

ISOTACHOPHORESE

Für die Trennung ionischer Komponenten sind sowohl chromatographische als auch elektrophoretische Techniken geeignet.

Chromatographische Trennungen beruhen auf der unterschiedlichen Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase.

Die Isotachophorese (ITP) nutzt zur Trennung ionischer Substanzen deren elektrophoretische Mobilität unter der Wirkung eines elektrischen Feldes. Charakteristisch für die ITP ist die Verwendung eines diskontinuierlichen Elektrolyt-Systems, welches aus einem sog. Leitelektrolyt und einem sog. Folgeelektrolyt besteht. Die ITP arbeitet üblicherweise mit Kapillaren mit Innendurchmessern von 200 - 300 µm.

Einfacher Systemaufbau

Gegenüber chromatographischen Verfahren zeichnet sich die Isotachophorese durch den insgesamt einfacheren Systemaufbau aus und bietet damit apparative Vorteile. Der geringere Systemverschleiß durch fehlende bewegliche Teile begründet den Einsatz der ITP aus apparativer Sicht.

Niedriger Chemikalienverbrauch

Der allgemein niedrige Verbrauch an Chemikalien (rein wässrige Lösungen) spart Lösungsmittelkosten und bringt auch ökologische Vorteile.

Keine Probenvorbereitung

Mit chromatographischen Techniken wird durch den angelegten Medienfluss normalerweise die Probenmatrix über die analytische Säule geführt. Dies hat den Nachteil, dass oft aufwändige und zeitintensive Probenaufbereitungsschritte notwendig sind, bevor eine Analyse gestartet werden kann.

In der Isotachophorese können Konditionen vorgegeben werden, unter denen die Probenmatrix nicht über die Trennstrecke transportiert wird. Der Vorteil ist, dass praktisch alle Proben entweder direkt bzw. nach einem einfachen Verdünnungsschritt aufgegeben werden können.

Schnelle Methodenentwicklung

Die Variation des Elektrolyt-pH-Wertes stellt die einfachste und effektivste Möglichkeit dar, optimale Trennbedingungen zu erreichen. Konditionierungszeiten sind in der Isotachophorese praktisch vernachlässigbar.

Manuelles Isotachophorese System



Betriebskosten

Die aufgelisteten ökonomischen Aspekte führen zu insgesamt niedrigeren Kosten pro Analyse verglichen mit konventionellen Methoden.

Anwendungsmöglichkeiten

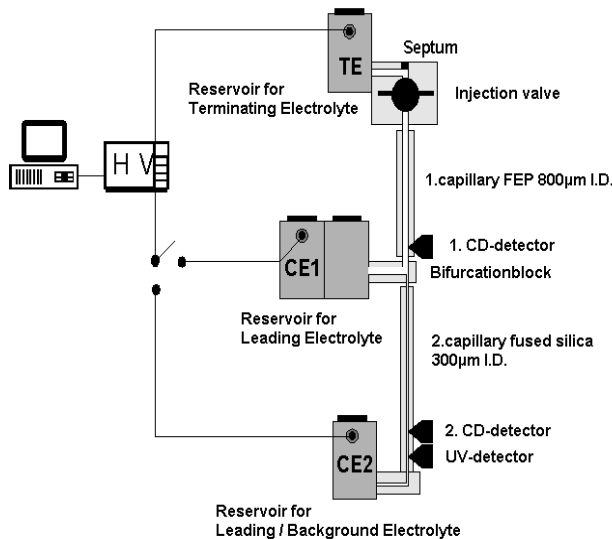
Die Isotachophorese kann in den meisten Fällen als Alternative zur konventionellen Ionen-Chromatographie eingesetzt werden.

Besonders vorteilhaft ist der Einsatz in der Analytik komplexer Matrices. Typische Beispiele in diesen Bereichen sind:

- Organische Säuren in Silagen
- Organische Säuren in Getränken (Wein, Saft, etc.)
- Spuren-Verunreinigungen in H₂O₂, Glycerin, Tinten
- Anionen und Kationen in Urin und Serum
- Geschmacksverstärker, Säuerungsmittel, Vitamine, Zusatzstoffe in Lebensmitteln
- Anorganische Anionen und Kationen in Grund-, Oberflächen- und Trinkwasser
- Wirkstoffe und Metabolite in Salben und Tabletten
- Proteine und Aminosäuren

Isotachophorese System-Aufbau

Der Aufbau der Trenneinheit eines ITP-Gerätes sieht wie folgt aus:



UV/Vis Detektion mit Lichtleitern



Die UV-Detektion ist die am häufigsten verwendete Detektion in der Flüssigkeitschromatographie. Auch für die ITP oder die ITP-CZE ist dieses Detektionsverfahren leicht anwendbar, wieder dient die Kapillare als Messzelle zur on-column Detektion. Über Lichtleiter wird das Licht zur Messzelle und nach Passieren der Kapillare zum Detektor geführt.

Isotachopherogramme

Ein Detektor zeichnet die unterschiedlichen Signalintensitäten der individuellen Zonen auf. Die Schematik unten zeigt ein ideales Isotachopherogramm (Signal des Leitfähigkeitsdetektors).

Die Höhe des Signals (h) charakterisiert die unterschiedlichen Zonen. Da die spezifische Leitfähigkeit der getrennten Ionen eine Stoffkonstante darstellt, wird die Identifizierung einer Substanz über diese Signalhöhe vorgenommen.

Kapillar-Kopplungs-Technik

Vorteile der innovativen Kopplung von 2 Kapillaren unterschiedlichen Innendurchmessers sind:

- Injektion grosser Volumina zur Erzielung geringer Nachweis- und Bestimmungsgrenzen
- Schnitttechnik ("heartcutting") zur Ausschleusung von Überschuss- und/oder Störkomponenten nach der ersten Kapillare
- Möglichkeit der Kombination der ITP mit der CZE (Kapillar-Zonen-Elektrophorese) zur zwei-dimensionalen Analyse in gekoppelten Kapillaren

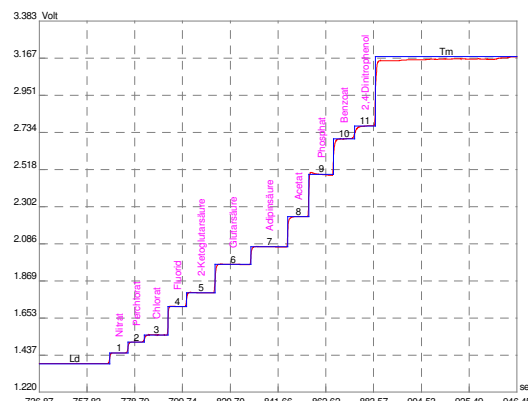
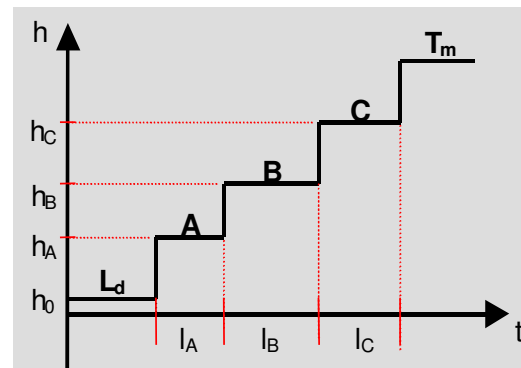
Detektion in der Isotachophorese

Für die Detektion der bereits getrennten ionischen Komponenten kommt die Leitfähigkeits- und die UV/Vis-Detektion zur Anwendung.

Leitfähigkeitsdetektion

Die Leitfähigkeitsdetektion ist eine universelle Detektionsmethode, welche alle Analytionen in der Probe erfasst.

Sie wird "on-column" mit einer Messzelle, die durch die Dimensionen der Kapillare vorgeben ist, realisiert. Die Messung kann durch kontaktlose oder durch Kontakt-Leitfähigkeits-Detektion erfolgen.



Die Quantifizierung der Analyten, A, B und C, erfolgt durch die Aufzeichnung der Zonenlänge der einzelnen Zonen. Das obige Isotachopherogramm zeigt das Detektorsignal (rot) und die berechnete Idealkurve (blau) mit Nummerierung sowie Identifikation (Beschriftung) eines 11-Komponenten-Standards.