

## Motivation

Bei einer Vielzahl von instrumentellen Analyseverfahren muss vor der eigentlichen Analyse eine Probenanreicherung, in der Regel unter Verwendung von Mikrosäulen, durchgeführt werden. Mikroporöse Affinitätsfilter auf Basis von gesinterten Polymeren sind dabei eine preiswerte und robuste Alternative zu den etablierten, auf Gelen und Schüttungen basierenden, Chromatographiematerialien. Für den Einsatz in Extraktionssäulen können zylindrische Formstücke hergestellt werden, die über eine hydrophile Zwischenschicht mit biologischen Liganden (Antikörpern) beschichtet werden (Abb. 1) Am Beispiel der Extraktion von Zearalenon, einem Mycotoxin aus der Stoffgruppe der Fusarium-Toxine, wurde die Leistungsfähigkeit eines derartigen Trägers demonstriert.

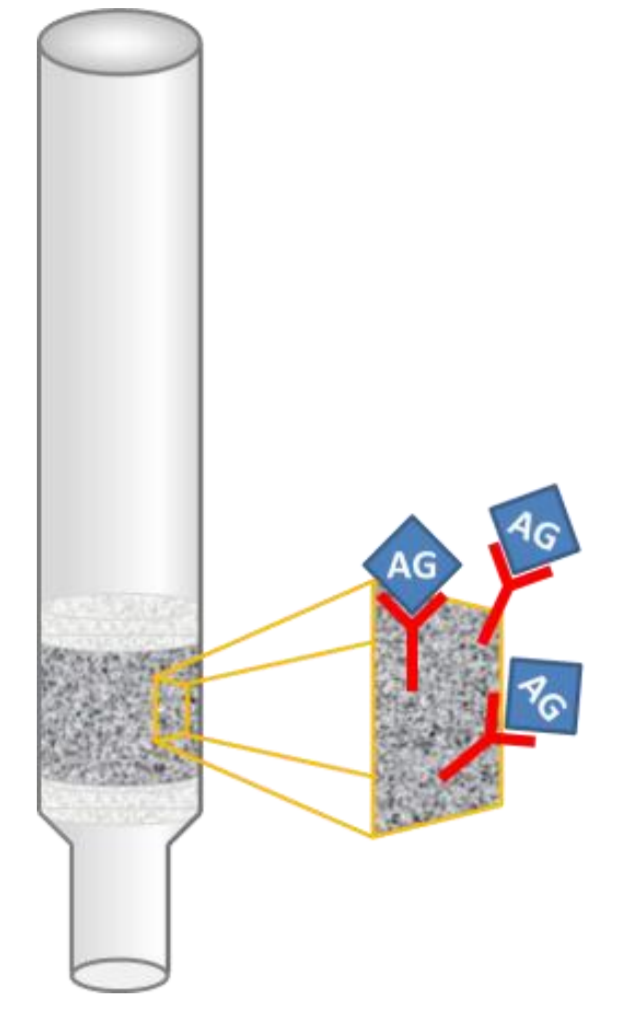


Abb. 1: Schematische Darstellung der Bioaffinitätssäule.

## Material und Methoden

Polyethylen-Partikel wurden mit Kieselgel gemischt und anschließend in einer Zylinderform mit  $d = 5 \text{ mm}$  und  $h = 2,6 \text{ mm}$  gesintert. Die so hergestellten Mikrofilter, die eine bimodale Porenverteilung entsprechend  $122 \text{ nm}$  und  $16,3 \text{ }\mu\text{m}$  aufweisen (Abb. 2), wurden in wässriger Lösung mit Aminozellulosecarbanilaten beschichtet. An die eingeführten Aminogruppen wurden über verschiedene homobifunktionelle Linker Antikörper gegen Zearalenon gebunden (Abb. 3). Die Filter wurden in Mikrosäulen konfektioniert. Die Analyse der Bindungskapazität der Säulen erfolgte nach Aufgabe einer Zearalenonstandardlösung mittels HPLC. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 dargestellt.

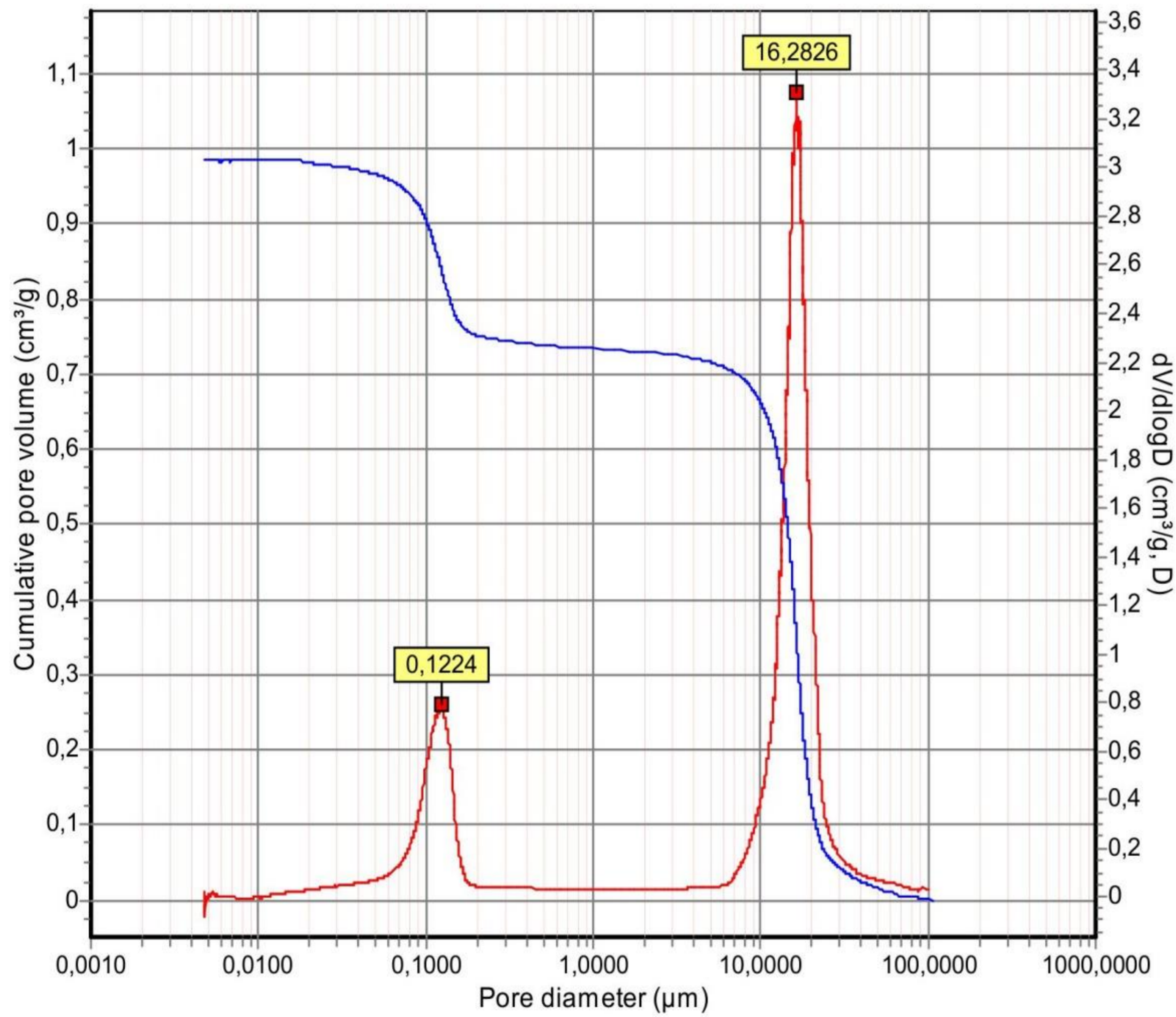


Abb. 2: Porengrößenverteilung der Polyethylenmikrofilter.

Kopplungsmethode	Antikörpermenge	Zearalenon theoretisch	Zearalenon eluiert	Antikörperaktivität
EDC/sulfo-NHS	3,61 mg/ml (184 µg/MF)	7,22 µg/ml (368 ng/MF)	2,68 µg/ml (137 ng/MF)	37,2 %
Glutaraldehyd	3,00 mg/ml (193 µg/MF)	6,00 µg/ml (306 ng/MF)	2,53 µg/ml (65 ng/MF)	10,8 %
p-Benzochinon	3,14 mg/ml (160 µg/MF)	7,06 µg/ml (360 ng/MF)	2,24 µg/ml (114 ng/MF)	31,7 %

Tab. 1: Antikörperbeladung, theoretische und tatsächliche Zearalenon-Bindungs-kapazität und daraus resultierende Antikörperaktivität der Bioaffinitätssäulen.

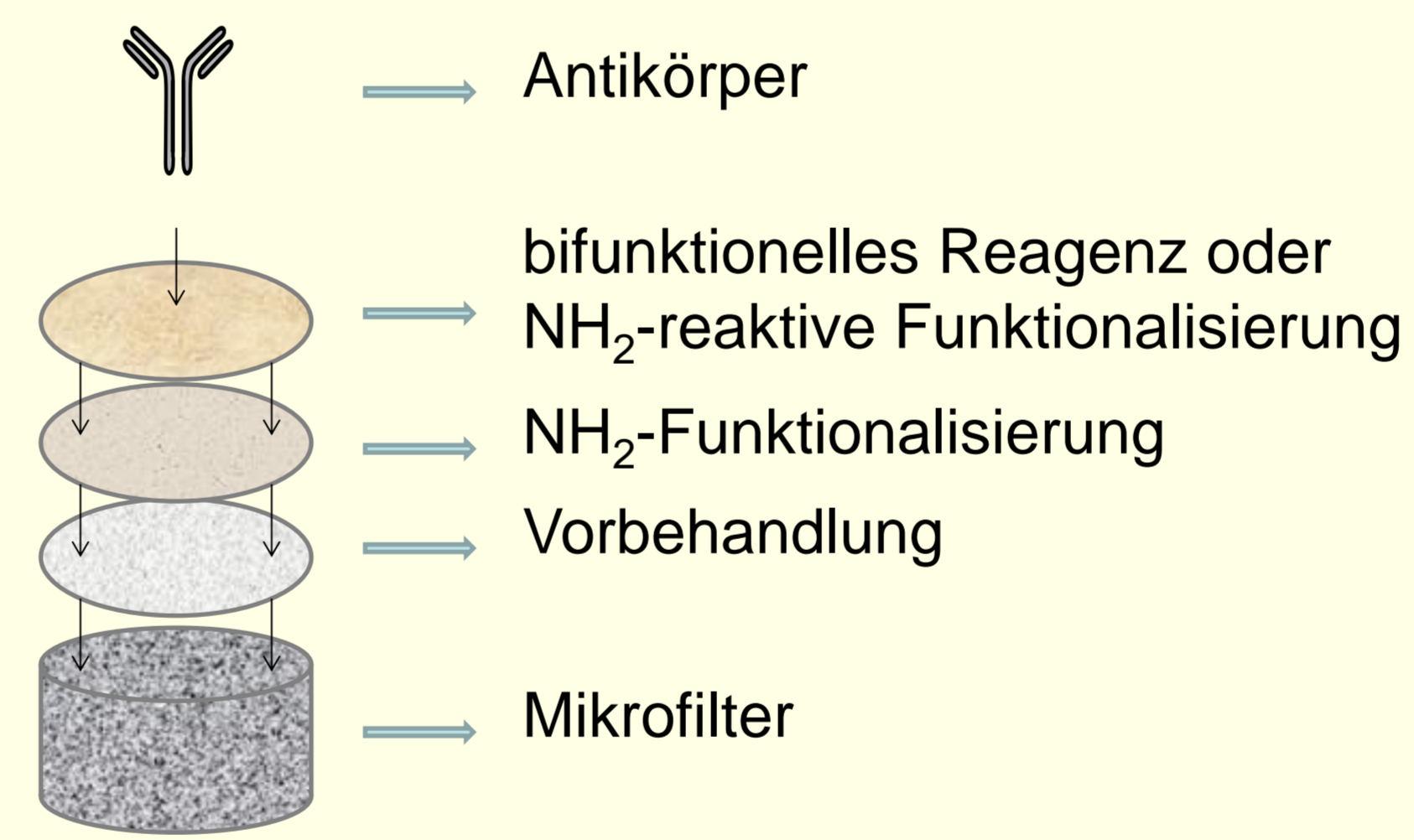


Abb. 3: Aufbau der antikörperbeschichteten Polyethylenmikrofilter.

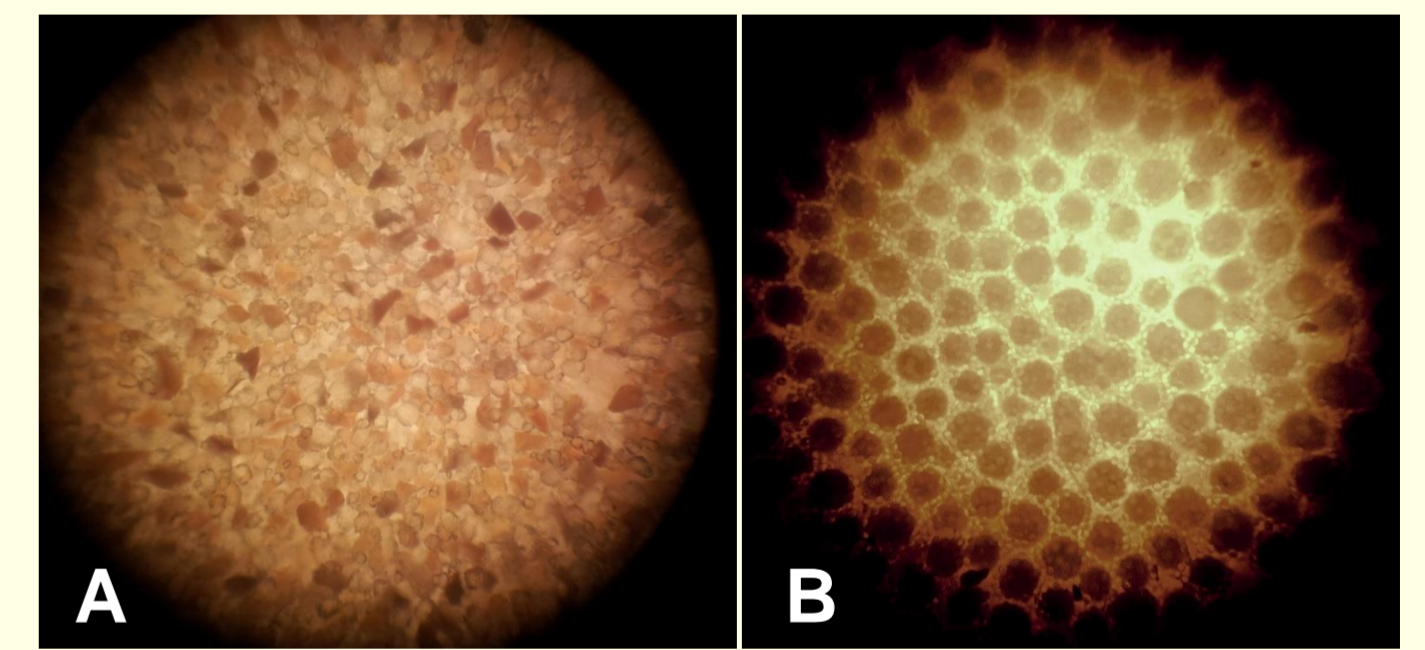


Abb. 4: Mikroporöse monolithische Träger aus Polyethylen und Silica (A) und PMMA (B)

## Ergebnisse

Auf mikroporösen monolithischen Trägern, bestehend aus Polyethylen und Silica (Abb. 4), konnten über die Aminozellulose-zwischenschicht bis zu  $4 \text{ mg}$  Antikörper pro ml Träger bei Kopplungsausbeuten von ca. 40% gebunden werden. Die Filter wiesen dementsprechend eine Bindungskapazität für Zearalenon von  $2,6 \text{ }\mu\text{g/ml}$  auf. Dies entspricht den Kapazitäten von handelsüblichen Extraktionssäulen auf Basis von Sepharosegelen.

## Zusammenfassung

Mikroporöse Polymerfilter mit unterschiedlichen Poreneigenschaften, Geometrien und Beschichtungen können für eine Vielzahl von unterschiedlichen Anwendungen in der Biotechnologie, Medizintechnik und Analytik bereitgestellt werden. Am FZMB laufen derzeit eine Reihe von entsprechenden Produktentwicklungen im Bereich „Lab on Chip“ und Bioaufarbeitung. Dazu werden weitere ausgewählte Polymere (z. B. Polymethacrylat) sowie biochemische und chemische Liganden (Protein A, Lectine, Streptavidin, Polyanionen, Polykationen) eingesetzt.