

Die neuen experimentellen Ansätze der omic-Techniken gehören zu den wichtigsten Entwicklungen der letzten Jahre. Alle Verbindungen einer Probe sollen aufgezeichnet und gesammelt werden, ohne einen vordefinierten Ausschluss. Dies ermöglicht ein breites Anwendungsspektrum. Eines davon ist die Metabolomik. Ihr Ziel ist es, neue Verbindungen in Stoffwechseln verschiedener Organismen (z.B. Pflanzen und Tiere) zu erkennen, zu identifizieren und zu quantifizieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde dieser neue Ansatz für die Analyse von humanen Urinproben für groß angelegte Studien etabliert. Dazu wurden verschiedene Proben-vorbereitungen, Chromatographie-Methoden, Nachweisverfahren sowie Datenauswertungsverfahren unter Verwendung eines hochauflösenden Massenspektrometers (Quadrupol - Flugzeit- System), welches mit einem Flüssigkeits-Chromatographie - System verbunden war, etabliert, geprüft und validiert. Optimale Analyseergebnisse wurden mit den folgenden Bedingungen gefunden: Für die Probenaufbereitung wurde der „verdünnen und analysieren“ Ansatz entwickelt, welcher eine wässrige Ameisensäurelösung zur Verdünnung nutzt. Die Chromatographie wurde mit einer Amid-Säule (im HILIC -Modus) durchgeführt, welche zur Trennung von hochpolaren Verbindungen geeignet ist. Die Optimierung des Verfahrens resultierte in der Anwendung von Wasser und Acetonitril (beide mit 0,1 % Ameisensäure) als Eluenten.

Für die Massenspektrometrie wurde eine Methode für kleine Moleküle entwickelt, mit einem optimalen Messbereich zwischen 95 Dalton und 300 Dalton. Das Massenspektrometer war mit einer Elektrospray - Ionisationsquelle ausgerüstet. Die Datenanalysen wurden mit computergestützten Programmen und Algorithmen durchgeführt. Sowohl der gezielte als auch der ungezielte Ansatz wurde getestet, optimiert und etabliert. Für die gezielte Analyse wurde eine Datenbank mit 750 Verbindungen erstellt. Die ungezielte Analyse wurde mit der statistischen Hauptkomponentenanalyse durchgeführt.

Der Methodenentwicklung folgend wurden die etablierten Methoden in zwei separaten Studien angewandt. Die erste Studie wies die Systemstabilität und Anwendbarkeit der gewählten Methoden nach. Mit Hilfe der entwickelten Methoden konnten sechs der sieben experimentellen Chargen in die Datenauswertung mit einbezogen werden, was insgesamt 2880 Proben entsprach. Dieser Ansatz der Datenauswertung kann somit die Basis für zukünftige großangelegte Studien bilden. In der zweiten Studie wurde eine Methode entwickelt zur Analyse von Konzentrationsunterschieden von mehreren oxidativen Stressmarkern in einem einzigen analytischen Experiment. Im Urin von Tauchern konnte vor, nach und 6 Stunden nachdem Tauchgang klare Unterschiede festgestellt werden.