]. Subsequent wurden die Informationen des Protokolls genutzt, um eine nutzerfreundliche Software (Ramanmatrix) zu erstellen, welche alle oben genannten Fehler vermeidet [7].

## Messsystem-unabhängige Raman-Spektren

Die variable Konfiguration von Raman-Spektroskopie-Plattformen ist ein Vorteil der Methode, da dadurch eine Anpassung des Messsystems an die Applikationsszenarien durchgeführt werden kann. Diese Flexibilität ist aber auch ein Nachteil, da dadurch die Etablierung der Raman-Spektroskopie als Messmethode in realen Szenarien wie der klinischen Diagnostik erschwert wird. Für solche realen Anwendungen wie die Diagnostik sollten die (Klassifikations-) Modelle idealerweise zur Vorhersage von Daten aus verschiedenen Messplattformen geeignet sein. Dies ist aber nur möglich, wenn die Raman-Spektren aus den verschiedenen Versuchsanordnungen konsistent, reproduzierbar und vergleichbar sind [8, 9]. Raman-Spektren können jedoch sehr empfindlich auf die Messbedingungen reagieren und sich von Versuchsaufbau zu Versuchsaufbau unterscheiden, selbst wenn die gleiche Probe gemessen wird. Obwohl die Abhängigkeit der Raman-Spektren von der Gerätekonfiguration zunehmend als Problem erkannt wird, ist sie noch lange nicht vollständig verstanden, und es sind große Anstrengungen erforderlich, um die daraus resultierenden spektralen Schwankungen zu berücksichtigen und zu korrigieren [10, 11]. Um den Effekt verschiedener Raman-Spektrometer auf die Raman-Spektren zu quantifizieren, wurde ein Round-Robin-Experiment durchgeführt, bei dem die Vergleichbarkeit von 35 Raman-spektroskopischen Geräten mit unterschiedlichen Konfigurationen in 15 Instituten in sieben europäischen Ländern im Rahmen der COST (European Cooperation in Science and Technology) Aktion ‚Raman4clinics‘ untersucht wurde [12]. In der Studie wurde die durch die Instrumentenkonfigurationen verursachten spektralen Variationen mittels verschiedener Kennzahlen wie der Bandenverschiebung, Intensitätsvariationen, Bandenbreite und Signal-to-noise Ratio (SNR) charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass der Unterschied eines Banden-Verhältnisses bis zu 10% betragen kann, was auf systemische Variationen zwischen den Raman-Spektrometern hindeutet. Final konnten Empfehlungen zur Verbesserung Vergleichbarkeit von Raman-Spektren in laborübergreifenden Studien gegeben werden.

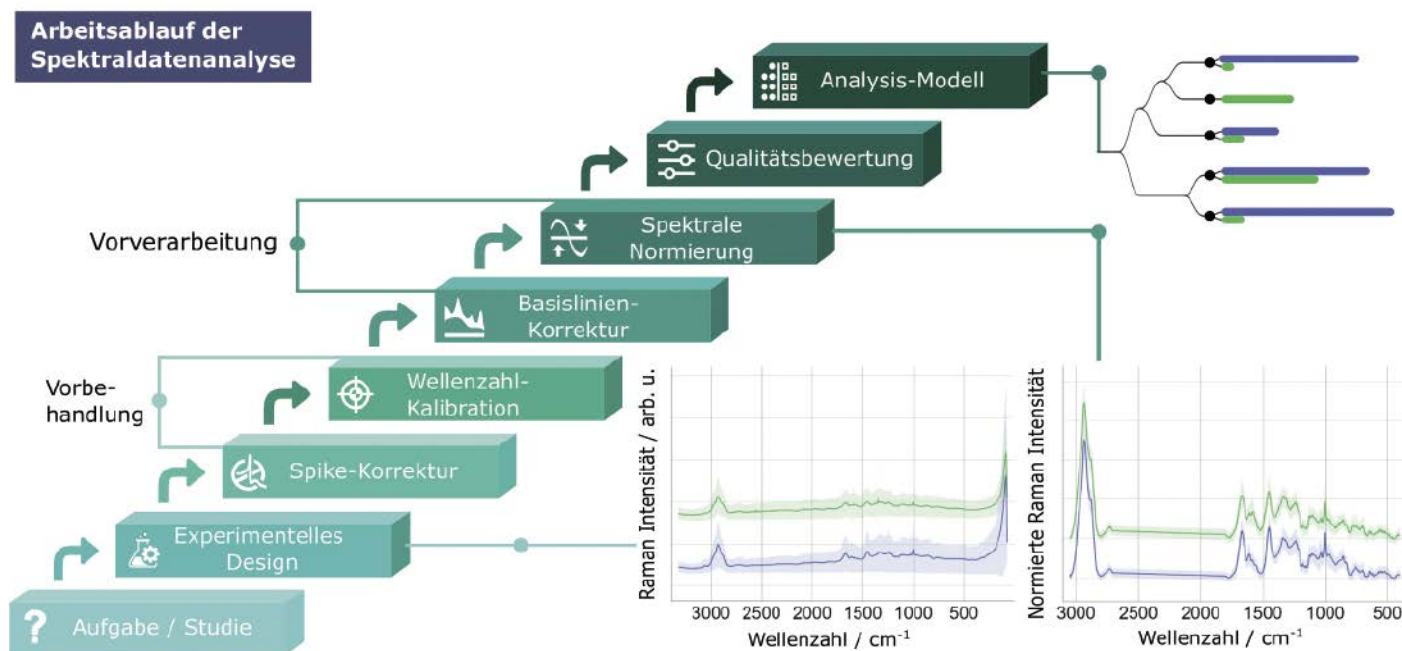


Abb. 2: VibSpecDB als Repository für schwingungsspektroskopische Daten.

### Dateninfrastrukturen für Raman-Spektren

Neben der Datenauswertungspipeline und der Auswertesoftware-Lösungen wie Ramamatrix ist auch das verlässliche Vorhalten von Raman-Spektren in Dateninfrastrukturen relevant. Diese Dateninfrastrukturen für spektroskopische Messungen werden im Chemie Konsortium der NFDI erforscht [13]. Die Datenbank VibSpecDB, eine derzeit intern genutzte Datenbank für Schwingungsspektren (Raman- und IR-Spektren), wird an der FSU (Jena) und dem IPHT (Jena) erforscht und verbessert (Abb. 2). Im Rahmen des NFDI4Chem-Projekts wird VibSpecDB in ein vollständig offenes System überführt. Derzeit verfügt die Datenbank selbst über APIs für Programmiersprachen wie Python oder R, aber keine GUI-basierten Importroutinen, Web-Interface oder Viewer. Diese Funktionalitäten werden im Rahmen des NFDI4Chem-Projekts entwickelt und die Datenbank wird um ein Lizenz- und Zugriffsrechtsmanagementsystem erweitert. Dadurch bildet das System ein Repository für Schwingungsspektren. Daneben wird auch an einer Ontologie für vibrationsspektroskopische Daten und minimalen Metadaten für vibrationsspektroskopische Daten in NFDI4Chem geforscht.

### Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Datenwissenschaften und speziell die photonische Datenwissenschaften für die Applikation photonischer Messverfahren in realen Anwendungsszenarien unumgäng-

lich sind. Nur dadurch lassen sich photonischen Daten wie Raman-Spektren effizient in anwendungsbezogene Informationen und Wissen übersetzen, welche dann für Entscheidungen genutzt werden können. Um die datenwissenschaftliche Verarbeitung von Raman-Spektren zu standardisieren, wurde ein Datenauswertungsprotokoll erstellt und publiziert. Dieses Protokoll wurde dann in eine anwendungsfreundliche Software (Ramamatrix) umgesetzt, welche alle Fallstricke in der Analyse von Raman-Spektren umgeht. Diese Software soll final an ein gerade in der Entwicklung befindliches Repository für vibrationspektroskopische Daten (VibSpecDB) gekoppelt werden, um verlässliche Daten und Modelle zu generieren und verfügbar zu machen.

### Danksagung

Für die finanzielle Unterstützung durch die EU, das Thüringer Ministerium für Wirtschaft, Wissenschaft und Digitale Gesellschaft (TMWWDG), die Thüringer Aufbaubank, das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), die Deutsche Forschungsgemeinschaft, den Fonds der Chemischen Industrie, die Carl-Zeiss-Stiftung und die Leibniz-Gemeinschaft wird herzlich gedankt.

### Zugehörigkeiten

<sup>1</sup>Abteilung „Photonic Data Science“, Leibniz-Institut für Photonische Technologien, Mitglied der Leibniz-Gesundheitstechnologien, Mitglied im Leibniz-Zentrum für Photonik in der Infektionsforschung (LPI), Jena, Deutschland.

<sup>2</sup>Arbeitsgruppe „Photonische Datenwissenschaft“, Institut für Physikalische Chemie (IPC) und Abbe Center of Photonics (ACP), Friedrich-Schiller-Universität Jena, Mitglied im Leibniz-Zentrum für Photonik in der Infektionsforschung (LPI), Jena, Deutschland

<sup>3</sup>Forschungsgruppe „Künstliche Intelligenz in Mikroskopie und Spektroskopie“, Institut für Informatik, Fakultät für Mathematik, Physik und Informatik, Universität Bayreuth Deutschland

<sup>§</sup>geteilte Haupt-Autorenschaft

### KONTAKT |

PD Dr. rer. nat. habil. Thomas Bocklitz

Abteilung Photonic Data Science  
Leibniz-Institut für Photonische Technologien  
Jena, Deutschland  
ORCID: 0000-0003-2778-6624  
Thomas.bocklitz@uni-jena.de  
www.leibniz-ipht.de



Weitere Beiträge zum Thema:  
<https://bit.ly/WAS-D-Chemometrie>



Literatur:  
<https://bit.ly/GIT-Bocklitz>

# Sichere und energieeffiziente Wasseranalytik im Labor

**L**abore haben gerade Hochbetrieb bei der Analyse von wasseranalytischen Kontrolluntersuchungen. Hochwasserereignisse und die Kontrolle von sicherem Trinkwasser, Dürreperioden mit stark belasteten Gewässern aller Art, schrumpfende Grundwasserreservoirs: Wasser wird immer kostbarer – in allen Bereichen. Egal ob als Trinkwasser, Brauchwasser in der Industrie oder Abwasser: Regelmäßige Kontrollen sind vorgeschrieben und werden immer wichtiger. Vor dem Hintergrund explodierender Energiekosten sind effiziente Hilfsmittel dabei unerlässlich. Lovibond stellt nicht nur Testgeräte und Reagenzien für Labore her, sondern auch die passenden Laborkühlschränke für die Lagerung der Proben und Reagenzien.

Zum Sortiment gehören sowohl energiesparende Thermostatschränke für die normgerechte Lagerung von Wasserproben und Reagenzien als auch Laborkühlschränke mit explosionsgeschütztem Innenraum für die richtlinienkonforme Arbeit mit gefährlichen Stoffen.

Die Thermostatschränke der TC-Serie zeichnen sich vor allem durch niedrigen Energieverbrauch aus. Dieser wird durch die Verwendung hocheffizienter Komponenten und eine verstärkte Isolierung erreicht. Eine Regeleinheit sorgt für eine kontinuierliche Temperierung im Bereich von 2 bis 40 °C. Damit ist er besonders gut geeignet für unterschiedliche Anwendungen – vor allem aber für die Lagerung von Proben und oder für BSB-Bestimmungen in der Abwasseranalytik. Eine beleuchtete LED-Anzeige gibt die aktuelle Temperatur beziehungsweise die Solltemperatur im

Schrank an. Die Temperatur-Regeleinheit erfüllt die EMC-Direktive gemäß IEC 61326: Elektrische Geräte zur Messung, Kontrolle und für den Laboreinsatz. Die Temperatur lässt sich in 0,1 °C-Schritten anwählen. Innenliegende Steckdosen sorgen dafür, dass auch Geräte wie Magnetrührer im Thermostatschrank gelagert werden können und dabei die benötigte Stromversorgung erhalten. Es werden drei Modelle mit Stahltür und zwei Modelle mit Glastür mit unterschiedlichem Nutzinhalt angeboten.

Die Laborkühlschränke der EX-Serie garantieren mit ihren explosionsgeschützten Innenräumen „sicheres Arbeiten in Laboratorien“ gemäß BG-I 850-0. Demnach müssen Innenräume, in denen sich gefährliche, explosionsfähige Atmosphären etwa durch abgestellte brennbare Flüssigkeiten entwickeln können, explosionsgeschützt sein. Der Korpus der EX-Laborkühlschränke besteht aus stabilen Stahlblechgehäusen mit schlag- und stoßfester Pulverbeschichtung. Auch sie erreichen eine hohe Energieeffizienz. Der strapazierbare Innenraum ist aus hochfestem, weißem Kunststoff (PS) gefertigt. Die Tür ist abschließbar. Die Abdichtung wird durch eine rundum wirkende Magnetdichtung gewährleistet. Die Temperatur ist stufenlos von 1 bis 15 °C einstellbar und wird konstant durch ein Raumthermostat geregelt. Auch hier zeigt eine digitale Temperaturanzeige die Innenraumtemperatur an. Der leistungsstarke Ventilator sorgt für eine gleichmäßige Temperaturverteilung inklusive Stopp-Funktion beim Öffnen der Tür. Es gibt drei Modelle mit unterschiedlichem Volumen.



## ● KONTAKT |

Lovibond Water Testing  
Dortmund, Deutschland  
sales@lovibond.com  
www.lovibond.com

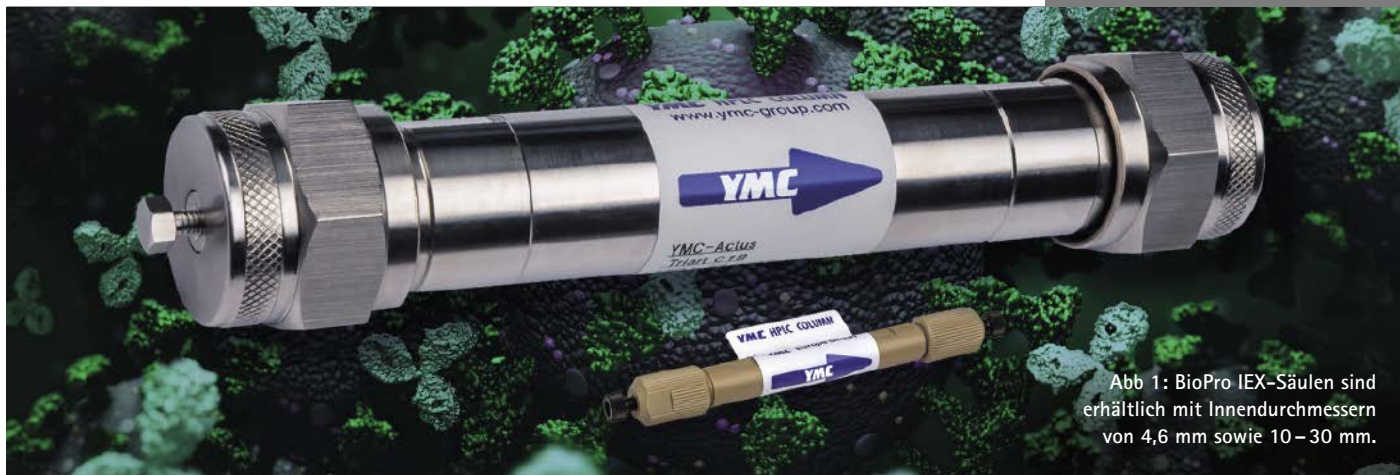


Abb 1: BioPro IEX-Säulen sind erhältlich mit Innendurchmessern von 4,6 mm sowie 10–30 mm.

## IEX-Säulen von YMC – auch verfügbar im (semi)präparativen Maßstab

**I**onenaustausch-Chromatographie (IEX) werden vielfach für Methoden in der Bio-QC, insbesondere für monoklonale Antikörper, eingesetzt. Eine der kritischen Anforderungen für jede QC-Methode ist eine verlässliche Lot-zu-Lot Reproduzierbarkeit. Im Gegensatz zu vielen anderen IEX-Säulen auf dem Markt, auch die als „Standard“ eingesetzten, bieten BioPro IEX-Säulen von YMC diese exzellente Lot-zu-Lot Reproduzierbarkeit. Dazu kommt eine überlegene Auflösung. Diese Eigenschaften machen die Säulen zur ersten Wahl in der Bio-QC.

### Speziell für verschiedene Biomoleküle

BioPro IEX-Säulen sind speziell für die Trennung von Antikörpern (mAbs), Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren und Oligonukleotiden entworfen. Sie zeigen eine höhere Bindungskapazität und Wiederfindung dieser Biomoleküle im Vergleich zu konventionellen IEX-Säulen. BioPro IEX-Säulen basieren auf hydrophilen Polymer-Beads

mit sehr niedriger unspezifischer Adsorption, so dass sekundäre Wechselwirkungen auf ein Minimum reduziert sind.

### Poröse oder unporöse Varianten

Bei den BioPro IEX-Säulen handelt es sich um starke Ionenaustauscher, die als poröse oder unporöse Version verfügbar sind. Die unporösen Austauschsäulen BioPro IEX QF und BioPro IEX SF zeigen außergewöhnlich hohe Effizienzen, so dass sogar kleine Probenvariationen problemlos aufgetrennt und detektiert werden können. Die porösen Typen BioPro IEX QA und BioPro IEX SP bieten hohe Kapazitäten für Trennungen mit hohen Beladungen.

### Ideale Einsatzbereiche

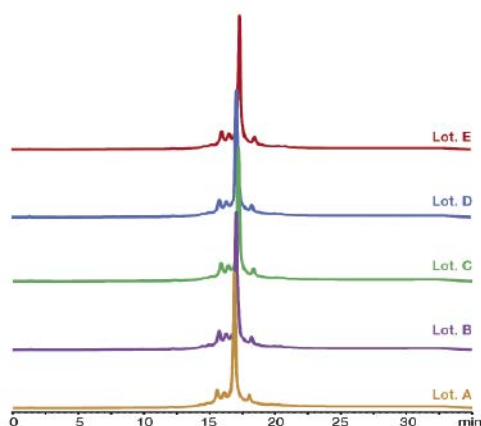
Die unporösen BioPro IEX SF-Säulen mit ihrer starken Kationenaustauscher-Funktionalität sind insbesondere ideal für die Analytik von Ladungs-

varianten von mAbs und können auch bestehende schwache Austauscher-Säulen ersetzen. Durch den Austausch ist es oftmals möglich, bessere Ergebnisse in kürzerer Zeit zu erreichen. Die unporösen BioPro IEX QF-Säulen sind hingegen die erste Wahl für die hochauflösende Analytik von Oligonukleotiden verschiedener Länge.

### Säulenoptionen

BioPro IEX-Säulen warten mit hoher Säulenstabilitäten im analytischen und (semi)präparativen Maßstab auf. Sie sind verfügbar mit 4,6 mm Innendurchmesser und Längen von 30 bis 150 mm für analytische Zwecke. Für Aufreinigungen sind Innendurchmesser von 10, 20 und 30 mm mit einer Länge von 100 mm lieferbar. Die analytischen Säulen kommen mit einer PEEK-Hardware, während die (semi)präparative Säulenhardware standardmäßig Edelstahl verwendet. Optional ist für die großen Innendurchmesser ( $\geq 10$  mm) eine Hardware mit bioinertem Coating verfügbar. Damit ist eine volle Biokompatibilität über alle Dimensionen gewährleistet.

Abb 2: BioPro IEX-Säulen bieten exzellente Lot-zu-Lot Reproduzierbarkeiten (hier gezeigt anhand eines mAbs).



**YMC**  
EUROPE GMBH

### ● KONTAKT |

**Dr. Daniel Eßer**  
Produktmanager Analytische Chromatographie  
YMC Europe GmbH  
Dinslaken, Deutschland  
esser@ymc.de  
www.ymc.eu

## Stabilisierer für gecoatete Antikörper und Antigene

Liquid Plate Sealer animal-free ist ein Stabilisierer für gecoatete Antikörper und Antigene auf Polystyrol- oder Glasoberflächen. Animal-free bedeutet, dass keine Inhaltsstoffe tierischen Ursprungs enthalten sind, daher eignet er sich besonders für den Einsatz in veterinärmedizinischen Assays. Er ist anwendbar zur Stabilisierung von gecoateten



ELISA-Platten, Protein Arrays, Immunchromatographie-Streifen (Lateral Flow Assays), Affinitätschromatographie-Säulen und ähnlichen Anwendungen. Liquid Plate Sealer animal-free ist direkt einsatzbereit und in Packungsgrößen von 50 ml, 125 ml und 500 ml erhältlich.

**CANDOR Bioscience GmbH**  
[www.candor-bioscience.de](http://www.candor-bioscience.de)

## Drehschieberpumpe mit hermetisch dichtem Pumpengehäuse

Speziell entwickelt als Vorvakuum-pumpe für Massenspektrometer, präsentiert der Anbieter für Vacuumtechnologie Pfeiffer Vacuum die SmartVane. Sie ist die erste Drehschieberpumpe mit hermetisch dichtem Pumpengehäuse. Die Pumpe ist in zwei verschiedenen Saugvermögensklassen erhältlich. Die SmartVane 55 hat ein Saugvermögen bis 50 m<sup>3</sup>/h, bei der SmartVane 70 reicht das Saugvermögen bis 70 m<sup>3</sup>/h. Bei ihrem typischen Betriebsdruck von <10 hPa ist sie leiser als andere Pumpen für dieses Anwendungsgebiet. Die einstufig ölgedichtete Drehschieberpumpe verzichtet auf Wellendichtringe und eliminiert so die Hauptursache von Ölleckagen. Mit ihrem Design und der Konstruktion bietet sie viele weitere Vorteile: Mit Wartungsintervallen von bis zu zwei Jahren ist die SmartVane deutlich wartungsärmer als andere Drehschieberpumpen. Durch ihren



geringen Geräuschpegel sorgt sie für optimale Bedingungen im Labor. Ein unkomplizierter Einbau in bestehende Systeme ist möglich. Die Pumpe bietet intelligente Kommunikationsmöglichkeiten und kann als Plug and Play-Lösung problemlos an bereits installierten Geräten eingesetzt werden. Um die Umweltfreundlichkeit zu gewährleisten ist in dieser Drehschieberpumpe ein energieeffizienter IPM-Motor mit Standby-Funktion eingebaut.

**Pfeiffer Vacuum GmbH**  
[www.pfeiffer-vacuum.com](http://www.pfeiffer-vacuum.com)

## Vakuumpumpen und Systeme

Das neue Laboport System von KNF Neuberger sorgt mit einer einfachen, intuitiven Anwendung und Nutzerfreundlichkeit für einen leichteren Laboralltag. Das Labor-Vakuumpumpen-System ist passgenau auf die individuellen Bedürfnisse zugeschnitten und garantiert somit Sicherheit. Die Basispumpe

ist dank Abscheider, Hochleistungs-kondensator und neuem Vakuum-Controller zu einem umweltfreundlichen Pumpsystem ausbaubar. Der neue Vakuum-Controller steht für intuitives Handling und Bedienkomfort. Sein neu entwickeltes Touchscreen-Display mit der präzisen Vakuumregelung bringt volle

## Wasser in WFI-Qualität

WFI (Wasser für Injektionszwecke) ist das unverzichtbare Qualitätsmerkmal in der pharmazeutischen Produktion. Dabei geht es um höchste Reinheit und Verlässlichkeit, damit Ihre Produkte den Standards entsprechen. PAN-Biotech hat ihr Produktportfolio ergänzt: Das Wasser in WFI-Qualität wird einem umfangreichen Reinigungsprozess unterzogen, um die strengen Spezifikationen der European und United States Pharmacopeia (EP/USP) zu erfüllen. Das Produkt eignet sich für eine Vielzahl von Upstream- und Downstream Anwendungen, und kann sowohl in Flaschen als auch



in Bags produziert werden. Darüber hinaus bietet die PAN eine umfassende Beratung und Unterstützung bei allen Fragen auch zu Medien und Puffer für die pharmazeutische Produktion.

**PAN-Biotech GmbH**  
[www.pan-biotech.de](http://www.pan-biotech.de)

## PFAS-Analysensystem

Festphasenextraktion und LC-MS/MS-Analyse von PFAS in Wasser werden vom SPE<sup>XP</sup>OS II mit dem Gestel-MultiPurpose Sampler MPS vollautomatisiert durchgeführt. Nach der SPE mit schwachem Anionenaustauscher werden Analyten quantitativ auf die LC-MS/MS überführt und dabei LOQs unter 1 ng/L bei nur 1 mL Probevolumen erreicht. Für bestmögliche Wiederfindung werden Vials mit Lösungsmittel gespült und das Lösungsmittel danach der SPE-Kartusche zugeführt. Eluate der SPE-Konditionierung und der Waschschritte werden verworfen, um die beste Systemstabilität bei geringem Hintergrund und geringstmöglicher Ionen-Suppression zu erreichen. Anforderungen der EU 2020/2184 und der DIN 38407-42 werden bei minimalem



Einsatz von Lösungsmitteln erfüllt. Das Analysensystem wechselt Kartuschen automatisiert, wodurch Proben-Verschleppung vermieden wird. Weitere Anwendungen sind PFAS in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, PFAS in Oberflächen- und Abwasser, sowie Glyphosat und AMPA in Wasser, Tee oder Getreide.

**GERSTEL GmbH**  
[www.gerstel.com](http://www.gerstel.com)

Prozesskontrolle. Passend für eine Vielzahl von Laboranwendungen wie Entgasung, Filtration, Flüssigkeitsabsaugung, Geltdrocknung, Rotationsverdampfung, SPE, Vakuumkonzentrator und viel mehr.

**KNF Neuberger GmbH**  
[www.knf.com](http://www.knf.com)





## IVD-Prozessverfolgung



Arxum Blast bietet eine umfassende Lösung für die sichere Laboroptimierung von Zellkultur-Prozessen. Die Lösung integriert nahtlose digitale Interaktion mittels Tablets, Smartphones und Assisted Reality (AR) Brillen, um eine zuverlässige Einhaltung von Zellkultur-Prozessen in Echtzeit zu ermöglichen. So können Arbeitsabläufe digital erstellt und während der Ausführung digital

dokumentiert werden, um potenzielle Fehler im Entstehungsmoment zu erkennen, kritische Sicherheitsanforderungen zu erfüllen sowie das Risiko von Prozessabweichungen zu reduzieren. IVD-Prozesse werden so optimiert, dass die Verarbeitungskapazität gesteigert werden kann. Nutzt man zudem die AR-Brille, wird eine freihändige Führung während der sterilen Probenbehandlung ermöglicht. Die Technologie bietet nicht nur den messbaren Erfolg bei der Effizienzsteigerung, sondern minimiert auch merkbar das Stressniveau im Laboralltag.

**ARXUM GmbH**  
[www.arxum.com](http://www.arxum.com)



## Mikrozentrifuge mit Kohlenwasserstoffkühlung

Das Life-Science-Unternehmen Eppendorf hat die Zentrifuge 5427 R vorgestellt – die erste Eppendorf-Mikrozentrifuge mit Kohlenwasserstoffkühlung, die zu einer noch nachhaltigeren Laborumgebung beiträgt. Dank dieser Innovation können Kunden nun verschiedenste molekular- und zellbiologische Anwendungen durchführen und dabei ein gekühltes Gerät verwenden, das ein natürliches Kühlmittel mit einem Treibhauspotenzial von nahezu Null enthält. Zum Schutz Ihrer Proben – und des Planeten. Natürliche Kältemittel wie R290 (Propan) haben ein ähnlich niedriges Treibhauspotenzial (GWP) wie CO<sub>2</sub> (<3), während herkömmliche Kältemittel wie R134a ein GWP von 1430 haben und somit unverhältnismäßig größere Auswirkungen auf die globale Erwärmung haben, wenn sie in die Umwelt gelangen. Die ACT-Label-Zertifizierung der Zentrifuge 5427 R

macht es den Kunden noch leichter, sich für ein nachhaltigeres Produkt zu entscheiden, da dieses Label klare, von Dritten geprüfte Informationen über die Umweltauswirkungen (z. B. Herstellung, Energie- und Wasserverbrauch sowie Verpackung und Produktlebensdauer) liefert. Durch ihre kompakte Bauweise und den zweireihigen Rotor FA-45-48-11 für bis zu 48 x 1,5/2 mL Gefäße ist die Zentrifuge gut für Labore mit hohem Probandendurchsatz geeignet. Aufgrund ihrer großen Rotorauswahl ist sie auch eine gute Wahl für Labore, in denen sich viele Anwender das Gerät teilen: Die neun Rotoren, bestehend aus Festwinkel- und Auschwingrotoren, decken ein breites Spektrum von Anwendungen im Bereich der Molekular- und Zellbiologie ab.

**Eppendorf SE**  
[www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)

## Doppelkamm-Spektrometer

Das neue Spektrometer IRis-C von IRsweep, einer Tochtergesellschaft von Sensirion, arbeitet nach dem Prinzip der Doppelkamm-Spektroskopie. Dabei handelt es sich um eine mit dem Nobelpreis ausgezeichnete Methode, die eine sehr detaillierte und schnelle Analyse der molekularen Zusammensetzung von Proben ermöglicht. Als Lichtquellen dienen Quantenkaskadenlaser-Frequenzkämme, die für ihre Stabilität und hohe optische Leistung bekannt sind. Aufgrund seiner kompakten Größe und Wirtschaftlichkeit eignet sich das Spektrometer für eine Vielzahl von Anwendungen, einschließlich der akademischen und industriellen Forschung. Durch den



modularen Aufbau, bei dem Emissions- und Detektionseinheit voneinander getrennt sind, kann das Gerät auch in Feldanwendungen, von der Stand-off-Detektion bis hin zur Prozessüberwachung, eingesetzt werden.

**IRsweep**  
[www.irsweep.com](http://www.irsweep.com)

## Gefrierlösung für die pharmazeutische Industrie

Angelantoni Bulkfrost ist eine Gefrierlösung die speziell für die pharmazeutische Industrie entwickelt wurde. Die Hauptfunktionalität dieser Modellreihe besteht darin, ein optimales Einfrieren von biologischem Material zu ermöglichen. Die Temperaturkurve, beziehungsweise die Geschwindigkeit des Temperaturabfalls und -anstiegs, kann höchst präzise gesteuert werden. Dies ermöglicht dem Anwender, eine Vielzahl von verschiedenen Proben – mit individuellen Anforderungen an den Gefrierprozess – mit einem einzigen Gerät zu behandeln. Schnelle Heiz- und Kühlraten und die außergewöhnliche Gleichförmigkeit der Temperatur innerhalb der Kammer erhöhen die Leistungsfähigkeit für das Auftauen und Einfrieren des Materials. Mit diesen Schockfroster können Temperaturen von -75 °C bis + 180 °C und relative Luftfeuchtigkeit von 10% rF bis 98% rF präzise



reguliert werden. Die Bulkfrost-Serie besteht aus einem Gehäuse aus pulverbeschichtetem Stahl, das einen Schutz gegen Korrosion bietet. Im Kühlkreislauf werden umweltfreundliche Kältemittelgase verwendet, die der europäischen Verordnung 517/2014 entsprechen. Das ergonomische Design gewährleistet einen einfachen Zugang zur Kammer, wo immer sie sich befindet, auch für die Wartung.

**CiK Solutions GmbH**  
[www.cik-solutions.com](http://www.cik-solutions.com)

[www.cem.de](http://www.cem.de)

**Der schnellste Muffelofen der Welt.**  
**Feuchtemessung in 2 Minuten.**  
**Extraktion, Aufschlüsse, Hydrolysen und Fettsäurebestimmung in der Mikrowelle: einfach und schnell.**  
**Gehalte an Fett, Öl, und Eiweiß in nur 3 min.**

**CEM**

# GIT BUYERS GUIDE



<https://bit.ly/WAS-buyers-guide>

## Analytik

### Instrumentelle Analytik

**Knick**  
PF 370415 · 14134 Berlin  
Beuckestr. 22 · 14163 Berlin  
Tel.: 030/80191-0 · Fax: -200  
knick@knick.de · www.knick.de  
**Leitfähigkeitsmessgeräte**

**Löser Meßtechnik**  
Remscheider Straße 16  
D-13583 Berlin  
Tel.: 030/8147317-0 · Fax: -1  
www.loeser-osmometer.de  
**Osmometer**

### Mess-, Prüf- und Regeltechnik

**BRONKHORST HIGH-TECH BV**  
info@brunthorst.com  
www.massflowcontroller.com  
**Durchflussmess- und Regelgeräte**



**KRÜSS GmbH**  
Borsteler Chaussee 85  
22453 Hamburg  
Tel.: 040/51 44 01-0 · Fax: -98  
info@kruss.de  
www.kruss-scientific.com  
**Kontaktwinkelmeßgeräte, Tensiometer, Foam Analyzer**

### Optische Systeme

**anthos Mikrosysteme GmbH**  
26169 Friesoythe / Germany  
Tel. 04491/938268-0 · Fax -29  
**Luminometer, Photometer**

### 1.8 Sensorik

**Knick**  
PF 370415 · 14134 Berlin  
Beuckestr. 22 · 14163 Berlin  
Tel.: 030/80191-0 · Fax: -200  
knick@knick.de · www.knick.de  
**PH-Messgeräte und Elektroden**

## Trenntechnik/Separation

**Hermle Labortechnik GmbH**  
Siemensstr. 25 · 78564 Wehingen  
info@hermle-labortechnik.de  
www.hermle-labortechnik.de  
**Kühlzentrifugen, Zentrifugen**



**Infolabel AG**  
Grossrietstrasse 7  
CH-8606 Nänikon/Uster  
Tel.: +41 44 944 93 00  
Fax: +41 44 730 46 28  
info@funda.ch · www.funda.ch  
**Filtertechnik**

## Spektroskopie

**Soliton GmbH**, 82205 Gilching  
Tel.: 08105/7792-0 · Fax: -77  
info@soliton-gmbh.de  
**NIR Spektrometer, Raman Spektroskopie, Partikelanalyse**

## Temperiersysteme

**Julabo**  
THE TEMPERATURE CONTROL COMPANY  
**JULABO GmbH**  
Gerhard-Juchheim-Strasse 1  
77960 Seelbach  
Tel.: 07823/51-0 · Fax: -2491  
www.julabo.com  
info.de@julabo.com  
**Temperiersysteme**

## Laborbedarf/ Verbrauchsmaterial

## Chemikalien/Gase

**CAMPRO SCIENTIFIC GmbH**  
Goerzallee 299 · 14167 Berlin  
Tel.: 030/6290189-0 · Fax: -89  
info@campro.eu · www.campro.eu  
**Stabile und Radio-Isotope**

## Laborbedarf



**RCT Reichelt Chemietechnik GmbH + Co.**  
Englerstraße 18 · D-69126 Heidelberg  
Tel: 06221/3125-0 · Fax: -10  
info@rct-online.de · www.rct-online.de  
**Schläuche & Verbinder, Halbzeuge aus Elastomeren & Kunststoffen**

**ROLAND VETTER Laborbedarf OHG**  
PF 47 · 72117 Ammerbuch  
Tel.: 07073/6936 · www.rvetter.de  
**Laborhilfsmittel**

## Qualitätskontrolle & Standards

**CAMPRO SCIENTIFIC GmbH**  
Goerzallee 299 · 14167 Berlin  
Tel.: 030/6290189-0 · Fax: -89  
info@campro.eu · www.campro.eu  
**Umweltstandards**

## Laboreinrichtung

### Einrichtung & Medienversorgung

### Laborbau | Systeme

HEMLING.de  
**Laborbau Systeme Hemling GmbH & Co. KG**  
Siemensstr. 10 · 48683 Ahaus  
Tel.: 02561/956-860  
Fax: 02561/956-801  
www.laborbau-systeme.de  
**Laboreinrichtungen, Laborabzüge, Labormöbel**

### systemceram

KeraLab-Laborkeramik  
**Systemceram GmbH & Co. KG**  
PF 11 55 · 56425 Siershahn  
Tel.: 02623/600-10 · Fax: -790  
info@systemceram.de  
www.systemceram.de  
**Laborbecken, Labortischplatten**

**WEIDNER Laboreinrichtungen GmbH**  
37181 Hardegsen  
Tel.: 05505/94799-0 · Fax: -20  
www.weidner-laboreinrichtungen.de  
**GLOVE-BOX (CNS/Acryl), Laboreinrichtungen**

## Sicherheit

**B-SAFETY GmbH**  
Oststr. 85 · 22844 Norderstedt  
Tel.: 040/538092-70  
www.b-safety24.com  
**Augenduschen**

## Laborgeräte

### Laborgeräte/Maschinen

**Avestin Europe GmbH**  
Tel.: 0621/7245-980 · Fax: -813  
www.avestin.com  
**Hochdruck-Homogenisatoren**



the autoclave company  
**Systec GmbH & Co. KG**  
Konrad-Adenauer-Str. 15  
35440 Linden  
Tel.: 06403/67070-0 · Fax: -222  
info@systec-lab.de  
www.systec-lab.de  
**Autoklaven, Dampfsterilisatoren, Medienpräparatoren**

### Pumpen & Vakuumtechnik



**RCT Reichelt Chemietechnik GmbH + Co.**  
Englerstraße 18 · D-69126 Heidelberg  
Tel: 06221/3125-0 · Fax: -10  
info@rct-online.de · www.rct-online.de  
**Schläuche & Verbinder, Halbzeuge aus Elastomeren & Kunststoffen**

### Probenvorbereitung

**CAMPRO SCIENTIFIC GmbH**  
Goerzallee 299 · 14167 Berlin  
Tel.: 030/6290189-0 · Fax: -89  
info@campro.eu · www.campro.eu  
**Automatisierte Probenvorbereitungssysteme**

## LIMS & Labor IT



**HM-Software**  
Rampenweg 1b  
29352 Adelheidsdorf Deutschland  
Tel: +49(0)5085 9894-0  
sales@hm-software.de  
www.hm-software.de  
**LIMS, Apps, Software, Geräteanbindung**

**Platzieren Sie hier Ihre Formatanzeige!  
Sprechen Sie uns an!**

**GIT LABOR-FACHZEITSCHRIFT**

**Wiley-VCH GmbH**

Boschstr. 12 · D-69469 Weinheim  
Bettina Willnow · Tel.: +49 (0) 6201 606 770 · bettina.willnow@wiley.com

Sichern Sie sich Ihren Platz im Buyers Guide und präsentieren Sie Ihr Unternehmen in jeder Ausgabe der GIT Labor-Fachzeitschrift! Gerne erstellen wir Ihnen ein individuelles Angebot.

<b>A</b> lytisches Forschungsinstitut für Non-Target Screening	7	Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Würzburg	37
Arxum	49	Institut für Physikalische Chemie und Abbe Center of Photonics, Friedrich-Schiller-Universität Jena	43
Asecos	5	Institut für Umwelt & Energie Technik & Analytik (IUTA)	31
<b>B</b> iotechnologisch-Biomedizinisches Zentrum, Universität Leipzig	22	IRsweep	49
<b>C</b> amag	27	<b>J</b> oint Metabolome Facility, Universität Wien und Medizinische Universität Wien	28
Candor Bioscience	9, 48	<b>K</b> arlsruher Institut für Technologie (KIT)	14
CEM	49	KNF Neuberger	48
CiK Solutions	49	<b>L</b> eibniz- Institut für Analytische Wissenschaften ISAS	37
<b>D</b> epartement Biosysteme, ETH Zürich	18	<b>L</b> eibniz-Institut für Photonische Technologien	43
Deutsche Messe	6, 23	Lovibond Water Testing	46
<b>E</b> ppendorf	49	<b>M</b> erkl, Rainer	8
<b>F</b> riedrich-Schiller-Universität Jena	15	Miele	29
<b>G</b> erstel	48	<b>N</b> MI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen	34
<b>H</b> ahnemühle FineArt	33	<b>P</b> AN-Biotech	48
Helmholtz- Zentrum für Infektionsforschung	34	Pfeiffer Vacuum	48
Herz- und Diabeteszentrum NRW, Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum	25	<b>R</b> CT Reichelt Chemietechnik	35, Beilage
HyperChrom Deutschland	40	<b>S</b> himadzu Deutschland	17
<b>I</b> nstitut für Analytische Chemie, Universität Wien	28	<b>U</b> niversität Innsbruck	7
<b>I</b> nstitut für Bioanalytische Chemie, Universität Leipzig	22	Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden	12
<b>I</b> nstitut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Universität Bonn	40	<b>V</b> erein Deutscher Ingenieure (VDI)	9
<b>I</b> nstitut für Informatik, Universität Bayreuth	43	<b>Y</b> MC Europe	19, 47

**IMPRESSUM****Herausgeber**

Wiley-VCH GmbH

**Geschäftsführung**Sabine Haag  
Dr. Guido F. Herrmann**Director**

Roy Opie

**Publishing Director**

Dr. Heiko Baumgartner

**Director – Global Sales,  
Sciences, Corporate Sales**Dan Nicholas  
Tel.: +1 716 587 2181  
dnicholas@wiley.com**Anzeigenleitung**Vanessa Winde  
Tel.: 06201/606-721  
vanessa.winde@wiley.com**Chefredakteurin**Dr. Christina Poggel  
Tel.: 06201/606-625  
christina.poggel@wiley.com**Stellvertretende Chefredakteurin**Corinna Herbst  
Tel.: 06201/606-752  
corinna.herbst@wiley.com**Redaktion**Dr. Birgit Foltas  
Tel.: 06201/606-760  
bfoltas@wiley.com

Dr. Martin Graf-Utzmann

Tel.: 06201/606-766  
martin.graf-utzmann@wiley.com

Isabel Brenneisen

Tel.: 06201/606-716  
isabel.brenneisen@wiley.com

Tina Renner

Tel.: 0162/7718501  
trenner@wiley.com**Freier Redakteur**Dr. Martin Friedrich  
Tel.: 0178/4596064  
editor@redaktionsbuero-friedrich.de**Wiley GIT Leserservice**65341 Eltville  
Telefon: +49 6123 9238 246  
Telefax: +49 6123 9238 244  
E-Mail: WileyGIT@vuservice.deUnser Service ist für Sie da von Montag bis  
Freitag zwischen 8:00 und 17:00 Uhr**Verkauf**Bettina Willnow  
Tel.: 06201/606-770  
bettina.willnow@wiley.com**Herstellung**Jörg Stenger  
Kerstin Kunkel (Anzeigen)  
Ramona Scheirich (Titelgestaltung/Layout/Litho)**Sonderdrucke**Bettina Willnow  
Tel.: 06201/606-770  
bettina.willnow@wiley.com**Wissenschaftlicher Beirat**Prof. Dr. R. van Eldik, Erlangen/Nürnberg  
Prof. Dr. H. P. Latscha, Heidelberg  
Prof. Dr. K. K. Unger, Mainz**Wiley-VCH GmbH**Boschstr. 12  
69469 Weinheim  
Tel.: 06201/606-0  
Fax: 06201/606-793  
git-labor@wiley.com  
analyticalscience.wiley.com**Bankkonten**J.P. Morgan AG, Frankfurt  
Konto-Nr. 6161517443  
BLZ: 501 108 00  
BIC: CHAS DE FX  
IBAN: DE550110800616151744367. Jahrgang 2023  
Zurzeit gilt Anzeigenpreisliste Nr. 59  
vom 1. Oktober 20222023 erscheinen 8 Ausgaben von  
„GIT Labor-Fachzeitschrift“  
Druckauflage: 25.000  
(IVW-geprüft, 4. Quartal 2022)**Abonnement 2023**8 Ausgaben 115,00 € zzgl. MwSt.  
Einzelheft 16,30 € zzgl. MwSt. und Porto  
Schüler und Studenten erhalten unter Vorlage  
einer gültigen Bescheinigung 50% Rabatt.  
Abonnementbestellungen gelten bis auf  
Widerruf; Kündigungen 6 Wochen vor Jahres-  
ende. Abonnementbestellungen können inner-  
halb einer Woche schriftlich widerrufen werden,  
Versandrekamationen sind nur innerhalb von  
vier Wochen nach Erscheinen möglich.Die Mitglieder der Fachgesellschaft  
Technologies of Life Sciences des Vereins  
Deutscher Ingenieure (VDI) erhalten die  
GIT Labor-Fachzeitschrift im Rahmen ihrer  
Mitgliedschaft.**Originalarbeiten:**Die namentlich gekennzeichneten Beiträge  
stehen in der Verantwortung des Autors.  
Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit  
Genehmigung der Redaktion und mit  
Quellenangabe gestattet. Für unaufgefordert  
eingesandte Manuskripte und Abbildungen  
übernimmt der Verlag keine Haftung.Dem Verlag ist das ausschließliche, räumlich,  
zeitlich und inhaltlich eingeschränkte Recht  
eingeräumt, das Werk/den redaktionellen  
Beitrag in unveränderter Form oder bearbei-  
teter Form für alle Zwecke beliebig oft selbst  
zu nutzen oder Unternehmen, zu denen  
gesellschaftsrechtliche Beteiligungen bestehen,  
so wie Dritten zur Nutzung übertragen. Dieses  
Nutzungsrecht bezieht sich sowohl auf Print-  
wie elektronische Medien unter Einschluss  
des Internets wie auch auf Datenbanken /  
Datenträgern aller Art.Alle etwaig in dieser Ausgabe genannten und/  
oder gezeigten Namen, Bezeichnungen oder  
Zeichen können Marken oder eingetragene  
Marken ihrer jeweiligen Eigentümer sein.**Druck****westermann DRUCK** pvaPrinted in Germany  
ISSN 0016-3538**WILEY**

WILEY

**Gute Produkte verdienen  
eine Auszeichnung** – den  
Wiley Analytical Science Award.

1<sup>st</sup>  
Place

Wiley  
Analytical  
Science  
Award  
2024



**JETZT**  
EINREICHEN  
ANMELDESCHLUSS  
9. JUNI 2023

**Nicht überlegen,  
sondern einreichen!**

**Wo?** was-award.de

**Bis wann?** 9. Juni 2023

**Wer?** Jeder! Egal ob Kunde, Leser,  
Geschäftspartner, Familie oder Freunde.

**Wir suchen** die besten Produkte oder  
Lösungen aus folgenden Kategorien:

**A** – Spektroskopie & Mikroskopie

**B** – Separation, Laborautomation  
& Ausrüstung

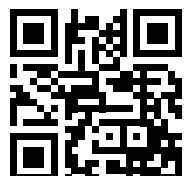
Teilnahme- sowie Abstimmungsbedingungen  
finden Sie unter [www.was-award.de](http://www.was-award.de)

**Kontakt:**

**Isabel Brenneisen**

[ibrenneise@wiley.com](mailto:ibrenneise@wiley.com)

+49 6201 606 716



[was-award.de](http://was-award.de)