

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE

Bogusław Buszewski, Ewelina Dziubakiewicz, Michał Szumski 15

Rozdział 1

RYS HISTORYCZNY

Bogusław Buszewski, Ewelina Dziubakiewicz 18

Literatura 20

Rozdział 2

PODSTAWY TEORETYCZNE TECHNIK ELEKTROMIGRACYJNYCH

Ewelina Dziubakiewicz, Bogusław Buszewski 21

Ruchliwość elektroforetyczna 22

Przepływ elektroosmotyczny 24

Mechanizm rozdzielania elektroforetycznego 26

Parametry rozdzielania elektroforetycznego 29

 Czas migracji 29

 Sprawność 29

 Selektywność 30

 Rozdzielczość 31

Optymalizacja warunków rozdzielania elektroforetycznego 32

 Polaryzacja elektrod 32

 Stosowane napięcie 33

 Temperatura 35

 Kapilara 35

 Roztwór buforowy 36

 pH roztworu buforowego 36

 Stężenie / siła jonowa roztworu buforowego 38

 Substancje modyfikujące EOF dodawane do buforu 39

Literatura 40

Rozdział 3

APARATURA

Michał Szumski 45

Zasilacz 46

Kapilara	47
Termostatowanie kapilary	49
Fiolki	50
Dozowanie próbki	51
Detekcja w technikach elektromigracyjnych	52
Detekcja spektrofotometryczna	54
Detekcja fluorescencyjna	59
Detektory LIF	62
Lasery	64
Derywatywacja w detekcji fluorescencyjnej i LIF	67
Podsumowanie LIF	70
Detekcja RI	70
Detekcja elektrochemiczna	73
Detektory potencjometryczne	73
Detektory konduktometryczne	75
Detektory amperometryczne	79
Detekcja MS	82
Detekcja NMR	85
Podsumowanie	87
Automatyzacja i robotyzacja	87
Literatura	91

Rozdział 4

ANALIZA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA – INTERPRETACJA ELEKTROFEROGRAMÓW

Michał Szumski, Bogusław Buszewski	94
Analiza jakościowa	94
Źródła błędów	95
Analiza ilościowa	95
Metoda wzorca zewnętrznego (krzywej kalibracyjnej)	96
Metoda wzorca wewnętrznego (metoda dodatku wzorca)	98
Uwagi dotyczące kształtu piku	99
Literatura	102

Rozdział 5

MICELARNA CHROMATOGRAFIA ELEKTROKINETYCZNA (MEKC)

Edward Bald, Paweł Kubalczyk	103
Wprowadzenie	103
Podstawy rozdzielania	105
Sprawność	107

Selektywność	108
Współczynnik retencji	108
Czynniki wpływające na przebieg rozdzielania	109
Surfaktanty	109
Dodatki	112
Wpływ pH	113
Kolejność elucji	114
Aparatura i procedura analityczna	114
Detekcja	115
Rozwijanie metody	115
Podsumowanie	116
Literatura	117

Rozdział 6

IZOTACHOFOREZA (ITP)

<i>Przemysław Kosobucki, Bogusław Buszewski</i>	119
Podstawy teoretyczne	119
Analiza jakościowa i ilościowa	122
Warunki prowadzenia rozdzielania	124
Aparatura	126
Kolumna rozdzielająca	127
Detekcja	128
Substancje rozdzielające – „spacers”	132
Zastosowania	133
Sprzężenie izotachoforezy z innymi technikami analitycznymi	135
Izotachoforeza. Strefowa elektroforeza kapilarna (ITP CZE)	135
Izotachoforeza. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (ITP HPLC)	136
Izotachoforeza. Spektrometria mas (ITP MS)	137
Izotachoforeza. Magnetyczny rezonans jądrowy (ITP NMR)	139
Miniaturyzacja	140
Podsumowanie	141
Literatura	143

Rozdział 7

KAPILARNE OGNISKOWANIE IZOELEKTRYCZNE (CIEF)

<i>Michał Markuszewski, Renata Bujak, Emilia Dagher</i>	146
Wprowadzenie	146
Metodyka postępowania badawczego w CIEF	147
Przygotowanie i wprowadzenie próbki	147

Ogniskowanie	148
Dwuetałpowe kapilarne ogniskowanie izoelektryczne	149
Mobilizacja chemiczna	149
Mobilizacja przy użyciu sił hydraulicznych	150
Jednoetałpowe kapilarne ogniskowanie izoelektryczne	151
Dobór kapilary	152
Metody detekcji w kapilarnym ogniskowaniu izoelektrycznym	153
Przykłady zastosowań CIEF	154
CIEF w analizie hemoglobiny	154
CIEF w analizie białek	156
CIEF w analizie glikoprotein i immunoglobulin	157
Literatura	160

Rozdział 8

DWUWYMIAROWA ELEKTROFOREZA ŻELOWA (2DE)

<i>Ewa Kłodzińska, Bogusław Buszewski</i>	162
Wprowadzenie	162
Podstawy teoretyczne	163
Etapy procedur analitycznych przed analizą	166
Przygotowanie i wprowadzenie próbki	166
Roztworzenie białka	172
Substancje chaotropowe	172
Detergenty	173
Czynniki redukujące	173
Wzbogacanie białek	174
Uproszczona procedura frakcjonowania	174
Pierwszy kierunek – ogniskowanie izoelektryczne	177
Formowanie gradientu pH	177
Dehydratacja żelu i nanoszenie próbki	182
Drugi wymiar – elektroforeza żelowa w warunkach denaturujących	184
Metody barwienia białek – detekcja	185
Identyfikacja białek przez użycie spektrometrii mas	187
Zastosowanie komputera w wizualizacji wyników analizy	188
Bazy danych 2D	189
Podsumowanie	190
Literatura	190

Rozdział 9

TECHNIKI ELEKTROCHROMATOGRAFICZNE

<i>Michał Szumski</i>	192
-----------------------------	-----

9.1. ELEKTROCHROMATOGRAFIA KAPILARNA

<i>Michał Szumski</i>	194
Podstawy teoretyczne	194
Aparatura do CEC	203
Problem powstania pęcherzy gazu	207
Przeprowadzenie rozdzielania CEC	208
Kolumny do CEC	210
Materiał na kolumny	211
Kolumny pakowane	211
Kolumny bezspiekowe	214
Kolumny monolityczne	215
Złoża monolityczne polimerowe	216
Złoża monolityczne krzemionkowe	219
Złoża monolityczne organiczno-nieorganiczne (PSG)	221
Kolumny otwarte	222
Miejsce CEC we współczesnych technikach separacyjnych	223
Literatura	224

9.2. ELEKTROCHROMATOGRAFIA PLANARNA

<i>Adam Chomicki, Tadeusz Dzido, Paweł Płocharz, Beata Polak</i>	229
Wprowadzenie	229
Rozwój metody	229
Komory do elektrochromatografii planarnej ciśnieniowej	232
Zalety i wady elektrochromatografii planarnej ciśnieniowej	234
Literatura	240

Rozdział 10

ELEKTROFOREZA W UKŁADACH NIEWODNYCH

<i>Michał Szumski, Bogusław Buszewski</i>	242
Stosowane rozpuszczalniki	242
Rozdzielanie w kapilarach o większych średnicach	245
Rozdzielanie dużych cząsteczek nierozpuszczalnych w wodzie	247
Rozdzielanie związków nie obdarzonych ładunkiem	248
Rozdzielanie związków optycznie czynnych	250
Podsumowanie	252
Literatura	252

Rozdział 11**METODY ZATĘŻANIA ANALITÓW W KAPILARZE**

<i>Paweł Kubalczyk, Edward Bald</i>	254
Wprowadzenie	254
Zatężanie analitów w kapilarnej elektroforezie strefowej	256
Spiętrzanie ze wzmocnieniem pola	256
Spiętrzanie na drodze wprowadzania próbki ze wzmocnieniem pola	258
Spiętrzanie z dużą strefą próbki	259
Spiętrzanie ze wzmocnieniem pola na drodze manipulacji pH	260
Spiętrzanie według mechanizmu przejściowej izotachoforezy	260
Spiętrzanie według mechanizmu pseudo przejściowej izotachoforezy	261
Spiętrzanie na drodze dynamicznego skrzyżowania pH	263
Zatężanie poprzez przeciwprądowe gradientowe ogniskowanie	265
Zatężanie próbki w micelarnej elektrokinetycznej chromatografii	265
Spiętrzanie ze wzmocnieniem pola	266
Zmiatanie	266
Spiętrzanie z wysokim stężeniem soli	269
Elektrokinetyczne wprowadzanie próbki	269
Spiętrzanie na drodze wprowadzania próbki ze wzmocnieniem pola	270
Podsumowanie	270
Literatura	271

Rozdział 12**ROZDZIELANIE STEREOIZOMERÓW**

<i>Piotr Wiczorek</i>	277
Mechanizm rozdzielania	279
Selektory chiralne	281
Cyklodekstryny	282
Chiralne etery koronowe	283
Chiralne surfaktanty	284
Makrocycliczne antybiotyki	285
Chiralne kompleksy metali	286
Naturalne i syntetyczne polimery	287
Zastosowanie technik elektromigracyjnych w analizie stereoizomerów	288
Podsumowanie	290
Literatura	291

Rozdział 13

SYSTEMY „LAB-ON-A-CHIP” DEDYKOWANE INŻYNIERII KOMÓRKOWEJ

<i>Elżbieta Jędrych, Aleksandra Rakowska, Zbigniew Brzózka</i>	294
Miniaturyzacja	294
Techniki analityczne w miniaturyzacji	295
Hodowle komórkowe	296
Mikrosystemy w inżynierii komórkowej	297
Projektowanie i wykonanie mikrosystemów	298
Materiały konstrukcyjne	298
Technologia wykonania mikrosystemu	299
Odlewanie (odtworzenie)	300
Odciskanie	300
Metoda wtrysku	301
Mikroobróbka laserowa	301
Mikrofrezowanie	301
Uszczelnianie mikrosystemów	301
Istotne parametry mikroukładów do hodowli komórkowej	302
Geometria mikrosystemu	302
Sterylizacja i warunki środowiskowe	302
Przepływ substancji	303
Inne parametry	306
Hodowla komórkowa w mikroskali	306
Testy cytotoksyczności w mikroukładach	309
Literatura	312

Rozdział 14

ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTROMIGRACYJNYCH W PRAKTYCE

14.1. METABOLOMIKA – ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTROMIGRACYJNYCH

W POSZUKIWANIACH BIOMARKERÓW

Michał Markuszeski, Małgorzata Waszczuk-Jankowska, Wiktoria Struck,

Piotr Kośliński

Oznaczanie nukleozydów w próbkach biologicznych jako markerów kancerogenezy **318**

Micelarna chromatografia elektrokinetyczna

Wybór metody detekcji

Elektrochromatografia kapilarna

Bioinformatyczne metody analizowania danych elektroforetycznych

Oznaczanie związków pterynowych jako biomarkerów kancerogenezy

Literatura

14.2. TECHNIKI ELEKTROMIGRACYJNE W OZNACZANIU MIKROORGANIZMÓW	
<i>Ewelina Dziubakiewicz, Bogusław Buszewski</i>	330
Literatura	338
14.3. ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTROMIGRACYJNYCH W ANALIZIE ŻYWNOŚCI	
<i>Piotr Wieczorek, Magdalena Ligor, Bogusław Buszewski</i>	340
Polifenole	340
Barwniki	346
Witaminy	347
Dodatki do żywności	347
Aminokwasy, peptydy, białka	351
Węglowodany	354
Kwasy nukleinowe	355
Aminy biogenne, naturalne toksyny i inne zanieczyszczenia	355
Pestycydy	357
Antybiotyki	358
Podsumowanie	360
Literatura	360
14.4. ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTROMIGRACYJNYCH W ANALIZIE ŚRODOWISKOWEJ	
<i>Edward Bald, Paweł Kubalczyk, Sylwia Studzińska, Bogusław Buszewski</i> ..	372
Wprowadzenie	372
Detektory	372
Zatężanie analitów w próbce	373
Mikroczipy	375
Oznaczanie zanieczyszczeń środowiska	375
Pestycydy	375
Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne	376
Fenole	377
Aminy	379
Kwasy karboksylowe	379
Materiały wybuchowe	380
Leki	381
Ciecze jonowe	383
Podsumowanie	385
Literatura	385
Akronimy i skróty	393
Skorowidz	397
Prawa autorskie	402