

Heinz Engelhardt
Wolfgang Beck
Thomas Schmitt

Kapillarelektrophorese

Methoden und Möglichkeiten

Mit 144 Abbildungen und 34 Tabellen



Inhaltsverzeichnis

Vorwort	IX
1 Einleitung	1
2 Grundlagen der Kapillarelektrophorese	3
3 Theoretische Grundlagen und ihr Einfluß auf das analytische Ergebnis	7
3.1 Elektrophoretische Wanderung	7
3.2 Leitfähigkeit	9
3.3 Elektroosmotischer Fluß	11
3.4 Bandenverbreiterung	19
3.4.1 Effizienzverluste durch Diffusion	20
3.4.2 Effizienzverluste durch Temperatureffekte	23
3.4.3 Effizienzverluste durch Elektrod disper sion	26
3.4.4 Effizienzverluste durch Wandadsorption	29
3.4.5 Effizienzverluste durch Überladung des Trennsystems	31
3.4.6 Effizienzverluste durch Überlagerung von Strömungsprofilen	32
3.4.7 Zusammenfassung	33
4 Apparatur	34
4.1 Spannungsquelle	34
4.2 Kapillaren	34
4.3 Probenaufgabe	39
4.3.1 Druck-Injektion	40
4.3.2 Hydrostatische Injektion	41
4.3.3 Elektrokinetische Injektion	42
4.3.4 Probensplitsysteme	44
4.3.5 Anreicherungseffekte bei der Probenaufgabe (Sample Stacking)	45
4.4 Thermostatisierung	50
4.5 Detektion	51
4.5.1 UV-Detektion	51
4.5.2 Fluoreszenzdetektion	58
4.5.3 Weitere Detektionsmethoden	59
4.6 Spezielle Probleme der quantitativen Analyse in der CE	61

5	Kapillaronenelektrophorese (CZE)	71
5.1	Grundlagen der Optimierung in der CZE.....	73
5.1.1	Einfluß des pH-Wertes	73
5.1.2	Einfluß der Pufferkonzentration	74
5.1.3	Auswahl des Puffers	74
5.1.4	Anwendungen	76
5.2	Indirekte Detektionsmethoden in der CE	77
5.2.1	Grundlagen indirekter Detektionstechniken	78
5.2.2	Trennung von Kationen mit indirekter UV-Detektion.....	79
5.2.3	Trennung von Anionen mit indirekter UV-Detektion.....	89
5.2.4	Analyse von Kationen und Anionen mit indirekter Fluoreszenzdetektion.....	96
5.3	Kapillaronenelektrophorese von Proteinen	99
5.3.1	Trennungen in unbeschichteten Kapillaren	100
5.3.1.1	Auswahl des pH-Wertes	100
5.3.1.2	Zugabe von Salzen zum Puffer	102
5.3.1.3	Verwendung von Pufferzusätzen zur Trennung von	
	Proteinen	103
5.3.1.4	Dynamische Belegung von Kapillaren.....	105
5.3.2	Proteintrennungen mit oberflächenmodifizierten Kapillaren	105
5.3.2.1	Beschichtungen für die Kapillarelektrophorese	105
5.3.3	Überblick über wichtige chemische Beschichtungen	
	für die Proteintrennung	109
5.3.3.1	Konventionelle Beschichtungen	109
5.3.3.2	Polymere Beschichtungen	112
5.3.4	Zusammenfassung	118
6	Micellare Elektrokinetische Chromatographie (MEKC)	121
7	Trennung von Enantiomeren in der CE	135
7.1	Enantiomerentrennungen mit Hilfe von Cyclodextrinen als chirale Selektoren	140
7.1.1	Neutrale Cyclodextrine	143
7.1.2	Ionische Cyclodextrine	151
7.2	Andere Trennsysteme	156
8	Kapillar-Gelelektrophorese (CGE)	159
8.1	Gele auf Acrylamid-Basis	160
8.1.1	Herstellung und Handhabung gelgefüllter Kapillaren	161
8.1.2	Quervernetzte Polyacrylamidgele	164
8.1.3	Lineare Polyacrylamidgele (LPA)	165

8.1.3.1 Trennung von DNA-Fragmenten mit LPA	167
8.1.3.2 SDS PAGE (Polyacrylamid-Gelelektrophorese) von Proteinen	170
8.2 Gele auf Polysaccharidbasis und anderen Polymeren	171
8.3 Migrationsmodelle von Biopolymeren in Polymerlösungen	173
9 Isoelektrische Fokussierung in Kapillaren (CIEF)	178
10 Andere Trenntechniken in der CE	184
10.1 Isotachophorese (ITP)	184
10.2 Elektrochromatographie (EC)	186
11 Anleitung zur Fehlersuche in der CE	188
11.1 Bestimmung der Fehlerursache	188
Test 1: Aufnahme einer Durchbruchskurve unter Spüldruck	189
Test 2: Aufnahme einer Durchbruchskurve mit Injektionsdruck	189
Test 3: Überprüfung der Spannungsquelle	189
11.2 Störfallszenarien: „Was tun, wenn...“	190
12 Literaturverzeichnis	193
12.1 Zitierte Literatur	193
12.2 Weiterführende Literatur	197
12.3 Bezugsquellenverzeichnis	198
13 Danksagung	199
Sachwortverzeichnis	200