

Synthese und Evaluierung molekular geprägter Polymere (MIP) als Sorbentien für lebensmittelanalytische Anwendungen

M.Sc. Christina Schirmer

Aus dem Institut für Chemie und Technologie der Milch

an der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Standort Kiel

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Hans Meisel

Zur Entwicklung leistungsfähiger Methoden, die zur Probenaufbereitung und Analytenaufkonzentrierung bei lebensmittelwissenschaftlichen Fragestellungen geeignet sind, wurden molekular geprägte Polymere (MIP) synthetisiert und eingesetzt.

Die Synthese der MIPs, die eine analytselektive Affinität haben, erfolgt durch Copolymerisation eines funktionellen Monomers mit einem Quervernetzer in Anwesenheit eines Templats, das dem Zielanalyten entspricht bzw. eine analoge Molekülstruktur zum Zielanalyten aufweist. Nach der Polymerisation wird das Templat entfernt, so dass in dem dreidimensionalen porösen Polymernetzwerk Kavitäten zurückbleiben, die in ihrer Größe, Form und sterischen Ausrichtung der funktionellen Gruppen komplementär zum Templat sind, so dass diese Bindungsstellen für die selektive Wiederbindung des Zielanalytens verantwortlich sind.

Es wurden verschiedene MIPs mittels Bulk-Polymerisation zur Bestimmung des Antibiotikums Chloramphenicol synthetisiert und erstmals in Kombination mit RP-HPLC und LC-MS/MS eingesetzt. Die chromatographische Evaluierung der Polymere ergab, dass die Retention des Chloramphenicols in apolaren Lösemitteln bezogen auf das Zielmolekül auf selektiven Wasserstoffbrückenbindungen und unter wässrigen Bedingungen auf nicht selektiven hydrophoben Wechselwirkungen beruhte. Nach Festphasenextraktion einer Chloramphenicol-Lösung, wobei als Sorbent ein MIP diente, wurden Wiederfindungen von annähernd 100% erreicht. Die Chloramphenicol-Wiederfindungen aus mit Chloramphenicol versetzten Honigproben betrugen über 90%. Honig stellt eine schwierige Matrix dar, so dass analytische Probleme zur Kontrolle der gesetzlich vorgeschriebenen Höchstwerte bestehen. Die im Vergleich zu wässrigen Waschlösungen bessere Abtrennung der Honigmatrix vom Chloramphenicol unter Verwendung von Ethylacetat weist auf die selektiven Wechselwirkungen des Chloramphenicols mit dem MIP unter apolaren Bedingungen hin.

Bioaktive Oligopeptide können auf Grund ihrer Größe nicht durch die hochvernetzte Matrix eines üblichen Bulk-Polymers diffundieren. Deshalb wurde zur Synthese der Polymere mit Affinität erstmals gegenüber den bioaktiven Peptiden Nisin bzw. Ala-Gly die Methode der hierarchischen Prägung angewendet, so dass die Prägungskavitäten auf der Oberfläche der resultierenden Polymerpartikel lokalisiert waren. Die chromatographische Evaluierung der Polymere mit Affinität zum Nisin ergab, dass die größte Nisin-Retention in Acetonitril/Wasser-Mischungen, die mehr als 80% Wasser enthielten, erreicht wurde, wobei die Retention auf selektiven ionischen sowie hydrophoben Wechselwirkungen basierte. Weitere Untersuchungen zeigten die Anwendbarkeit des MIPs zur Festphasenextraktion von Nisin. Die Retention von Alanin und Ala-Gly, das Bestandteil von mehreren bioaktiven Oligopeptiden ist, war in apolaren Lösemitteln auf selektive ionische Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen zurückzuführen. Nach Einbringung einer Fmoc-Schutzgruppe in die Zielanalyten konnte unter wässrigen Elutionsbedingungen ebenfalls eine Retention auf Grund nicht selektiver hydrophober Wechselwirkungen erreicht werden. Daraus folgend sind MIPs zur selektiven Separation von bioaktiven Peptiden grundsätzlich geeignet.