

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Aufgabenstellung	1
Micelläre Phasen	5
Einwegvorsäulen in der "On-line" Probenaufbereitung.....	6
Immunoaffinitäts-Vorsäulen	6
Mixed-Mode-Vorsäulen	6
2. "Restricted Access" Phasen (RAP)	9
2.1. Definition und Eigenschaften	9
2.2. Unimodale "Restricted Access" Phasen.....	10
2.2.1. Die "Shielded Hydrophobic" Phase (SHP).....	10
2.2.2. Die "Mixed Functional" Phase (MFP).....	12
2.3. Bimodale "Restricted Access" Phasen	15
2.3.1. Proteinbeschichtete Octadecylsilan Phasen	15
2.3.2. Das Konzept des "Dual Zone" Materials (DZM).....	16
2.3.3. Das Konzept der "Semi Permeable Surface" (SPS).....	18
2.3.4. Das Konzept der "Internal Surface Reversed" Phase (ISRP)	19
2.3.4.1. Die "Internal Surface Reversed" Phase nach Pinkerton.....	21
2.3.4.2. Die "Internal Surface Reversed" Phase nach Haginaka.....	25
2.3.4.3. Die "Internal Surface Reversed " Phase nach Kimata.....	28

3.	Anwendungsprobleme der "Restricted Access" Phasen.....	29
4.	Lipasen und Esterasen.....	31
4.1.	Definition und Eigenschaften	31
4.2.	Die Schweinepancreaslipase [EC 3.1.1.3]	32
4.3.	Die Lipase von "Candida Cylindracea" [EC 3.1.1.3].....	33
4.4.	Die Schweineleberesterase [EC 3.1.1.1]	33
5.	Darstellung der "Alkyl-Diol" Phasen	35
5.1.	Zur chemischen Modifikation eingesetzteTrägermaterialien.....	35
5.2.	Synthese	37
5.2.1.	Chemische Modifizierung mit Alkyliganden.....	39
5.2.2.	Enzymatische Hydrolyse der Fettsäureester	42
5.2.2.1.	Vorversuche zur enzymatischen Hydrolyse.....	42
5.2.2.2.	Enzymatische Hydrolyse mit nicht immobilisierten Enzymen	44
5.2.2.3.	Enzymatische Hydrolyse mit immobilisierten Enzymen	45
5.3.	¹³ C-CP-MAS-Spektren der "Alkyl-Diol" Phasen	46
6.	Charakterisierung der "Alkyl-Diol" Phasen	50
6.1.	Porengröße der "Alkyl-Diol" Phasen.....	51
6.2.	Proteineliminierungsverhalten der "Alkyl-Diol" Phasen	53
6.3.	Hydrolysestabilität der "Alkyl-Diol" Trägermaterialien	56

6.3.	Bestimmung der Restaktivität von Silanolgruppen.....	59
6.4.	Ionenpaarchromatographie mit den"Alkyl-Diol" Phasen.....	62
7.	Vergleich der "Alkyl-Diol"-Trägermaterialien mit anderen"Restricted Access" Phasen.....	65
8.	Anwendungen der "Alkyl-Diol"-Trägermaterialien im Rahmen der systeminternen Probenaufbereitung.....	73
8.1.	Analysensystem	73
8.1.1.	Apparativer Aufbau	73
8.1.2.	Analysenprogramm	75
8.2.	Analysenzyklus.....	75
8.2.1.	Sytemintegrierte Probenaufbereitung	75
8.2.2.	Transfer	75
8.2.3.	Analytische Trennung.....	76
8.2.4.	Rekonditionierung	76
8.3.	Nachweis von Theobromin, Theophyllin und Coffein aus Plasma.....	77
8.4.	Nachweis der Antiepileptika Phenobarbital, Carbamazepin und Phenytoin aus Plasma	80
8.5.	Nachweis von 8-Methoxypsoralen aus Plasma.....	84
8.6.	Nachweis von Cyclosporin A aus hämolysiertem Vollblut.....	88
9.	Experimenteller Teil	91

9.1.	Eingesetzte Geräte und Chemikalien	91
9.2.	Darstellung der "Alkyl"-modifizierten Kieselgele	92
9.3.	Enzymatische Hydrolyse	92
9.3.1.	Herstellung einer Enzymlösung ausgehend von lyophilisierten Enzymen	92
9.3.2.	Enzymkatalysierter Abbau mit nicht immobilisierten Enzymen	92
9.3.3.	Enzymkatalysierter Abbau mit immobilisierten Enzymen	93
9.4.	Quantifizierung der enzymatischen Hydrolyse	93
9.4.1.	Aufarbeitung eines Reaktionsansatzes mit nicht immobilisierten Enzymen	93
9.4.2.	Aufarbeitung eines Reaktionsansatzes mit immobilisierten Enzymen	94
9.5.	Immobilisierung von Carboxylesterhydrolasen an "Agarose-Beads"	94
10.	Zusammenfassung	95
11.	Anhang	97
12.	Literaturverzeichnis	100