

Trends in der HPLC

Das HPLC-Labor 4.0

Dr. Stavros Kromidas

Das moderne HPLC-Labor von morgen ist ein smartes Labor, es enthält Geräte mit Smart-Funktionen: Geräte und Geräteteile kommunizieren selbstständig und uneingeschränkt miteinander, dazu sind sie mit dem Internet vernetzt. Das eine Gerät überwacht das andere und im Idealfall steuern intelligente Module ganze Systeme: So „merkt“ die Pumpe, dass sie Luft enthält, das Purgeventil wird daraufhin aufgedreht, nach der Entfernung der Luft wieder zuge dreht und nach Überprüfung von Druck und Fluss wird der Lauf wiederholt. Der pH-Wert-Sensor im Eluentenvorratsgefäß (oder am Eingang der Säule) meldet eine mögliche Verschiebung des pH-Wertes und im Report wird zu der registrierten Retentionszeitverschiebung der Grund samt dem bei dieser Retentionszeit festgestellten pH-Wert vermerkt. Im ersten Fall dagegen würde bei der neuen Retentionszeit und der veränderten Peakfläche beispielsweise stehen: „ Δ Fluss, neuer Fluss: X mL/min“. Ein Füllstandsensor oder eine Kamera überwacht Vorrats- und Abfallgefäß und ist direkt mit dem Bestell- und Entsorgungsmanagement verbunden usw. Die Fernwartung schließlich gewinnt rasant an Bedeutung. Das Internet der Dinge (s.u.) bedingt nicht nur standardisierte Schnittstellen und ein standardisiertes Protokoll für die Kommunikation mit Partnerlabors sondern eine enorme Datenflut. Und dies ist eine echte Herausforderung für die nächsten Jahre. Schlagwörtern wie „Big Data“, „Metadaten“ und „Cloud Computing“ wird es an Aufmerksamkeit nicht mangeln. Noch ein Wort zur Datenauswertung: Die Softwareentwickler haben eine ganze Menge Arbeit vor sich. Die Software muss die Daten so aufarbeiten, dass der Anwender ihnen „blind“ vertraut, sie muss sich zu einem brillanten Assistenten entwickeln. Dazu ist es zunächst notwendig, dass sie lernfähig ist, somit kommt guten Evolutionsalgorithmen eine große Bedeutung zu. Sie muss ferner Zusammenhänge erkennen, z. B. Das ist ein Memory-Effekt und kein Peak von der Matrix; dieser Wert ist zwar „in spec“, dennoch wird eine Drift der Retentionszeiten festgestellt, die durch eine Verschiebung des pH-Wertes resultiert, da auch die UV-Spektren sich verändert haben, und die UV-Spektren

der zu analysierenden Vitamine sind pH-Wert-abhängig, etc. Artificial Intelligence (AI) wird auch die Analytik verändern: Evolutionsalgorithmen ersetzen teilweise Expertenwissen; AI-Software könnten, da sie einerseits lernfähig sind und sie andererseits in Echtzeit Metadaten abfragen können, Chromatogramme selbstständig interpretieren und bei Bedarf eine Aktion auslösen. Neben ihrer Lernfähigkeit muss die Software auch Chemometrie „können“ um eben solche Zusammenhänge zu erkennen. Ein guter Assistent liest an den Augen ab, was gewünscht wird, eine gute Software sollte „spüren“, was der Analytiker will. Wenigstens muss sie intuitiv zu bedienen sein; Flexibilität wäre ein weiteres, wichtiges Attribut. So müssen Hard- und Software an Flexibilität und Anpassungsfähigkeit gewinnen, gleichzeitig wird jedoch eine gesteigerte Standardisierbarkeit auf Funktionsebene benötigt. Sollten diese Entwicklungen eintreten, wird dies zwangsläufig auch Auswirkungen auf die Anwender haben, das Berufsbild des Analytikers wird sich vermutlich dahingehend verändern: Noch mehr Flexibilität im Umgang mit verschiedenen analytischen Techniken, schnelle Umsetzung von verändernden Anforderungen, effektives Angehen von unvorhergesehenen Fragestellungen. Dazu muss anwendungsorientiertes Wissen direkt abrufbar sein, hier sind Hersteller und Dienstleister gefordert.

Was kann vielleicht an technischen Neuerungen noch kommen?

Wir alle haben uns mit den tatsächlichen Chancen von neuen Techniken häufig überschätzt. Also werde ich nachfolgend in knapper Form manch denkbare Entwicklung präsentieren. Dabei handelt es sich um technische Möglichkeiten, die bereits in der Diskussion sind bzw. als Forschungsergebnisse/Prototypen existieren. Es wird interessant sein zu beobachten, ob und wenn ja, was davon in der HPLC-Technik bzw. im analytischen Smart-Labor 4.0 von morgen realisiert werden wird [1-3].

- 3D-Druck von Modulen für das Liquid Handling und von Säulen: Wandeffekte sind eine

wichtige Hürde für eine perfekte Packungsqualität. Durch den 3D-Druck kann die Hälfte eines Teilchens der stationären Phase in die Säulenwand angebracht werden, die andere Hälfte gehört dem geometrischen Volumen der Säule, Wandeffekte reduzieren sich auf ein Minimum; ferner können völlig gleich große Partikel gedruckt werden, die auch ohne Hohlräume gepackt werden können. Oder aber das günstige, temperaturbeständige und inerte Silikon wird bei den gedruckten Säulen das partikuläre Kieselgel ersetzen. Sollten gedruckte Säulen nicht nur in Publikationen anzutreffen sein sondern tatsächlich auf den Markt kommen, wäre der nächste Schritt nicht weit: Die personalisierte Säule; der Kunde bestellt - bzw. sendet dem Hersteller das angefertigte Säulen-Druckformular zu - seine Wunschsäule mit den gewünschten Dimensionen, dem gewünschten Material abhängig von der Fragestellung („Silikonharz“ oder „Fluorsilikon“) und der gewünschten Funktionalität, das Problem der Chargenreproduzierbarkeit würde zunehmend schwinden. Überhaupt: Die großen HPLC-Hersteller setzen sich immer stärker mit dem aus anderen Industriezweigen längst bekannten Megatrend auseinander: „Just-in-time-manufacturing“: Bei der personalisierten HPLC-Anlage wählt der Kunde gemäß seinen Anforderungen, Design, Funktionen, Steuerarchitektur, Automatisierungsgrad sowie bei Bedarf weitere individuelle Features aus. „Seine“ interaktiv konzipierte Anlage wird schließlich mit dem Hersteller besprochen und im Falle einer Übereinkunft kommt es zum Auftrag. Der Hersteller muss durch sein Know-How und durch einen gekonnt erstellten interaktiven Fragekatalog dem Kunden zum richtigen Produkt führen – eine kreativ-anspruchsvolle Aufgabe.

- Monitoring des chromatographischen Systems: wenn der Eluent zur Neige geht, der Zustand der Anlage nicht mehr optimal ist, der Asymmetriefaktor sich dem erlaubten Limit nähert oder generell die Trennkriterien nicht mehr erfüllt sind, blinkt ein Lämpchen am vorgesehenen Ort auf oder es ertönt ein Warnsignal am Smartphone/Tablet des Anwenders.

- Intelligenter Säulenchip: die Säulen enthalten einen „smart column chip“ („SCC“). Auf diesem Chip befinden sich die Daten der Säule sowie eine/mehrere Methode(n). Das bedeutet, man kauft nicht lediglich eine C18-Säule, sondern eine Säule für PAK's in Trinkwasser oder für organische Säuren in Wein etc. Sobald die Säule eingebaut wird, werden die chromatographischen Parameter automatisch vom Gerät übernommen, es werden Kalibrier- und SST-Lösungen gefahren, auch die Spülprozedur gehört zu den enthaltenen und eingelesenen Infos. Schließlich „teilt“ die Säule mit, wann sie ersetzt werden sollte.

- Intelligente Oberflächensensoren: an bestimmten Stellen platziert, erkennt der Sensor welche Art der Kontamination eine kritische Konzentration/Schichtdicke übersteigt. Wird ein Schwellenwert überschritten, wird die Info für das geeignete Spülprogramm an das Pumpensystem gesendet. Im Idealfall steuert der Sensor selbst den Spülvorgang, dieser wird beendet sobald der „Störenfried“ wieder verschwunden oder gering geworden ist.

- Konsequente Nutzung des Internets der Dinge: das letztgenannte Beispiel kann analog für die gesamte Smart-UHPLC/-HPLC von morgen gedacht werden: Der Hersteller bestückt seine Anlage mit intelligenten chemischen und physikalischen Sensoren, die natürlich je nach Einsatzgebiet des Gerätes bzw. besonderen Wünschen des Kunden sehr spezifisch sein und individuell angebracht werden können. Somit hat der Anwender/der Hersteller 24/7 Infos zum aktuellen Zustand der relevanten Module des Gerätes. Auf ihnen sind bestimmte Informationen gespeichert: Es steht eindeutig fest in welchem aktuellen Zustand sie sich befinden und was, wann mit ihnen passieren soll [4]. Bei Bedarf kann frühzeitig und nicht erst nach Auftreten des Problems reagiert werden, z. B. „merkt“ der Sensor, dass bald eine Deuteriumlampe benötigt wird und bestellt diese auch selbstständig. Er „weiß“ ja alles Relevante, z. B. Wo er sich befindet, wer der Anwender ist, wie die Adresse und wie schließlich die Artikelnummer lautet. Oder er meldet als guter Assistent dem Serviceingenieur in Echtzeit „was Sache“ ist, Letzterer wird informiert wann er zum Kunden muss, was ihn dort erwartet und was alles mitzubringen wäre. Zusammenfassend: Die Module einer Smart-HPLC können über eine intelligente Lokalisierungstechnik (RFID, Radio Frequency Identification) sich selbst identifizieren und steuern [4]. Die Liste kann beliebig erweitert werden, ich schließe mit einer letzten, alltäglichen Anwendung: Behältnisse und Vials werden gelabelt (ein einfacher QR-Code würde auch ausreichen), im LIMS kann man sich in Echtzeit informieren, wo die Vials sich befinden und was gerade mit ihnen passiert. Hersteller, die ausgereifte Smart-HPLC-

Geräte anbieten werden, können vermutlich mit positiver Resonanz rechnen.

- Argumentative Suchmaschinen für die Analytik: in diesen Maschinen sind u. a. zunächst die Theorie der Chromatographie inkl. Spezifika einzelner Trennmodi wie z. B. RP oder HILIC, spezifische Optimierungsalgorithmen für eben diese verschiedenen Trennmodi sowie Troubleshooting-Tools enthalten. Dieser fachspezifische Content wird mit Computerlinguistik und -semantik kombiniert. Der Anwender stellt in gesprochener Form seine Frage („Welche Säule soll ich für die Trennung von XYZ nehmen?“). Dann fängt ein Dialog zwischen Anwender und Maschine an, währenddessen Argumente und Informationen getauscht werden: „Welche Matrix, welche Anlage hast du, willst du analytisch oder präparativ trennen?“ usw. Im Idealfall erhält der Anwender einen maßgeschneiderten Vorschlag, d. h.: Die intelligente Suchmaschine hilft dem Anwender, alternative Lösungsansätze zu finden und sie zu bewerten. Die Qualität der Argumentation seitens der Suchmaschine sowie die Dialogführung hängen natürlich vom Content und von den verwendeten Algorithmen ab. Analytical-Science-Bots könnten hier zur Lösung mancher kniffliger analytischer Fragestellung einen gewichtigen Beitrag leisten

- Transportable HPLC-Geräte („ready-to-use-system“): Anfang der 1990er Jahre wurde mir zum Vertrieb in Deutschland ein russisches HPLC-Gerät für weit unter 10.000 DM für die Vor-Ort-Analytik angeboten. Das Gerät war wirklich robust, die Batterie hielt „ewig“ usw., aber es war damals einfach kein Markt dafür da. Es kann sein, dass sich dies durch die neuen technischen Möglichkeiten in nächster Zeit ändert: Miniaturisierte, Applikationsspezifische Systeme (z. B. in Form eines Nano-LC/MS) ausgestattet mit modernen, miniaturisierten Trennmodulen wie sehr kurze/dünne Säulen, Kapillaren, Glasträgern mit eingezätzten Kanälen gefüllt mit sub 1 µm-Teilchen, „coated chips“ und gespeicherten Methoden mit allen benötigten Informationen etc. für den Sofort-Einsatz vor Ort: Umwelt-/Betriebs-Unfall, biologische Proben, instabile Proben im unwegsamen Gelände etc.

- Universal-Analysator: Mitte der 1980er Jahre hatten Analytiker der Bayer AG in Monheim in Eigenbau eine ca. 6 m lange automatische „Analysenstraße“ gebaut, das Prinzip: Es wurde zunächst ein MS- und ein NMR-Spektrum aufgenommen, der Analytiker entschied, ob die Information ihm reicht, wenn nicht, wurde die Probe mittels Roboterarm zur HPLC-DAD- oder zur GC-MS-Anlage transportiert, die Spektren wurden nach der Trennung mit gespeicherten Spektren verglichen. Der Charme einer derartigen Anordnung liegt auf der Hand. Folgendes wäre in der Zukunft

denkbar: Die Probe wird extrahiert (flüssiges oder superkritisches Medium), ggf. filtriert und aliquotiert. Je nach Flüchtigkeit der Komponenten und Konstitution der Probe wird sie zum Autosampler eines Kapillar-GC, SFC- oder (U)HPLC-Systems geführt. Der Analysator verfügt über Eluenten- und Säulenschaltventile für evtl. notwendige 2-/3D-Trennungen, ferner auch über Schaltventile für das Führen von Peakfraktionen sowohl zu „Universaldetektoren“ wie ELSD, Corona und MSn als auch zu „Spezialdetektoren“ wie FLD, ECD, DAD, Radioaktivitätsdetektor. Die Software startet für die erhaltenen Spektren eine automatische Suche im Intra-/Internet, darüber hinaus bildet sie aus den erhaltenen Daten wie Retentionszeit, Quotient aus Fläche und Höhe, Quotient von UV-Intensitäten bei mehreren Wellenlängen, MS-Spektren nach unterschiedlicher Ionisierung etc. mehrdimensionale Bilder, die aufgrund der Fülle der Daten sehr Substanz-spezifisch sein dürften.

Abschlussbemerkungen

Wir können davon ausgehen, dass bestimmte Herausforderungen zu bestimmten Entwicklungen führen sollten. So werden die Anforderungen an die Lebensmittelsicherheit und die an pharmazeutische Präparate höher, die Umweltgesetze strenger, auch und insbesondere im Hinblick auf die Thematik Nachhaltigkeit. Ferner bedingt die Erforschung des menschlichen Genoms oder die einer einzigen Zelle eine Miniaturisierung der Analytik bis in den Nano-Bereich. Miniaturisierung hat zweifelsohne eine gesicherte (ferne) Zukunft. Neben der Hardware dürfte es auch bzgl. Software große Veränderungen geben, denn: Die Komplexität von Proben bedingt die Erzeugung von „Big Data“. Also wird Software benötigt, die mehr kann als lediglich Geräte zu steuern, mithilfe von DoE und QbD automatisch Methoden entwickeln und Daten interpretieren. Die Software muss darüber hinaus dem Anwender komplexe Fakten so präsentieren, dass er zu Erkenntnissen gelangt, siehe auch weiter oben. Aus Erkenntnissen können Entscheidungen folgen, die für das Unternehmen oder auch für die Gesellschaft relevant sein könnten.

Literatur

[1] „Past Contributions and Future Visions“, *The Chromatographic Society: Diamond Jubilee Supplement*, LC-GC Europe, September 2016

[2] Peter Myers, „The Future Revisited“, *The Chromatographic Society: Diamond Jubilee Supplement*, LC-GC Europe, September 2016

[3] David S. Bell, „Highlights from HPLC 2016“, *LC-GC Europe*, September 2016

[4] Whitepaper „Industrie 4.0 – smart und sicher“, Pilsz GmbH, www.pilz.com

