

Analyse mikrobiologischer Proben auf Basis der Ionenmobilitätsspektrometrie

—

Instrumentelle Entwicklungen und exemplarische Anwendungen

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

Dr. rer. nat.

von der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen der Technischen Universität Dortmund

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

M. Sc. Carolin Drees

geboren in Greven

Tag der mündlichen Prüfung: 06.07.2021

1. Gutachter: Prof. Dr. Oliver Kayser

2. Gutachter: PD Dr. Joachim Franzke

Dortmund 2021

Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation konzentriert sich zum einen auf experimentelle Anwendungen der Ionenmobilitätsspektrometrie im Bereich der Mikrobiologie und zum anderen auf gezielte instrumentelle Entwicklungen, um die Akzeptanz der Methode zu verbessern. Zunächst konnte gezeigt werden, dass durch *Headspace*-Analysen unterschiedlicher Bakterienkulturen die Identifizierung verschiedener Spezies und die Überwachung deren bakteriellen Wachstums möglich war. Aufbauend auf diese Arbeiten wurde als neue Ionisierungsmethode das *Flexible Microtube Plasma* vorgestellt, um damit die üblichen radioaktiven β -Strahlungsquellen mit ihren regulatorischen Einschränkungen zu ersetzen. Nach gezielten Optimierungsschritten konnte Helium durch Stickstoff als Arbeitsgas ersetzt werden ohne Sensitivität einzubüßen. Hierzu wurde unter anderem eine Ionisierungskammer mittels 3D-Druck gefertigt. Darauf aufbauend wurde im Folgenden erstmals ein vollständig, mittels 3D-Druck Verfahren gefertigtes Ionenmobilitätsspektrometer vorgestellt und dessen *Performance* mit einer Referenz aus PTFE verglichen. Veränderte Materialeigenschaften machten es zunächst notwendig weitere Designoptimierungen durchzuführen. Letztendlich wurde das optimierte, vollständig 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer der Referenz qualitativ angeglichen. Somit konnte gezeigt werden, dass sich der 3D-Druck als alternatives Herstellungsverfahren für Ionenmobilitätsspektrometer eignet. Für die Analyse flüssiger Proben wurde abschließend ein miniaturisierter Thermodesorptionschip vorgestellt. Dieser Chip ermöglichte erstmals in Kombination mit dem *Flexible Microtube Plasma* nicht-flüchtige Stoffe, wie den *Autoinducer* N-hexanoyl-L-Homoserinlacton, direkt aus einer Lösung heraus zu adsorbieren, anschließend zu thermodesorbieren und mittels Ionenmobilitätsspektrometer nachzuweisen.

Summary

The present thesis focuses on experimental applications of ion mobility spectrometry in the field of microbiology on one hand and on targeted instrumental developments to improve the acceptance of the method on the other. It could be demonstrated that headspace analyses of different bacterial cultures allow early recognition of bacterial growth and rapid pathogen identification. Based on this, a new ionization method, namely the *Flexible Microtube Plasma*, was presented to replace the commonly used radioactive β -radiation sources with their regulatory restrictions. After targeted optimization steps, helium as working gas could be replaced by nitrogen without losing sensitivity. For this purpose, an ionization chamber was manufactured using 3D-printing. Furthermore, a completely 3D-printed ion mobility spectrometer was presented for the first time and its performance was compared with a reference made of PTFE. Modified material properties made it necessary to optimize the initial design. Overall, comparable analytical response and general performance of the commonly fabricated ion mobility spectrometer was achieved by the completely 3D-printed one. This demonstrates, that 3D-printing is a suitable alternative for manufacturing ion mobility spectrometers. Finally, a miniaturized thermal desorption chip was applied for the analysis of liquid samples. For the first time a combination of thermal desorption chip, a *Flexible Microtube Plasma* and ion mobility spectrometer allowed the adsorption, thermal desorption and detection of non-volatile substances, such as the autoinducer N-hexanoyl-L-homoserine lactone.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Theoretische Grundlagen	5
2.1	Das Ionenmobilitätsspektrometer (IMS)	5
2.1.1	Ionisierungsregion	6
2.1.2	Ioneneinlassgitter	10
2.1.3	Driftstrecke	11
2.1.4	Detektor	12
2.2	Kenngößen der Ionenmobilitätsspektrometrie	14
2.2.1	Qualitative Auswertung	14
2.2.2	Quantitative Auswertung	14
3	Überwachung mikrobiellen Wachstums	19
3.1	Detektion und Überwachung Sepsis-relevanter Keime	20
3.2	Überwachung und Detektion von <i>Listeria monocytogenes</i>	30
3.3	Überwachung mikrobiellen Wachstums: Zusammenfassung und Fazit	37
4	Das Flexible Microtube Plasma (FμTP)	39
4.1	F μ TP: Schrittweise Optimierung	50
4.2	Vergleich Helium-F μ TP, Stickstoff-F μ TP und β -Strahlungsquelle (^{63}Ni)	59
4.3	F μ TP-IMS: Zusammenfassung und Ausblick	61
5	Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer	63
5.1	Aufbau der 3D-gedruckten Einzelkomponenten	68
5.2	Vergleich der 3D-gedruckten mit den PTFE Einzelkomponenten	72
5.3	Analytische <i>Performance</i>	76
5.4	3D-gedrucktes Ionenmobilitätsspektrometer: Zusammenfassung und Fazit	80
6	Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)	81
6.1	Vorversuche TDC-IMS	84
6.1.1	Probenaufgabe mittels doppelter 6-Wege-Ventil-Schaltung: TDC-MCC-IMS	84
6.1.2	Direkte Probenaufgabe ohne gaschromatographische Vortrennung: TDC-IMS	88
6.1.3	Kopplung des F μ TP mit dem Thermodesorptionschip: TDC-F μ TP-IMS	92
6.2	Nachweis von <i>N</i> -hexanoyl-L-Homoserinlacton mittels TDC-F μ TP-IMS	98
6.3	Analyse flüssiger Proben: Zusammenfassung und Fazit	101

7 Zusammenfassung und Ausblick	103
A Anhang	I
A.1 Abkürzungsverzeichnis	I
A.2 Abbildungsverzeichnis	III
A.3 Tabellenverzeichnis	IX
A.4 Literaturverzeichnis	XI
A.5 Publikationsverzeichnis	XXI
A.6 Patentschriften	XXII
A.7 Betreute Abschlussarbeiten	XXIII
A.8 Erklärung zur Reproduktion vorab veröffentlichter Inhalte	XXV

1 Einleitung

Die Ionenmobilitätsspektrometrie charakterisiert Ionen in der Gasphase anhand ihrer Mobilität innerhalb eines elektrischen Feldes. Diese Technik ist in den Fachbereich der analytischen Chemie einzuordnen und gehört zu den vergleichsweise jungen analytischen Methoden. Die Grundlagen der Ionenmobilitätsspektrometrie hinsichtlich der Messung von sich bewegenden Ionen in einem elektrischen Feld gehen auf die Entdeckung der Röntgenstrahlung 1895 und die Arbeiten von Langevin um 1905¹ zurück. Die Einführung erster Ionenmobilitätsspektrometer als eigenständiges und erstmals kommerziell erhältliches analytisches Instrument hingegen erfolgte erst in den 1970iger Jahren, was hauptsächlich den Arbeiten von Francis Karasek²⁻⁶ zu verdanken ist.

Zunächst etablierte sich die Ionenmobilitätsspektrometrie für den sensitiven Nachweis von Kampfstoffen oder auch Sprengstoffen und daher wurden Weiterentwicklungen hinsichtlich kompakter Handheld-Geräte besonders vom Militär gefördert. Durch weitere instrumentelle Entwicklungen, insbesondere durch die Kopplung mit einer gaschromatographischen Vortrennung erweiterte sich das Einsatzgebiet der Ionenmobilitätsspektrometrie jedoch innerhalb der letzten 20 Jahre auf eine Vielzahl chemischer Substanzklassen und komplexer Proben, insbesondere im Bereich *Life Science*, im medizinischen Umfeld aber auch bei Prozess- und Lebensmittelkontrollen⁷. Die erweiterten Anwendungsgebiete gingen auch mit signifikanten instrumentellen Entwicklungen einher, so dass heutzutage verschiedenste Bauformen an Ionenmobilitätsspektrometern existieren. Somit definiert der Begriff Ionenmobilitätsspektrometrie keinen konkreten Aufbau, sondern lediglich eine Analysemethode, welcher die Ionenmobilität zu Grunde liegt. Eine der am weitesten verbreiteten Bauformen stellt das *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer dar, welches auch die Grundlage dieser Arbeit bildet. Dieses besteht aus einer Ionisierungsregion, einem Ioneneinlassgitter, einer Driftröhre und einem Detektor. Anschließend an die Einleitung dieser Dissertation in **Kapitel 1**, beschäftigt sich **Kapitel 2** mit den theoretischen Grundlagen eines *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometers. Darüber hinaus werden in diesem Kapitel auch die bedeutendsten Kenngrößen für eine qualitative und quantitative Auswertung von Ionenmobilitätsspektren dargelegt.

Vornehmlich wird in der Literatur in Bezug auf *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer der Nachweis von flüchtigen organischen Substanzen, engl. *volatile organic compounds* – VOCs – beschrieben, da diese bereits in der Gasphase vorliegen, oder mit geringem Aufwand zu überführen sind. Auch von Mikroorganismen ist bekannt, dass diese unterschiedliche VOCs produzieren, welche damit auch als *microbial volatile organic compounds* – mVOCs – bezeichnet werden. Zu den am häufigsten vertretenen mVOCs zählen Alkohole, Alkene und Ketone⁸. Deshalb ist es naheliegend, dass in den vergangenen Jahren die Ionenmobilitätsspektrometrie auch im Bereich der Mikrobiologie Einzug gehalten hat und

Einleitung

beispielsweise für die Prozess- und Qualitätskontrolle von Lebensmitteln ^{9, 10}, den Nachweis von Schimmelpilzen ¹¹ oder auch pathogenen Bakterien wie *Escherichia Coli* ¹² eingesetzt wurde. In **Kapitel 3** werden die Ergebnisse der *Headspace*-Analyse unterschiedlicher relevanter Keime auf spezifische mVOCs mittels Gaschromatographie und gekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie beschrieben. Zum einen sollten Sepsis-relevante Keime in kommerziell erhältlichen Blutkulturflaschen anhand ihrer verschiedenen mVOC Profile identifiziert und differenziert werden. Dies soll den direkten Vergleich mit dem derzeit üblichen Goldstandard (Inkubation in Blutkulturflaschen und anschließender mikrobiologischer Testmethoden) ermöglichen. Zum anderen sollte ein Lebensmittel-assoziiertes Pathogen in einem traditionellen Kulturmedium zur Simulation einer Realprobe innerhalb einer Milchkultur nachgewiesen werden, um auch hier Informationen über das mikrobielle Wachstum dieses Keims zu gewinnen.

Als Ionisierungsquellen für die Ionenmobilitätsspektrometrie sind radioaktive β -Strahlungsquellen wie Nickel (⁶³Ni) oder Tritium (³H) am weitesten verbreitet. Diese bieten den Vorteil, dass sie langzeitstabil und robust sind und keine zusätzliche Stromversorgung benötigen, jedoch gehen sie mit regulatorischen Einschränkungen einher, insbesondere im Hinblick auf die Beschaffung, den Einsatz und die Entsorgung. In **Kapitel 4** wird daher eine Alternative zu diesen β -Strahlungsquellen als Ionisierungsquelle für die Ionenmobilitätsspektrometrie beschrieben. Hierzu wurde erstmals eine neue, miniaturisierte, plasmabasierte Ionisierungsmethode, das *Flexible Microtube Plasma*, mit einem Ionenmobilitätsspektrometer gekoppelt und hinsichtlich maximaler Ionisierungseffizienz optimiert. Zu diesem Zweck wurde eine Auswahl an Ketonen als Modellanalyten für mVOCs herangezogen.

Da es sich im Fall von mikrobiologischen Proben immer um potentiell infektiöses Material handelt, ist eine Dekontamination beziehungsweise eine Sterilisation der benutzten Analysegeräte notwendig. Im Falle der Ionenmobilitätsspektrometrie ist eine herkömmliche Sterilisation jedoch herausfordernd, da hohe Konzentrationen an VOCs innerhalb üblicher Desinfektionsmittel zur Verunreinigung des Messgeräts führen würden. Dies limitiert den Einsatz der Ionenmobilitätsspektrometrie insbesondere im medizinischen Umfeld. Des Weiteren besteht derzeit keine Möglichkeit für eine kostengünstige Massenfertigung von Ionenmobilitätsspektrometern, da bis heute die Herstellung meist in Kleinst-Serien und zum Teil sogar händisch erfolgt. Deshalb besteht weiterhin Entwicklungsbedarf im Bereich der Ionenmobilitätsspektrometrie um im Feld der Mikrobiologie Fuß zu fassen. In **Kapitel 5** werden Möglichkeiten beschrieben, ein Ionenmobilitätsspektrometer mittels additiven Fertigungsverfahren, dem 3D-Druck, herzustellen. Es sollte erprobt werden, ob sich dieses Herstellungsverfahren für die schnelle Produktion von Ionenmobilitätsspektrometern eignet und deren analytische *Performance* vergleichbar mit herkömmlich gefertigten Analysegeräten ist. Die *Performance* wurde anhand dreier Isomerepaare untersucht. Die Ergebnisse können die Grundlagen für eine kostengünstige Fertigung von

beispielsweise „Einmal-Ionenmobilitätsspektrometern“ für die Analyse hochinfektiöser mikrobiologischer Proben bilden.

Neben mVOCs beinhalten viele mikrobiologisch relevante Proben jedoch auch schwer bis hin zu nicht-flüchtige Substanzen, die bisher nicht mit einem Ionenmobilitätsspektrometer nachzuweisen sind. Beispielsweise sind verschiedenste Signalmoleküle, welche für die Kommunikation innerhalb einer Bakterienpopulation (*Quorum Sensing*) eingesetzt werden, Gegenstand aktueller Forschung. Durch diese Signalmoleküle können Rückschlüsse auf die Vermehrung innerhalb einer Population oder deren Veränderung auf äußere Einflüsse gewonnen werden. In **Kapitel 6** wird deshalb die Problematik einer Analyse flüssiger Proben mittels Ionenmobilitätsspektrometrie behandelt. Hierzu wurde ein miniaturisierter Thermodesorptionschip mit einem Ionenmobilitätsspektrometer gekoppelt, um einen Signalstoff (*Autoinducer*) für das *Quorum Sensing* von Mikroorganismen aus einer flüssigen Matrix heraus nachzuweisen.

Zusammenfassend sollen die Ergebnisse dieser Arbeit das Spektrum möglicher Anwendungen der Ionenmobilitätsspektrometrie signifikant erweitern, insbesondere durch die gesteigerte Akzeptanz nicht-radioaktiver Ionisierungsquellen wie einer plasmabasierten Ionisierungsquelle und der Möglichkeit zur schnellen und kostengünstigen Fertigung mittels 3D-Druck. Darüber hinaus soll durch den dargestellten Einsatz einer miniaturisierten *in-line* Anreicherungs- und Thermodesorptionsmethode die Nachweisstärke verbessert und die Möglichkeit zur Analyse flüssiger Proben auf ihre flüchtigen und nicht-flüchtigen Bestandteile im Feld der Ionenmobilitätsspektrometrie geschaffen werden.

2 Theoretische Grundlagen

In diesem Kapitel werden die für diese Arbeit relevanten, theoretischen Grundlagen dargelegt, insbesondere im Hinblick auf das Feld der Ionenmobilitätsspektrometrie.

2.1 Das Ionenmobilitätsspektrometer (IMS)

Das Ionenmobilitätsspektrometer – IMS – charakterisiert ionisierte, gasförmige Substanzen anhand ihrer spezifischen Geschwindigkeit in einem elektrischen Feld ¹³. Hierbei kann es sich um ein starkes elektrisches Feld, wie beispielsweise bei dem *Differential Mobility Spectrometer* – DMS – oder ein schwaches elektrisches Feld wie bei dem *Drift-Time-Ionenmobilitätsspektrometer* – DTIMS – zur Trennung der Ionen handeln. Aber auch alternierende Felder, wie beispielsweise bei dem *Traveling Wave Ion Mobility Spectrometer* – TWIMS werden zur Trennung von Ionen eingesetzt. Einige können als *Stand-Alone*-Gerät fungieren, wie beispielsweise das *High Field Asymmetric Waveform Ion Mobility Spectrometer* – FAIMS – oder das DTIMS und wieder andere werden nur in Verbindung bzw. als Vortrennung in Kombination mit einem Massenspektrometer wie beispielsweise das *Trapped Ion Mobility Spectrometer* – TIMS – genutzt.

Diese unterschiedlichen Anwendungsgebiete gehen auch mit verschiedensten Entwicklungen hinsichtlich des prinzipiellen Aufbaus und diverser Einsatzgebiete einher. Einige IMS bestehen aus gestapelten voneinander isolierten Ringelektroden, wieder andere aus zwei gegenüberliegenden Plattenelektroden, welche das elektrische Feld zur Trennung der zu untersuchenden Ionen erzeugen. Zusammenfassend beschreibt die Ionenmobilitätsspektrometrie somit nicht einen konkreten Aufbau, sondern nur ein Gerät welches die Ionenmobilität misst ¹⁴.

Die Vielzahl der unterschiedlichsten Bauarten, Funktionsweisen und Anwendungen beschreiben die Komplexität des Feldes der Ionenmobilitätsspektrometrie. Da sich diese Arbeit vornehmlich mit dem DTIMS beschäftigt, wird im Folgenden nur auf dessen Theorie näher eingegangen.

Theoretische Grundlagen

In Abbildung 1 ist der grundlegende Aufbau eines DTIMS dargestellt. Die einzelnen Komponenten der Ionisierungsregion, des Ioneneinlassgitters, der Driftstrecke und des Detektors werden im Folgenden näher erläutert.

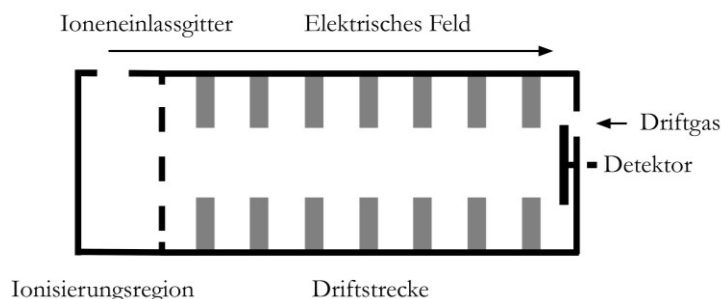


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines DTIMS. Dargestellt sind die Ionisierungsregion, das Ioneneinlassgitter, die Driftstrecke inklusive der Driftringe (grau) und der Detektor.

2.1.1 Ionisierungsregion

In der Ionisierungsregion des IMS befindet sich eine Ionisierungsquelle, welche die zu analysierenden Moleküle ionisiert. In der Vergangenheit wurden hierfür verschiedenste Ionisierungsquellen eingesetzt und erprobt, wie beispielsweise UV-Lampen^{15, 16}, die Elektrospray-Ionisierung^{17, 18} oder auch plasmabasierte Ionisierungsquellen¹⁹⁻²¹. Am weitesten verbreitet sind jedoch radioaktive β -Strahlungsquellen, welche auf den Zerfallsprozessen der ^3H - oder der ^{63}Ni -Isotopie basieren²¹. Gründe für die Nutzung dieser Ionisierungsquellen sind deren Langzeitstabilität, große Lebensdauer, die verlässliche Erzeugung von Ionen, die relativ geringen Anschaffungskosten und der Vorteil, dass diese β -Strahlungsquellen ohne zusätzliche externe Versorgung – z.B. Stromversorgung – auskommen. Da radioaktive Materialien jedoch mit gesetzlichen Auflagen einhergehen, unterstehen auch radioaktive Ionisierungsquellen insbesondere bei der Lagerung und dem Transport strengen Regularien und Vorgaben.

Ionenerzeugung. Ausschlaggebend für die Erzeugung von Ionen durch eine Ionisierungsquelle ist die spezifische Anregungsenergie. Abhängig von dieser ist ebenfalls das Entstehen von Reaktantionen bzw. dem Reaktant-Ionen-Peak – RIP. Neben der indirekten Ionisierung mittels Reaktantionen durch eine Ionisierungsquelle, können Ionen auch direkt angeregt und erzeugt werden, wie beispielsweise durch eine UV-Lampe¹⁶.

Ist jedoch ein RIP im Chromatogramm des IMS sichtbar, besteht dieser im positiven Ionenmodus hauptsächlich aus stabilen protonierten Wasserclustern $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ ². Er entsteht bei jenen Ionisierungsquellen, deren Anregungsenergie oberhalb dem Ionisierungspotential von Wasser (12 eV) liegt. Wiederum ist die Anzahl n dieser protonierten Wassercluster abhängig von der Umgebungstemperatur und der Feuchtigkeit des Umgebungsgases²². Die genaue Entstehung dieser

protonierten Wassercluster, welche auch bei der bekannten *Atmospheric Pressure Chemical Ionization* – APCI – entstehen, ist bis jetzt jedoch noch nicht vollends geklärt. Während in der Literatur häufig Stickstoff als alleinige Voraussetzung zur Initiierung der notwendigen Reaktionskette für die Entstehung dieser protonierten Wassercluster angegeben wird^{23, 24}, zeigen neueste Studien, dass zusätzlich Sauerstoff vorhanden sein muss²⁵. Vor dem RIP ist zusätzlich oftmals ein pre-RIP zu sehen, welcher aus Ammonium-Wasserionen-Clustern besteht $(\text{NH}_4)^+(\text{H}_2\text{O})_n$ ²². Im negativen Modus hingegen besteht der RIP hauptsächlich aus O_2^- Spezies, oder O_2^- assoziierten Spezies wie $\text{O}_2^-(\text{H}_2\text{O})_n$ ¹³.

Soll nun ein Analyt erzeugt werden, ist je nach Ionenmodus, die Protonen- bzw. die Elektronenaffinität der zu ionisierenden Spezies ausschlaggebend, um eine Reaktion mit den jeweiligen Reaktantionen einzugehen¹³. Primär liegen einfach geladene Ionen-Monomere M_1 in Form von $M_1\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ vor. In vielen Fällen kann jedoch darüber hinaus auch ein Dimer M_2 oder ein Trimer M_3 beobachtet werden. In den meisten Fällen sind diese durch eine hohe Analytkonzentration zu erklären und unerwünscht, da somit die Komplexität des Ionenmobilitätsspektrums steigt. Ein typisches Ionenmobilitätsspektrum mit preRIP, RIP, Analyt-Monomer und -Dimer ist in Abbildung 2 dargestellt.

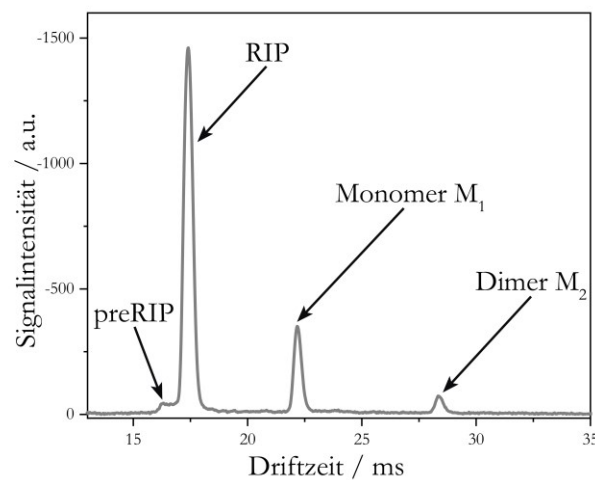


Abbildung 2: Darstellung eines typischen Ionenmobilitätsspektrums. Dargestellt ist der preRIP, RIP und der Monomer M_1 sowie ein Dimer M_2 eines exemplarischen Analyten M. Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Driftzeit.

Somit ist insbesondere die Art der gebildeten Reaktantionen, neben weiteren Faktoren wie beispielsweise dem Driftgasfluss oder dem Probengasfluss, der ausschlaggebende Punkt für eine effiziente Ionisierung von Analyten und die Anzahl der Reaktantionen spielt eine entscheidende Rolle hinsichtlich der Nachweisstärke.

Analytzufuhr. Zur Analyse mittels IMS müssen die zu detektierenden Stoffe zunächst in die Gasphase überführt werden. Je nach verwendeter Ionisierungsquelle kann dies auf unterschiedlichste Arten erfolgen. Eine weit verbreitete Methode für radioaktive Ionisierungsquellen ist die *Headspace*-Analyse,

Theoretische Grundlagen

welche den Gasraum über flüssigen bzw. festen Proben untersucht und auf dem Henry-Dalton'schen Gesetz beruht. Dieses Gesetz beschreibt, dass die Konzentration eines Stoffes in einer Lösung proportional zum Partialdruck dieses Stoffes in der Gasphase ist ²⁶. Eine weitere verbreitete Methode zur Überführung einer Probe in die Gasphase ist die thermische Verdampfung von Proben, wie beispielweise im Falle der Thermodesorption ²⁷.

Diese Methode beruht auf der reversiblen Adsorption eines Analyten aus der Gas- oder Flüssigphase heraus auf einem geeignetes Trägermaterial. Anschließend findet durch Energiezufuhr in Form von Wärme eine Desorption des Analyten in einen Trägergasfluss statt. Die Methode der Thermodesorption zählt deshalb zur Physisorption, da die Bindung des Analyten auf der Oberfläche reversibel ist und nur auf schwachen Wechselwirkungen, insbesondere auf den Van-der-Waals Kräften, beruhen. Die Ausbildung dieser reversiblen schwachen Bindungen unterliegt komplexen materialspezifischen, temperaturabhängigen und dynamischen Gleichgewichtsreaktionen. Diese Gleichgewichtsreaktionen von freien Molekülen in der Matrix M_{Matrix} und freien Oberflächenplätzen N hinzu adsorbierten Molekülen $M_{ads.}$ und zurück, sind durch die beiden Geschwindigkeitskonstanten k_1 (Gleichung 1) bzw. k_2 (Gleichung 2) bestimmt.



Häufig findet sich zur Beschreibung dieser Prozesse die Langmuir-Isotherme ²⁸. Diese ist jedoch mit bestimmten Bedingungen verknüpft. So gilt dieses Modell nur, wenn eine Elektroneutralität aller beteiligten Analyten besteht, nur eine Monolage an adsorbierten Teilchen vorherrscht und die Adsorption und Desorption unabhängig von der Besetzung der Nachbarplätze ist. Dadurch werden Wechselwirkungen mit Nachbarmolekülen nicht berücksichtigt und es wird angenommen, dass alle Adsorptionsplätze als energetisch gleichwertig betrachtet werden können. Nach Langmuir gilt dann, dass bei einer konstanten Temperatur das Gleichgewicht eines Systems bzw. der Bedeckungsgrad Θ der adsorbierten Teilchen nur noch vom Partialdruck p abhängig ist (Gleichung 3).

$$\Theta = \frac{K p}{1 + K p} \quad (3)$$

Dabei ist Θ_{max} der maximale Bedeckungsgrad der Oberfläche und K die Gleichgewichtskonstante des Adsorption-Desorption-Gleichgewichts ²⁹. Jedoch gilt diese Isotherme nur für Adsorptionsprozesse von geringen Analytkonzentrationen aus der Gasphase heraus, da bei einem höheren Bedeckungsgrad beispielsweise Wechselwirkungen mit benachbarten Teilchen berücksichtigt werden müssen. Zur

Beschreibung von Adsorptions- bzw. Desorptionsprozessen aus Lösungen muss des Weiteren bei Gleichung 3 der Partialdruck p durch die Konzentration der Lösung c ausgetauscht werden. Im Gegensatz zur Adsorption aus der Gasphase heraus, muss bei der Adsorption aus der flüssigen Phase zusätzlich das Lösungsmittel selbst berücksichtigt werden. Unter Umständen kann hier eine Co-Adsorption erfolgen, welche auch bei Gemischen insbesondere bei der Messung von komplexen Realproben, welche nicht nur einen zu adsorbierenden Stoff (Adsorbat) beinhaltet, zu beachten sind. Zusätzlich spielen Löslichkeits- und Polaritätseffekte eine nicht zu vernachlässigende Rolle, sowie elektrostatische Wechselwirkungen falls geladene Teilchen vorliegen ^{30, 31}.

Bei der Thermodesorption werden durch Erwärmung die zuvor geschilderten Physisorptionsprozesse gestört und das Gleichgewicht verschiebt sich hin zur Desorption. Der Desorptionsprozess ist neben der Temperatur auch noch von der Konzentration des zu desorbierenden Stoffes (Desorbat) und der Strömungsgeschwindigkeit des austreibenden Trägergasstroms abhängig. Vereinfacht kann die Thermodesorption als chromatographischer Prozess auf einer kurzen Trennsäule betrachtet werden ²⁸.

Chromatographische Trennverfahren werden häufig als eine zusätzliche Vortrennung vor dem IMS beispielsweise in Form einer Gaschromatographie genutzt ³². Im Allgemeinen trennt die Chromatographie Stoffgemische auf Grund der unterschiedlichen Verteilung an Einzelsubstanzen zwischen einer mobilen und stationären Phase auf. Bei definierten Parametern, wie beispielsweise Temperatur, Druck oder auch Probenfluss, können zum einen komplexe Stoffgemische aufgetrennt und damit Einzelsubstanzen anhand Ihrer spezifischen Verweildauer – Retentionszeit – identifiziert werden ³³. Neben der Gaschromatographie, können auch flüssige Proben mittels Flüssigchromatographie aufgetrennt und beispielsweise einem Elektrospray zur Ionisierung zugeführt werden. Insbesondere im Bereich der Bioanalytik findet die Ionenmobilitätsspektrometrie mit vorgeschalteter Flüssigchromatographie, gekoppelt an ein Massenspektrometer Anwendung ³⁴. Für eine optimale Trennleistung wird sowohl für die Gas- als auch die Flüssigchromatographie die Van-Deemter-Gleichung herangezogen (Gleichung 4).

$$H = A + \frac{B}{u} + Cv \quad (4)$$

Diese Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen der Lineargeschwindigkeit v des Trägergases und der Bodenhöhe H der Trennsäule und hilft bei der Einstellung einer optimalen Trennleistung. Zusätzlich berücksichtigt diese Gleichung die Eddy-Diffusion durch den Koeffizienten A , welcher den Einfluss der Packungsdichte der Säule, also den mechanischen Widerstand, beschreibt und die Longitudinaldiffusion über den Koeffizienten B der Teilchen in Richtung der Säulenachse während des Transports durch die Trennsäule. Der Koeffizient C beschreibt Massentransport-Effekte, also die Übergänge zwischen stationärer und mobiler Phase. Während bei der Gaschromatographie die

Theoretische Grundlagen

Eddy-Diffusion und bei der Flüssigchromatographie die Longitudinaldiffusion vernachlässigt werden kann, sind bei beiden chromatographischen Verfahren die Massentransport-Effekte von entscheidender Bedeutung für die Effizienz des Trennsystems ³⁵.

Zusammenfassend ist somit bei der Ionisierung und der Analytzufuhr insbesondere die Art und die Komplexität der zu untersuchenden Probe ausschlaggebend, sowohl für die Auswahl der Ionisierungsquelle als auch für die Entscheidung über eine Vortrennung oder Probenvorbereitung.

2.1.2 Ioneneinlassgitter

Das Ioneneinlassgitter beeinflusst die Sensitivität und das Auflösungsvermögen eines DTIMS maßgeblich, da es die Bewegung bzw. die Injektion der Ionen in die Driftröhre steuert und somit überhaupt erst eine zeitabhängige Messung ermöglicht ^{36,37}. Das Ioneneinlassgitter steuert, im idealen Fall, den Einlass von klar abgegrenzten Ionenpaketen definierter Größe in die Driftröhre ohne dessen elektrisches Feld negativ zu beeinflussen. Das für die Ionenmobilitätsspektrometrie am häufigsten verwendete Ioneneinlassgitter ist das Bradbury-Nielsen Gitter ³⁷, welches auch in dieser Arbeit verwendet wurde. Ursprünglich wurde es zur Messung von Elektronengeschwindigkeiten entwickelt ³⁸ und besteht aus zwei verzahnten elektrisch isolierten Sätzen von metallischen Elektroden (siehe Abbildung 3A). Der Injektionsmodus (siehe Abbildung 3B) entlässt die gebildeten Ionen aus der Ionisierungsregion in die Driftregion dadurch, dass alle Elektroden das gleiche Potential aufweisen. Wenn das Ionengitter geschlossen ist (siehe Abbildung 3C) wird an den Elektroden eine Differenzspannung angelegt.

Dadurch werden die gebildeten Ionen derart stark umgelenkt, dass die Ionen den Detektor nicht mehr erreichen können. Dabei kollidieren die Ionen mit dem Ioneneinlassgitter selbst, mit anderen Ionen oder der inneren Wand der Driftröhre und werden dadurch neutralisiert ³⁹. Somit gelangen zeitabhängige definierte Ionenpakete in die Driftröhre und können aufgetrennt werden. Ein weiteres Ioneneinlassgitter basiert auf der gleichen Funktionsweise – das Tyndall-Powell Gitter – nur liegen die zwei Elektrodensätze nicht in einer Ebene, sondern liegen isoliert in mehreren Ebenen ⁴⁰.

Generell wird jedoch in der Literatur die beste *Performance* dem Bradbury-Nielsen Gitter zugeordnet ^{36, 39}.

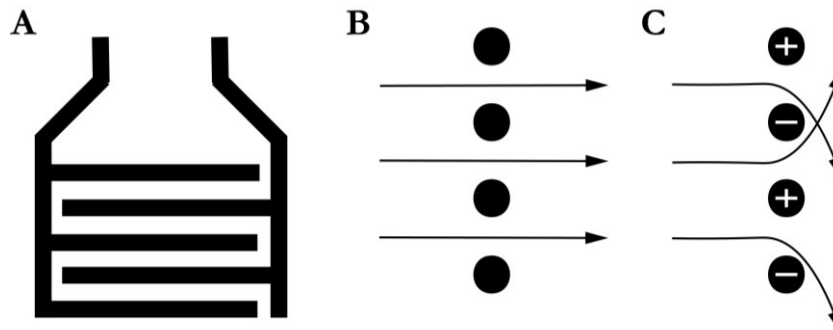


Abbildung 3: A: Schematische Darstellung eines Bradbury-Nielsen Gitters. Dargestellt sind die zwei elektrisch isolierten verzahnten Elektroden des Bradbury-Nielsen Gitters. B: Injektionsmodus, bei welchem die beiden isolierten Elektroden auf demselben Potential liegen und die Ionen in die Driftröhre entlassen. C: Darstellung des Modus in dem das Ionengitter geschlossen ist. Hierbei werden die Ionen durch unterschiedliche Potentiale an den Gitterelektroden abgelenkt. Somit können die Ionen den Detektor nicht mehr erreichen.

2.1.3 Driftstrecke

Die Driftstrecke ist das zentrale Element eines IMS, da hier die Ionen anhand ihrer Ionenmobilität voneinander getrennt werden. Das traditionelle Design einer Driftstrecke besteht aus aufeinanderfolgenden Driftringen, die durch einen Isolator getrennt aber mittels definiertem Widerstand verbunden sind. Dieses Design wird auch bei dem DTIMS eingesetzt und arbeitet mit einem linearen Feldgradienten und einem entgegenkommenden inerten Driftgas ²². Durch den elektrischen Feldgradienten und der daraus resultierenden beschleunigenden Coulombkraft auf geladene Teilchen, migrieren die eingelassenen Ionen in Richtung Detektor und werden anhand ihrer unterschiedlichen Driftzeiten im Zusammenspiel mit dem entgegenkommenden, bremsenden Driftgas, in Abhängigkeit von ihrer Masse, Ladung und Form getrennt ². Die Driftgeschwindigkeit v_d der Ionen ist hierbei als mittlere charakteristische Geschwindigkeit definiert und spezifisch für eine Ionenart. Sie beschreibt das Gleichgewicht zwischen Beschleunigung der Ionen durch das elektrische Feld und den Verlust kinetischer Energie durch die Zusammenstöße mit dem entgegenkommenden Driftgas und ist direkt proportional zur elektrischen Feldstärke E und der Proportionalitätskonstante K , der Ionenmobilität (siehe Gleichung 5) ¹³.

$$v_d = K * E \quad (5)$$

Die Ionenmobilität K wird bei geringen Feldstärken, wie bei dem DTIMS, üblicherweise durch die Revercomb-Mason-Gleichung beschrieben ⁴¹.

Theoretische Grundlagen

Diese Gleichung (siehe Gleichung 6) beschreibt die Ionenmobilität K in Abhängigkeit von der Ladungszahl z des Ions, der umgebenden Teilchendichte des Neutralgases N , der absoluten Temperatur T , der Ionenmasse m , der Masse der neutralen Driftgasmoleküle M und dem über alle Stoßrichtungen gemittelten Stoßquerschnitt eines Ions mit einem Driftgasmolekül Ω . Außerdem sind die Konstanten der Elementarladung e , und die der Boltzmann-Konstante k_B , berücksichtigt.

$$K = \frac{3}{16} \frac{ze}{N} \sqrt{\frac{2\pi}{k_B T} \left(\frac{1}{m} + \frac{1}{M} \right)} \frac{1}{\Omega} \quad (6)$$

Zusammenfassend beschreibt somit die Ionenmobilität die Gleichgewichtsgeschwindigkeit eines Ions in einem definierten Driftgas und hängt bei konstanten Rahmenbedingungen (Temperatur, Druck) ausschließlich von molekül- bzw. ionenspezifischen Parametern wie der Masse, Ladung und Form ab^{13,14}.

Beim DTIMS wird typischerweise der Ionenstrom über die Zeit gemessen und ein Gauß-förmiges Signal bei eintreffenden Ionen am Detektor generiert. Diese Signalverbreiterung ist durch Diffusionsprozesse der Ionen unter Atmosphärendruck innerhalb der Driftröhre zu erklären.

2.1.4 Detektor

Der Detektor befindet sich im Anschluss an die Driftregion und wandelt einen Schwarm gasförmiger Ionen in ein messbares elektrisches Signal um. Dieses beinhaltet die Ankunfts- oder Driftzeit und die Signalamplitude. Somit ist der Ionendetektor ausschlaggebend für das auszuwertende Messsignal und sollte eine Reihe idealer Voraussetzungen erfüllen, um mögliche Verluste bei der Sensitivität und dem Auflösungsvermögen zu minimieren. Er sollte insbesondere reproduzierbare Messungen erlauben, eine hohe Lebensdauer sowie einen geringen Wartungsaufwand und ein geringes Rauschlevel aufweisen, einen weiten Massenbereich der Ionen abdecken und universell einsetzbar sein. Darüber hinaus sollte der Detektor eine kurze Ansprech- und Wiederanlaufzeit aufweisen, um eine hohe Auflösung zwischen verschiedenen Ionenpaketen zu gewährleisten.

Im Fall des DTIMS wird hierfür häufig eine Faraday-Platte als Detektor eingesetzt. Treffen Ionen auf die Faraday-Platte, werden diese neutralisiert und der daraus resultierende Strom, meist im Bereich von wenigen nA , wird als Messsignal aufgenommen. Hierbei ist der resultierende Strom I direkt proportional zu der Anzahl der eintreffenden Ionen N .

Um die Faraday Platte vor einer negativen Beeinträchtigung durch die ankommenden Ionenwolken zu schützen, die sich unmittelbar vor dem Detektor befinden, wird häufig ein Apertur-Gitter vor dem

Detektor installiert. Dieses verhindert eine Ladungsverschiebung von Elektronen innerhalb der Detektorplatte durch eintreffende Ionenwolken, was sonst zu einer Signalverbreiterung führen würde, und die Auflösung entsprechend verringert. ¹³

2.2 Kenngrößen der Ionenmobilitätsspektrometrie

Die Ionenmobilitätsspektrometrie ist in den Fachbereich der instrumentellen Analytik einzuordnen. Dieser Bereich der Analytischen Chemie beschäftigt sich insbesondere mit der Identifizierung und Analyse unbekannter Proben in geringsten Konzentrationen. Um eben diese unbekanntes Proben zu analysieren bedient sich die Ionenmobilitätsspektrometrie spezifischer Kenngrößen aus der instrumentellen Analytik, um die ermittelten Ionenmobilitätsspektren qualitativ und quantitativ auswerten zu können.

2.2.1 Qualitative Auswertung

Die Ionenmobilitätsspektrometrie überzeugt zum einen besonders durch ihre hohe Nachweisstärke, aber auch im Bereich der qualitativen Analyse komplexer Proben durch ihre hohe Trennleistung. Um ein Ionenmobilitätsspektrum qualitativ untersuchen zu können, müssen die wichtigsten Parameter, die **Resolving Power** – R_p – und die **Resolution** – R –, definiert werden.

Im Fall der *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometrie ist die *Resolving Power* definiert als das Verhältnis der Driftzeit t_d zur vollen Breite bei halbem Maximum w_h eines Signals bzw. Ionenschwarms (siehe Gleichung 7) ⁴².

$$R_p = \frac{t_d}{w_h} \quad (7)$$

Um die Trennleistung zweier benachbarter Signale zu beschreiben, bedient sich die Ionenmobilitätsspektrometrie an der Definition der *Resolution* aus dem Feld der Chromatographie. Zur Berechnung der *Resolution* werden die Driftzeiten (t_1, t_2) der zu untersuchenden benachbarten Signale und dessen Halbwertsbreiten (w_1, w_2) ins Verhältnis gesetzt (siehe Gleichung 8) ¹³.

$$R = \frac{2 * (t_2 - t_1)}{w_2 + w_1} \quad (8)$$

2.2.2 Quantitative Auswertung

Da das mittels IMS gemessene Integral des Stromsignals (Ladung) im Idealfall direkt proportional zur Anzahl auf dem Detektor eintreffender Ionen ist, können Analyten quantitativ gemessen werden. Um einen spezifischen Zusammenhang zwischen der Größe des integrierten Stromsignals und der eingegebenen Konzentration und Menge des Analyten herzustellen, wird eine Bezugsfunktion eine

sogenannte **Kalibrierfunktion** erstellt. Einmal durchgeführt, ist es mit diesem Funktionszusammenhang möglich dem Messsignal einer unbekannt Probe eine entsprechende Analytkonzentration zuzuordnen. Neben der Messwertzuordnung erfolgt, durch die Messung verschiedener Kalibrierpunkte und aus der Anzahl n der Einzelmessungen, auch die Angabe der Messwertgenauigkeit bzw. des Vertrauensbereichs der Kalibrierfunktion. Die Kalibrierfunktion und dessen Vertrauensbereich erlauben darüber hinaus auch Aussagen über die Leistungsfähigkeit eines Analyseverfahrens. So erlaubt eine Kalibrierfunktion Rückschlüsse auf die **Empfindlichkeit** – durch die Steigung der Bezugfunktion – und die **Präzision** – durch den Vertrauensbereich der Bezugfunktion – des jeweiligen Analyseverfahrens ³⁵.

Anhand des *Linear Dynamic Range* – **LDR** – einer Kalibrierfunktion kann angegeben werden, in welchem Bereich das Analyseverfahren linear arbeitet und somit eine zuverlässige Quantifizierung erfolgt. Dies ist besonders im Feld der *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometrie zu beachten, da es bei höheren Konzentrationen vermehrt zur Bildung von Dimeren und Trimeren kommen kann (siehe Kapitel 2.1.1), was bei der Quantifizierung sowie der Erstellung der Kalibrierfunktion gesondert zu beachten ist.

Für die eigentliche Quantifizierung einer Probe mit einem IMS muss jedoch zunächst ein beliebiges Messsignal im Ionenmobilitätsspektrum als Signal identifiziert werden können. Im Fall des DTIMS, unter Verwendung einer Ionisierungsquelle, dessen Anregungsenergie oberhalb dem des Wassers liegt, ist auch ohne Probenzufuhr das Signal des RIPs und der Basislinie des Ionenmobilitätsspektrums zu sehen (siehe Kapitel 2.1.1). Die Fluktuation eines Hintergrundsignals wird allgemein als das Rauschen definiert und eine Änderung des Rauschens, bei Analytzufuhr als Analytsignal bzw. als Signal. Die geringste nachweisbare Analytkonzentration eines Messsystems wird als Detektionslimit bzw. *Limit of Detection* – **LOD** – bezeichnet. Hierbei ist das Signal je nach Definition mindestens dreimal größer als das Rauschlevel. Anders ausgedrückt muss das Signal-Rausch-Verhältnis bzw. *Signal-to-Noise Ratio* – **SNR** – also mindestens drei betragen, um als geringste nachweisbare Analytkonzentration definiert werden zu können ⁴³. Während die mittlere Signalthöhe bei der Ermittlung des SNRs häufig leicht zu definieren ist, stellt die Definition des Rauschlevels teilweise eine Herausforderung dar, weil sie abhängig von der jeweiligen analytischen Methode ist. Im Feld der Chromatographie ist das Rauschen als Differenz aus dem maximalen und minimalen Wert während einer Blindwertmessung, in der Regel über einen Bereich der 20-fachen Halbwertsbreite des untersuchten Analytsignals, definiert ⁴⁴. Im Bereich der Spektroskopie hingegen wird das SNR als Signal zur Standardabweichung des Rauschens definiert ⁴⁵. Hierbei ist das Signal mindestens dreimal größer als der Mittelwert des Rauschens addiert mit dem dreifachen seiner Standardabweichung. Da für das Feld der Ionenmobilitätsspektrometrie keine genaue Definition des SNRs (speziell für das Rauschlevel) gegeben ist, bedient man sich hier an Definitionen aus anderen Fachgebieten. Da in dieser Arbeit stets gemittelte

Theoretische Grundlagen

Ionenmobilitätsspektren betrachtet werden, wurde zur Vermeidung einer aufwendigen Fehlerfortpflanzung das Rauschen eines Ionenmobilitätsspektrums als 3-fache Standardabweichung eines gemessenen Wertes der Basislinie vor dem RIP in Anlehnung an die Definition aus dem Feld der Spektroskopie definiert. In Abbildung 4 dargestellt ist ein aus mehreren Einzelspektren gemitteltes Ionenmobilitätsspektrum mit RIP und einem Signal. Vergrößert ist ein zufällig gewählter Bereich zeitlich vor dem RIP in dem ein gemittelter Einzelpunkt gewählt und dessen 3-fache Standardabweichung (3σ) als Rauschen dieses Spektrums definiert ist.

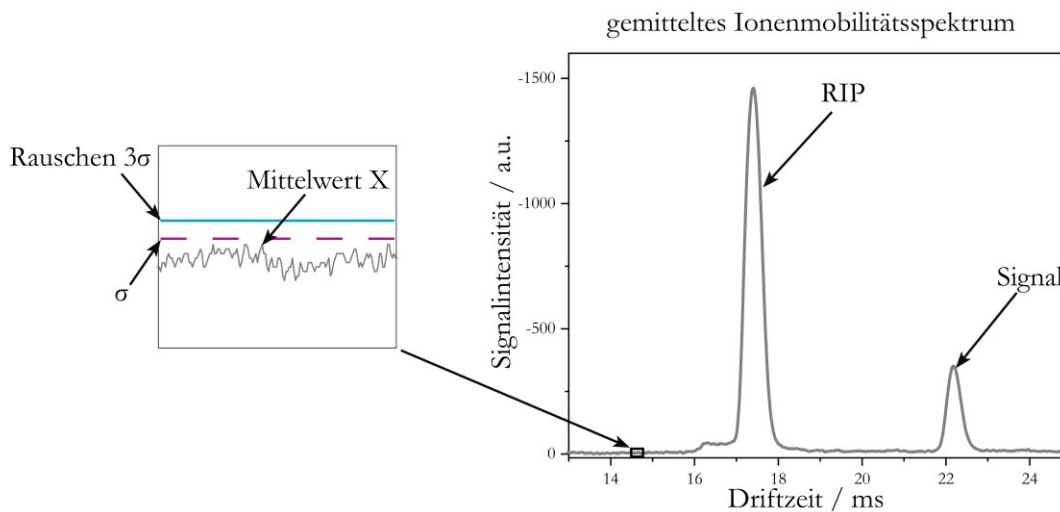


Abbildung 4: Darstellung wie in dieser Arbeit das Rauschen zur Bestimmung des SNR definiert wurde. Das Rauschen wurde als die 3-fache Standardabweichung (3σ) eines zufälligen Wertes X des gemittelten Ionenmobilitätsspektrums definiert.

Die vorher dargestellte Methode ermöglicht die Identifizierung eines Messsignals innerhalb eines Ionenmobilitätsspektrums. Bei einer Vielzahl an Messpunkten einer Kalibrierung kann eine weitere Methode angewandt werden. Die Methode von Hubaux und Vos (siehe Abbildung 5) ermöglicht anhand einer linearen Kalibrierfunktion unter zur Hilfenahme ihrer Konfidenzintervalle die Abschätzung des LOD ohne Blindwertmessungen bzw. dessen Überprüfung ⁴⁶.

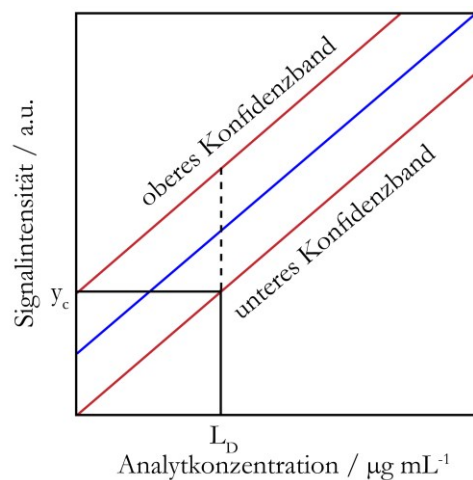


Abbildung 5: Graphische Darstellung zur Ermittlung des LODs nach Hubaux und Vos. Das untere und obere Konfidenzband und die Ebene durch den Punkt y_c und L_D (LOD) sind dargestellt.

Bei dieser Methode wird das LOD (L_D in Abbildung 5) ermittelt, indem die horizontale Ebene durch den Punkt y_C (dem Punkt an dem das obere Konfidenzband die y-Achse schneidet) das untere Konfidenzband schneidet. Alle in dieser Arbeit definierten LODs wurden nach dieser Methode über das L_D ermittelt und definiert.

Anhand aller in diesem Kapitel vorgestellten Parameter (R_p , R , LOD und LDR) können die Spektren unterschiedlicher IMS verglichen und deren jeweilige *Performance* beurteilt werden.

3 Überwachung mikrobiellen Wachstums

Die Wissenschaft und Lehre der Mikrobiologie befasst sich mit Lebewesen, welche mit dem menschlichen Auge nicht erkennbar sind, deren Größe daher unterhalb der Auflösungsgrenze von 20 µm liegen ⁴⁷. Im Mittelpunkt stehen hier insbesondere die Bakterien – *Bacteria* – welche neben den *Archaeen* und den Eukaryoten zu den drei grundlegenden Domänen zählen, in die sich alle Lebewesen einteilen lassen ⁴⁸.

Für den menschlichen Körper sind viele Bakterien ungefährlich, nützlich oder schützen uns sogar vor schädlichen Erregern, wie beispielsweise unsere Darmflora. Einige sind für den Menschen jedoch nicht nur schädlich, sondern können lebensgefährliche Krankheiten hervorrufen. Diese Krankheiten verursachenden Bakterien zählen zu den Pathogenen und spielen insbesondere in der Medizin aber auch z.B. in der Lebensmittelsicherheit eine große Rolle.

Im Falle einer bakteriellen Infektion ist die wirksamste Behandlung eine schnelle Antibiotikatherapie. Entscheidend hierbei ist die Identifizierung des Keims um ein spezifisches hochwirksames Antibiotikum verabreichen zu können und somit die Wahrscheinlichkeit einer Genesung – *Outcome* – eines Patienten zu maximieren. Der Nachweis einer bakteriellen Infektion und die Identifizierung eines Bakteriums erfolgt auch noch heutzutage durch mikrobielle Kultivierung und anschließenden mikrobiologischen Tests im Labor. Diese Untersuchungsschritte benötigen Stunden bis hin zu einigen Tagen weshalb zunächst ein Breitbandantibiotikum verabreicht wird. Dies wiederum führt zu Einem nicht immer zur erfolgreichen Genesung und begünstigt zum Anderen die Mutation von Bakterien hinsichtlich Antibiotikaresistenzen ⁴⁹. Auf Grund dessen besteht heutzutage großer Bedarf an der Entwicklung neuer, alternativer Methoden zur Überwachung und Identifizierung von mikrobiellem Wachstum in kürzester Zeit, im Optimalfall in Echtzeit – *On-line*.

3.1 Detektion und Überwachung Sepsis-relevanter Keime

Die Anwesenheit bzw. der Nachweis von Bakterien im Blut wird als Bakteriämie bzw. *Blood Stream Infection* – BSI – bezeichnet und kann ursächlich für die Entstehung einer Sepsis sein. Während eine Bakteriämie symptomlos verläuft, treten bei einer Sepsis schwere klinische Zeichen einer Infektion auf, welche meist mit einer kostspieligen intensivmedizinischen Behandlung einhergehen oder gar mit dem Tod enden⁵⁰. Der aktuelle Goldstandard zur Bestätigung einer Sepsis ist die Kultivierung von Blutproben. Dies geschieht anhand standardisierter Blutkulturflaschen mit integriertem CO₂-Indikator. Die Detektion mikrobiellen Wachstums durch Farbumschlag des CO₂-Indikators benötigt zwischen 24 und 48 Stunden und die anschließende mikrobiologische Identifizierung des einzelnen Keims zusätzlich bis zu 5 Tage^{51, 52}.

In der Vergangenheit hat sich gezeigt, dass durch die Ionenmobilitätsspektrometrie oder auch Massenspektrometrie Bakterien-spezifische flüchtige Metabolite detektiert werden konnten⁵³⁻⁵⁵. Deshalb bietet dies die Grundlage für die Untersuchung des *Headspace*-Volumens von kommerziell erhältlichen, mit verschiedenen Keimen beimpften, Standardblutkulturflaschen. Es soll gezeigt werden, dass sich die Ionenmobilitätsspektrometrie gekoppelt mit einer gaschromatographischen Vortrennung – GC-IMS – als vielversprechende Methode zur schnellen Detektion und Identifizierung Sepsis-relevanter Keime eignet^a. Teilergebnisse dieses Kapitels sind in der Publikation von Drees et al. veröffentlicht⁵⁶.

^a Diese Untersuchungen wurden im Rahmen des Verbundprojektes „Frühe adäquate Sepsis-Therapie durch *Point-of-Care* Blutkulturdiagnostik mittels Ionenmobilitätsspektrometrie“ (FAST-IMS: Förderzeichen: 13GW0191B), insbesondere in enger Zusammenarbeit mit der Anästhesiologie der Universitätsmedizin Göttingen, durchgeführt.

Blutkulturflaschen. Untersucht wurden Blutkulturflaschen der Firma Biomérieux (Gesamtvolumen ca. 70 mL) mit aerobem Medium (BacT/ALERT FA Plus (Ref. 410851) mit 30 mL komplexem Kulturmedium) und anaeroben Medium (BacT/ALERT FN Plus (Ref. 410852) mit 40 mL komplexem Kulturmedium). Sie bestehen aus einem Plastikkorpus, einem Septum, dem Medium und einem integrierten CO₂-Indikator, wie in Abbildung 6 zu sehen.

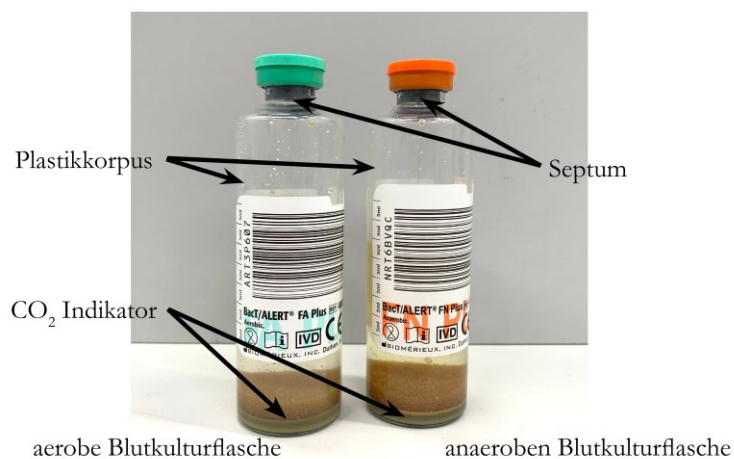


Abbildung 6: Photographie einer aeroben (BacT/ALERT FA Plus) und einer anaeroben (BacT/ALERT FN Plus) Blutkulturflasche der Firma Biomérieux. Zu sehen sind die mit komplexen Medien gefüllten Flaschen, das Septum und der CO₂ Indikator am Flaschenboden.

GC-IMS. Die Messungen für die mikrobiellen Untersuchungen wurden mit einem kommerziell erhältlichen Probenschleifen-GC-IMS der Firma G.A.S. (Gesellschaft für analytische Sensorsysteme mbH, Dortmund, Deutschland) durchgeführt. Zur Vortrennung wurde eine GC-Säule (MXT-5 30 m x 0.53 mm x 1 µm, RESTEK, Pennsylvania, USA) isotherm bei 60 °C verwendet und zunächst ein initialer Fluss von 30 mL min⁻¹ für 20 ms angelegt. Im Anschluss daran wurde eine Flussrampe von 1 mL min⁻¹ über 10 min auf 3 mL min⁻¹ eingestellt und darauffolgend eine zweite Flussrampe von 3 mL min⁻¹ über 5 min bis auf 50 mL min⁻¹ gefahren. Als Trägergas wurde synthetische Luft 5.0 (Reinheit = 99,999 %) verwendet. Das IMS ist mit einer ³H β-Strahlungsquelle (370 MBq) ausgestattet, die Driftrohre hat eine Länge von 9,8 cm und wurde mit 5 kV an Driftspannung sowie einem Driftgasfluss (synthetische Luft 5.0, Reinheit = 99,999 %) von 150 mL min⁻¹ isotherm bei 45 °C betrieben. Die 1 mL Probenschleife und die Transferline des IMS wurden ebenfalls bei 45 °C betrieben.

Probenahme. Um den *Headspace* der Blutkulturflaschen (aerob ca. 40 mL *Headspace*-Volume; anaerob ca. 30 mL *Headspace*-Volumen) untersuchen zu können, wurden zu Beginn zwei Ansätze verfolgt, die dynamische und die statische *Headspace*-Analyse. Für die dynamische *Headspace*-Analyse wurde in einer Machbarkeitsstudie ein Adapter aus kommerziell erhältlichen Teilen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland), entwickelt (siehe Abbildung 7A). Durch diesen Adapter wurde durch eine Zuleitung permanent Stickstoff durch die jeweilige Blutkulturflasche und durch eine Ableitung in die Probenschleife des GC-IMS gespült. Hier zeigte sich jedoch bei den anaeroben Blutkulturflaschen, dass nach einigen Stunden eine Verfärbung des Blutkulturmediums zu beobachten war. Obwohl

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) als Spülgas verwendet wurde, war diese Verfärbung auf eine Sauerstoffkontaminierung (siehe Abbildung 7B) zurückzuführen. Deshalb wurde die dynamische *Headspace*-Analyse nicht weiterverfolgt, obwohl sie – wie sich im Verlauf zeigte – vergleichbare Ergebnisse lieferte wie die im Anschluss verwendete statische *Headspace*-Analyse mittels gasdichter Spritze (CTC Analytics AG, Zwingen, Schweiz).

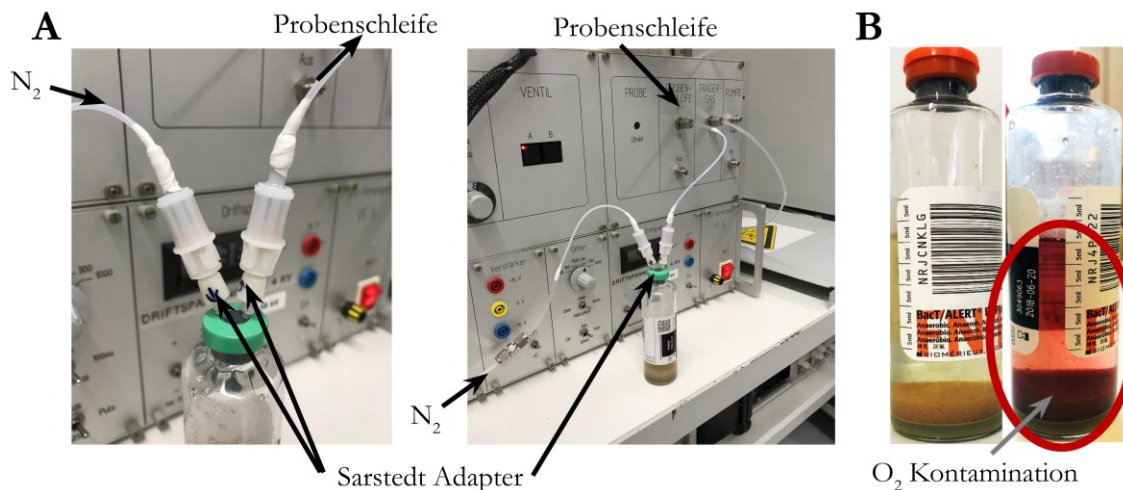


Abbildung 7: A Darstellung des Adapters aus verschiedenen Sarstedt Teilen zur dynamischen *Headspace*-Analyse. B Darstellung der durch eine Sauerstoffkontamination hervorgerufene Verfärbung des Nährmedium der anaeroben Blutkulturflasche, verursacht durch das dynamische *Headspace*-Analyse Verfahren.

Bei der statischen *Headspace*-Analyse wurde händisch mittels GC-Spritze ein Probengasvolumen von 1 mL aus dem *Headspace* der Blutkulturflaschen entnommen und in die Probenschleife injiziert. Anschließend wurde die Messung gestartet indem die Probenschleife für 6 s mit dem zuvor aufgeführten Säulenflussprogramm gespült wurde.

Hintergrundsignale. Zur Unterscheidung der Signale der spezifischen mikrobiellen Metaboliten von denen des Hintergrunds, wurden die *Headspace*-Volumina der verschiedenen Blutkulturflaschen sowohl mittels GC-IMS aber auch mittels Gaschromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie – GC-MS – untersucht. Um das reduzierte *Headspace*-Volumen nach Beimpfung der Blutkulturflaschen mit Blutproben nachzustellen, wurde in die sterilen Blutkulturflaschen 7,5 mL sterile Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) injiziert. Anschließend wurde mittels GC-IMS im positiven und negativen Modus eine Hintergrundmessung durchgeführt. Für die GC-MS Messungen wurde ein GC: Agilent Technologies 7890A und ein MS: Agilent Technologies 5975C inert XL *mass selective detector* – MSD – verwendet. Hierzu wurde 1 L *Headspace*-Volumen mittels *Needletrap* (PAS Technology Deutschland GmbH, Magdala, Deutschland, gefüllt mit Divinylbenzen, Carboxen 1000) aufkonzentriert und gemessen. Um 1 L *Headspace*-Volumen messen zu können, wurde mittels dynamischer *Headspace*-Probenahme analog zu Abbildung 7 unter Stickstofffluss das *Headspace*-Volumen in die *Needletrap* überführt. Die genauen GC-MS Parameter sind in der Publikation von Drees et al. ⁵⁶ zu finden. Mindestens 30 Minuten vor

und während einer jeden Messung wurde die Blutkulturflasche bei 37 °C inkubiert. Hierbei konnten die intensivsten Signale der Klasse der Siloxane bzw. den Silanen zugeordnet werden (siehe Abbildung 8). Diese sind durch Ausgasungen der Kunststoffflasche selbst bzw. des Septums der Blutkulturflaschen zu erklären, da sie sowohl bei den aeroben als auch bei den anaeroben Flaschen zu detektieren sind. Für die weitere Auswertung wurden diese Signale ausgeschlossen.

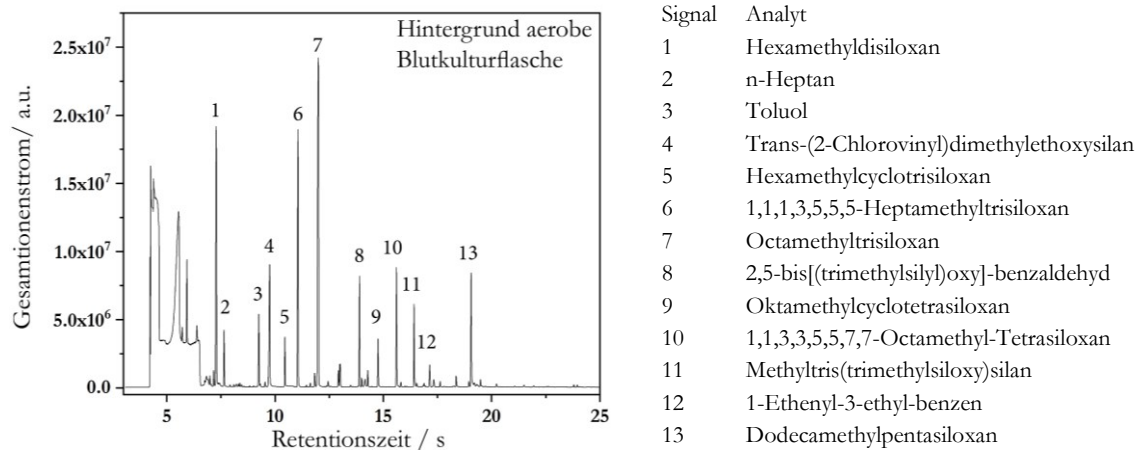


Abbildung 8: GC-MS Analyse der Hintergrundsignale einer aeroben Blutkulturflasche links, mit Auflistung der markantesten detektierten Signale rechts (nach ⁵⁶).

Detektion Keim-spezifischer Metaboliten. Zur Messung von Keim-spezifischen Metaboliten im *Headspace* der kommerziell erhältlichen Blutkulturflaschen wurden zunächst drei verschiedene Keime untersucht. Hierbei wurden klinisch relevante Bakterienstränge mit unterschiedlichen Wachstumsraten untersucht. Als relativ schnell wachsender Keim wurde *Escherichia coli* (DSM 25944) mit einer Verdopplungszeit von rund 20 Minuten ⁵⁷, als moderat wachsender Keim *Staphylococcus aureus* (DSM 13661) mit einer Verdopplungszeit von rund 24 Minuten ⁵⁸ und als relativ langsam wachsender Keim *Pseudomonas aeruginosa* (DSM 1117) mit einer Verdopplungszeit von rund 36 Minuten ⁵⁹ gewählt. Alle Keime wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen DSMZ (Braunschweig, Deutschland) erworben und in einen *lysogeny broth* – LB-Medium – als Übernachtskultur angesetzt. Gelagert wurden die Proben bei -80 °C in einer Stammlösung aus LB-Medium w/v 55% in Glycerin. Die Blutkulturflaschen wurden mit 1 mL einer 1:10 Verdünnung der Übernachtskultur-Lösung beimpft. Zusätzlich wurden 6 mL Blut (bereitgestellt von der Transfusionsmedizin der Universitätsklinik Göttingen als Vollblutprobe in EDTA S-Monovetten der Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) in die Blutkulturflaschen injiziert. Alle IMS-Messungen wurden in 3-fach Bestimmung durchgeführt, sowohl im positiven als auch im negativen Ionenmodus des IMS. Dabei erfolgten über 8 Stunden hinweg stündliche Messungen von jeweils 1 mL *Headspace*-Volumen nach der zuvor beschriebenen händischen Probenaufgabe mittels gasdichter Spritze.

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Innerhalb der 8 Stunden konnten für jeden Keim spezifische Signale detektierend werden, die sich signifikant vom Hintergrund und den jeweiligen anderen Keimen abgrenzten. Die verschiedenen Signale im positiven Ionenmodus mit den zugehörigen Retentionszeiten und inversen reduzierten Ionenmobilitäten sind in Abbildung 9A aufgezeigt. Im positiven und negative Ionenmodus konnten insgesamt 48 Signale ermittelt werden. Der Großteil der detektierten Signale (27) konnte dem relativ schnell wachsenden Keim *Escherichia coli* zugeordnet werden, gefolgt von dem moderat wachsendem Keim *Staphylococcus aureus* (10) und die wenigsten dem am langsamsten wachsenden Keim *Pseudomonas aeruginosa* (3). Darüber hinaus konnten noch weitere Signale detektiert werden, welche jedoch nicht nur einem Keim, sondern jeweils zwei oder sogar allen drei Bakterien, zugeordnet werden konnten. Besonders erwähnenswert ist hier, dass viele der Signale, analog zum bakteriellen Wachstum mit lag-Phase, exponentieller Phase und einer stationären Phase, ansteigen (siehe Abbildung 9B) und somit für Metaboliten sprechen. Andere Signale wiederum nehmen in ihrer Intensität ab, was auf flüchtige Substanzen aus dem Nährmedium hindeuten kann, welche vom jeweiligen Keim metabolisiert werden und dadurch im Zeitverlauf in ihrer Konzentration abnehmen. Anhand der Intensitätsverläufe einzelner, Keim-spezifischer Signale war es möglich ein Bakterienbefall der Blutkulturflasche mit der GC-IMS Methode festzustellen, noch bevor ein Umschlag des integrierten CO₂-Indikators der Blutkulturflasche erfolgte.

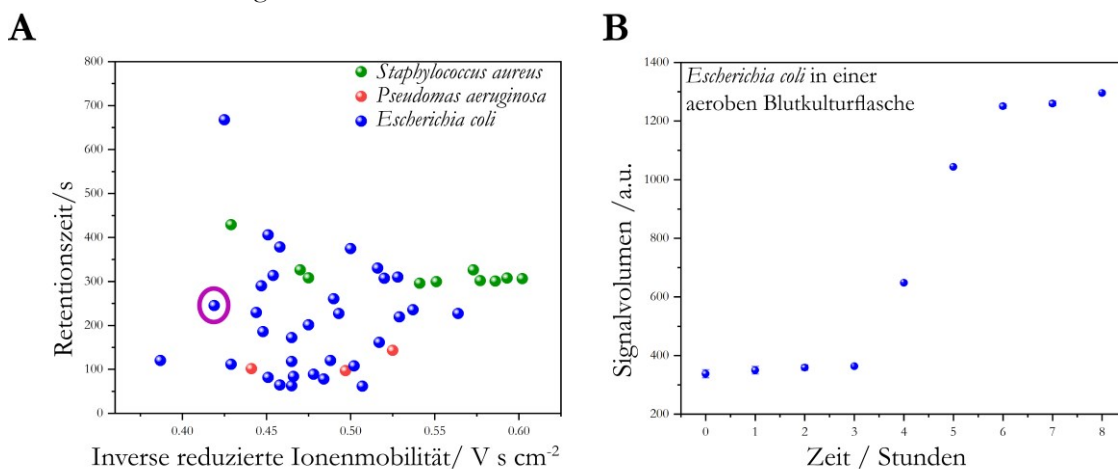


Abbildung 9: Signalmuster der detektierten Keim-spezifischen Signale im positiven Ionenmodus (GC Retentionszeit vs. inverse reduzierte Ionenmobilität). Grün sind die Signale markiert welche *Staphylococcus aureus*, rot *Pseudomonas aeruginosa* und blau *Escherichia coli* zugeordnet werden konnten. Die Keim-spezifischen Signale setzen sich signifikant von den Hintergrundmessungen und den anderen Keimmessungen ab. Bei einer Vielzahl der Signale konnte eine zeitabhängige Intensitätszunahme ermittelt werden. Beispielhaft ist dies für ein bei *Escherichia coli* (rechts) detektiertes Signal (links violett markiert) dargestellt. Besonders bemerkenswert ist hier die geringe Fehlerbehaftung der einzelnen Messpunkte (Standardabweichungen sind dargestellt).

Zusätzlich zu den durchgeführten GC-IMS Messungen erfolgten auch GC-MS Analysen, um die ermittelten GC-IMS Signale zu identifizieren. Jedoch konnten nur wenige GC-IMS Signale durch Referenz-Messungen von Reinsubstanzen zugeordnet werden, weshalb auf eine Auflistung und

Zuordnung der Signale an dieser Stelle verzichtet wurde^b. Weitere Untersuchungen hierzu werden jedoch im Rahmen dieses Projektes derzeit fortgeführt.

Differenzierung. Da für jeden der drei Keime spezifische Signale ermittelt werden konnten, welche im Zeitverlauf in ihrer Intensität zu- bzw. abnehmen, ist der nächste logische Schritt den frühestmöglichen Zeitpunkt zu bestimmen, an welchem die drei Keime eindeutig voneinander unterschieden werden können. Hierzu wurden die Daten, bei denen eine Keim-spezifische Steigerung der Signalintensität im positiven Ionenmodus detektiert wurde, anhand einer Hauptkomponentenanalyse bzw. *Principal Component Analysis* – PCA – strukturiert. In Abbildung 10 sind die Ergebnisse der PCA in *Biplot* Darstellung bei vier, fünf, sechs und sieben Stunden dargestellt. Hierbei sind die detektierten Signale (blaue Kreise) und die sechs unterschiedlichen Messreihen, jeweils anaerob (orange) und aerob (grün) für die drei untersuchten Keime (jeweils beschriftet), aufgetragen. In Abbildung 10 ist ersichtlich, dass mit Hilfe der PCA nach vier Stunden 73,36 %, nach fünf Stunden 82,18 %, nach sechs Stunden 93,75 % und nach sieben Stunden 91,06 % der Daten^c unter Zuhilfenahme lediglich zweier Hauptkomponenten (*Principal Component* – PC – 1 und 2) beschrieben werden können. Des Weiteren ist durch PC 1 nach vier Stunden eine Abgrenzung zwischen *Escherichia coli* und den anderen beiden Keimen, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*, möglich. Nach fünf Stunden Inkubation war durch Zuhilfenahme von PC 2 dann auch eine Differenzierung zwischen *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* ersichtlich. Durch eine weitere Stunde Inkubation separieren sich die Signale noch weiter, so dass nach sechs Stunden Inkubationszeit deutliche Cluster zu erkennen sind und die detektierten Signale eindeutig zugeordnet werden können.

^b Eine genaue Auflistung aller Signale und dessen Intensitätsverlauf (Anstieg bzw. Abstieg) ist in der Publikation von Drees et al.⁵⁶ zu finden.

^c Die prozentuale Angabe der insgesamt beschriebenen Daten ergibt sich durch die Addition der einzelnen prozentualen Angaben von PC 1 und PC 2 aus Abbildung 10.

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Somit können nach sechs Stunden Inkubationszeit die meisten Daten (93,75%) beschrieben und die Signale am besten zugeordnet werden, weshalb dieser Zeitpunkt als optimal für die Unterscheidung der einzelnen Keime einzuordnen ist. Die Reduktion der Datenbeschreibung (-2,69 %) nach sieben Stunden Inkubationszeit kann mit der Entstehung weiterer Signal-Cluster, wie Dimere bzw. Trimere zu erklären sein. Auf die genaue Auswertung dieser zusätzlichen Cluster wurde an dieser Stelle verzichtet, da durch die PCA der frühestmögliche Zeitpunkt zur Differenzierung der Keime ermittelt werden sollte. Zusammenfassend kann somit bereits an dieser Stelle gesagt werden, dass die Ionenmobilitätsspektrometrie gekoppelt mit einer gaschromatographischen Vortrennung ein hilfreiches Instrument zum schnellen Nachweis und zur Identifizierung Sepsis-relevanter Keime in Blutkulturflaschen darstellen kann.

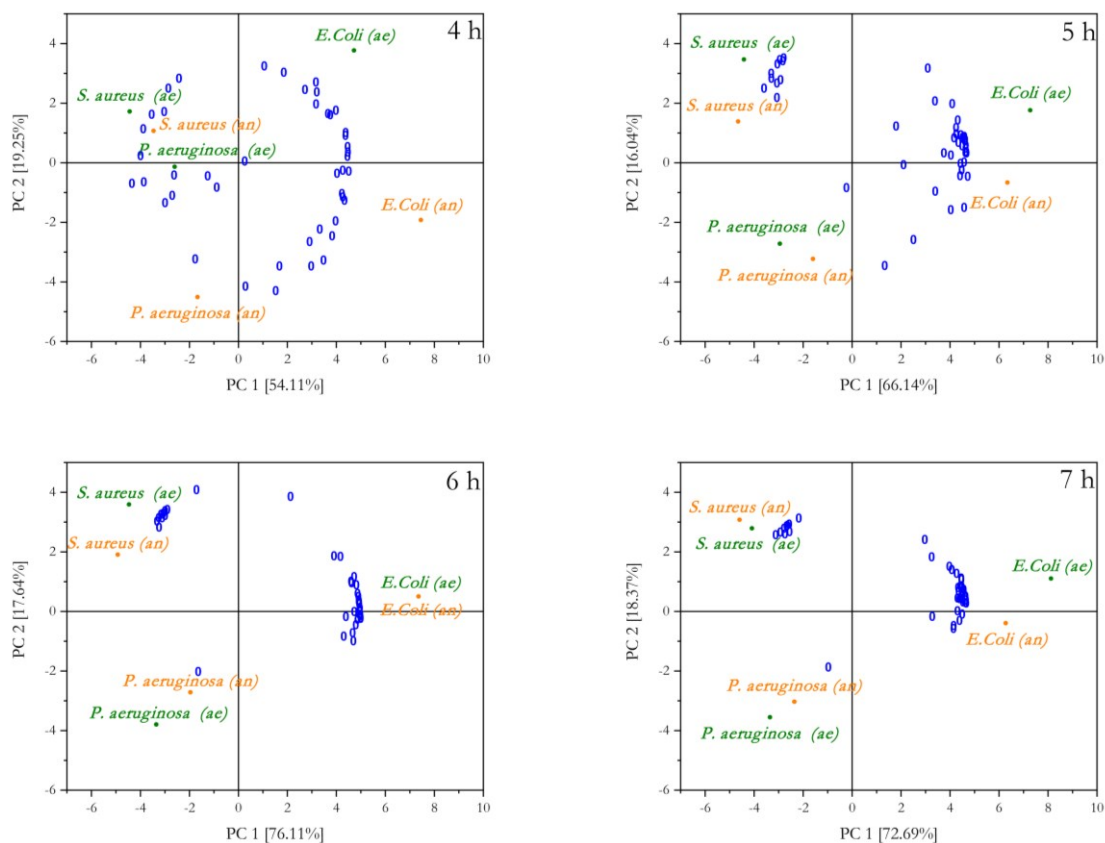


Abbildung 10: PCA Biplots der Messergebnisse nach 4, 5, 6 und 7 Stunden Inkubationszeit der aeroben (grün) und anaeroben (orange) Blutkulturflaschen. Eine klare Differenzierung der 3 unterschiedlichen Keime ist hier nach 6 Stunden möglich (nach ⁵⁶).

Um jedoch eine umfassende Datenbank an Metabolit-spezifischen, beziehungsweise Keim-spezifischen, Signalen zu generieren, mussten weitere Keime untersucht werden. Hierzu wurden weitere Messungen von *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus faecalis* nach drei und sechs Stunden Inkubationszeit durchgeführt. Jedoch wurde das Programm der gaschromatographischen Trennung hinsichtlich einer optimierten reduzierten Gesamtanalysezeit abgeändert. Es wurde hier isotherm bei 60 °C zunächst ein Fluss von 1,5 mL min⁻¹ angelegt und nach

70 s eine Flussrampe von 1,5 mL min⁻¹ auf 60 mL min⁻¹ innerhalb von 19 min gefahren. Die Probe wurde nach zuvor beschriebener GC-Methode für 10 s durch die Probenschleife auf die GC-Säule gegeben. Zur Wahrung der Vergleichbarkeit wurden die Messungen der drei zuvor genutzten Keime wiederholt.

In Abbildung 11 sind die Ergebnisse der PCA nach drei und sechs Stunden Inkubationszeit dargestellt. Aufgrund der gestiegenen Anzahl der Keime wird für eine bessere Übersicht zwischen aeroben (grün, oben) und anaeroben (orange, unten) Blutkulturen unterschieden. Als Signale wurden bei diesen Messungen erneut nur Signale im positiven Ionenmodus berücksichtigt, die sich signifikant von den anderen Keimen und dem Hintergrund der Blutkulturflaschen abgrenzen.

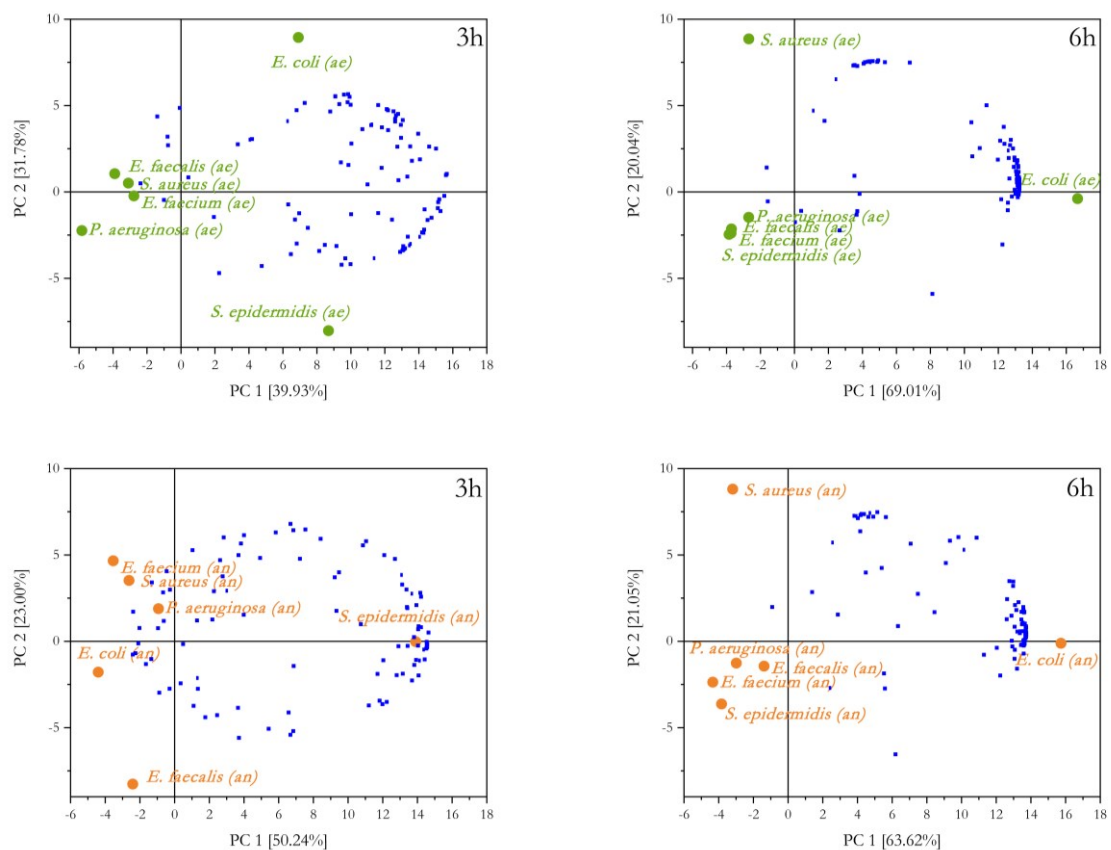


Abbildung 11: PCA Biplots der Messergebnisse nach 3 und 6 Stunden Inkubationszeit der aeroben (grün, oben) und anaeroben (orange, unten) Blutkulturflaschen.

Durch die PCA (Abbildung 11) ist ersichtlich, dass die Datenpunkte bei den aeroben und anaeroben Messungen nach drei Stunden noch breit gestreut sind. Bei den aeroben Messungen lassen sich durch PC 2 *Escherichia coli* und *Staphylococcus epidermidis* voneinander unterscheiden, jedoch ohne eine nennenswerte Clusterbildung der Signalpunkte. Bei den anaeroben Messungen scheint sich nach drei Stunden zunächst *Enterococcus faecalis* abzugrenzen. Nach weiteren drei Stunden (insgesamt sechs Stunden Inkubationszeit) verhält sich dies jedoch sowohl bei den aeroben als auch bei den anaeroben Messungen anders. Hier können, analog zu den ersten Ergebnissen aus Abbildung 10, eindeutige

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Signalcluster bei *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* in beiden Blutkulturflaschen ausgemacht werden. Den übrigen Keimen können nur vereinzelt Signalpunkte zugeordnet werden. Jedoch lässt sich durch PC 2 in den anaeroben Blutkulturen *Staphylococcus epidermidis* von den Keimen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* und *Pseudomonas aeruginosa* abgrenzen.

Dieser Messdurchlauf bestätigt somit die ersten Ergebnisse, in denen sich *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* nach insgesamt sechs Stunden Inkubationszeit eindeutig voneinander abgrenzen lassen. Für die übrigen drei Keime hingegen ist der Messzeitpunkt nach drei und sechs Stunden für eine Differenzierung jedoch ungeeignet.

Zusammenfassung. Es konnte gezeigt werden, dass für jeden untersuchten Bakterienstrang charakteristische Signale und eindeutige Signalmuster detektiert werden konnten. Als charakteristisch bzw. Keim-spezifisch wurden jene Signale definiert, welche sich signifikant von den jeweiligen Signalen bzw. Signalmustern der sterilen Kulturmedien unterschieden. Ein Großteil der detektierten Signale nimmt in ihrer Intensität im Zeitverlauf zu und sie verhalten sich im Zeitverlauf der Inkubation analog zu einer typischen bakteriellen Wachstumskurve mit anfänglicher lag-Phase, exponentieller Phase und einer stationären Phase. Dies spricht für Metabolite, welche von den unterschiedlichen Keimen produziert werden. Andere Signale hingegen weisen einen zeitabhängigen Intensitätsverlust auf. Dies kann ein Hinweis auf Substanzen oder Nährstoffe aus den Nährmedien selbst sein, welche durch eine steigende Anzahl an Bakterien metabolisiert und somit verbraucht werden. Einige der detektierten Signale konnten durch Referenzmessungen identifiziert und zugeordnet werden, wie beispielsweise Aceton, 2-Pentanon und auch Dimethylsulfid ⁵⁶. Diese Substanzen wurden auch in früheren unabhängigen Studien bereits als Keim-spezifische Metaboliten detektiert. So wurde Aceton als spezifischer Metabolit für *Escherichia coli* von Bunge et al. ⁶⁰ beschrieben, 2-Pentanon wurde in einer mit *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* kontaminierten Milchkultur von Hettinga et al. ⁶¹ identifiziert und Dimethylsulfid wurde von Umber et al. ⁶² als spezifischer Metabolit für *Escherichia coli* bezeichnet. Da jedoch noch nicht alle Signale identifiziert und zugeordnet werden konnten, bedarf es hier in Zukunft weiterer intensiverer Untersuchungen um die detektierten Signale zu identifizieren und Rückschlüsse auf deren genauen bakteriellen Ursprung zu ermöglichen. Dies wäre beispielsweise durch gezieltes Isotopen-Labeling relevanter Ausgangsstoffe für den jeweiligen bakteriellen Stoffwechsel und einer anschließenden massenspektrometrischen Messung möglich, wie es bereits von Dickschat et al. ⁶³ für das Bakterium *Mycococcus xanthus* beschrieben wurde.

Eine Unterscheidung verschiedener Sepsis-relevanter Keime in Standard-Blutkulturflaschen war jedoch auch ohne eine Identifizierung der Signale mit Hilfe einer Datenstrukturierung durch eine Hauptkomponentenanalyse möglich. So konnte eine eindeutige Unterscheidung in Echtzeit durch stündliche GC-IMS-Messungen des *Headspace*-Volumens der Blutkulturflaschen zwischen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* nach bereits sechs Stunden erfolgen. Bei der

genaueren Untersuchung einzelner Zeitverläufe der Signale eines Keims, war es zudem möglich eine bakterielle Kontamination der Blutkulturflasche festzustellen, noch bevor der integrierte CO₂-Indikator der Blutkulturflasche umschlug.

Messungen weiterer Keime, von *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus faecalis*, hingegen konnten nach drei und sechs Stunden noch nicht eindeutig voneinander unterschieden werden. Hier ist es deshalb notwendig weitere Messungen ggf. innerhalb eines längeren Zeitraums durchzuführen. Zusätzlich sollte in Analogie zu den ersten Messungen das Wachstum mit einer höheren zeitlichen Abtastrate beobachtet werden, und nicht nur nach drei bzw. sechs Stunden. Um dies zu ermöglichen muss jedoch eine Automatisierung der Probennahme und der Messungen durch einen Autosampler erfolgen. Dieser wurde im Rahmen dieses Verbundprojektes als Prototyp gefertigt und befindet sich derzeit in der Evaluierungsphase. Mit Hilfe automatisierter Messungen kann dann ein größeres Erregerpanel schneller und ausführlicher bearbeitet und untersucht werden, als mit der bisher händisch durchgeführten Probenahme.

3.2 Überwachung und Detektion von *Listeria monocytogenes*

Zu den am weitesten verbreiteten lebensmittlassoziierten pathogenen Bakterien zählen *Escherichia* spp., *Camphyllobacter* spp., *Salmonella* spp., und *Listeria* spp.⁶⁴. Insbesondere von mit *Listeria monocytogenes* kontaminierten Lebensmittelrückrufaktionen ist immer wieder zu hören, allen voran der große „Wilke-Wurst-Skandal“ aus dem Jahre 2014. *Listeria monocytogenes* zählt zu den gram-positiven Stäbchenbakterien der Gattung *Listeria* und zeichnet sich durch seine hohe Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Umgebungen aus. So überleben sie sowohl bei niedrigen Temperaturen zwischen 2 – 4 °C, niedrigem pH-Wert und osmotischen Stress (z.B. durch hohe Salzkonzentrationen)⁶⁵. Dadurch kann dieser pathogene Erreger einige Sicherheitsbarrieren und Konservierungsprozesse bei der Lebensmittelherstellung überwinden und ist deshalb nicht nur in Rohmilchprodukten zu finden. Die durch *Listeria monocytogenes* hervorgerufene Krankheit wird als Listeriose bezeichnet und wird vornehmlich durch den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln verursacht. Zudem weist sie im Vergleich zu anderen lebensmittlassoziierten Keimen eine erhöhte Letalität auf. So infizierten sich laut Robert Koch-Institut im Jahre 2018 etwa 701 Personen von denen 31 auf Grund einer Listeriose verstarben⁶⁶.

Analog zur Detektion Sepsis-relevanter Keime im Blut ist auch bei dem Nachweis von *Listeria monocytogenes* der Goldstandard die mikrobiologische Kultivierung und Untersuchung im Labor oder der Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion bzw. *polymerase chain reaction* – PCR –, welche jedoch mit einem Zeitaufwand von mehreren Tagen verbunden ist⁶⁷. Deshalb kommt es des Öfteren zu Lebensmittelrückrufaktionen, da das Ergebnis einer Kontamination des Lebensmittels erst nach Weiterverarbeitung, oder sogar nach Auslieferung und Verkauf vorliegt.

Da im vorherigen Kapitel 3.1 gezeigt werden konnte, dass zwischen unterschiedlichen Keimen in einem Medium eine Differenzierung und Identifizierung bereits nach wenigen Stunden möglich ist, soll im Folgenden der Einfluss unterschiedlicher Kulturmedien auf ein Bakterium, bzw. auf die durch das Bakterium verursachten Keim-spezifischen Signale, untersucht werden^d. Dies ist insbesondere von Bedeutung, da aktuelle Studien zeigen, dass das zu detektierende Signalmuster im *Headspace*-Volumen von Bakterienkulturen auch durch das jeweilige verwendete Kulturmedium beeinflusst wird^{62, 68}.

^d Diese Experimente wurden im Rahmen des Verbundprojektes „Entwicklung eines Schnelldetektionssystems für die Detektion von *Listeria monocytogenes* in Milch“ (QS-Listeria: Förderzeichen: ZF4162102AW7), insbesondere in enger Zusammenarbeit mit dem Unternehmen Quh-Lab Lebensmittelsicherheit in Siegen, durchgeführt.

Medium. Zur Kultivierung von *Listeria monocytogenes* wurden deshalb zwei verschiedene Kulturmedien verwendet und untersucht. Zum einen wurde eine kommerzielle Hirn-Herz-Glucose-Bouillon bzw. *Brain Heart Infusion Broth* – BHI – (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland), verwendet, welche für die Kultivierung anspruchsvoller Mikroorganismen geeignet ist. Zum anderen wurde zur Darstellung einer Realprobe Milch (H-Milch, 3,5 %) als Kulturmedium eingesetzt.

GC-IMS. Das für diese Untersuchungen verwendete GC-IMS wurde am ISAS e.V. (Dortmund, Deutschland) entwickelt und gebaut. Es besitzt eine ^3H β -Strahlungsquelle und eine 12 cm lange Driftrohre. Das IMS wurde mit einer Hochspannung von 4,38 kV und einem Driftgasfluss von 150 mL min^{-1} synthetischer Luft 5.0 (Reinheit = 99,999 %) bei Umgebungstemperatur und –druck betrieben. Zur Vortrennung wurde eine GC-Säule (MXT-5 15 m x 0.53 mm x 1 μm , RESTEK, Pennsylvania, USA) isotherm bei 60 °C und einem konstanten Säulenfluss von 20 mL min^{-1} an synthetischer Luft 5.0 (Reinheit = 99,999 %) betrieben. Hier ist zu beachten, dass der gewählte Säulenfluss oberhalb der für eine optimale Trenneffizienz nach der Van Deemter Gleichung ermittelten linearen Flussgeschwindigkeit für die gewählte GC-Säule liegt. Jedoch wurde an dieser Stelle auf eine maximale Trennleistung verzichtet, da halbstündliche Messungen durchgeführt werden sollten, was die Messung mit einem geringeren Säulenfluss deutlich erschwert hätte. Des Weiteren ist das IMS mit einer 1 mL Probenschleife ausgestattet, welche auf 70 °C beheizt wurde. Der angelegte Probengasfluss durch die Probenschleife betrug 300 mL min^{-1} . Um ein definiertes Probevolumen auf die GC-Säule zu geben, ist das GC-IMS mit einem 6-Wege-Ventil ausgestattet, welches durch eine wählbare Ventilöffnungszeit das zu untersuchende Probevolumen bestimmt.

Probenahme. Auf Grund der Erfahrungen aus Kapitel 3.1, dass sich ein längerer Beobachtungszeitraum des bakteriellen Wachstums für eine detaillierte und weiterführende Untersuchung insbesondere bei geringeren Ausgangskonzentrationen von Bakterien für äußerst sinnvoll erwies, wurde für die Untersuchung von *Listeria monocytogenes* ein Autosampler entwickelt. Somit soll ein längerer Zeitraum mit einer höheren Wiederholgenauigkeit beobachtet werden. Im Gegensatz zu den Messungen Sepsis-relevanter Keime soll bei *Listeria monocytogenes* nicht der *Headspace* einer verschlossenen Kulturflasche, sondern der *Headspace* von offenen Petrischalen untersucht werden, was die Anforderungen an ein geeignetes und kontrolliertes Probennahme-System deutlich erhöht. Im ersten Ansatz wurde hierzu erneut die dynamische *Headspace*-Analyse mit einer geschlossenen und beheizten Kammer (siehe Abbildung 12) erprobt.

Diese Kammer wurde kontinuierlich mit einem Probengasfluss gespült und in die Probenschleife des GC-IMS geleitet. Zu definierten Zeitpunkten wurde dann eine Messung gestartet und das in der Probenschleife befindliche Volumen auf die GC-Säule überführt. Dies erwies sich jedoch als ungeeignet, da durch den kontinuierlichen Fluss der zu analysierende *Headspace* zu stark verdünnt wurde. Zusätzlich war eine Quantifizierung der detektierten Signale nicht möglich, da durch den

Überwachung mikrobiellen Wachstums

kontinuierlichen Probengasfluss durch die Probenschleife *Memory*-Effekte von Analytmolekülen an den Innenseiten der Kammer und des Schlauchsystems nicht ausgeschlossen werden konnten.

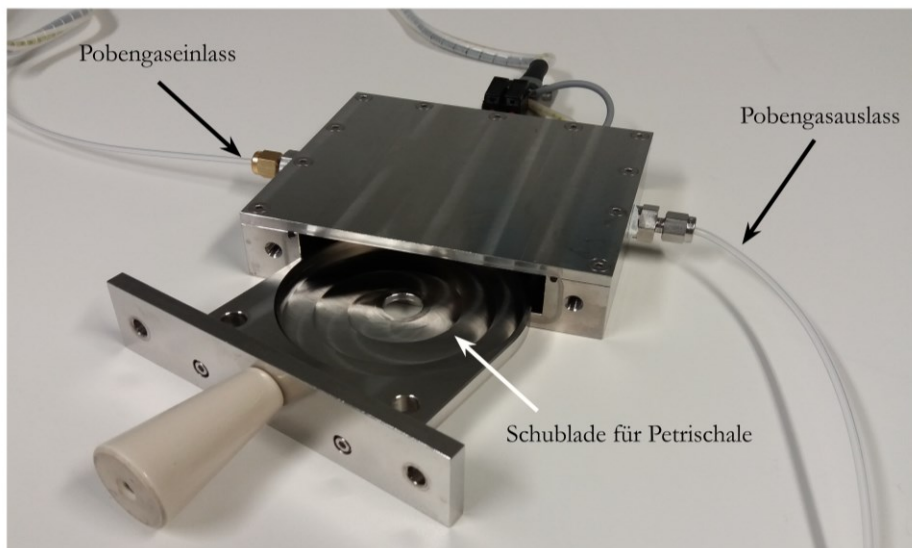


Abbildung 12: Photographie der bisher verfügbaren Bakterienkammer für die dynamische *Headspace*-Analyse. Die Kammer besteht vollständig aus Edelstahl. Die Petrischale wird in die Schublade eingelegt, worauf die Schublade dann durch Schrauben mit der Kammer verbunden und abgedichtet wird.

Um diese Effekte zu minimieren, wurde das Design der Kammer grundlegend neu entworfen und gefertigt, wie in Abbildung 13 dargestellt ist. Diese Kammer dichtet gegenüber der Petrischale durch eine gegossene Dichtung aus Polydimethylsiloxan – PDMS – ab und der Probengasfluss fließt durch die entwickelte Spiral-Struktur homogen und nicht turbulent über die Bakterienkultur und leitet die Probe in die Probenschleife des GC-IMS.

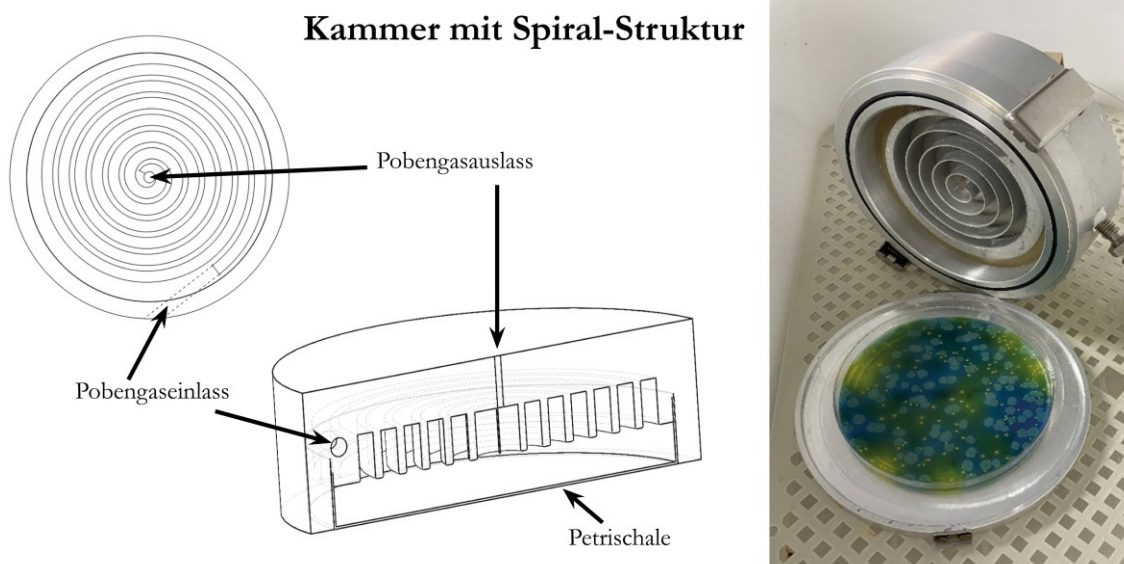


Abbildung 13: CAD-Zeichnung der neu angefertigten Probenkammer zur Messung des *Headspace* über einer Bakterienkultur in einer Petrischale. Die Kammer wurde zum einen dahingehend gefertigt, dass der Deckel gegenüber der Petrischale abdichtet. Zum anderen wurde die Struktur des Deckels und dessen Probengasein- bzw. -auslass so entworfen, dass ein homogener Fluss oberhalb der Bakterienkultur entsteht und in die Probenschleife des GC-IMS geleitet wird.

Um diese Probenkammer nicht permanent mit einem Probengasfluss zu spülen, wurde am Gaseinlass bzw. -auslass jeweils ein 3/2-Wege-Ventil zwischengeschaltet. Zusätzlich wurde das *Headspace*-Volumen mit dieser Methode auf den Bereich über der Petrischale reduziert, um ein konzentriertes Probevolumen zu erhalten. Die Steuerung der Ventile wurde mit dem verbauten 6-Wege-Ventil für die eigentliche Probenahme des GC-IMS gekoppelt. Die Anordnung und Schaltlogik aller genutzten Ventile ist in Abbildung 14 dargestellt. Zur Verdeutlichung sind die jeweiligen Probengas- und Säulengasflussrichtungen während der Inkubationszeit/Messung (Ventilstatus A) und während der Probenaufgabe auf die Probenschleife (Ventilstatus B) dargestellt. In Ventilstatus A erfolgt sowohl die Injektion des Probenschleifeninhalts auf die GC-Säule als auch die Inkubation der Bakterien innerhalb der Kammer. In Ventilstatus B erfolgt für eine definierte Ventilöffnungszeit eine Beladung der Probenschleife mit dem *Headspace*-Volumen aus der Bakterienkammer. Darauf folgt eine automatische Rückschaltung in Ventilstatus A, bei welcher erneut gleichzeitig das in der Probenschleife befindliche Probevolumen auf die GC-Säule des GC-IMS Systems injiziert wird und die Kammer für die nächste Probenahme inkubiert wird.

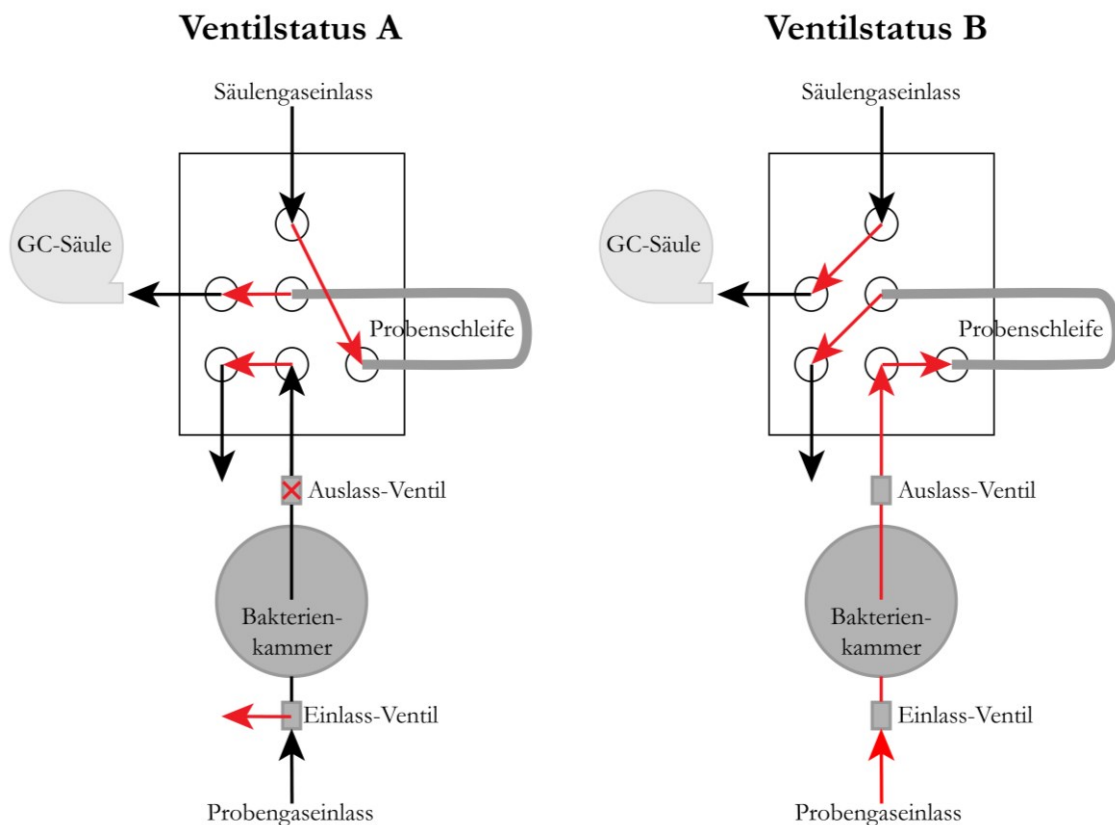


Abbildung 14: Steuerung der Ventile samt Probengas- und Säulengasflussrichtung. Ventilstatus A zeigt die Gasflüsse während einer Messung, bzw. nach einer Messung und während die Bakterienkultur in der Bakterienkammer inkubiert wird. Ventilstatus B zeigt die Gasflüsse bei der Aufgabe der *Headspace* Probe der Bakterienkultur in die Probenschleife, bevor die Probe auf die GC-Säule und anschließend ins IMS gegeben wird.

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Da insbesondere für ein konstantes Wachstum und für die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse die äußeren Rahmenbedingungen konstant gehalten werden müssen, wurde im letzten Schritt ein Inkubator für eine optimale Kultivierung von *Listeria monocytogenes* an das GC-IMS gekoppelt. Hierzu wurde ein Brutapparat (WilTec Wildanger Technik GmbH, Eschweiler, Deutschland), ursprünglich zur Kultivierung von Geflügeleiern, genutzt und mit Öffnungen für die Zu- bzw. Abführung der Gasverbindungen für die Bakterienkammer versehen. Die Heizung der neu entwickelten Bakterienkammer wurde gezielt separiert, um in dem deutlich größeren Innenvolumen des Inkubators parallelisierte und automatische Messungen mehrerer Bakterienkammern zu ermöglichen. Stabilisiert durch das große Innenvolumen des Inkubators, entfallen somit viele separate Temperaturkontrollenheiten. Durch weitere Ventile und Kammern könnten zukünftig dann zwischen zwei bis vier Proben im Wechsel gemessen werden

In Abbildung 15 ist das System zur automatisierten Probenahme bestehend aus GC-IMS, Inkubator und neu entwickelter Bakterienkammer dargestellt. Das messbereite System ist links mit geschlossenem Inkubator-Deckel und Styroporisolierung dargestellt. Mittig und rechts ist der Inkubator-Deckel entfernt um die Position der Bakterienkammer im Inkubator zu zeigen.

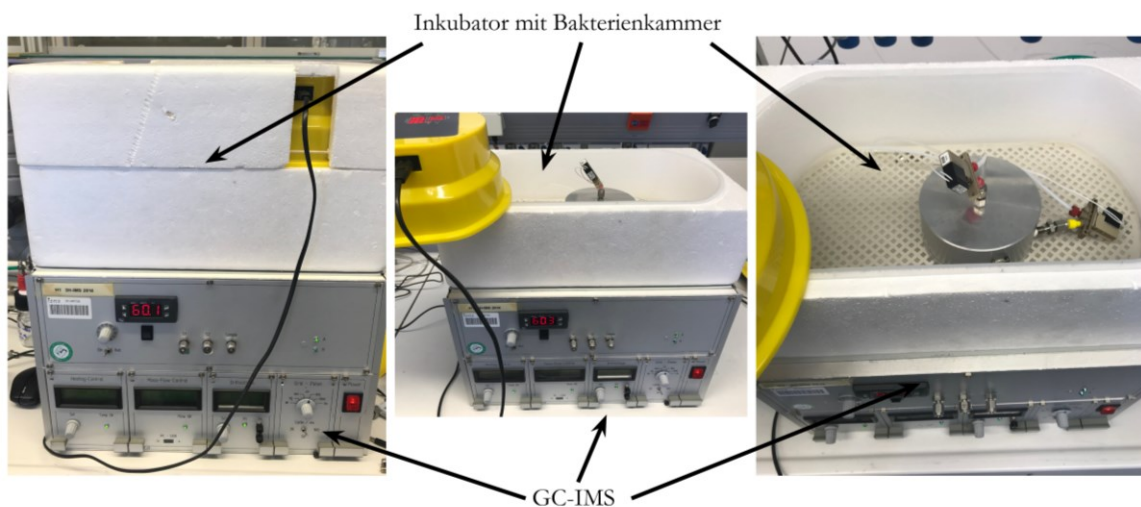


Abbildung 15: Photographie des Gesamtsystems zur automatisierten Probenahme, bestehend aus GC-IMS (unten), Inkubator (oben) und neu entwickelter Bakterienkammer (innerhalb des Inkubators). Links ist das messbereite System mit durch Styroporverkleidung isoliertem Inkubator gezeigt. Mittig und rechts ist bei geöffnetem Inkubator-Deckel die an das GC-IMS gekoppelte Bakterienkammer ersichtlich.

Die automatisierten Messungen wurden durch eine am ISAS e.V. (Dortmund, Deutschland) entwickelte Software(-umgebungen) durchgeführt: IMS-Steuerungs- und Datenerfassungssoftware qIMS mit zusätzlich entwickelter *Bot*-Software zur Automatisierung. Als Parameter für die Probenahme wurde eine Ventilöffnungszeit von 10 s und ein Probengasfluss von 300 mL min^{-1} gewählt. Diese Einstellungen erwiesen sich in Vorversuchen anhand einer Referenzprobe (steriles BHI-Medium) hinsichtlich maximaler Reproduzierbarkeit und Signalintensität der detektierten Signale als optimal.

Detektion Keim-spezifischer Metaboliten. Analog zu den Messungen Sepsis-relevanter Keime (siehe Kapitel 3.1), wurde auch bei den Messungen von *Listeria monocytogenes* zunächst das sterile BHI-Medium inkubiert und halbstündlich gemessen. Hierzu wurde 20 mL steriles BHI-Medium bzw. 20 mL H-Milch 3,5% eingesetzt. Die bei diesen Messungen detektierten Signale wurden als Hintergrund definiert.

Anschließend wurden die 20 mL der beiden verschiedenen Nährmedien mit 100 μ L einer Übernachtskultur von *Listeria monocytogenes* versetzt und gemessen. Als Keim-spezifische Signale wurden jene Signale definiert, welche sich eindeutig von den Hintergrundsignalen absetzen und/oder im Verlauf des Inkubationszeitraumes signifikant anstiegen. In Abbildung 16A ist das Signalmuster der Bakterienkultur in BHI-Medium (blau) und in H-Milch 3,5 % (rot) dargestellt. Auf der Abszisse ist die inverse reduzierte Ionenmobilität aufgetragen und auf der Ordinate die Retentionszeit. So konnten im BHI-Medium 22 Signale (siehe Abbildung 16A, blau) mit einer zeitabhängigen, steigenden Intensität festgestellt werden und sechs Signale in H-Milch 3,5 % (rot). Insgesamt konnten vier Signale ermittelt werden (blau/rot), die von *Listeria monocytogenes* sowohl im BHI-Medium als auch in der Kultur mit H-Milch 3,5 % verursacht wurden. In Abbildung 16B ist die Signalintensität im Zeitverlauf exemplarisch für eines dieser Signale (siehe Abbildung 16A, grün) dargestellt, welches sowohl im BHI-Medium als auch in H-Milch detektiert werden konnte. Bei dieser Darstellung handelt es sich um 3-fach gemittelte Messungen.

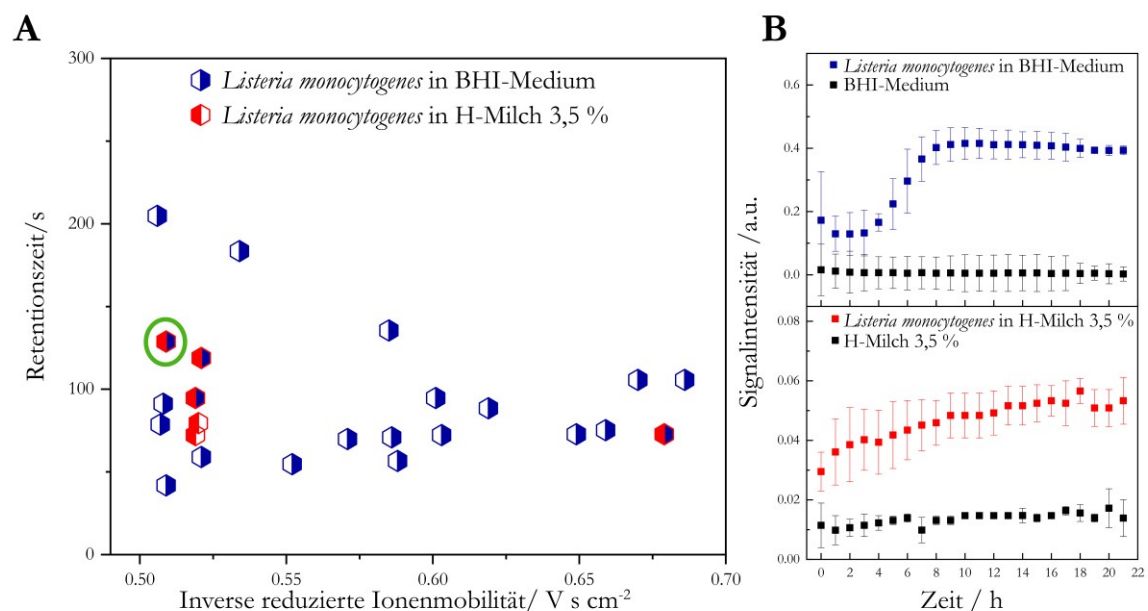


Abbildung 16: Signalmuster (A) der detektierten Signale von *Listeria monocytogenes* im positiven Ionenmodus (GC Retentionszeit vs. inverse reduzierte Ionenmobilität) in BHI-Medium (blau) und in H-Milch 3,5 % (rot). Die Keim-spezifischen Signale setzen sich signifikant von den Hintergrundmessungen ab. Exemplarisch dargestellt für das grün markierte Signal sind auf der rechten Seite (B) die Signalverläufe für *Listeria monocytogenes* in BHI-Medium (blau, oben) und in H-Milch 3,5 % (rot, unten). Zusätzlich in schwarz sind die Messungen des sterilen BHI-Mediums und der reinen H-Milch über die Zeit aufgezeigt.

Überwachung mikrobiellen Wachstums

Es zeigte sich, dass sich *Listeria monocytogenes* in beiden Kulturmedien durch spezifische Signale nachweisen lässt, die im Zeitverlauf signifikant in ihrer Signalintensität steigen. Bei den Messungen von *Listeria monocytogenes* in BHI-Medium ist ein steiler Anstieg der Signalintensität zwischen drei und sechs Stunden und die Ausbildung eines Plateaus ab acht Stunden zu beobachten. Dahingegen zeigt das gleiche Signal bei *Listeria monocytogenes* in H-Milch 3,5 % eine kontinuierliche Steigerung der Signalintensität über den gesamten gemessenen Zeitraum hinweg. Zusätzlich fällt auf, dass die in H-Milch gemessene Signalintensität deutlich geringer ausfällt, als diejenige in BHI-Medium. Dies ist dadurch zu erklären, dass das BHI-Medium im Gegensatz zur H-Milch als Kulturmedium besonders nährstoffreich und auch für die Kultivierung von besonders anspruchsvollen Keimen geeignet ist und somit auch das bakterielle Wachstum von *Listeria monocytogenes* begünstigt.

Zusammenfassung. In diesem Abschnitt konnte durch *Headspace*-Messungen mittels eines neu entwickelten Autosamplers gekoppelt an ein GC-IMS, das bakterielle Wachstum von *Listeria monocytogenes* verfolgt werden. Hierbei konnte im Vergleich zu den Messungen von Sepsis-relevanten Keimen (Kapitel 3.1) der betrachtete Zeitraum erweitert werden, was insbesondere für langsam wachsende Keime von Bedeutung ist. Zudem konnte durch Einsatz von H-Milch 3,5 % als Kulturmedium auch eine Realprobe simuliert werden, bei der ebenfalls eine bakterielle Kontamination detektiert werden konnte. Im Vergleich zu den Messungen von *Listeria monocytogenes* in BHI-Medium hingegen, fiel die Intensität und Anzahl der spezifischen Signale jedoch deutlich geringer aus, was auf das nährstoffärmere Medium H-Milch 3,5 % und somit auf die erschwerten Kultivierungsbedingungen zurückzuführen war. Somit konnte gezeigt werden, dass auch das Nährmedium die Detektion von bakteriellem Wachstum maßgeblich beeinflusst und eine einfache Übertragung der Signalmuster auf beliebige Probenmatrizen nicht möglich ist und unbedingt validiert werden muss.

3.3 Überwachung mikrobiellen Wachstums: Zusammenfassung und Fazit

In diesem Kapitel wurden Analysen des *Headspace*-Volumens der Sepsis-relevanten Keime *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* und *Staphylococcus epidermidis* sowie einem Lebensmittel-assoziierten pathogenen Keim, *Listeria monocytogenes* präsentiert.

Durch GC-IMS Messungen konnten verschiedenen Sepsis-relevanten Keimen spezifische Signale bzw. Signalmuster (*Fingerprints*) zugeordnet werden. Anhand dieser ist ein frühzeitiger Nachweis von bakteriellen Wachstum und auch eine Identifizierung der Keimart möglich. Besonders bemerkenswert ist auch, dass durch den Anstieg bzw. Abfall spezifischer Signale eine bakterielle Kontamination einer Standardblutkulturflasche, noch vor dem Farbumschlag des integrierten CO₂-Indikators, detektiert werden konnte.

Anhand vergleichbarer Messungen von *Listeria monocytogenes* als Lebensmittel-assoziiertem Pathogen konnte zusätzlich auch hier der zeitlich veränderte Signalverlauf spezifischer Signale in Übereinstimmung mit der bakteriellen Wachstumskurve beobachtet werden. Hier konnte durch die neu entwickelte automatisierte Probenahme (Inkubator mit Bakterienkammer) ein deutlich längerer Zeitraum untersucht werden als noch zuvor bei den Sepsis-relevanten Keimen. Dies ist von besonderer Bedeutung für den Nachweis dieser Keime in Realproben, wie Blutkulturen oder kontaminierten Lebensmitteln, da die zu erwartende initiale Keimzahl dort deutlich geringer ausfällt als in den für diese Arbeit exemplarisch durchgeführten Experimenten. Darüber hinaus konnte der signifikante Einfluss des eingesetzten Nährmediums auf die Produktion von Keim-spezifischen flüchtigen Stoffen nachgewiesen werden. So wies der *Headspace* von mit *Listeria monocytogenes* kontaminierten Milchkulturen ein deutlich schwächeres und weniger spezifisches Signalmuster auf als bei den korrespondierenden Experimenten von *Listeria monocytogenes* in BHI-Medium.

Zusammenfassend zeigt dieses Kapitel die erfolgreiche Detektion und Differenzierung unterschiedlicher Bakterien durch ein Ionenmobilitätsspektrometer mit gekoppelter Gaschromatographie – GC-IMS – und zeigt somit das vielversprechende Potential einer alternativen Analyseverfahren zur Untersuchung mikrobiologischer Proben im klinischen Alltag oder für Lebensmittelkontrollpunkte. Hierzu müsste das Ionenmobilitätsspektrometer jedoch auf dem Markt besser etabliert werden. Für eine großflächige Anwendung sollte die häufig (auch hier verwendete) radioaktive Ionisierungsquelle substituiert werden. Zwar benötigt diese keine externe Versorgung und arbeitet sehr konstant und zuverlässig, jedoch unterliegt der Umgang mit diesen Quellen und ihre Entsorgung strengen Regularien, was einer Ausbreitung auf dem Markt entgegenwirkt. Einen weiteren limitierenden Faktor stellen die derzeitigen hohen Herstellungskosten eines Ionenmobilitätsspektrometers dar. Die Kleinstserienfertigung (teilweise händisch) führt immer wieder zu Abweichungen und erschwert kurzfristige Anpassungen. Insbesondere bei den Untersuchungen von

Überwachung mikrobiellen Wachstums

biologischen infektiösen Proben ist eine anschließende geeignete Dekontamination des Analysegeräts eine weitere Herausforderung. Darüber hinaus können meist nur gasförmige bzw. flüchtige Stoffe analysiert werden, insbesondere bei der Verwendung radioaktiver Ionisierungsquellen. Bei der Analyse mikrobiologischer Proben besteht jedoch großes Interesse an der Detektion und Quantifizierung nicht-flüchtiger Stoffe, wie beispielsweise größerer Signalmoleküle.

Im Folgenden werden Lösungen für diese Herausforderungen präsentiert, um die Akzeptanz der Ionenmobilitätsspektrometrie für viele Anwendungen wie die Analyse mikrobiologischer Proben zu verbessern.

4 Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Ionisierungsquellen sind essentiell für eine Vielzahl von analytischen Methoden, insbesondere jedoch im Bereich der Massenspektrometrie und der Ionenmobilitätsspektrometrie. Die Ionisierungsquelle bestimmt die Art der Ionisierung (hart/fragmentierend oder weich), die Ionisierungsmechanismen und die *Performance* einer analytischen Methode hinsichtlich ihrer Sensitivität. Besonderes Interesse besteht derzeit an der Entwicklung und Erforschung von weichen Ionisierungsquellen für die Massenspektrometrie und Ionenmobilitätsspektrometrie ^{69, 70}. Bei der weichen Ionisierung werden Moleküle nicht fragmentiert, sondern meist durch einfache Ladungsübertragung ionisiert, was die Identifizierung der zu untersuchenden Analyten vereinfacht. In den letzten Jahren erwiesen sich hier dielektrisch behinderte bzw. plasmabasierte Ionisierungstechniken vornehmlich für die Massenspektrometrie als besonders geeignet ⁷¹⁻⁷⁸. Im Bereich der Ionenmobilitätsspektrometrie hingegen sind meistens radioaktive β -Strahlungsquellen im Einsatz, wie zuvor in Kapitel 3.3 beschrieben. Diese sind jedoch an regulatorische Bedingungen geknüpft, insbesondere im Hinblick auf die Beschaffung, den Umgang und die Entsorgung, was wiederum die Akzeptanz einschränkt. Deshalb fanden auch in der Ionenmobilitätsspektrometrie plasmabasierte Ionisierungsquellen in der Vergangenheit Anwendung. So wurden Koronaentladungen ^{20, 21} und Glimmentladungen ¹⁹ als direkte plasmabasierte Ionisierungsquellen, oder auch dielektrisch behinderte Ionisierungsquellen, wie das *Low-Temperature Plasma* – LTP – ⁷⁸ oder die *dielectric barrier discharge ionisation* – DBDI – ⁷¹ mit unterschiedlichen Ionenmobilitätsspektrometern gekoppelt. Jedoch konnte sich keine der Ionisierungsquellen bisher auf dem Markt durchsetzen. Bei der Korona- und Glimmentladung ist häufig ein Elektrodenaustausch auf Grund von Abnutzungserscheinungen notwendig, während die DBDI und das LTP sehr hohe Flüsse an Betriebsgasen im Bereich von 330 ⁷¹ bis zu 700 mL min⁻¹ ⁷⁸ benötigen. Dies geht einher mit erhöhten Kosten für die Betriebsgase (meist Edelgase) und einer starken Verdünnung der Probe.

Eine vielversprechende neuartige miniaturisierte plasmabasierte Ionisierungsquelle stellt das *Flexible Microtube Plasma* – F μ TP – dar. Diese Ionisierungsquelle wurde am ISAS e.V. (Dortmund, Deutschland) als Ionisierungsquelle für die Massenspektrometrie entwickelt und erstmals von Brandt et al. vorgestellt ⁷⁰. Diese Ionisierungsquelle erzielte bessere *Limit of Detections* – LODs – und *linear dynamic ranges* – LDRs – als andere dielektrisch behinderte Ionisierungsquellen in einem quantitativen Vergleich vor einem Massenspektrometer. Darüber hinaus konnte in dieser Studie das F μ TP bei einem Plasmagasfluss von nur 50 mL min⁻¹ effizient betrieben werden. Auf Grund der erheblichen Miniaturisierung der Geometrie konnte das F μ TP mit verringerten Volumenflüssen betrieben werden, wobei die lineare Gasgeschwindigkeit (1700 cm s⁻¹) innerhalb der Entladung beibehalten wurde ⁷⁹.

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Insbesondere auf Grund des deutlich geringen Gasverbrauchs soll im Folgenden die Erprobung des F μ TP als plasmabasierte Ionisierungsquelle für die Ionenmobilitätsspektrometrie beschrieben werden. Zunächst wurde durch verschiedene Optimierungsschritte die Kopplung des F μ TP an ein Ionenmobilitätsspektrometer angepasst und im Anschluss die *Performance* des F μ TP in zwei Konfigurationen, einmal mit Stickstoff und einmal mit Helium als Betriebsgas mit der einer radioaktiven ^{63}Ni β -Strahlungsquelle qualitativ und quantitativ verglichen. Die hier vorgestellten Ergebnisse bauen auf den Resultaten meiner Masterarbeit ⁸⁰ auf und sind in der Publikation von Drees et al. ⁸¹ veröffentlicht.

F μ TP. Das F μ TP wurde am ISAS e.V. (Dortmund, Deutschland) ausgehend von einem halb dielektrisch behinderten Plasma, dem *Low Temperature Plasma – LTP –*, entwickelt. Bei dem LTP liegt eine Erdpotential tragende Drahtelektrode und eine dielektrisch behinderte auf Hochspannung gesetzte Ringelektrode zur Zündung eines Plasmas vor. Es zeigte sich, dass bei einer inversen Beschaltung und gleichzeitiger Reduzierung des Durchmessers eines LTPs deutlich höhere Signalintensitäten bei massenspektrometrischen Untersuchungen verschiedener Analyten erzielt werden konnten ⁷⁰. Im weiteren Entwicklungsprozess konnte dann durch Miniaturisierung und Optimierung der Geometrie auf die äußere dielektrisch behinderte Ringelektrode verzichtet werden, ohne Einbußen hinsichtlich der Ionisierungseffizienz und des Plasmabetriebes zu verursachen. Die resultierende Entladungsform wurde dabei als F μ TP bezeichnet⁶. Jedoch veränderte sich durch den neuen Aufbau auch der Mechanismus für die Ausbreitung des Plasmas in der Kapillare, wodurch das F μ TP nicht mehr den dielektrisch behinderten Plasmen zugeordnet werden kann, da diese nach Kogelschatz et al. ⁸² mindestens eine dielektrisch behinderte Elektrode aufweisen müssen.

Grundsätzlich besteht das F μ TP aus einer mit einem PTFE-Schlauch ummantelten Quarzkapillare (ID = 250 μm ; AD = 350 μm , L \approx 47 cm) wie in Abbildung 17A dargestellt. Innerhalb dieser Kapillare befindet sich ein Wolframdraht, welcher als Elektrode die Hochspannung des F μ TP führt. Eine weitere Quarzkapillare wird mittels Fitting (grün) auf den Grundkörper des F μ TP (Quarzkapillare eingelassen in der flexiblen PTFE Hülle) gesetzt, um einerseits verschleißbedingte Wechsel zu erleichtern und andererseits Hintergrundsignale, verursacht durch die Ausgasung von Weichmacher aus dem PTFE-Schlauch, zu minimieren. Zusätzlich kann durch die austauschbare Spitze ein Wolframdraht mit einem anderen Außendurchmesser eingesetzt werden. In Abbildung 17B ist die Position des F μ TP in der 3D-gedruckten Ionisierungskammer und dessen Installation vor der Driftröhre eines IMS dargestellt.

⁶ Der detaillierte Werdegang und die einzelnen Entwicklungsstufen des F μ TP sind in der Dissertation von Herrn Sebastian Brandt ⁷⁹ zu finden.

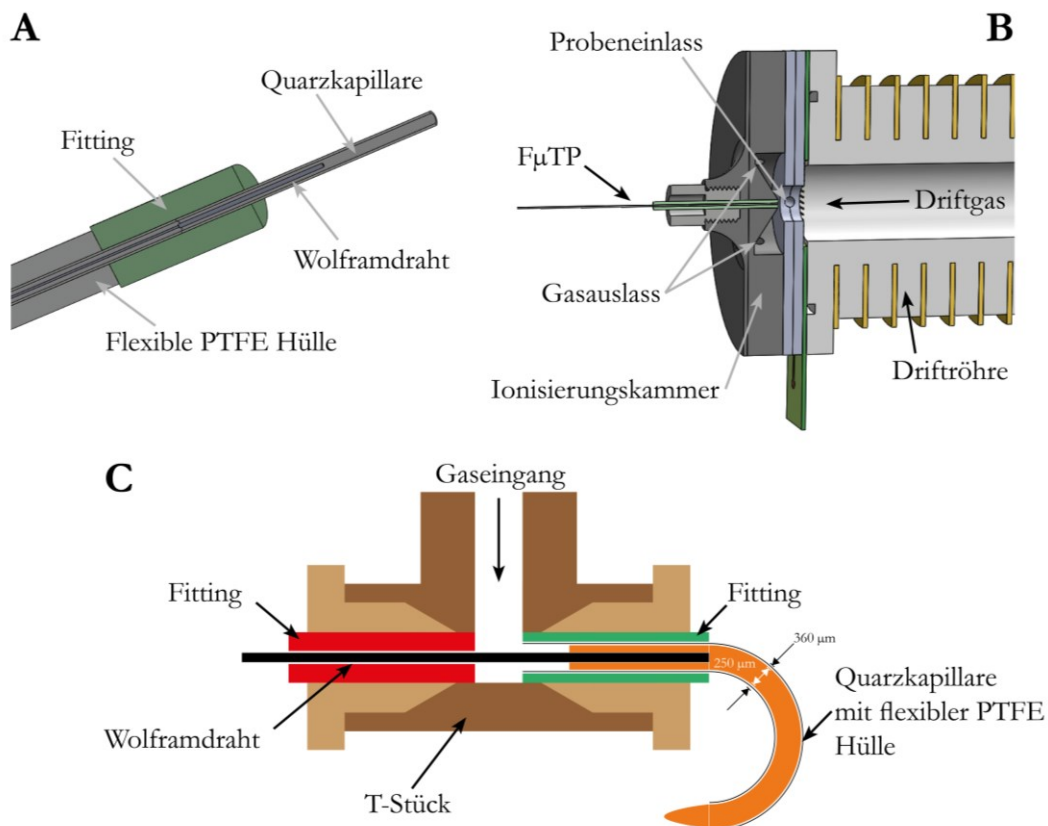


Abbildung 17: A, Schematische Darstellung des F μ TP. Dieses besteht aus einer Quarzkapillare, welche mit einem PTFE-Schlauch ummantelt ist. Im Inneren befindet sich ein Wolframdraht, welcher die Hochspannung führt und somit als Elektrode dient. B, Darstellung der 3D-gedruckten Ionisierungskammer, des positionierten F μ TP und dessen Installation vor dem Ioneneinlassgitter und der Driftröhre des IMS. C, zeigt den Grundkörper des F μ TP bestehend aus einem T-Stück aus PEEK, welches den Schlauch des F μ TPs gegenüber der Umwelt durch ein Fitting abdichtet, dem hochspannungsführenden Draht, welcher durch den gegenüberliegenden Ausgang des T-Stücks führt und ebenfalls mittels Fitting abdichtet und den dritten Eingang des T-Stücks für das Betriebsgas (nach ⁷⁰ und ⁸¹).

Der Grundkörper des F μ TP besteht aus einem T-Stück aus PEEK, welches den Schlauch des F μ TPs gegenüber der Umwelt durch ein Fitting abdichtet (siehe Abbildung 17C). Der hochspannungsführende Draht wird durch den gegenüberliegenden Ausgang des T-Stücks geführt und ebenfalls mittels Fitting abdichtet. Am dritten Ausgang des T-Stücks befindet sich der Einlass für das Betriebsgas, durch den das Plasmagas mittels Massenflussreglers (MFC 0-10 sccm, Analyt-MTC, Mühlheim, Deutschland) kontrolliert eingeleitet wird. Der Wolframdraht wird mit einem eigens am ISAS e.V. entwickelten Hochspannungsgenerator verbunden. Dieser Hochspannungsgenerator liefert eine Rechteckspannung, bei der man die Hochspannung im Bereich von 0 – 3,5 kV regulieren kann. Durch einen ebenfalls am ISAS e.V. entwickelten Funktionsgenerator kann zusätzlich die Frequenz im Bereich von 1 – 100 kHz und der *Duty-Cycle* im Bereich von 1:99 – 99:1 der Rechteckspannung variiert werden. In Abbildung 18 ist der Aufbau des am Hochspannungsgenerator angeschlossenen F μ TP und die 3D-gedruckte Ionisierungskammer vor dem IMS abgebildet. Das F μ TP wird durch eine Schraube zentriert in der 3D-gedruckten Ionisierungskammer positioniert. In Abbildung 18A. Ist der Hochspannungsgenerator mit

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

geöffnetem F μ TP-Gehäuse (sichtbarem T-Stück) dargestellt. In Abbildung 18B ist das Gehäuse für den vorgesehenen Betrieb verschlossen, sodass keinerlei Kontakt mit der Hochspannung möglich ist.

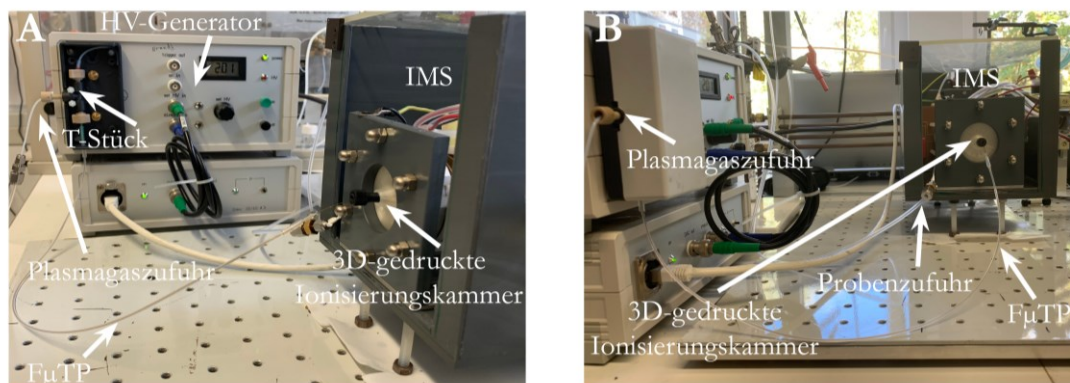


Abbildung 18: Photographie des mit einem IMS gekoppelten F μ TPs. A, das T-Stück am HV-Generator, welches die Zuleitung des Plasmagases und die elektrische Kontaktierung der F μ TP Elektrode ermöglicht und das F μ TP gegenüber der Umwelt abdichtet. Zusätzlich ist die 3D-gedruckte Ionisierungskammer zu sehen, in der durch eine Schraube das F μ TP zentriert positioniert wird.

Um die hier erzielten Ergebnisse interpretieren zu können, muss in einem ersten Schritt der Prozess beschrieben werden, welcher das Plasma und die ionisierenden Spezies erzeugt. Während DBDI und LTP bereits grundlegend erforscht und verstanden⁸³ sind, liegen für das F μ TP wenig Erkenntnisse vor. Deshalb soll an dieser Stelle die Ausbreitung und Entwicklung des Plasmas innerhalb der Kapillare phänomenologisch erklärt werden. Das Plasma des F μ TP breitet sich im zeitlichen Verlauf ausgehend von der Drahtspitze hin zum Kapillarausgang und teilweise darüber hinaus aus. Da das F μ TP mit einer Wechselspannung betrieben wird, kommt es zu jeweils einem Zünd- gefolgt von einem Löschprozesse des Plasmas innerhalb jedes Halbzyklus. Dies ist exemplarisch in Abbildung 19 dargestellt. Mittig in dieser Abbildung ist die angelegte Hochspannungsamplitude über die Zeit aufgetragen, basierend auf einer Hochspannungsamplitude von 3 kV bei einer Hochspannungsfrequenz von 20 kHz und einem *Duty-Cycle* von 50:50. Mit diesen Einstellungen beträgt die Zeit eines Spannungszyklus 50 μ s, welcher sich in zwei gleich lange Halbzyklen von je 25 μ s unterteilt. In der Hochphase liegt für eine Zeitdauer von 25 μ s eine Spannung von +1500 V auf der Drahtelektrode und in der Tiefphase -1500 V an. Die tatsächliche Zündung bzw. Entwicklung des Plasmas läuft jedoch in deutlich kleineren Zeitbereichen ab. Innerhalb der aufsteigenden Flanke (Abbildung 19A) werden Elektronen stark in Richtung Elektrode bzw. innerhalb der absteigenden Flanke (Abbildung 19B) von der Elektrode weg beschleunigt. Wenn die Elektronentemperatur, also die Beschleunigung und somit die Energie der freien Elektronen einen Schwellwert zur Anregung bzw. Ionisierung der im Plasmagas vorliegenden Neutralteilchen erreicht, findet die Zündung des Plasmas statt. Ausgehend von diesen Ladungsträgern wird eine Reaktionskette ausgelöst, welche letztendlich zur Bildung protonierter Wassercluster führt, die wiederum die Analytmoleküle ionisieren.

Die Komplexität der auftretenden Prozesse während der jeweiligen Halbperiode lässt sich anhand der in Abbildung 19A (positive Halbperiode) und Abbildung 19B (negative Halbperiode) dargestellten emissionsspektroskopischen Messungen^f des F μ TPs zeigen. In den 2D-Darstellungen befindet sich jeweils die Zeit auf der Abszisse und die Position bzw. die Länge des Plasmas innerhalb der Kapillare auf der Ordinate. Die Intensität der Emissionslinie von Helium (706,5 nm) ist farblich dargestellt, wobei blau eine niedrige Intensität und rot eine hohe Intensität darstellt. Es ist ersichtlich, dass sich das gebildete Plasma im positiven Halbzyklus signifikant langsamer innerhalb der Kapillare ausbreitet als im negativen Halbzyklus. Im negativen Halbzyklus ist das Ende der Kapillare (Plasmalänge 10 mm) innerhalb von 7 μ s erreicht, wohingegen im negativen Halbzyklus hierfür nur 1 μ s benötigt wird. Diese inhomogenen Zündprozesse innerhalb eines Plasmazyklus sind derzeit im Fokus aktueller Forschungsarbeiten am ISAS e.V. um die genauen Reaktionsketten und Mechanismen des F μ TP aufzuklären.

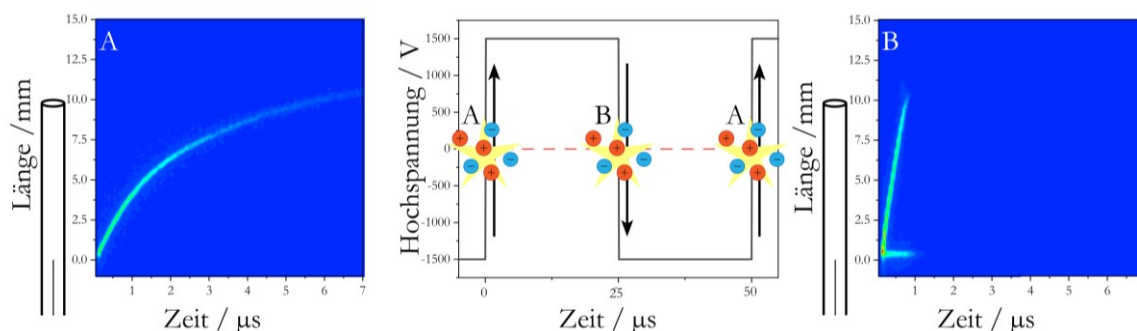


Abbildung 19: Darstellung der angelegten Hochspannungsamplitude über die Zeit, bei einer eingestellten Hochspannungsamplitude von 3 kV, einer Hochspannungsfrequenz von 20 kHz und einem *Duty-Cycle* von 50:50 (Mitte). Links (A) und rechts (B) sind emissionsspektroskopische Messungen der Emissionslinie von Helium (706,5 nm) während des positiven Halbzyklus (A) und des negativen Halbzyklus (B) eines Plasmazyklus dargestellt. Es ist ersichtlich, dass sich das gezündete Plasma im positiven Halbzyklus (A) signifikant langsamer innerhalb der Kapillare, ausgehend von der Drahtspitze des F μ TP zur Kapillaröffnung, ausbreitet als im negativen Halbzyklus.

3D-gedruckte Ionisierungskammer. Um eine optimale Ionisierung der Probemoleküle durch die vom F μ TP generierten Reaktantionen zu ermöglichen, wurde die Positionierung des F μ TP vor dem Ioneneinlassgitter und der Driftröhre des IMS untersucht. Sowohl die radiale als auch die axiale Position, in Bezug auf die Driftachse, lieferten zunächst vielversprechende Ergebnisse. In meiner Masterarbeit⁸⁰ erwies sich jedoch die radiale Position in einer Ionisierungskammer, welche sonst mit einer UV-Lampe genutzt wurde, als geeigneter als die axiale Position. Die Signalintensität des RIP war in der axialen Position deutlich instabiler und geringer. Hier wurde vermutet, dass diese zeitlichen Instabilitäten und Schwankungen durch den dem F μ TP entgegenkommenden Driftgasfluss und den dadurch entstehenden turbulenten Strömungen zum seitlichen Gasauslass erzeugt wurden. Bei Messungen ohne Ionisierungskammer zeigte sich im Verlauf weiterer Untersuchungen, dass die radiale

^f Diese emissionsspektrometrischen Messergebnisse wurden freundlicherweise von einem Arbeitskollegen, Guanghui Niu, der Arbeitsgruppe Miniaturisierung ISAS e.V. Dortmund, Deutschland zur Verfügung gestellt.

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Position des F μ TPs deutlich höhere Signalintensitäten erzeugte. Deshalb wurde eine neue Ionisierungskammer entwickelt, bei der das F μ TP zentriert vor dem Ioneneinlassgitter positioniert ist. Das Plasma befindet sich hier jedoch nicht frei schwingend wie in meiner Masterarbeit kurz vor dem Ioneneinlassgitter, sondern wird durch einen Konus mit eingelassenem Fitting fixiert (angelehnt an die Ionisierungskammer aus ⁷⁸). Zusätzlich sind 6 Gasauslässe zirkular um das F μ TP angeordnet, um einen laminaren Austritt des überschüssigen Driftgases zu gewährleisten (siehe Abbildung 17B). Zwischen dem Konus bzw. dem Austritt des F μ TP befindet sich die Ionisierungskammer, welcher einen Innendurchmesser von 7 mm aufweist, in welche die Probe radial mittig einströmt. Der gewählte Innendurchmesser ist kleiner als der Innendurchmesser der Driftröhre, erwies sich jedoch in Vorversuchen als optimal, verglichen mit einem größeren Innendurchmesser. Dies ist dadurch zu erklären, dass durch einen geringeren Durchmesser die Probe näher an das F μ TP gebracht wird. So wird die Konzentration an Probemolekülen in unmittelbarer Umgebung des F μ TP erhöht, was vermutlich zu einer vorteilhafteren Mischung mit den produzierten Wasserclustern, als Reaktantionen, führt.

Um einen solchen Aufbau schnell und individuell variieren zu können, wurde die Kammer und deren Vorstufen mittels 3D-Druck gefertigt. Durch den 3D-Druck konnte somit in kürzester Zeit die hier vorgestellte Ionisierungskammer entwickelt und optimiert werden. Weitere Vorteile und der Einsatz des 3D-Druckverfahrens im Bereich der Ionenmobilitätsspektrometrie werden im nachfolgenden Kapitel 4 aufgegriffen und vertieft. Für die Fertigung der Ionisierungskammer wurde ein Ultimaker 2 (Ultimaker B.V., Utrecht, Niederlande) eingesetzt, welcher mit einer Düse (ID 0,4 mm) und einem Filament aus Polymilchsäure bzw. *poly lactic acid*, – PLA – bestückt war. Die 3D-Modelle wurden mittels CAD Software (Autodesk Inventor Professional 2015, Autodesk, Mill Valley, USA und SolidWorks 2015, Dassault Systèmes, Vélizy-Villacoublay, Frankreich) erstellt und anschließend mit einer Slicing Software (Cura 4.4.1, Ultimaker B.V., Geldermalsen Niederlande) in ein druckbares Schichtmodell überführt. Dieses Schichtmodell wurde dann als G-Code an den 3D-Drucker übermittelt. Das Slicing-Protokoll ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Liste der 3D-Druck Parameter.

Druck-Temperatur	205
Building Plate Temperatur	60
Retraktion	enable
Extrusion Fluss Rate / %	100
Schichtdicke / mm	0,1
Top/Bottom Schichtdicke /mm	1
Wandstärke / mm	1,6
Dichte /%	30
Muster	grid
Druckgeschwindigkeit / mm s ⁻¹	70
Ventilator-geschwindigkeit / %	100

Ionenmobilitätsspektrometer. Das für diesen Abschnitt verwendete IMS besitzt eine Driftröhre mit einer Länge von 12 cm und wurde mit einer Hochspannung von 4,38 kV betrieben. Als Driftgas wurde Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) bei einer Flussrate von 150 mL min⁻¹ verwendet. Alle Messungen fanden bei Umgebungstemperatur und -druck statt. Als Detektor wurde eine Faraday-Platte genutzt und die Messungen wurden mit einer Repetitionsrate von 100 ms durchgeführt. Zusätzlich zu dem IMS an welches das F μ TP gekoppelt wurde, wurde für einen Vergleich der Ionisierungseffizienz ein baugleiches IMS, bei welchem eine Ionisierungskammer mit ⁶³Ni β -Strahlungsquelle (550 MBq) integriert war, verwendet. Es fand kein Austausch der Ionisierungskammern statt, um das Gesundheitsrisiko durch eine Kontamination mit der radioaktiven Strahlungsquelle zu minimieren. Bei jedem IMS wurde ein Driftgasfluss von 150 mL min⁻¹ Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) eingestellt.

Modellanalyten. Als Analyten wurden Ketone unterschiedlicher Kettenlänge gewählt: 2-Heptanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 2-Octanon (Fluka, Seelze, Deutschland), 2-Nonanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und 2-Decanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Für die einzelnen Optimierungsschritte wurde ausschließlich 2-Nonanon verwendet und für den abschließenden Vergleich von F μ TP Ionisierungsquelle und ⁶³Ni β -Strahlungsquelle ein 1:1:1:1 molares Gemisch aus allen vier Ketonen.

Es wurden explizit Ketone als Modellanalyten gewählt, da diese bereits in der Vergangenheit als flüchtige Metaboliten unterschiedlicher Bakterien identifiziert wurden ^{8, 84-88}. So beschrieb Elgaali et al. ⁸⁵ den Nachweis von 2-Nonanon im *Headspace* von *Escherichia coli*, kultiviert in Trypticase-Soja-Brühe, engl. *tryptic soy broth* – TSB –, und auch Briard et al. ⁸⁶ konnte 2-Nonanon im *Headspace* von *Pseudomonas aeruginosa* in zwei verschiedenen Medien nachweisen. Darüber hinaus fand Rees et al. ⁸⁸ 2- Heptanon, 2- Nonanon und 2-Decanon im *Headspace* von *Klebsiella pneumoniae* bei der Inkubation in vier unterschiedlichen Nährmedien. Schulz et al. ⁸ beschreibt, dass die unterschiedlichen Ketone am ehesten während der Fettsäurebiosynthese von Bakterien entstehen können. Abhängig von den

Das Flexible Microtube Plasma (FuTP)

Ausgangsstoffen, aber auch von den jeweiligen Zwischenschritten können so unterschiedlichste Ketone von den jeweiligen Bakterien gebildet werden.

Probenaufgabe und Kalibrierung. Für die Bereitstellung einer definierten Probenkonzentration in der Gasphase wurde der Kalibriergasgenerator HovaCAL 3833SP VOC (Inspire Analytical Systems GmbH, Oberursel, Deutschland) eingesetzt. Dieser Kalibriergasgenerator generiert Gaskonzentrationen im unteren ppt_v Bereich. Durch drei separate Dual-Spritzenpumpen können ununterbrochen drei unterschiedliche Proben gleichzeitig in die Gasphase überführt werden. Zusätzlich kann die relative Luftfeuchtigkeit eingestellt werden und durch ein Zusammenspiel eine komplexe Probe simuliert werden. Besonders die Möglichkeit zur Einstellung der relativen Feuchtigkeit der Probe ist von Bedeutung, da insbesondere biologische und mikrobiologische Proben einen hohen Wassergehalt besitzen. Der prinzipielle Aufbau und alle Kernkomponenten des Kalibriergasgenerators sind in Abbildung 20 aufgeführt.

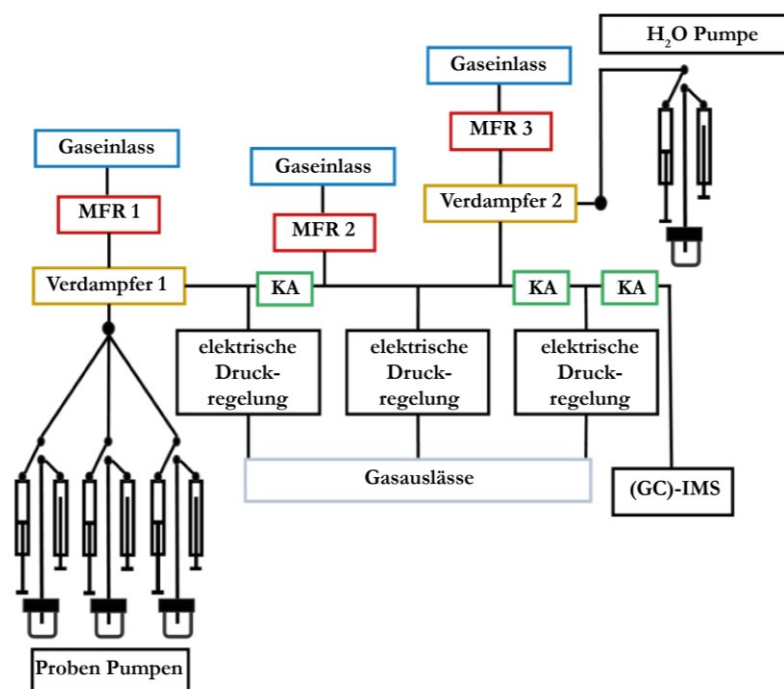


Abbildung 20: Schematische Darstellung des HovaCAL Kalibriergasgenerators. Zu sehen sind die Probenpumpen, welche den flüssigen Analyten in den Verdampfer 1 (180 °C) leiten. Hier wird durch einen definierten Trägergasfluss mittels Massenflussreglers (MFR) das Gasgemisch weitergeleitet. Durch einen zweiten definierten Trägergasfluss wird das Gasgemisch erstmals verdünnt. Analog dazu findet ein weiterer Verdünnungsschritt durch einen weiteren definierten Trägergasfluss statt. Zusätzlich befindet sich hier ein weiterer Verdampfer 2 (90 °C), welcher die Zufuhr von feuchtem Gas durch ein weiteres Pumpensystem ermöglicht. Hier kann eine relative Feuchte von 0-100 % eingestellt werden. Alle Verbindungen und Kapillaren (KA) sind zur Minimierung von Kondensation auf 100 °C temperiert (nach ⁸¹).

Um ein definiertes Gasgemisch zu erzeugen wird zunächst der Analyt mittels Dual-Spritzenpumpe kontinuierlich in den Verdampfer 1 geleitet. Hier wird der flüssige Analyt bei 180 °C verdampft und mit einem Trägergasfluss (Stickstoff 6.0), kontrolliert durch einen Massenflussregler (MFR 1), in eine beheizte Kapillare (KA) weitergeleitet. Anschließend wird hier durch eine definierte Split-Rate und einem weiteren Trägergasfluss die gasförmige Probe vorverdünnt (1. Verdünnungsstufe). Analog dazu findet eine weitere Verdünnung durch den MFR 3 im weiteren Verlauf statt (2. Verdünnungsstufe). Zusätzlich kann in Verdünnungsstufe 2 durch einen weiteren Verdampfer 2 die relative Feuchte im Bereich von 0-100 % zugefügt werden. Der Verdampfer 2 arbeitet bei einer Temperatur von 90 °C und alle weiteren Kapillaren (KA) und Verbindungen sind auf 100 °C temperiert, um Kondensation und damit verbundene Wandverluste zu vermeiden. Zusammenfassend kann das HovaCAL System einstellbare Gaskonzentrationen von bis zu drei Analyten, bei bekannter molarer Masse und Dichte, durch definierte Gasflüsse und Verdünnungsraten liefern.

Für die einzelnen Optimierungsschritte des F μ TP wurde ausschließlich 2-Nonanon als Reinsubstanz und ohne Zuschaltung von Feuchte verwendet. Hierzu wurde ein 20 mL Gewindefläschchen (Neochrom, Neolab Migge GmbH, Deutschland) mit 2-Nonanon befüllt. Durch einen Schraubdeckel mit Septum (PTFE-beschichtet) dieser Gewindefläschchen wurde der Ansaugschlauch der Pumpeinheit des Kalibriergasgenerators geführt und ermöglicht so die Probenzufuhr. Für die Optimierungsschritte des F μ TPs wurde der Kalibriergasgenerator direkt über einen PTFE-Schlauch mit dem Probeneinlass des IMS verbunden. Durch die konstante und direkte Probenzufuhr konnten somit die Auswirkungen einer Parametervariation präzise und zeitnah studiert werden.

Für die Kalibrierung des Keton-Mixes im abschließenden Vergleich zwischen dem optimierten F μ TP in Helium sowie in Stickstoff Konfiguration und der radioaktiven ⁶³Ni β -Strahlungsquelle wurden anschließend vier unterschiedliche Analyten dem HovaCAL und dann in definierter Gaskonzentration den IMS zugeführt. Der Kalibriergasgenerator weist jedoch nur drei Analytkanäle auf. Analog zur gemeinsamen Publikation von Bergen et al. ⁸⁹ für die ein komplexer *Signs-of-Life-Mix* angesetzt wurde, wurde hier ein Keton-Mix in einem Gewindefläschchen angesetzt und dem Kalibriergasgenerator über nur einen Analytkanal zugeführt und verdampft. Damit bei den Messungen mittels Ionenmobilitätsspektrometer annähernd gleiche Signalintensitäten der einzelnen Ketone erzielt werden, musste ein Gasgemisch mit der gleichen Teilchenanzahl der jeweiligen Ketone mit dem Kalibriergasgenerator erzeugt werden. Hierzu wurde eine 1:1:1:1 molare Lösung aller 4 Ketone hergestellt. Dies wurde erreicht, indem für ein definiertes Keton-Mix-Volumen die Zielstoffmenge jedes einzelnen Ketons berechnet wurde. Die Zielstoffmenge wiederum wurde unter Berücksichtigung der molaren Masse und der Dichte jedes einzelnen Ketons bestimmt (siehe Tabelle 2). Mit Hilfe der jeweiligen Dichte und des Keton-Mix-Volumens wurden die einzelnen benötigten Mengen an Reinsubstanz berechnet. Diese wurden dann mittels Eppendorf-Pipette in ein Gewindefläschchen

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

überführt. Vor jeder Zugabe der einzelnen Keton Reinsubstanz, wurde das Gewindefläschchen gewogen, um als Kontrolle die reale Menge an Reinsubstanz zu ermitteln und dadurch die molare Masse des finalen Keton-Mixes zu berechnen.

Tabelle 2: Parameter zur Herstellung eines 1:1:1:1 molaren Keton-Mixes mit einem Gesamtvolumen von 21,25 mL. Angegeben sind die Stoff-spezifischen Dichten und molaren Massen der einzelnen Ketone mit welcher die benötigten Reinsubstanzmengen des Keton-Mixes berechnet wurden. Zusätzlich ist die berechnete molare Masse des Keton-Mixes angegeben, welche für den Kalibriergasgenerator erforderlich sind.

	2- Decanon	2- Nonanon	2-Octanon	2-Heptanon
Molare Masse / g mol ⁻¹	156,27	142,24	128,21	114,19
Dichte / g mL ⁻¹	0,82	0,83	0,82	0,82
Stoffmengenkonzentration / mol mL ⁻¹	0,00525	0,005835	0,006396	0,007181
Benötigte Menge an Reinsubstanz / mL	6,16	5,54	5,05	4,5
Berechnete Menge an Reinsubstanz / g	5,0498	4,5964	4,1431	3,6900
Gewogene Menge / g	5,07	4,86	4,13	3,61
Zielstoffmenge jedes Ketons /n	0,03231			
Berechnete Stoffmenge des Keton-Mix / n	0,03244	0,034167	0,03221	0,03161
Gesamtvolumen des Keton-Mix / mL			21,25	
Molare Masse des Keton-Mix / g mol ⁻¹			135,47	

Zur Bestimmung der für den Kalibriergasgenerator benötigten, mittleren Dichte des angesetzten Keton-Mixes, wurde ein definiertes Volumen (250 μ L) in dreifach Bestimmung eingewogen. Somit ergab sich für den hergestellten Keton-Mix (siehe Tabelle 2) eine mittlere Dichte von 0,84 g mL⁻¹. Um die durch die Kalibrierung erzeugten Gaskonzentrationen zu ermitteln, wurde zunächst die Einzelfraktion jedes Ketons $x_{i,mix}$ aus dem hergestellten Keton-Mix nach Gleichung 9 bestimmt, wobei n_i die Stoffmenge jeder Einzelsubstanz i aus dem Keton-Mix darstellt.

$$x_{i,mix} = \frac{n_i}{\sum n_i} \quad (9)$$

Anhand von $x_{i,mix}$ und der eingestellten Gaskonzentration am Kalibriergasgenerator x_{set} kann somit die Gaskonzentration jedes einzelnen Ketons berechnet werden (siehe Gleichung 10).

$$x_{i,cal} = x_{i,mix} * x_{set} \quad (10)$$

Im Gegensatz zu den vorherigen Optimierungsschritten wurde hier der Keton-Mix nicht direkt, also ohne eine Vortrennung, in das IMS geleitet, sondern mittels Gaschromatographie vorgetrennt. Hierzu wurde eine MXT-5 Säule (10 m, 0,53 μ m, 1 μ m, RESTEK, Pennsylvania, USA) verwendet. Um eine reproduzierbare Probenmenge auf die Säule zu geben wurde ein 6-Wegeventil mit einer 1 mL Probenschleife eingesetzt. Im Beladungs-Modus des 6-Wegeventils wurde die Probenschleife mit der

Probe aus dem Kalibriergasgenerator gespült. Im Injektions-Modus wurde dann für vier Sekunden bei einem Säulenfluss von 50 mL min^{-1} der Keton-Mix auf die GC-Säule und anschließend weiter mit gleichen Fluss in das IMS gespült. Die GC-Säule wurde konstant bei einer Temperatur von $95 \text{ }^\circ\text{C}$ betrieben und als Trägergas wurde Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) verwendet. Die Probenschleife wurde konstant auf $60 \text{ }^\circ\text{C}$ und das 6-Wegeventil auf $80 \text{ }^\circ\text{C}$ beheizt, um die Kondensation der Analyten zu vermeiden. Während bei den Optimierungsschritten 50 Spektren aufgenommen und anschließend gemittelt wurden, wurden für den quantitativen Vergleich 50 Spektren aufgenommen, von denen jedes bereits aus einer Mittelung von 20 Einzelspektren bestand. Alle Messungen wurden in 4-fach-Bestimmung durchgeführt. Hier wurde erneut entgegen der Van-Deemter-Gleichung ein sehr hoher Säulengasfluss gewählt, da die ermittelte Trennleistung für den hier untersuchten Keton-Mix zur Analyse ausreichend war und so eine erheblich kürzere Analysezeit erzielt werden konnte.

Auswertung. Die einzelnen Messungen wurden mittels der am ISAS e.V. entwickelter Software qIMS aufgenommen. Für die weitere Auswertung dieser Rohdaten (CSV-Datei), wurden im Fall der einzelnen Optimierungsschritte die generierten Spektren durch die Software Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) gemittelt und mit OriginPro 2019 (OriginLab, Northampton, USA) analysiert und dargestellt. Hingegen wurden die Messdaten der abschließenden Kalibrierung durch die Software IONyos (ION-GAS GmbH, Dortmund, Deutschland) ausgewertet. Als Gütekriterium wurde bei allen durchgeführten Vergleichsmessungen das Signalmaximum und die ermittelte Standardabweichung definiert.

4.1 F μ TP: Schrittweise Optimierung

Die einzelnen Optimierungsschritte des F μ TPs hinsichtlich einer geeigneten Kopplung mit einem IMS werden im Folgenden beschrieben und diskutiert. Untersucht wurden dabei der RIP sowie das 2-Nonanon Signal. Im ersten Schritt wurde die Hochspannungsamplitude untersucht, gefolgt von der Plasmagasflussrate im zweiten Schritt. Anschließend wurde der Einfluss des Durchmessers der Drahtelektrode sowie dessen Position innerhalb der Quarzkapillare des F μ TP im dritten Schritt erörtert. Im vierten Schritt wurde der Einfluss der Frequenz und im abschließenden fünften Schritt der Einfluss des *Duty-Cycles* der Hochspannungsamplitude des F μ TP auf das RIP und 2-Nonanon Signal untersucht. In Tabelle 3 sind zur Übersicht die einzelnen Optimierungsschritte eins bis fünf und die verwendeten Einzelparameter des F μ TP sowie die jeweils eingestellte Gitteröffnungszeit des IMS aufgelistet. Die zum jeweiligen vorherigen Schritt geänderten Parameter sind hervorgehoben.

Tabelle 3: Variierte Parameter (fett) für die schrittweise Optimierung eines F μ TP zur Kopplung an ein IMS. Variiert wird hierbei das Arbeitsgas des F μ TPs in Art und Flussrate, der Elektrodendurchmesser sowie die Position der Drahtelektrode und die jeweilige Einstellung der genutzten Hochspannung (HV), HV-Frequenz und HV *Duty-Cycle* nach ⁸¹.

Parameter / Einheit	Optimierungsschritte				
	1	2	3	4	5
Arbeitsgas	He	He	N ₂	N ₂	N ₂
Arbeitsgas-Flussrate/ mL min ⁻¹	4	3-10	5	5	5
HV-Amplitude / kV	2,5-3,1	1,75-3,5	2-3	2	2
Distanz Drahtelektrode – Öffnung / mm	10	10	0	0	0
Drahtelektrode Durchmesser / μ m	100	100	13-75	13	13
HV-Frequenz / kHz	20	20	20	5-30	20
HV <i>Duty-Cycle</i> / %	50:50	50:50	50:50	50:50	40:50-95:5
IMS Gitteröffnungszeit / μ s	300	300	300	100	100

Analog zur Publikation von Brandt et al. ⁷⁰ wurde zunächst eine 100 μ m Drahtelektrode gewählt, welche 10 mm von der Kapillaröffnung des F μ TP entfernt endet. Des Weiteren wurde Helium als Plasmagas für das F μ TP gewählt, jedoch nicht mit einem Fluss von 50 mL min⁻¹ wie bei Brandt et al., sondern mit nur 4 mL min⁻¹. Diese geringe Flussrate reichte bereits aus, um ein stabiles RIP Signal mittels IMS zu erzielen. Im Vergleich zu dem durch eine Ni⁶³ β -Strahlungsquelle generierten RIP konnten keine signifikanten Unterschiede ausgemacht werden. In Übereinstimmung mit massenspektrometrischen Messungen ²⁵ kann daher von einer Analogie der beiden RIP Zusammensetzungen (F μ TP und Ni⁶³ β -Strahlungsquelle) ausgegangen werden, dass also beide RIPs aus protonierten Wasserclustern bestehen.

Optimierungsschritt 1: Hochspannungsamplitude. Zunächst wurde zur optimalen Anpassung des F μ TPs an ein IMS die Auswirkung einer Variation der Hochspannungsamplitude der angelegten Rechteckspannung untersucht. Hierzu wurden die aus Tabelle 3 Schritt 1 aufgelisteten Parameter gewählt. Analog zu einer vorherigen Studie ⁷⁸, in der ein LTP als Ionisierungsquelle mit einem IMS gekoppelt wurde, war auch bei steigender Hochspannungsamplitude mit dem F μ TP eine signifikante Steigerung der Signalintensitäten des RIPs, des 2-Nonanon (3 ppb_v) Monomers und Dimers zu erkennen, wie in Abbildung 21 dargestellt. Während der RIP mit steigender Amplitude kontinuierlich anstieg, war bei 2-Nonanon eine Änderung des Verhältnisses von Monomer zu Dimer zu erkennen. Während bei einer geringeren Amplitude von unter 2,8 kV das Dimer-Signal deutlich überwiegt, kehrt sich dies bei Amplituden über 2,95 kV um.

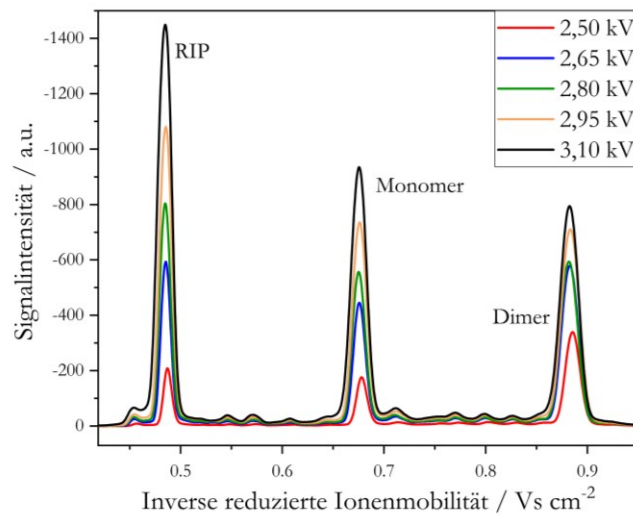


Abbildung 21: Dargestellt ist die Signalintensität gegen die inverse reduzierte Ionenmobilität für 3 ppb_v von 2-Nonanon. Die unterschiedlichen Farben zeigen die verschiedenen untersuchten Hochspannungsamplituden des F μ TPs. Bei steigender Amplitude ist eine Steigerung der Signalintensitäten des RIPs, des 2-Nonanon Monomers und Dimers zu erkennen. Zudem ist ersichtlich, dass sich das Verhältnis von Monomer- und Dimer-Signalintensität bei steigender Amplitude zu Gunsten des Monomers verschiebt (nach ⁸¹).

Dieses Phänomen lässt sich zum einen durch eine steigende Anzahl an Reaktantionen bei steigender Hochspannungsamplitude erklären. Für die Bildung von Monomeren oder Dimeren ist das Verhältnis der Anzahl der zur Verfügung stehenden Reaktantionen zur Anzahl der Analytmoleküle ausschlaggebend. Steigt die Anzahl von Reaktantionen (z.B. mit steigender HV Amplitude) bei konstanter Anzahl von Analytmolekülen, wird die Bildung von Monomeren begünstigt. Darüber hinaus kann aber auch das steigende elektrische Feld bei steigender Amplitude die Dichte und somit die Ionisierung der Analytmoleküle zu Gunsten der Bildung von Monomer-Ionen beeinflussen, indem die kleineren Monomer-Ionen schneller in Richtung der Driftröhre beschleunigt werden und somit nicht mehr für die weitere Reaktion zur Dimerbildung zur Verfügung stehen. Darüber hinaus ist zu erkennen, dass bei steigender Hochspannungsamplitude eine Verschiebung der Signalmaxima hin zu kleineren inversen reduzierten Ionenmobilitäten zu beobachten ist. Dies lässt sich erneut mit dem

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

höheren Feldgradienten bei steigender Hochspannungsamplitude erklären, da somit auch die initiale Geschwindigkeit gesteigert wird. Zusammenfassend konnte durch eine steigende Hochspannungsamplitude eine signifikante Verbesserung der Signalintensität erzielt werden und dies bei einer Flussrate des F μ TP-Arbeitsgases von nur 4 mL min⁻¹ an Helium.

Optimierungsschritt 2: Flussrate des F μ TP-Arbeitsgases. Wie aus der Literatur bekannt, benötigen DBD-basierte Ionisierungsquellen relativ hohe Plasmagasflüsse im Bereich von 330 – 700 mL min⁻¹ für die Zündung bzw. einen stabilen Betrieb^{71, 78}. Dies geht insbesondere für den mobilen Einsatz von IMS mit einigen Nachteilen einher. So wird eine externe Gasversorgung für die Edelgase benötigt, was sich besonders in steigenden Betriebskosten niederschlägt. Ebenfalls müssen bei geschlossenen IMS Systemen aufwändige Gasfiltereinheiten für die Driftgasversorgung eingesetzt werden um die Edelgase aus dem Driftgas zu extrahieren. Dies ist notwendig, da sich bei kontinuierlich verändernder Zusammensetzung des Driftgases, sich auch die Stoßquerschnitte der Ionen mit dem Driftgas ändern und somit zu unterschiedlichen Driftzeiten einer Ionenart führen.

Da bereits in Schritt 1 für das F μ TP der Plasmagasfluss bei 4 mL min⁻¹ ausreichend für ein stabil arbeitendes Plasma war, wurde nun die Flussrate des F μ TP Arbeitsgases und dessen Einfluss auf die Ionisierungseffizienz weiter untersucht. Hierzu wurde erneut die Signalintensität des RIP und des Monomers bzw. Dimers von 2-Nonanon (3 ppb_v) untersucht. Wie in Tabelle 3 Schritt 2 dargestellt, wurden hierzu ein Parametersatz verschiedener Flussraten an Helium als Arbeitsgas (3 – 10 mL min⁻¹) bei zusätzlicher Variation der HV-Amplitude des F μ TPs (1,7 – 3,5 kV) untersucht. Wie in Abbildung 22 zu sehen, nimmt die Intensität aller Signale bei sinkender Flussrate des Arbeitsgases signifikant ab. Gleichzeitig wurde eine höhere Hochspannungsamplitude für den stabilen Betrieb des F μ TP benötigt. Während bei Senkung der Flussrate von 10 auf 4 mL min⁻¹ die sinkenden Signalintensitäten durch eine Erhöhung der Amplitude kompensiert werden konnten, war dies bei einem Fluss von 3 mL min⁻¹ trotz maximaler Hochspannungsamplitude von 3,5 kV nicht mehr möglich. Zusätzlich lässt sich hier ein Stabilitätsverlust anhand höherer Standardabweichungen des RIP Signals erkennen. Eine Erklärung für diese Beobachtungen könnte im unzureichenden Transport der Ladungsträger aus der Quarzkapillare gefunden werden, welcher durch eine Steigerung der Hochspannungsamplitude bis zu einem gewissen Wert kompensiert werden konnte. Deshalb scheint in diesem experimentellen Aufbau die Arbeitsgas-Flussrate des F μ TPs der limitierende Faktor für einen stabilen Betrieb zu sein, insbesondere bei dem Abstand von 10 mm der Drahtspitze zur Kapillaröffnung.

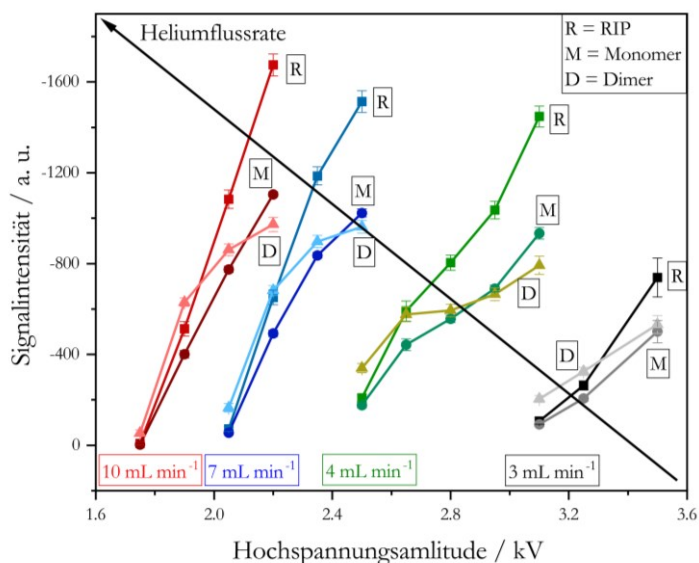


Abbildung 22: Darstellung der gemessenen Signalmaxima des RIP (Rechtecke), des 2-Nonanon Monomer (Punkte) und Dimer (Dreiecke) (3 ppb_v) bei unterschiedlichen Hochspannungsamplituden und Plasmagasflüssen an Helium. Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Hochspannungsamplitude des F μ TP. Die Ergebnisse bei einem Plasmagasfluss von 10 mL min⁻¹ sind in rot dargestellt, bei 7 mL min⁻¹ in blau, bei 4 mL min⁻¹ in grün und bei 3 mL min⁻¹ in schwarz. Eine Reduktion des Plasmagasflusses geht mit einem Verlust an Signalintensität einher und es wird zusätzlich eine höhere Amplitude der Rechteckspannung des F μ TP benötigt um ein stabiles RIP Signal zu generieren (nach ⁸¹).

Optimierungsschritt 3: Elektrodendurchmesser. Die Dimensionierung der Drahtelektrode des F μ TP beeinflusst signifikant das erzeugte elektrische Feld, welches wiederum ausschlaggebend für den Zündungsprozess des Plasmas und für dessen konstanten Betrieb ist. In Optimierungsschritt 2 zeigte sich, dass sich bei einer reduzierten Flussrate des Arbeitsgases die Länge des F μ TP in der Quarzkapillare verkürzt, was mit einem Verlust der Intensität des RIPs einherging. Daher ist es naheliegend, die Distanz von Drahtelektrode zum Kapillarausgang zu verringern, um eine maximale Ausbeute an von F μ TP erzeugten reaktiven Spezies mit den zu ionisierenden Analytmolekülen zusammenzuführen. Deshalb wurde für die weiteren Experimente die Drahtelektrode bündig bis zum Ausgang der Quarzkapillare geführt, um potentielle deaktivierende Rekombinationsprozesse während der Flugzeit aus der Quarzkapillare heraus zu minimieren. Hierdurch konnte in einem ersten Schritt die Signalintensität des RIPs auch bei einem Plasmagasfluss von 3 mL min⁻¹ Helium signifikant gesteigert werden. Im Weiteren wurde anschließend der Drahtdurchmesser der Elektrode des F μ TP reduziert, um den elektrischen Feldgradienten zu erhöhen. Die Reduktion des Drahtdurchmessers ging erneut mit einer signifikanten Signalintensitätssteigerung des RIP einher. Darüber hinaus konnte durch diese Optimierung (Drahtposition, -durchmesser) der Elektrode das teure Edelgas Helium durch Stickstoff als Arbeitsgas für das F μ TP ersetzt werden. In Abbildung 23 ist die Variation unterschiedlicher Drahtdurchmesser unter Einsatz von Stickstoff als Arbeitsgas dargestellt. Zusätzlich ist die geringste mögliche Amplitude der Hochspannung des F μ TPs angegeben, unter der ein stabiler Betrieb erreicht wurde. Die 100 μ m Drahtelektrode ist hier nicht aufgezeigt, da selbst bei der maximal möglichen

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Hochspannungsamplitude von 3,5 kV kein Signal mittels IMS unter Einsatz von Stickstoff als Plasmagas ermittelt werden konnte. Es ist ersichtlich, dass die RIP Intensitäten mit sinkendem Drahtdurchmesser von 75 μ m zu 13 μ m auf annähernd das dreifache steigen. Gleichzeitig konnte die notwendige Amplitude für den Betrieb von 3kV auf 1.75kV abgesenkt und damit nahezu halbiert werden.

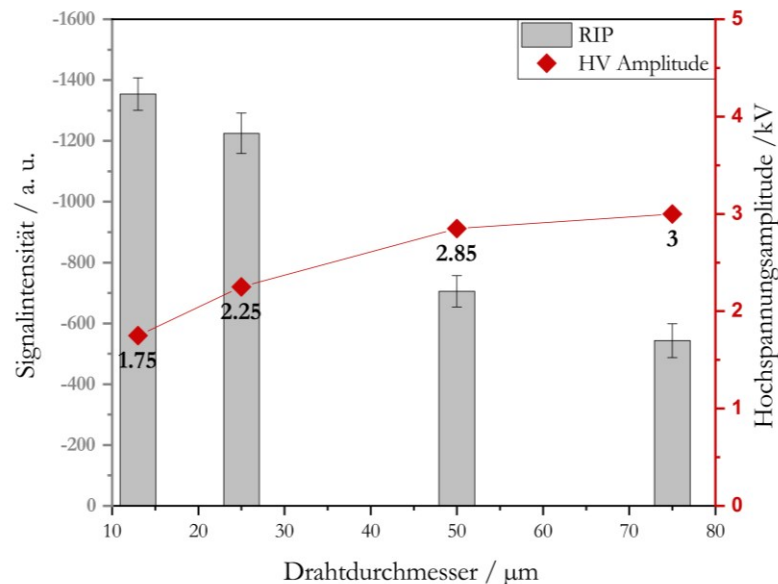


Abbildung 23: Balkendiagramm welches den Zusammenhang von Drahtelektroden Durchmesser, verwendeter minimaler Betriebsspannung und Signalintensität des RIPs aufzeigt. Ein geringerer Drahtelektroden Durchmesser geht mit einer erhöhten Signalintensität des RIP und einer niedrigeren benötigten Betriebsspannung einher. Zusätzlich konnte hier Stickstoff als Plasmagas eingesetzt werden anstatt des kostenintensiveren Edelgases Helium (nach ⁸¹).

An dieser Stelle sei dennoch erwähnt, dass die Signale unter Verwendung von Stickstoff als Arbeitsgas und einer bündig abschließenden Drahtelektrode mit dem Ende der Quarzkapillare instabiler als bei der Nutzung von Helium als Arbeitsgas mit einem größeren Abstand zum Ausgang der Quarzkapillare sind. Dies könnte durch eine Beeinflussung des erzeugten Plasmas durch die Umgebung zu erklären sein wie beispielsweise durch den Driftgasfluss, die Hochspannung des IMS oder dem Gitterpuls des IMS. Zusätzlich konnte in weiteren Experimenten sogar synthetische Luft 5.0 ((Reinheit = 99,999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) erfolgreich gezündet werden, jedoch nur bei Nutzung der maximal möglichen Amplitude von 3,5 kV. Diese Möglichkeit könnte in Zukunft einen deutlich kostengünstigeren und ggf. mobilen Einsatz des F μ TP-IMS unter Verwendung eines geschlossenen Gaskreislaufs ermöglichen.

Optimierungsschritt 4: Frequenz der Rechteckspannung. Neben der Amplitude einer plasmabasierten Ionisierungsquelle wurde bereits in der Literatur beschrieben, dass auch die Frequenz der Hochspannung die Ionisierungseffizienz eines Plasmas beeinflussen kann ⁷⁶. Daher wurde die Veränderung der Frequenz der Rechteckspannung des F μ TPs im Hinblick auf die Auswirkungen auf die Signalintensitäten des RIPs und von 2-Nonanon untersucht. Hierfür wurden die aus Tabelle 3

eingestellten Parameter für das F μ TP benutzt. Da für die Ionenmobilitätsspektrometrie Stickstoff als Arbeitsgas für das F μ TP deutlich attraktiver ist (siehe Optimierungsschritt 3), wurde das F μ TP im Folgenden nur noch damit betrieben (Arbeitsgas: Stickstoff, Durchmesser der Drahtelektrode; 13 μ m, bündiger Abschluss der Drahtelektrode mit der Kapillaröffnung). Bei einer fest eingestellten Amplitude von 2 kV wurde die Frequenz im Bereich von 5 – 30 kHz variiert. Die ermittelten Ergebnisse sind in Abbildung 24 aufgeführt. Dargestellt als Balkendiagramm sind die Signalintensitäten des RIPs sowie des 2-Nonanon Monomers und Dimers bei einer Konzentration von 5 ppb_v. Die höchsten Intensitäten aller drei Signale liegen im Frequenzbereich zwischen 20 – 25 kHz. Unterhalb von 20 kHz sinken die Intensitäten sowie die Signalstabilität (höhere Standardabweichung) aller betrachteten Signale. Dies kann auf die Wechselwirkung zwischen Gitteröffnungszeit und der Anzahl der darin stattfindenden Plasmazündungen hindeuten. Mit der gewählten Gitteröffnungszeit von 100 μ s liegen beispielsweise bei 20 kHz noch vier volle Zyklen (acht Plasmazündungen) innerhalb einer Gitteröffnung, bei 10 kHz hingegen nur noch zwei volle Zyklen (vier Plasmazündungen). Da der Gitterpuls nicht mit dem F μ TP Hochspannungsgenerator synchronisiert ist, bedeutet ein asynchroner Betrieb bei 10 kHz bereits die Möglichkeit eine von vier Plasmazündungen zu verlieren was die hohen relativen Standardabweichungen erklärt.

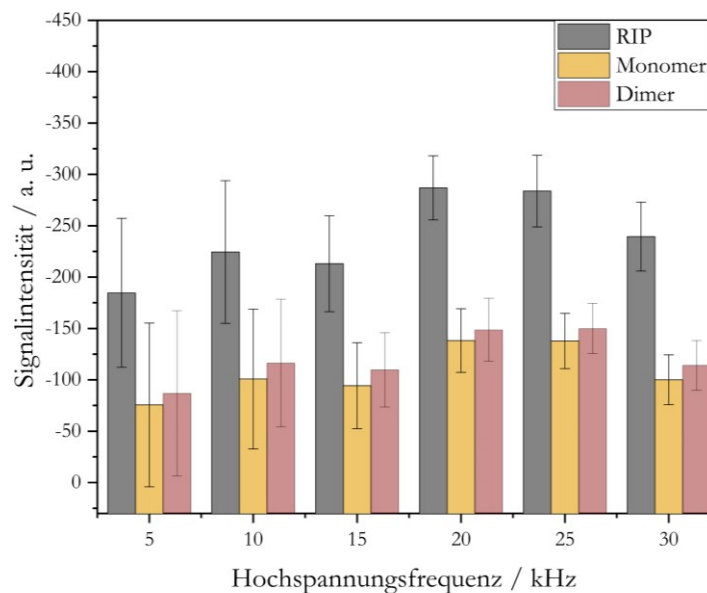


Abbildung 24: Balkendiagramm des RIP und des Monomers und des Dimers von 2-Nonanon bei einer Konzentration von 5 ppb_v. Während unterhalb von 20 kHz große Standardabweichungen mit geringen Signalintensitäten einhergehen, liegt das Optimum bei 20 – 25 kHz der Hochspannungsfrequenz des F μ TPs (nach ⁸¹).

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Des Weiteren zeigen neuste zeit- und orts aufgelöste Emissionsspektren von Guanghui Niu, einem Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Miniaturisierung (ISAS e.V., Dortmund), dass sich die Innenseite der Quarzkapillare während des positiven Halbzyklus der angelegten Rechteckspannung auflädt und dies eine entscheidende Rolle für die Ausbreitung des Plasmas innerhalb der Kapillare spielt. Wird nun die Totzeit zwischen zwei Plasmazündungen durch eine geringere Frequenz erhöht, kann dies einen größeren Ladungsabbau verursachen, als dies bei höheren Frequenzen der Fall wäre. Dadurch könnte es dann zu einer negativen Beeinflussung aller Plasmazündprozesse kommen, was mit einer sinkenden Anzahl an produzierten, reaktiven Spezies einhergeht. Weitere Untersuchungen, insbesondere zum genauen Aufbau, Transport und zur Stabilität der durch das F μ TP erzeugten reaktiven Spezies und deren Vorläufer sind zurzeit Thema aktueller Studien.

Optimierungsschritt 5: *Duty-Cycle* der Rechteckspannung. Als letztes erfolgte eine Variation des *Duty-Cycles* der Rechteckspannung (auch Tastverhältnis genannt). Der *Duty-Cycle* beschreibt dabei prozentual das Verhältnis von Hoch- zu Tiefphase der Rechteckspannung. Während der Optimierungsschritte 1-4 wurde stets mit einem *Duty-Cycle* von 50:50 bei 20 kHz gearbeitet. Die Periode beträgt dabei 50 μ s, wobei die Hochphase 25 μ s und die Tiefphase ebenfalls 25 μ s andauern. Wird nun beispielsweise eine kürzere Hochphase von 20 μ s mit einer Tiefphase von 30 μ s eingestellt, wird von einem *Duty-Cycle* von 40:60 gesprochen. In einer vorherigen Studie⁹⁰ ließ sich bei einer anderen DBD-basierten Ionisierungsquelle die Ionisierungshärte und damit auch die Ionisierungseffizienz bei Veränderung des *Duty-Cycles* optimieren. Da es sich bei dem F μ TP jedoch um kein dielektrisch behindertes Plasma handelt, ist nicht zwangsläufig von der gleichen Wirkung auszugehen. Daher sollte der Einfluss auf die Ausbreitung und Bildung von reaktiven Spezies mittels F μ TP bei einer Variation des *Duty-Cycles* im Folgenden untersucht werden.

In Abbildung 25 sind die Intensitäten des RIPs sowie des Monomers und Dimers von 2-Nonanon bei einer Konzentration von 5 ppb_v unter Variation des *Duty-Cycles* im Bereich von 40:60 bis 95:5 aufgetragen. Deutlich zu erkennen ist, dass mit steigender Dauer der Hochphase eine Steigerung der Intensität aller Signale zu beobachten ist. Das Optimum ist bei einem *Duty-Cycle* von 90:10 vorzufinden, was einer 45 μ s andauernden Hoch- und einer 5 μ s andauernden Tiefphase entspricht. Dies widerspricht den Ergebnissen von Schütz et al.⁹⁰, bei dem eine kürzere Hochphase zu einer höheren Ionenausbeute führte. Allerdings, wie bereits erwähnt, unterscheidet sich die DBD basierte Entladungsform signifikant von der hier eingesetzten plasmabasierten F μ TP Entladung. Insbesondere das vollständige Fehlen der zweiten (geerdeten) Elektrode ist beim F μ TP zu beachten, was zu grundlegenden Unterschieden in den Entladungsmechanismen führt.

Wie bereits bei der Variation der Frequenz der Rechteckspannung (Optimierungsschritt 4) dargestellt, beeinflusst die Totzeit zwischen zwei Plasmazündungen die Ausbreitung des Plasmas und die Entstehung der reaktiven Spezies.

Durch Simulationen und Emissionsmessungen in der Arbeitsgruppe Miniaturisierung (ISAS e.V., Dortmund) konnte gezeigt werden, dass während des positiven Halbzyklus eine (positive) Aufladung der Kapillarinnenseite stattfindet. Durch diese positive Aufladung verläuft die Plasmaausbreitung innerhalb der Kapillare im negativen Halbzyklus mit einer deutlich höheren Geschwindigkeit als im positiven Halbzyklus ab. Außerdem sorgt die positive Aufladung zusätzlich für eine Führung des Plasmakanals. Vergleicht man diese Effekte mit den Ergebnissen aus Abbildung 25, so kann daraus geschlossen werden, dass eine länger andauernde Hochphase zu einer größeren Aufladung der Kapillare führt und diese wiederum von Vorteil für die allgemeine Bildung reaktiver Spezies ist. Jedoch kann an dieser Stelle nicht eingegrenzt werden, ob der begünstigende Prozess vornehmlich im positiven oder negativen Halbzyklus abläuft. Denn eine höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit in negativen Halbzyklus durch den größeren Feldgradienten zwischen negativer Spannung der Drahtelektrode und positivem Potential auf Kapillarinnenseite könnte ebenfalls ein entscheidender Faktor sein. Das Abfallen der Signalintensitäten bei einem *Duty-Cycle* von 95:5 könnte wiederum für die Bildung oder den Transport wichtiger Spezies während des negativen Halbzyklus sprechen, da es einen Grenzwert für die Mindestdauer des negativen Halbzyklus und somit für die Ausbreitung des Plasmas zu geben scheint.

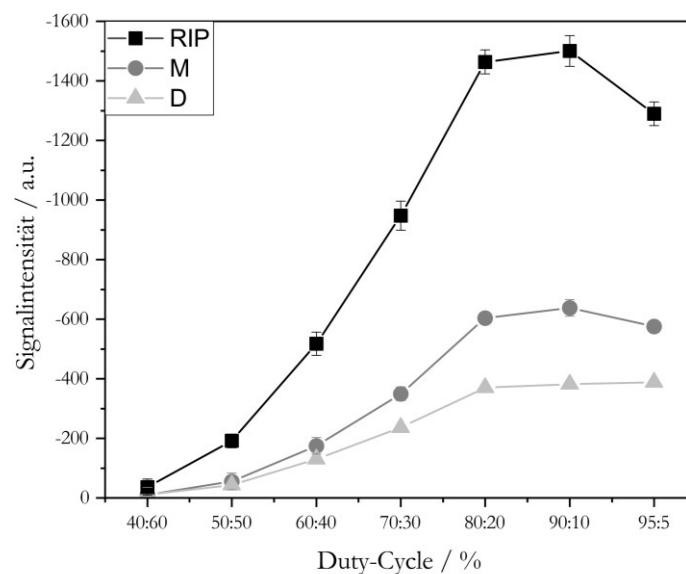


Abbildung 25: Signalintensität aufgetragen gegen den eingestellten *Duty-Cycle* des F μ TPs in Kombination mit einem IMS. Eine länger andauernde Hochphase der eingestellten Rechteckspannung geht mit einer signifikant ansteigenden Signalintensität des RIPs und des 2-Nonanon Monomers und Dimers einher. Ein Optimum des *Duty-Cycles* kann bei 90:10 ermittelt werden (nach ⁸¹).

Langzeitstabilität. Als letzter Punkt wurde die Langzeitstabilität des F μ TPs hinsichtlich maximaler Nutzungsdauer evaluiert. Hierbei stellte sich das F μ TP als äußerst langlebig heraus; einige F μ TPs der Arbeitsgruppe sind bereits seit Monaten im Einsatz. Um eine extreme Dauerbelastung zu simulieren, wurde ein F μ TP über acht Tage hinweg durchgehend betrieben. Hierbei war nach ca. drei bis vier Tagen ein Signalverlust des RIPs festzustellen. In Abbildung 26 ist eine Rasterelektronenmikroskop-

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Aufnahme der Quarzkapillare dargestellt, einmal vor Beginn und einmal nach acht Tagen des Dauerbetriebs. Es ist ersichtlich, dass die zunächst plan abgeschnittene Kapillare (Abbildung 26A) nach dem Dauerbetrieb von acht Tagen deutliche Absplitterungen und Ermüdungserscheinungen aufweist (Abbildung 26B). Dies lässt auf *Sputter*-Effekte am Kapillarende schließen was einhergeht mit einer Änderung des Abstandes zwischen Kapillaröffnung zu Drahtspitze und dadurch die Signalverluste des RIPs im fortlaufenden Betrieb erklärt. Auf Grund der austauschbaren Kapillarspitze ist jedoch ein Austausch innerhalb kürzester Zeit möglich. Um eine beschleunigte Alterung zu simulieren wurde für diese Langzeitmessungen eine deutlich höhere Amplitude von 2,6 kV gewählt. Daher fallen die Wechselintervalle im Realbetrieb deutlich größer aus.

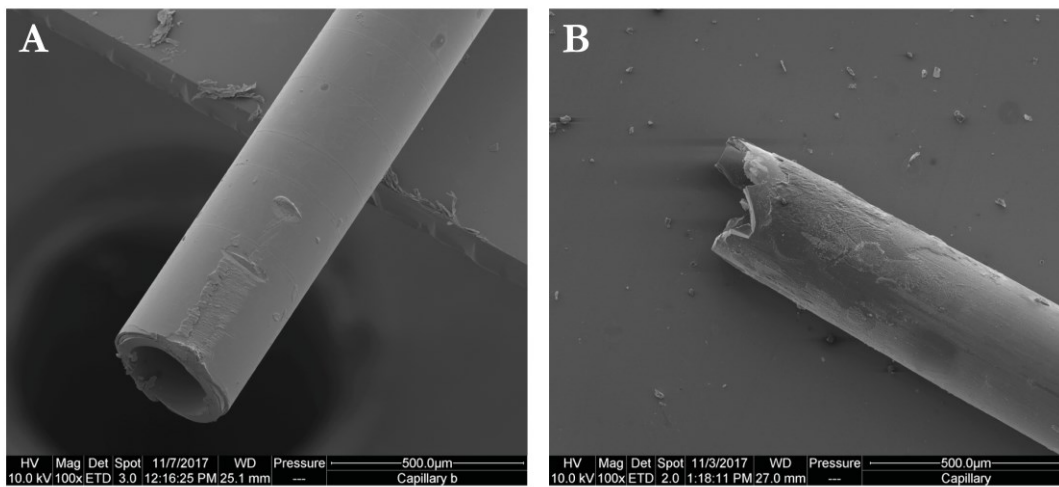


Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme des F μ TPs vor (A) und nach acht Tagen Dauerbetrieb (B). Deutlich zu sehen sind die Abnutzung- und Ermüdungserscheinungen nach acht Tagen (nach ⁸¹).

4.2 Vergleich Helium-F μ TP, Stickstoff-F μ TP und β -Strahlungsquelle (^{63}Ni)

Bisher konnte das F μ TP in zwei Konfigurationen, einmal mit Helium und einmal mit Stickstoff als Betriebsgas, erfolgreich an ein IMS adaptiert werden. Insbesondere die Hochspannungsamplitude, der Drahtdurchmesser und der eingestellte *Duty-Cycle* lieferten hier das größte Optimierungspotential. Während das eingesetzte Helium-F μ TP bereits zu Beginn vielversprechende Ergebnisse lieferte, war ein Betrieb des F μ TP mit Stickstoff als Arbeitsgas erst mit einem reduzierten Drahtdurchmesser erfolgreich. Um die Unterschiede in der Ionisierung bzw. der Ionisierungseffizienz auszumachen, wurde im Folgenden ein Stickstoff-F μ TP mit einer 13 μm Drahtelektrode und ein Helium-F μ TP mit einer 75 μm Drahtelektrode sowie eine Ni^{63} β -Strahlungsquelle miteinander verglichen. Hierzu wurde der zuvor beschriebene Keton-Mix aus 2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon und 2-Decanon eingesetzt und kalibriert. Die Sensitivität der unterschiedlichen Ionisierungsquellen wurde dann anhand der ermittelten Werte des LODs und des LDRs verglichen. Zur Ermittlung des LODs wurde wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben, die Methode nach Hubaux und Vos angewandt ⁴⁶.

Für beide F μ TP Konfigurationen wurden die optimalen Arbeitsparameter gewählt, nur der Plasmagasfluss wurde auf denselben Wert gesetzt, um eine bessere Vergleichbarkeit (Gasflüsse in der Ionisierungskammer und daraus resultierender Verdünnungsfaktor der Probe) zu gewährleisten. So betragen die Flussraten für Helium und Stickstoff jeweils 5 mL min^{-1} . Zusätzlich wurde für beide F μ TP Konfigurationen ein *Duty-Cycle* von 90:10 und eine Hochspannungsfrequenz von 20 kHz gewählt. Während für das Stickstoff-F μ TP eine Hochspannungsamplitude von 1,9 kV als optimal ermittelt wurde, betrug diese für das Helium-F μ TP 1,65 kV.

In Abbildung 27 sind die Ergebnisse der Kalibrierung mit dem zuvor hergestellten Keton-Mix für das Helium- und das Stickstoff-F μ TP dargestellt. Das beste LOD wurde für 2-Octanon in der Helium-F μ TP Konfiguration mit 20 ppt_v ermittelt. Außerdem war ein größerer LDR im Fall von 2-Heptanon, 2-Nonanon und 2-Decanon bei dem Helium-F μ TP im Vergleich zu dem Stickstoff-F μ TP zu finden. Eine Auflistung aller LODs und LDRs ist in Tabelle 4 aufgeführt. Zusätzlich sind hier auch die erzielten Ergebnisse der radioaktiven β -Strahlungsquelle (^{63}Ni) zu finden. Es ist ersichtlich, dass sich für alle 3 Quellen die LODs in der gleichen Größenordnung bewegen. Bei den LDRs hingegen verhält sich dies anders. Hier schneidet die ^{63}Ni Ionisierungsquelle im Vergleich zu den F μ TP Konfigurationen geringfügig schlechter ab.

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

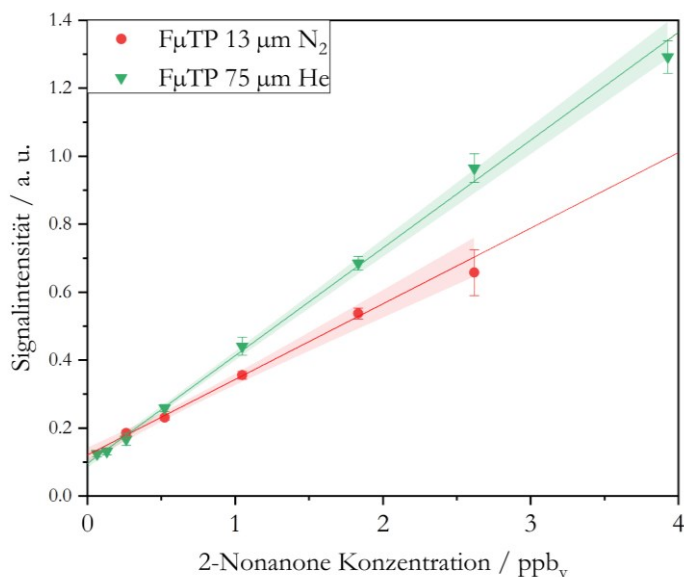


Abbildung 27: Kalibrierung von 2-Nonanon mittels Helium-F μ TP und einer 75 μ m Drahtelektrode (grün) und zum anderen mittels Stickstoff-F μ TP und einer 13 μ m Drahtelektrode (rot). Die einzelnen Datenpunkte sind linear angepasst (durchgezogene Linien) und die jeweiligen 95 % Konfidenzintervalle sind als schattierte Flächen gekennzeichnet. Ein besseres Ergebnis hinsichtlich Detektionslimit (LOD) und linearen dynamischen Bereich (LDR) ist für die Konfiguration des Helium-F μ TPs ersichtlich (nach ⁸¹).

Zu erklären ist dies mit einer deutlich früher eintretenden Verhältnisveränderung zu Gunsten der Dimerbildung schon bei geringeren Analytkonzentrationen im Fall der ⁶³Ni β -Strahlungsquelle. Warum die F μ TP Ionisierungsquelle weniger zu Dimerbildung neigt ist derzeit noch ungeklärt. Ein Erklärungsansatz könnte möglicherweise der größere Feldgradient an der Drahtspitze sein (siehe Optimierungsschritt 1).

Tabelle 4: Auflistung der Detektionslimits (LOD) und der linearen dynamischen Bereiche (LDR) unter Verwendung der unterschiedlichen F μ TP Konfigurationen (Helium-F μ TP, Stickstoff-F μ TP) sowie der radioaktiven ⁶³Ni β -Strahlungsquelle. Die besten erzielten Ergebnisse sind jeweils hervorgehoben.

Substanz	LOD / ppbv		
	F μ TP (13 μ m, N ₂)	F μ TP (75 μ m, He)	⁶³ Ni
2-Heptanon	0,05	0,05	0,22
2-Octanon	0,08	0,02	0,05
2-Nonanon	0,18	0,07	0,10
2-Decanon	0,33	0,28	0,21
	LDR / ppbv		
2-Heptanon	0,12-2,42	0,06-1,69	0,12-0,96
2-Octanon	0,01-1,72	0,01-0,98	0,12-0,49
2-Nonanon	0,26-1,61	0,06-3,92	0,07-1,04
2-Decanon	0,24-2,48	0,24-3,73	0,24-2,48

4.3 F μ TP-IMS: Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel konnte mit dem *Flexible Microtube Plasma* – F μ TP – eine neue, plasmabasierte miniaturisierte Ionisierungsquelle mit einem Ionenmobilitätsspektrometer gekoppelt und hinsichtlich maximaler Ionenausbeute und Ionisierungseffizienz optimiert werden. Besonders die Anpassung der Amplitude und des *Duty-Cycles* der Rechteckspannung sowie der Durchmesser der Drahtelektrode erwiesen sich als ausschlaggebende Optimierungsparameter. Nachdem die benötigte Flussrate des Arbeitsgases (Helium) auf bis zu 3 mL min⁻¹ reduziert werden konnte, war es darüber hinaus möglich auch Stickstoff und sogar synthetische Luft mittels optimierter F μ TP-Konfiguration zu zünden und ein stabiles Signal zu generieren. Im abschließenden Vergleich erzielte das Helium-F μ TP geringfügig bessere LODs und LDRs im Vergleich zum Stickstoff-F μ TP. Auch im Vergleich zur radioaktiven ⁶³Ni β -Strahlungsquelle konnten beide Quellen-Konfigurationen mithalten. Es sei jedoch erwähnt, dass bisher nur Messungen im positiven Ionenmodus vorgestellt wurden. Hier sind allem Anschein nach die Reaktantionen und Ionisierungsprozesse zur Bildung der Analytionen bei allen getesteten Ionisierungsquellen vergleichbar.

Im positiven Ionenmodus, stellt das F μ TP somit eine vielversprechende Alternative zur radioaktiven Ionisierungsquelle dar. Insbesondere der Einsatz von Stickstoff und synthetischer Luft als Arbeitsgas können einen mobilen und insbesondere kostengünstigen Einsatz dieser Ionisierungsquelle ohne weitere regulatorische Auflagen ermöglichen. Zudem ist das F μ TP robust sowie langzeitstabil und bei Signalverlusten nach einer gewissen Betriebsdauer kann die Kapillarspitze einfach und anwenderfreundlich ausgetauscht werden.

Für die Ionisierung und Untersuchung von mikrobiologischer Proben mittels F μ TP-IMS muss in weiteren Schritten die Analyt-Vielfalt vergrößert und insbesondere systematisch anhand der unterschiedlichen Analytklassen charakterisiert werden. Für eine häufig in mikrobiologischen Proben vertretene Analytklasse, den Ketonen, konnte das F μ TP jedoch hier erstmals erfolgreich mit einem Ionenmobilitätsspektrometer eingesetzt werden.

Erste Ergebnisse im negativen Ionenmodus zeigen im Hinblick auf den Reaktant-Ionen-Peak kein einheitliches Bild. Hier verändert sich der Reaktant-Ionen-Peak je nach Drift- und Probengaszufuhr und es sind mitunter mehrere Reaktant-Ionen-Peaks zu detektieren. Eine Optimierung in diesem Ionenmodus sowie eine Aufklärung der reaktiven Spezies im negativen Ionenmodus ist Gegenstand aktueller Forschungen.

Das Flexible Microtube Plasma (F μ TP)

Im Anschluss an die hier erzielten Ergebnisse konnten erfolgreich Forschungsgelder^g eingeworben werden, die zum Bau eines F μ TP-IMS Systemprototypen sowie für dessen Serienproduktion eingesetzt werden sollen. Des Weiteren führten die Ergebnisse zum signifikanten Einfluss des *Duty-Cycles* auf die Bildung von Reaktantionen und somit auf die Ionisierungseffizienz zu weiteren grundlegenden Forschungsarbeiten. So wurden die in Abbildung 19 unter dem Punkt **F μ TP** dargestellten emissionsspektroskopische Messresultate erst auf Grund der hier erzielten Ergebnisse durchgeführt und bilden die Grundlagen für ein tiefergehendes Verständnis der im Falle des F μ TPs ablaufenden Zünd- und Ausbreitungsprozesse.

^g BMBF-Programm VIP+ „Nicht-Radioaktive Ionisierung für Spektrometrie und Spektroskopie“ (NORISC: Förderkennzeichen 03VP07560)

5 Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

Bei mikrobiologischen Proben, insbesondere im medizinischen Umfeld, handelt es sich meist um potentiell infektiöses Material. Deshalb ist der Umgang mit diesen Proben mit besonderen Sorgfaltspflichten und Hygieneauflagen verbunden und die Durchführung der Experimente muss in klassifizierten Sicherheitslaboren erfolgen. Prinzipiell steht eine Desinfektion, Sterilisierung oder Dekontaminierung aller verwendeter Materialien und Geräte an erster Stelle. Eine Dekontamination mit beispielsweise herkömmlichen Desinfektionsmitteln eines Ionenmobilitätsspektrometers ist jedoch auf Grund der hohen Konzentrationen flüchtiger Stoffe aus den Desinfektionsmitteln nicht möglich. Daher wäre, hier die Entwicklung eines robusten und kostengünstigen „Einmal-Ionenmobilitätsspektrometers“ wünschenswert, welches eine vergleichbare Leistungsfähigkeit wie andere Ionenmobilitätsspektrometer aufweist.

Das Prinzip der additiven Fertigung ermöglicht ein ungemein schnelles Anfertigen von dreidimensionalen Strukturen und Prototypen bisher unbekannter Komplexität⁹¹⁻⁹⁴. Ein Beispiel für solch eine Fertigungstechnik stellt der dreidimensionale Druck (3D-Druck) dar. Im Gegensatz zur subtraktiven Fertigung (bspw. Zerspanen), bei dem durch Materialabtrag Objekte entstehen, wird in der additiven Fertigung ein Objekt durch schichtweisen Materialauftrag erzeugt⁹⁵. Auf Basis eines dreidimensionalen, digital erzeugten Objektes ermöglicht der 3D-Druck die Erschaffung einer Vielzahl an hochkomplexen und funktionalisierten Objekten, teilweise auch durch die Kombination mehrerer Materialien mit unterschiedlichen mechanischen, chemischen, physikalischen oder auch elektrischen Eigenschaften⁹⁵⁻¹⁰⁰.

Hierbei wurden für unterschiedliche Materialklassen unterschiedliche 3D-Druck Methoden entwickelt. So wird zur Fertigung von Objekten aus Metall oder Keramiken die Methode des Selektiven Laser Sinterns, engl. *selective laser sintering* – SLS – bevorzugt. Die ebenfalls auf Licht basierte Methode der Stereolithografie, engl. *stereolithography apparatus* – SLA – kann für feinste Objekte angewendet werden, die aus Photopolymeren hergestellt werden. Darüber hinaus ist der auf Extrusion beruhende 3D-Druck weit verbreitet im Bereich funktionalisierter Objekte, bei denen durch den Einsatz unterschiedlicher Materialien und Extrusionsdüsen, engl. *Nozzles*, dreidimensionale Formen entstehen⁹³. Insbesondere der Thermoplast Polymilchsäure, engl. *polylactic acid* – PLA – wird für diese Methode, auch bekannt als *fused deposition modelling* – FDM –, eingesetzt¹⁰¹⁻¹⁰⁴.

Durch dieses Material und die Zugabe von elektrisch leitenden Füllmaterialien ist es möglich sogar ein leitfähiges Material für die FDM-Methode zu erzeugen. Dieses Material kann einem FDM-Drucker in Form eines Filaments zugeführt werden¹⁰⁵. Die durch diese leitfähigen Filamente erzeugten 3D-

Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

Strukturen weisen jedoch einen hohen Widerstand auf und sind deshalb nicht für den Einsatz mit hohen elektrischen Ströme ausgelegt.

Im Bereich der analytischen Chemie ist dies jedoch zum Teil von großem Vorteil, da hier einige Geräte mit niedrigen Strömen und hohen elektrischen Widerständen arbeiten. So fand der 3D-Druck mittels leitfähiger Filamente besonders im Bereich der Sensorik Anwendung. In einigen Studien wurden Sensoren in 3D-gedruckte Strukturen eingebettet oder das 3D-gedruckte Objekt stellte sogar den kompletten Sensor dar^{91, 106}. Ein besonderer Fokus der aktuellen Forschung liegt zudem auf dem 3D-Druck von Elektroden und deren Aktivierung für hochempfindliche elektrochemische Analysen^{102-104, 107}.

Auf Grund dieser Vielzahl an Studien ist es naheliegend, dass auch der 3D-Druck im Bereich der Ionenmobilitätsspektrometrie Einzug gehalten hat. So konnte bereits in dieser Arbeit, wie in Kapitel 4 beschrieben, eine angepasste Ionisierungskammer für das F_uTP schnell, individuell und insbesondere kostengünstig gefertigt werden. Aber auch andere Komponenten des Ionenmobilitätsspektrometers wurden bereits mittels 3D-Druck hergestellt und dessen vielversprechende Ergebnisse publiziert. So stellte Hollerbach et al. ein Driftröhren Ionenmobilitätsspektrometer in Kombination mit einem Massenspektrometer als Detektor in 3D-gedruckter Form vor, bei dem fokussierende Driftringlektroden mittels 3D-Druck gefertigt wurden^{108, 109}. Auch Hauck et al. konzentrierte sich bereits auf den 3D-Druck von Driftröhren, jedoch anders als Hollerbach et al. nicht als einzelne, zusammensteckbare Elektroden, sondern als eine Einheit¹¹⁰. Hier lag der Fokus insbesondere auf der reproduzierbaren Herstellung dieser *Unibody*-Driftröhren. Ein komplettes *Stand-Alone* Ionenmobilitätsspektrometer welches mittels 3D-Druck gefertigt wurde, ist in der Literatur jedoch nicht zu finden, wird aber nun im Folgenden vorgestellt. Durch das schnelle und insbesondere kostengünstige Herstellungsverfahren des FDM 3D-Drucks und dessen Möglichkeit für einen Mehrkomponentendruck wird sich so dem endgültigen Ziel eines „Einmal-Ionenmobilitätsspektrometers“ genähert, welches nach Kontamination mit ggf. hochinfektiösen Proben einfach entsorgt werden könnte^b. Die hier vorgestellten Ergebnisse sind in der Publikation von Drees et al. veröffentlicht¹¹¹.

^b Das vollständige 3D-gedruckte IMS wurde in enger Zusammenarbeit am ISAS e.V., Dortmund, mit Herrn Sebastian Brandt und Herrn Simon Höving angefertigt und entwickelt. Hierbei wurde der Fertigungsprozess sowie die Übertragung der funktionellen Komponenten in 3D druckbare Strukturen des IMS von Herrn Brandt durchgeführt. Das Design der Ioneneinlassgitter entwickelte sich unterdessen im Rahmen der durch Herrn Brandt und mich betreuten Bachelorarbeit „Development and Optimization of a 3D-printed Ion Gate for Ion Mobility Spectrometry“ von Herrn Höving (TU Dortmund, 2019). Alle Messungen wurden im Rahmen dieser Dissertation geplant und durchgeführt, wobei alle Entwicklungsschritte in Zusammenarbeit mit Herrn Brandt umgesetzt wurden.

IMS Design. Um die *Performance* des 3D-gedruckten IMS beurteilen zu können, wurde als Ausgangspunkt das Design eines am ISAS e.V. entwickelten *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometers (DTIMS) verwendet. Dieses besteht aus einem Grundkörper aus Polytetrafluorethylen – PTFE – und Messingelektroden. Die Driftröhre des DTIMS ist hierbei aus 19 Driftelektroden aufgebaut, welche sich homogen über eine Strecke von 12 cm verteilen. Als Driftspannung wurde eine Hochspannungsamplitude von 5 kV angelegt, der Driftgasfluss betrug 300 mL min^{-1} Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) und eine ^{63}Ni β -Strahlungsquelle (550 MBq) wurde für die Ionisierung eingesetzt. Die Ionendetektion erfolgte durch eine Faraday-Platte mit einer Wiederholungsrate von 100 ms und die Gitteröffnungszeit belief sich auf 300 μs . Zwei identische Versorgungseinheiten wurden für das PTFE als auch für das 3D-gedruckte IMS genutzt und die Messungen wurden mit einer am ISAS e.V. entwickelten Software (qIMS) aufgenommen. Alle Messungen sind bei Umgebungstemperatur und Umgebungsdruck durchgeführt worden.

3D-Druck. Zur Fertigung des 3D-gedruckten IMSs wurde ein Ultimaker 3 (UM3) und ein Ultimaker 2 (UM2, Ultimaker B.V., Utrecht, Niederlande) genutzt.

Das Ioneneinlassgitter (Bradbury-Nielsen) und das Apertur-Gitter der Faraday-Platte wurde mit dem Ultimaker 2 gefertigt. Dieser ist bestückt mit einer einzelnen Extrusionsdüse, welche sich jedoch austauschen lässt. Hier kamen zum einen eine Düse mit einem inneren Durchmesser von 0,25 mm und zum anderen von 0,1 mm zum Einsatz.

Alle übrigen Komponenten wurden mit einem Ultimaker 3 hergestellt, welcher mit zwei Extrusionsdüsen ausgestattet ist. Hier wurde für beide Düsen des Ultimaker 3 ein Innendurchmesser von 0,4 mm gewählt. Eine der beiden Düsen wurde mit einem durchsichtigen PLA-Filament (EasyFil PLA, Formfutura, Niederlande) für die isolierenden Grundstrukturen des IMS-Körpers ausgestattet. Die andere Düse hingegen wurde mit leitfähigem PLA-Filament versorgt (Electrically Conductive PLA, Proto-Pasta, Protoplant Inc., Vancouver, USA) welches für die Herstellung der funktionalen elektrisch leitenden Elemente genutzt wurde. Dieses leitfähige Filament generiert Strukturen mit einem Volumenwiderstand von 15-115 Ohm cm^{-2} , je nach eingestellten 3D-Druck-Parametern ¹¹².

Alle 3D-Modelle wurden mittels CAD Software (Autodesk Inventor Professional 2015 Autodesk, Mill Valley, USA) erstellt und als Oberflächendatei (.STL) exportiert. Anschließend wurden diese Modelle mittels *Slicing Software* (Cura 4.4.1, Ultimaker B.B., Geldermalsen, Niederlande) nach Vorlage spezialisierter *Slicing*-Rezepte in ein Schichtmodell konvertiert. Dieses wurde als G-Code Datei (.GCODE) exportiert und an den 3D-Drucker gesendet.

Alle *Slicing*-Rezepte basieren auf einem Master-Rezept, bei welchem mit einer 0,4 mm Düse gedruckt wurde. Dabei wurde eine Schichthöhe von 0,1 mm, eine Wandstärke von 1,6 mm und eine Drucktemperatur von 220 °C (leitfähiges PLA-Filament) bzw. 205 °C (nichtleitfähiges PLA-Filament)

Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

eingestellt. Die Temperatur der gläsernen Druckplattform betrug 60 °C. Alle weiteren Parameter für spezialisierte *Slicing*-Rezepte der jeweiligen Einzelkomponenten des 3D-gedruckten IMS sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Für die hochaufgelösten Strukturen des Ioneneinlassgitters und des Apertur-Gitters musste der G-Code individuell programmiert werden. Die Vorgehensweise dafür wurde im Rahmen einer betreuten Bachelor-Arbeit ¹¹³ entwickelt, um die Schichtdicken und somit die Stärke der Gitterstrukturen auf ein Minimum zu reduzieren. Hierzu wurde die *Open-Source* Software Repetier Host 2.1.6 (Hot-World GmbH & Co. KG, Knickesldorf, Deutschland) verwendet.

Tabelle 5: Auflistung aller *Slicing*-Rezepte spezialisiert auf das jeweilige Bauteil/-gruppe. Aufgeführt sind die wichtigsten Abweichungen vom dem im Text dargestellten Masterrezept (nach ¹¹¹).

IMS Komponente	Ionisierungskammer/ Halter Ioneneinlassgitter		Driftröhre		Ioneneinlassgitter		Faraday-Platte		Apertur-Gitter
Parameter									
3D-Drucker	UM3	UM3	UM3	UM3	UM2	UM2	UM3	UM3	UM2
	Material								
Typ	<i>Leitfähig</i>	<i>PLA</i>	<i>Leitfähig</i>	<i>PLA</i>	<i>Leitfähig</i>	<i>Leitfähig</i>	<i>Leitfähig</i>	<i>PLA</i>	<i>PLA</i>
Druck Temp. / °C	220	205	220	205	220	220	220	205	205
Glasplattform Temp. / °C	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Retraktion & Z hop	aktiviert	aktiviert	aktiviert	aktiviert			aktiviert	aktiviert	
Extrusion Flussrate / %	100	100	100	100	101	100	100	100	100
	Druckqualität								
Nozzle ID / mm	0,4	0,4	0,4	0,4	0,1	0,1 – 0,25	0,4	0,4	0,25
Schichthöhe / mm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	Shell								
Wandstärke / mm	1,6	1,6	0,8	0,8	0,3		0,8	1,2	0,5
Top/Bottom Stärke / mm	2	1	1	1			5	1	
	Infill								
Dichte / %	100	30	100				100	30	
Muster	concentric	grid	concentric				concentric	concentric	grid
	Druckgeschwindigkeit								
Geschwindigkeit / mm s ⁻¹	70	70	70	70	40	40	70	70	40
	Kühlung								
Ventilator / %	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Probenaufgabe und Modellanalyten. Zur Evaluierung der *Performance* des 3D-gedruckten IMS im Vergleich zum IMS aus PTFE mit Messingelektroden wurden erneut verschiedene Ketone als Modellanalyten gewählt. Es wurden 2-Heptanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 4-Heptanon (Fluka, Seelze, Germany), 3-Octanon (Alfa Aesar, Massachusetts, USA), 2-Octanon (Fluka, Seelze, Germany), 2-Nonanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und 3-Nonanon (Alfa Aesar, Massachusetts, USA) untersucht. Diese wurden wie in Kapitel 4 beschrieben mittels Kalibriergasgenerator (HovaCAL, 3833SP VOC, Inspire Analytical Systems GmbH, Oberursel, Deutschland) generiert und in das jeweilige IMS eingeleitet. Jedoch wurden hier alle drei Kanäle des Kalibriergasgenerators verwendet, indem jedem dieser Kanäle eine 1:1 Mischung der jeweiligen Stereoisomere, aus 2- und 4-Heptanon, 3- und 2-Octanon sowie 2- und 3-Nonanon, zugeführt wurde. Dabei wurde der Kalibriergasgenerator so eingestellt, dass jedes dieser Ketone in einer Konzentration von 1 ppb_v dem jeweiligen IMS zugeleitet wurde. Analog zu den in Kapitel 4 aufgeführten Gründen wurden hier erneut Ketone als Modellanalyten gewählt, da sie als Metaboliten verschiedener Bakterien identifiziert wurden. Jedoch wurde keine gaschromatographische Vortrennung dem IMS vorgeschaltet, um insbesondere die Trennleistung der 3D-gedruckten Driftröhre beurteilen zu können.

Auswertung. Die Auswertung der Rohdaten (.CSV) erfolgte mittels Origin Pro 2019 (OriginLab, Northampton, USA). Als *Performance*-Parameter wurden die *Resolution*, die *Resolving Power* und die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (SNR) aus den nach Gauß angepassten Spektren berechnet und beurteilt.

5.1 Aufbau der 3D-gedruckten Einzelkomponenten

Im Folgenden werden die einzelnen Komponenten des 3D-gedruckten IMS und deren Abweichungen zum Ausgangsmodell (PTFE-IMS) erläutert. Eine Übersicht des 3D-gedruckten und des herkömmlich produzierten PTFE-IMS ist in Abbildung 28 dargestellt. Zu sehen sind von links nach rechts alle Einzelkomponenten beider IMS: Abbildung 28A zeigt die Ionisierungskammer, Abbildung 28B das Ioneneinlassgitter, Abbildung 28C die Driftröhre und Abbildung 28D den Detektor. Zusätzlich sind für die folgenden Experimente sechs Magnete (4 x 2 mm, Zugkraft 450 g) an jedem Bauteil und Bauteilflansch eingelassen, um einen schnellen Austausch zur Kreuzvalidierung aller Einzelkomponenten untereinander zu ermöglichen.

A Ionisierungskammer **B** Ioneneinlassgitter **C** Driftröhre **D** Detektor

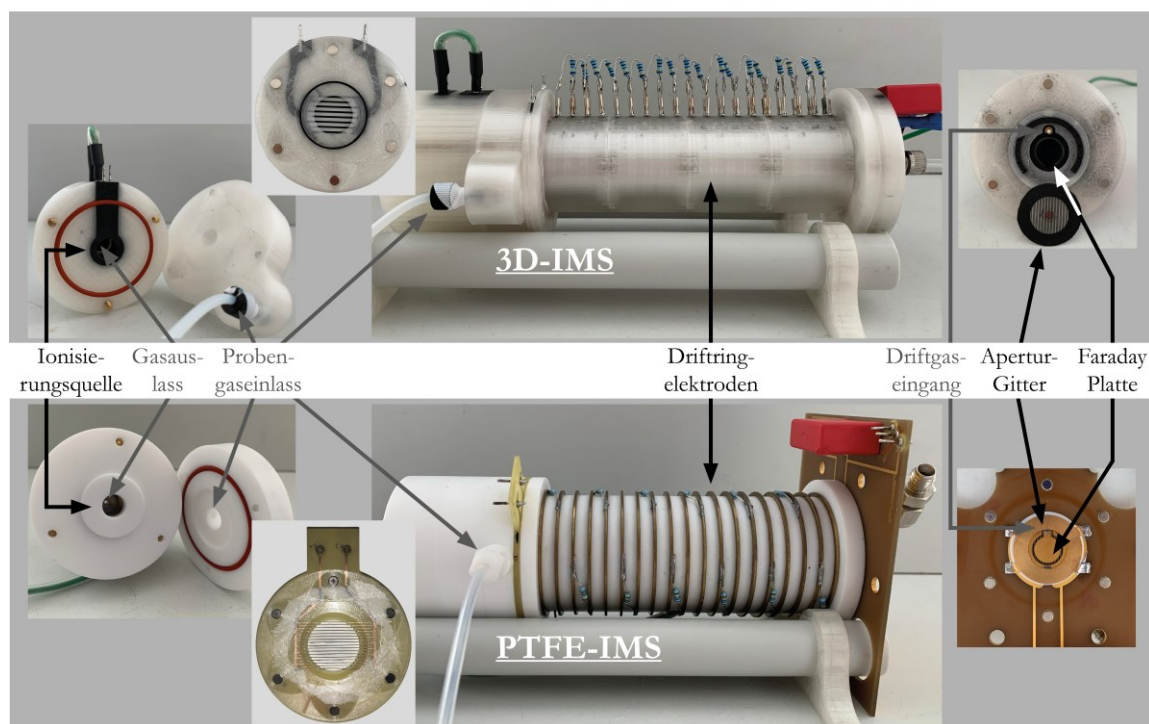


Abbildung 28: Photographien der einzelnen Komponenten des 3D-gedruckten (oben) und des herkömmlich aus PTFE hergestellten IMS (unten). Zu sehen sind jeweils die Ionisierungskammer (A), das Ioneneinlassgitter (B), die Driftröhre (C) und der Detektor (D). An jedem Bauteil sind auch die für einen schnellen Zusammenbau angebrachten Magnete zu sehen (nach ¹¹¹).

Ionisierungskammer. Die Ionisierungskammer des 3D-gedruckten IMS wurde analog zu der Ionisierungskammer aus PTFE in zwei Teilen gefertigt. Der erste Teil beherbergt eine Ringelektrode aus leitfähigem PLA, welche nach außen hin kontaktierbar ist. In die Ringelektrode ist eine radioaktive ⁶³Ni-Folie als β -Strahlungsquelle zur Ionisierung eingelegt. Am Ausgang des Spektrometers, hinter dieser Ringelektrode befindet sich, analog der Ionisierungskammer aus PTFE, eine gelochte Plattenelektrode, welche eine Öffnung für den Gasauslass aufweist. Auf der anderen Seite befindet sich der zweite Teil der Ionisierungskammer, welcher eine Öffnung für den Probeneinlass enthält. Anders als bei den übrigen Komponenten, sind diese beiden Teile der Ionisierungskammer fest miteinander

verschraubt und nicht mit Magneten verbunden. Durch die feste Verschraubung wird der direkte Kontakt mit der radioaktiven ^{63}Ni -Folie beim Austausch der einzelnen Komponenten verhindert. Ebenso wie zwischen den mit Magneten verbundenen Komponenten befindet sich auch hier ein Dichtring (40 x 2 mm, MVQ 30, Arcus, Sevetal, Deutschland) zwischen den beiden verschraubten Komponenten der Ionisierungskammer.

Ioneneinlassgitter. Als Ioneneinlassgitter wurde ein Bradbury-Nielsen Gitter verwendet. Hierbei befinden sich die beiden elektrisch voneinander isolierten Gitter in einer Ebene, was dessen Fertigung im Allgemeinen und insbesondere mittels 3D-Druck deutlich erschwert. Um die feinen voneinander isolierten Leiterbahnen zu fertigen und an den 3D-Drucker zu übertragen, musste der G-Code manuell erstellt werden. Dies erfolgte im Rahmen einer betreuten Bachelor-Arbeit ¹¹³. Um die Gitterstrukturen zu drucken, wurde in zwei Schritten vorgegangen. Zunächst wurden die beiden leitfähigen Gitterbahnen auf die Druckplattform gedruckt und erst in einem zweiten Schritt die nichtleitfähige Grundstruktur. Neben einer 1:1 Kopie des im PTFE-IMS verbauten Ioneneinlassgitters wurden drei weitere Designs des Bradbury-Nielsen-Gitters entwickelt, wie in Abbildung 29 dargestellt.

Hierbei stellt Abbildung 29/1 die Kopie des kommerziell erworbenen Bradbury-Nielsen Gitters (Gesellschaft für Analytische Sensorsysteme mbH, Dortmund, Deutschland) dar und wird folglich als BN-Gitter 1 bezeichnet, Abbildung 29/2 zeigt eine Variante, welche nur halb so viele Gitterlinien wie das BN-Gitter 1, jedoch das gleiche Verhältnis von bedeckter zu freier Fläche aufweist. Es wird im Folgenden als BN-Gitter 2 betitelt. In Abbildung 29/3 ist eine Variante dargestellt (BN-Gitter 3) welche ebenfalls ein gleiches Verhältnis von freier zu bedeckter Fläche aufzeigt, jedoch etwa doppelt so viele Gitterlinien besitzt wie das BN-Gitter 1. Abbildung 29/4 zeigt ein völlig neues Gitter-Design und wird als BN-Gitter 4 bezeichnet. Hier liegen die einzelnen Gitterlinien nicht mehr parallel zueinander, sondern sind ineinander verwoben, wobei zum Vergleich mit dem Original die Gitterbreite verwendet wurde.

Für eine definierte und reproduzierbare Positionierung sowie für dichte Verbindungen wurde für diese 3D-gedruckten Gitter ein Halter entwickelt, der mit Magneten an die Ionisierungskammer und die Driftröhre angebracht wurde. Zusätzlich ermöglicht dieser Halter die elektrische Kontaktierung des Ioneneinlassgitters (siehe Abbildung 28B).

Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

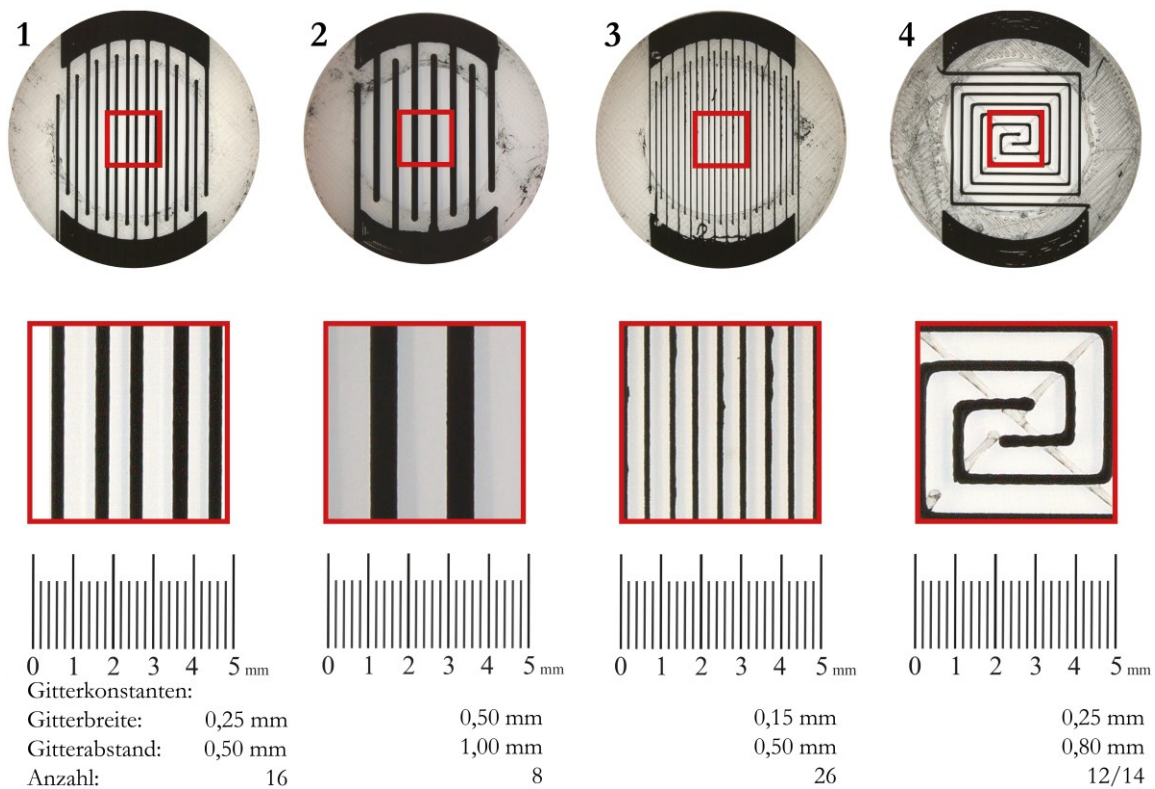


Abbildung 29: Photographie der vier verschiedenen, 3D-gedruckten Ioneneinlassgitter. Ioneneinlassgitter: 1) BN-Gitter 1: Replikat des kommerziell erhältlichen BN-Gitters mit identischen Parametern. 2) BN-Gitter 2: Doppelte Gitterstegbreite und Gitterstegabstand bei gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche wie 1). 3) BN-Gitter 3: Nahezu halbe Gitterstegbreite und Gitterstegabstand bei gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche. 4) BN-Gitter 4: Völlig neuartiges, ineinander verwobenes Gittergeflecht mit gleicher Gitterstegbreite und gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche wie 1). Unterhalb der jeweiligen Photographie sind vergrößerte Abschnitte der Gitter dargestellt und mit einer Skala versehen. Zusammenfassend sind unter allen Gitterformen die Gitterkonstanten aufgelistet (nach ¹¹⁾).

Driftröhre. Um ein möglichst homogenes elektrisches Feld entlang der Driftröhrenachse zu erzeugen wurde analog zum PTFE-IMS eine Driftröhre aus gestapelten Driftringen entworfen, die durch eine isolierende Schicht voneinander getrennt sind. Auf Grund einiger später erläuterten Materialeigenschaften des eingesetzten PLA wurden hier zwei unterschiedliche Varianten gefertigt. Die erste Version stellt eine 1:1 Kopie der Referenz (PTFE-IMS) dar. Als zweite Version wurde eine Driftröhre aus 19 Driftringelektroden mit einem kleineren Innendurchmesser gefertigt. Da der Innendurchmesser der Driftröhre jedoch beibehalten wurde, ist hier die resultierende innere isolierende Schicht deutlich dünner. In Abbildung 30 sind die beiden unterschiedlichen Driftröhren dargestellt.

Im Vergleich zum PTFE-IMS, bei dem die Driftröhre aus einem Stück gefertigt ist, wurden die 3D-gedruckten Röhren in vier Teilen mit jeweils zwei Adapterplatten gefertigt. Durch die Unterteilung der Driftröhre in vier Teile konnte zum einen die Druckgeschwindigkeit erhöht werden und zum anderen ermöglichen die Driftröhrenteile eine Variation der Länge der Driftröhre. Alle Teile sind auch hier durch die angebrachten Magnete und zusätzlichen Dichtringe abgedichtet und verbunden. Bei den

3D-gedruckten Driftröhren sind, ebenso wie beim PTFE-IMS sind die einzelnen Driftringe mit einer Widerstandskaskade aus 1 MOhm Widerständen verbunden.

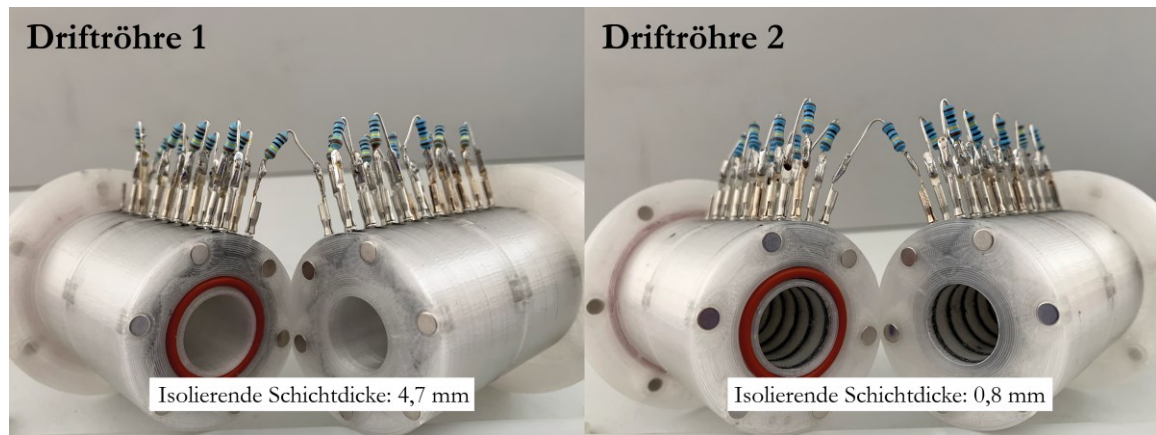


Abbildung 30: Photographie der zwei 3D-gedruckten Driftröhren. Hierbei ist Driftröhre 1 das Replikat zur Referenz Driftröhre im PTFE-IMS. Aus dem Innendurchmesser der Driftröhre und der Driftringe ergibt sich die Dicke der isolierenden Schicht zum Driftvolumen von 4,7 mm, weshalb die Driftringe nicht zu erkennen sind. Bei Driftröhre 2 hingegen ist durch den geringeren Innendurchmesser der Driftringe die isolierende Schicht mit 0,8 mm deutlich dünner und jeder Driftring scheint durch. Der innere Durchmesser bei beiden Driftröhren beläuft sich auf 15,2 mm (nach ¹¹¹).

Detektor. Als letzte Komponente wurde auch der Detektor mittels 3D-Druck gefertigt. Dabei wurde zum einen die Faraday-Platte in einem zwei Komponentendruck aber auch das Apertur-Gitter in zwei separaten Schritten gedruckt (siehe Ioneneinlassgitter). Alle elektrischen Mess- und Versorgungsanschlüsse wurden direkt in den 3D-Druck eingearbeitet, sowie ein Anschluss für die Zufuhr des Driftgases durch die Faraday-Platte (siehe Abbildung 28D)ⁱ.

ⁱ Auf eine weitere ausführlichere Beschreibung der einzelnen Fertigungsschritte mittels 3D-Druck wurde an dieser Stelle verzichtet, da diese zum größten Teil durch Herrn Brandt erfolgten. Eine genauere Beschreibung ist jedoch in der gemeinsamen Publikation von Drees et al. ¹¹¹ zu finden.

5.2 Vergleich der 3D-gedruckten mit den PTFE Einzelkomponenten

Um die *Performance* der 3D-gedruckten Einzelkomponenten beurteilen zu können, wurden diese mit den entsprechenden Einzelkomponenten des PTFE-IMS verglichen. Hier diente das PTFE-IMS mit bekannter *Performance* als Referenz. Zur Analyse der Einzelkomponenten wurde jeweils eine Komponente des PTFE-IMS durch eine 3D-gedruckte Komponente ersetzt. Begonnen wurden die Untersuchungen mit der Ionisierungskammer, gefolgt vom BN-Gitter 1, der Driftröhre 1 und dem Detektor.

Zunächst wurde an dieser Stelle die *Performance* des RIP hinsichtlich Signalintensität, Signalfläche, Halbwertsbreite bzw. engl. *full width at half maximum* – FWHM – und *Resolving Power* untersucht. In Tabelle 6 sind die erzielten *Performance* Parameter aufgelistet, welche durch eine Mittelung aus 1000 Einzelspektren berechnet wurden.

Tabelle 6: *Performance*-Parameter aller 3D-gedruckten Einzelkomponenten eingebaut in das PTFE-IMS und die des kompletten PTFE-IMS als Referenz. Bezogen wird sich dabei auf das RIP Signal. Verbesserte Werte im Vergleich zum PTFE-IMS sind hervorgehoben (nach ¹¹¹).

IMS Einzelkomponenten	PTFE	3D-gedruckte Einzelkomponenten im PTFE-IMS			
RIP <i>Performance</i> Parameter	IMS	Ionisierungskammer	BN-Gitter 1	Driftröhre 1	Detektor
Max. Intensity / a.u.	2193,1	2207,9	2013,0	1773,8	1973,8
Signalfläche/ a.u.	1182,2	1238,8	805,6	1134,9	936,4
FWHM / ms	0,50	0,53	0,38	0,60	0,45
Resolving Power	32	31	42	32	36

Die maximale Signalintensität und die Signalfläche aller detektierten RIP Signale fallen bei jeder 3D-gedruckten Einzelkomponente geringer aus als im Vergleich zu dem kompletten PTFE-IMS, mit Ausnahme der 3D-gedruckten Ionisierungskammer. Die bessere *Performance* der 3D-gedruckten Ionisierungskammer könnte jedoch durch Abweichungen der Reaktivitäten beider ⁶³Ni β -Strahlungsquellen erklärt werden. Der kleinste Wert der FWHM (schärfstes Signal) konnte unter Einsatz des BN-Gitter 1 beobachtet werden, während die 3D-gedruckte Driftröhre 1 hier den größten Wert aufwies. Zusätzlich war bei der 3D-gedruckten Driftröhre 1 eine Verschiebung in der Driftzeit des RIPs zu beobachten, was bei allen anderen Einzelkomponenten nicht zutraf.

Beim 3D-gedruckten Detektor kann der Verlust an Signalintensität und Signalfläche durch den erhöhten Oberflächenwiderstand des leitfähigen PLAs im Vergleich zur Referenz Faraday-Platte mit vergoldeten Leiterbahnen erklärt werden. Durch das Extrusionsverfahren bzw. den Druckprozess des leitfähigen PLAs, können die beigemischten leitfähigen Bestandteile durch einen sehr dünnen Film an isolierendem Polymer bedeckt werden, was eine dielektrische Schicht und somit eine Abschirmung

erzeugen kann. Dieses Phänomen wurde auch beim 3D-Druck von Elektroden beobachtet und konnte durch verschiedene Aktivierungsprozesse minimiert werden ¹⁰⁴. Dies sollte in folgenden Studien auch bei der 3D-gedruckten Faraday-Platte in Betracht gezogen werden, um die Intensität der Signale zu maximieren.

Beim Vergleich der FWHM und *Resolving Power* mit der Referenz sticht insbesondere das 3D-gedruckte BN-Gitter 1 mit einer scheinbar erhöhten *Performance* hervor. Da alle anderen Parameter (Gitterdimensionen, Hochspannungsamplitude, Gitteröffnungszeit) unverändert waren, muss die Ursache in den unterschiedlichen Materialeigenschaften liegen. Wie zuvor erwähnt, entsteht eine dünne isolierende Schicht auch auf den leitfähigen 3D-gedruckten Objekten. Im Falle des Ioneneinlassgitters führt dies dazu, dass analog zum Faraday-Detektor die eintreffenden Ionen langsamer neutralisiert werden als bei den metallischen Strukturen. Dies induziert eine inverse Ladungsansammlung und einen Memory-Effekt der Ionen auf der Oberfläche des leitfähigen Polymers nach jedem Gitterpuls. Diese Effekte wiederum führen zu einer kürzeren effektiven Gitterpulsbreite und erklären somit das schärfere RIP Signal, die geringere Signalfäche sowie -intensität und die bessere *Resolving Power* durch die geringeren Ionen-Ionen-Wechselwirkungen ¹³.

Die Verschiebung in der Driftzeit unter Einsatz der 3D-gedruckten Driftröhre 1 im Vergleich zur Driftröhre des Referenz PTFE-IMS ist ebenfalls durch das unterschiedliche Material zu erklären. Während PTFE eine Permittivität von $\epsilon_r \approx 2$ ¹¹⁴ aufweist, beläuft sich diese für 3D-gedrucktes PLA auf $\epsilon_r \approx 3$ ¹¹⁵. Somit schirmt das 3D-gedruckte, nicht leitfähige PLA das elektrische Feld stärker ab als das PTFE. Denn nach dem Gaußschen Gesetz führt eine höhere Permittivität zu einer höheren elektrischen Flussdichte (siehe Gleichung 11).

$$\vec{D} = \epsilon_0 \epsilon_r \vec{E} \quad (11)$$

Nach dem Snelliusschen Brechungsgesetz führt dies wiederum zu stärker abgeflachten Feldlinien durch das PLA der 3D-gedruckten Driftröhre 1 (siehe Gleichung 12).

$$\frac{\tan \alpha_1}{\tan \alpha_2} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_2} \quad (12)$$

Somit wird im Falle der 3D-gedruckten Driftröhre 1 die tangentielle Feldkomponente im Vergleich zum PTFE-IMS verringert. Dies führt zu einer höheren Driftzeit, einer kleineren Signalintensität und einem größeren FWHM des RIPs, während die Fläche des Signals annähernd konstant bleibt.

Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

Aufgrund dessen wurde wie in Kapitel 5.1 beschrieben eine weitere Driftröhre 2 mittels 3D-Druck hergestellt, jedoch mit kleinerem inneren Driftringdurchmesser. Da der Innendurchmesser der Driftröhre konstant blieb, führte dies zu einer deutlich dünneren isolierenden PLA-Schicht (0,8 mm) im Vergleich zu der isolierenden Schicht der Driftröhre 1 (4,75 mm). Um die erwarteten Verbesserungen hinsichtlich Driftzeit und Signalintensität zu belegen, wurden Langzeitmessungen durchgeführt, welche die unterschiedlichen Einlaufverhalten der Driftröhre des Referenz PTFE-IMS und der zwei unterschiedlichen 3D-gedruckten Driftröhren aufzeigen. Die Ergebnisse der verschiedenen Driftröhren eingebaut im PTFE-IMS und einem vollständig aus 3D gedruckten Komponenten aufgebauten IMS sind in Abbildung 31 in einen 2D Konturplot dargestellt. Hierbei zeigt Abbildung 31A das Referenz PTFE-IMS, Abbildung 31B das PTFE-IMS mit 3D-gedruckter Driftröhre 1, Abbildung 31C das PTFE-IMS mit 3D-gedruckter Driftröhre 2 und Abbildung 31D das komplette 3D-gedruckte IMS mit Driftröhre 1 und dem BN-Gitter 3. Zusätzlich sind die elektrischen Feldlinien exemplarisch dargestellt und die Zeitpunkte, an dem der Gleichgewichtszustand der Driftzeit erreicht wurde.

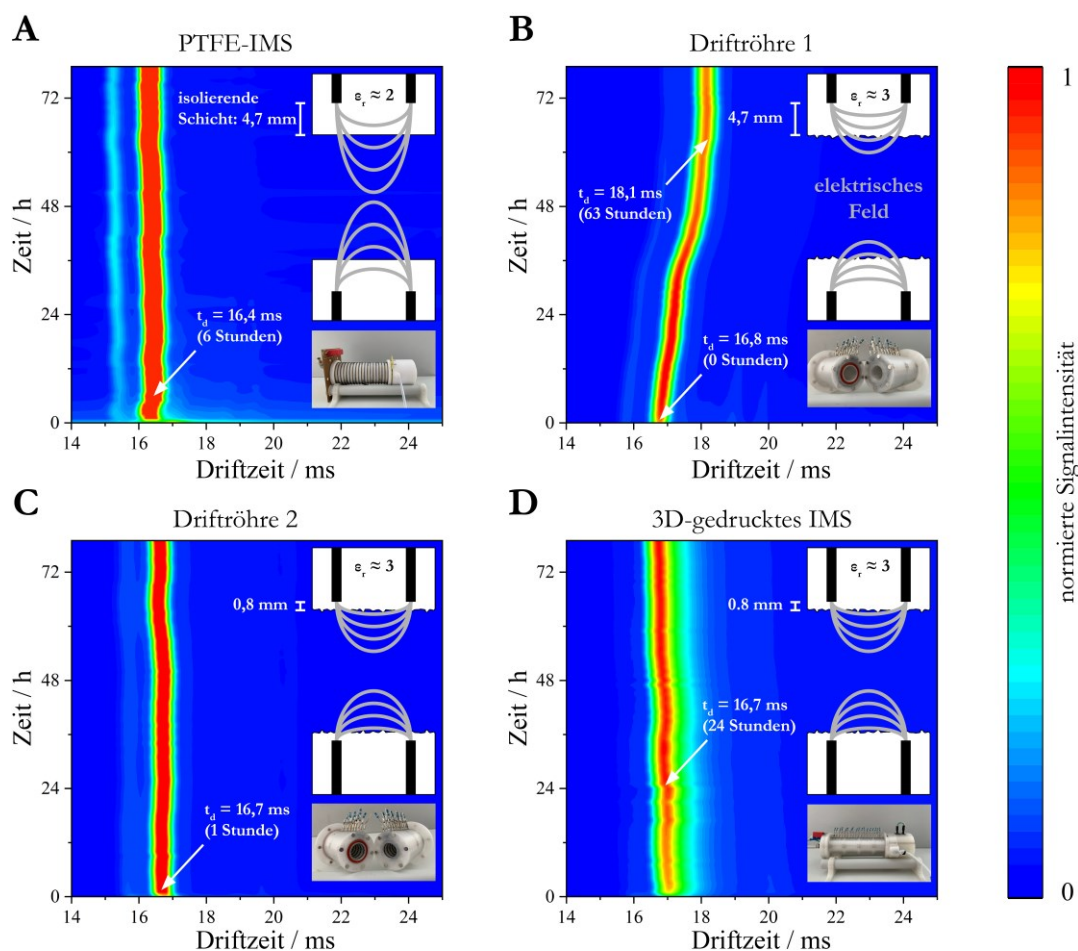


Abbildung 31: Langzeitmessungen des PTFE-IMS (A), des PTFE-IMS mit eingebauter, 3D-gedruckter Driftröhre 1 (B), des PTFE-IMS mit eingebauter, 3D-gedruckter Driftröhre 2 (C) und des komplett 3D-gedruckten IMS mit verbauter Driftröhre 2 und BN-Gitter 3. Exemplarisch sind die elektrischen Feldlinien dargestellt sowie die Zeitpunkte des Erreichens des Gleichgewichtszustands markiert (nach ¹¹¹).

Der RIP des Referenz PTFE-IMS erreicht den Gleichgewichtszustand bei $t_d = 16,4$ ms innerhalb einer Einlaufzeit von 6 Stunden. Für die 3D-gedruckte Driftröhre 1 weist der RIP eine initiale Driftzeit von $t_d = 16,8$ ms auf und erreicht erst nach 63 Stunden die stabile Driftzeit von $t_d = 18,1$ ms. Zusätzlich nimmt die Signalintensität des RIP zunächst zu und dann wieder signifikant ab. Dabei ist die initiale Verschiebung der Driftzeit auf die geänderte, effektive Feldstärke innerhalb der Driftröhre zurückzuführen, jedoch nicht der signifikante Intensitätsverlust des RIPs im Zeitverlauf. Dieser Effekt muss wiederum andere Gründe haben und lässt sich durch Aufladungseffekte des PLAs erklären, was in ähnlicher Weise bereits durch Koimtzis et al. ¹¹⁶ bei der Herstellung von einem *High Temperature Ion Mobility Spectrometer* (HiTIMS) aus unterschiedlichen Polymeren beobachtet wurde. Im Fall der 3D-gedruckten Driftröhre 2 hingegen war durch die reduzierte Dicke der inneren, isolierenden Schicht keine Signaldrift während der Langzeitmessungen mehr ersichtlich und die stabile Driftzeit des RIP $t_d = 16,7$ ms wurde nach nur einer Stunde erreicht. Im Vergleich zum PTFE-IMS konnte die Driftzeit bis auf 0,3 ms angeglichen werden. Das vollständig 3D-gedruckte IMS erreichte den Gleichgewichtszustand der Driftzeit nach 24 Stunden. Die längere Einlaufzeit trotz Einbau der Driftröhre 2 muss auf die übrigen 3D-gedruckten Einzelkomponenten zurückzuführen sein. Die vollständige Angleichung des Driftverhaltens vom 3D-gedruckten IMS an das Referenz PTFE-IMS war jedoch nicht die Zielsetzung in diesem Abschnitt meiner Arbeit. Vielmehr sollte im Rahmen eines *Proof-of-Concepts* die analytische Funktionalität dargestellt werden, weshalb im Folgenden die Ergebnisse der Untersuchung der *Performance* beschrieben werden.

5.3 Analytische Performance

Abschließend wurde nun auch die *Performance* während der Analyse und Trennung der ausgewählten Paare an Isomeren, 2-Heptanon/4-Heptanon, 2-Octanon/3-Octanon und 2-Nonanon/3-Nonanon untersucht. Im Einzelnen wurden hier zunächst die beiden 3D-gedruckten Driftröhren 1 und 2, sowie die vier unterschiedlichen Ioneneinlassgitter getrennt untersucht. Anschließend wurde das vollständig 3D-gedruckte IMS mit den Einzelkomponenten bzw. dem vollständigen PTFE-IMS als Referenz verglichen. Dabei wurden 4-fach Messungen durchgeführt, für die jeweils 250 Einzelspektren gemittelt wurden.

Driftröhren. Beim Vergleich der ermittelten Werte für die *Resolution* der unterschiedlichen Ketone, ist zwischen Driftröhre 1 und Driftröhre 2 kein signifikanter Unterschied auszumachen. Anders verhält sich dies jedoch bei den ermittelten SNR Werten. Hier können im Fall der Driftröhre 2 signifikant bessere Ergebnisse erzielt werden, welche in Tabelle 7 aufgezeigt sind. Die besseren SNR Werte sind analog zu den vorherigen Messungen zu interpretieren, da durch die dünnere isolierende Schicht ein stärkeres elektrisches Feld innerhalb der Driftröhre erzeugt wird, was zu kürzeren Driftzeiten und größeren Signalintensitäten führt.

Tabelle 7: Auflistung des ermittelten Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (SNR), der *Resolution* und der *Resolving Power* bei der Untersuchung zweier unterschiedlicher, 3D-gedruckten Driftröhren eingebaut im Referenz PTFE-IMS (nach ¹¹¹).



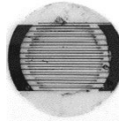

Signal	Driftröhre 1	Driftröhre 2
Resolution		
preRIP/RIP	1,884 ± 0,001	1,962 ± 0,004
2-Heptanon/4-Heptanon	1,892 ± 0,04	1,771 ± 0,002
2-Octanon/3-Octanon	1,430 ± 0,001	1,381 ± 0,002
2-Nonanon/3-Nonanon	1,389 ± 0,002	1,380 ± 0,002
2-Heptanon/2-Octanon	3,039 ± 0,004	3,029 ± 0,005
2-Octanon/2-Nonanon	2,732 ± 0,009	2,840 ± 0,006
SNR		
RIP	216,4 ± 19,2	245,6 ± 16,7
4-Heptanon	8,1 ± 2,7	11,2 ± 0,7
2-Heptanon	8,3 ± 2,7	11,6 ± 0,7
3-Octanon	7,8 ± 2,5	11,0 ± 0,7
2-Octanon	8,3 ± 2,4	11,1 ± 0,8
3-Nonanon	7,2 ± 2,2	9,0 ± 0,6
2-Nonanon	7,4 ± 1,9	9,1 ± 0,6
Resolving Power		
RIP	34,2 ± 1,7	33,0 ± 0,1

An dieser Stelle wären weitere alternative Driftröhren Designs erstrebenswert. Insbesondere die detaillierte Simulation des elektrischen Feldes unter Berücksichtigung der Permittivitäten könnte zu weiteren signifikanten Verbesserungen führen. Erste Ergebnisse zu alternativen Elektrodendesigns

hinsichtlich optimaler Ionentransmission und Fokussierung wurden bereits von Hollerbach et al. ^{108, 109} vorgestellt. Für die Entwicklung nachweisstärkerer IMS wäre dies im Zusammenspiel mit der Detektoroptimierung von besonderer Bedeutung und bildet derzeit den Ausgangspunkt weiterführender Studien am ISAS e. V. in Dortmund.

Ioneneinlassgitter. Im nächsten Schritt wurden die vier verschiedenen Ioneneinlassgitter auf Basis des Bradbury-Nielsen Designs auf ihre analytische *Performance* untersucht. Alle erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt. Wie in Kapitel 5.1 beschrieben, wurde bei BN-Gitter 1 – 3 das gleiche Verhältnis von freier zu bedeckter Fläche gewählt, jedoch unter Variation der Gitterstegbreite. Die unterschiedlichen Gitterdimensionen wurden auf der Basis der Untersuchungen von Yoon et al. ³⁹ gewählt, der in einer vorherigen Studie den besonderen Einfluss von Gitterstegbreite und Gitterstegabstand hinsichtlich der *Resolving Power* aufzeigte. Yoon et al. beschreibt, dass die steigenden und abfallenden Flanken der Spannungspulse zu einer Unschärfe in den Ablenk winkeln der Ionen führen. Durch einen kleineren Gitterabstand kann eine bessere zeitliche Ansprechrate und somit bessere Ablenkung der Ionen erreicht werden, auch im „geschlossenen Zustand“ des Bradbury-Nielsen Gitters. Dies führt zu schmaleren Signalen und einem geringeren Rauschen. BN-Gitter 4 hingegen wies die gleiche Gitterstegbreite wie das kommerziell erworbene Bradbury-Nielsen Gitter aus dem Referenz PTFE-IMS auf, jedoch mit einem geänderten, wirbelförmigen Grunddesign. Die Struktur soll damit eine Aufweitung des Ionenstrahls in zwei statt einer Dimension(en) erzielen und sollte damit zu einer verbesserten *Performance* führen.

Tabelle 8: Ermittelte *Performance*-Parameter der einzelnen 3D-gedruckten Ioneneinlassgitter. Aufgelistet ist das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR), die *Resolving Power* und die *Resolution*. Die einzelnen Gitter waren dabei im Referenz PTFE-IMS anstelle der kommerziellen Variante eingebaut (nach ¹¹¹).

Signal	Ioneneinlassgitter			
	1	2	3	4
				
	SNR			
RIP	172 ± 54	193 ± 67	224 ± 18	231 ± 17
	Resolving power			
RIP	41,06 ± 0,02	35,40 ± 0,01	48,80 ± 0,02	44,42 ± 0,04
	Resolution			
preRIP/RIP	1,792 ± 0,016	1,989 ± 0,018	1,710 ± 0,003	1,828 ± 0,012
2-Heptanon/4-Heptanon	1,779 ± 0,003	1,481 ± 0,001	1,838 ± 0,003	1,750 ± 0,001
2-Octanon/3-Octanon	1,405 ± 0,003	1,180 ± 0,002	1,465 ± 0,003	1,385 ± 0,003
2-Nonanon/3-Nonanon	1,411 ± 0,003	1,173 ± 0,002	1,446 ± 0,003	1,366 ± 0,003
2-Heptanon/2-Octanon	4,256 ± 0,006	3,896 ± 0,002	4,359 ± 0,017	4,207 ± 0,014
2-Octanon/2-Nonanon	3,732 ± 0,003	3,507 ± 0,007	3,781 ± 0,003	3,662 ± 0,014

Das 3D-gedruckte Ionenmobilitätsspektrometer

Analog zu den Erkenntnissen von Yoon et al. ³⁹ weist von den drei klassischen Bauarten des Ioneneinlassgitter (1, 2 und 3) das dritte die besten Werte hinsichtlich SNR, *Resolution* und *Resolving Power* auf, da bei diesem Gitter die kleinste Gitterstegbreite und den kleinsten Gitterstegabstand zu finden sind. BN-Gitter 1, mit einer mittleren Gitterstegbreite bzw. einem mittleren Gitterstegabstand zeigt die zweitbesten Ergebnisse, gefolgt von BN-Gitter 2 mit der größten Gitterstegstärke und dem größten Gitterstegabstand. Bemerkenswert sind jedoch vor Allem die mit dem neu entwickelten Design des BN-Gitter 4 erzielten Ergebnisse. Obwohl dieses eine identische Gitterstegbreite wie BN-Gitter 1 aufweist, ist insbesondere das SNR (231) das höchste im Vergleich und übertrifft damit sogar das BN-Gitter 3 (224). Eine weitere Optimierung der Gitterstegbreite und des Gitterstegabstands verspricht daher eine zukünftige, weitere Steigerung der *Performance*.

3D-gedrucktes vs. PTFE-IMS. Abschließend wurde die *Performance* des komplett mittels 3D-Druck gefertigten IMS untersucht. Hierzu wurde erneut der Keton-Mix bestehend aus drei Isomerpaaren herangezogen und die erzielten Ergebnisse mit dem Referenz PTFE-IMS verglichen. Es wurden 4-fach Messungen durchgeführt, bei dem jede aus 250 gemittelten Einzelspektren besteht. In Abbildung 32 sind die beiden Ionenmobilitätsspektren dargestellt, welche jeweils auf die maximale Signalintensität des 2-Octanon Signals normiert wurden. Ersichtlich ist, dass kein detektiertes Signal vom nächstgelegenen Basislinien-getrennt ist, weder bei der Referenz (PTFE-IMS), noch beim vollständig 3D-gedruckten IMS.

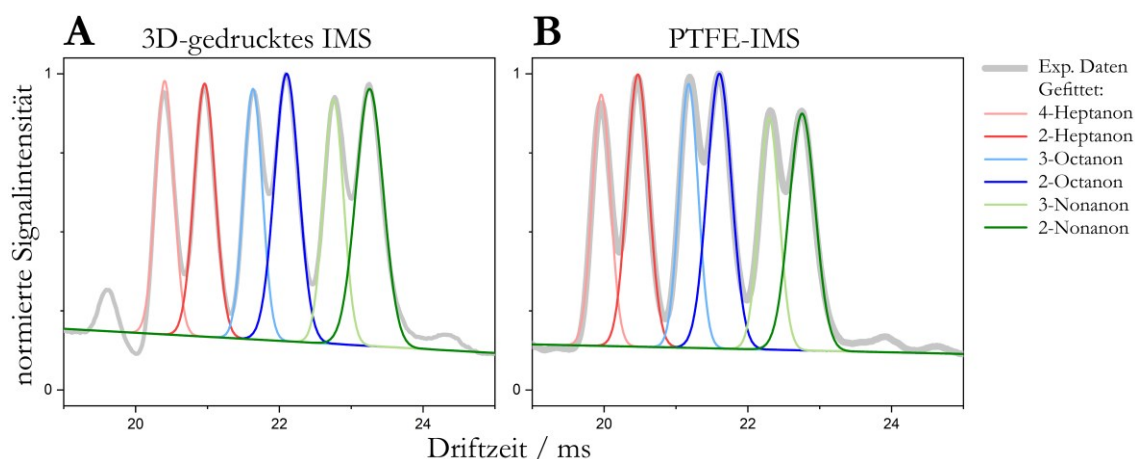


Abbildung 32: Ionenmobilitätsspektren der drei unterschiedlichen Isomerpaare 2-Heptanon/4-Heptanon, 2-Octanon/3-Octanon und 2-Nonanon/3-Nonanon gemessen mittels kompletten 3D-gedruckten IMS (A) unter Einsatz von Driftröhre 2 sowie BN-Gitters 3 und des Referenz PTFE-IMS (B). Die experimentell ermittelten Daten sind als graue Linie geplottet und die farblich gekennzeichneten Linien zeigen die Anpassungen nach Gauß für das jeweilige Keton (nach ¹¹¹).

Die einzelnen ermittelten *Performance* Parameter sind in Tabelle 9 dargestellt. Während das 3D-gedruckte IMS bessere Ergebnisse im Fall der *Resolution* der unterschiedlichen Ketone und in der *Resolving Power* des RIPs aufweist, überwiegen die SNRs im Falle des Referenz PTFE-IMS. Dies ist durch die mit dem PTFE-IMS erzielten höheren Signalintensitäten im Vergleich zum 3D-IMS zu

erklären. Die Unterschiede sind jedoch gering und so kann zusammenfassend eine vergleichbare analytische *Performance* für das hier vorgestellte 3D-gedruckte IMS wie für das Referenz PTFE-IMS festgestellt werden.

Tabelle 9: Auflistung der ermittelten *Performance* -Parameter, *Resolution*, Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) und *Resolving Power* des PTFE-IMS und des komplett mittels 3D-Druck gefertigten IMS (mit eingebauter Driftröhre 2 und BN-Gitter 3) (nach ¹¹¹).

Signal	PTFE-IMS	3D-gedrucktes IMS (Driftröhre 2, BN-Gitter 3)
		<i>Resolution</i>
preRIP/RIP	1,907 ± 0,003	2,114 ± 0,002
2-Heptanon/4-Heptanon	1,559 ± 0,002	1,761 ± 0,012
2-Octanon/3-Octanon	1,210 ± 0,002	1,336 ± 0,005
2-Nonanon/3-Nonanon	1,212 ± 0,002	1,293 ± 0,004
2-Heptanon/2-Octanon	3,023 ± 0,007	3,105 ± 0,019
2-Octanon/2-Nonanon	2,799 ± 0,008	2,736 ± 0,012
		SNR
RIP	235,4 ± 37,1	191,2 ± 11,5
4-Heptanon	10,5 ± 0,7	6,7 ± 0,8
2-Heptanon	11,4 ± 1,1	6,6 ± 0,8
3-Octanon	12,4 ± 1,5	6,9 ± 0,6
2-Octanon	12,9 ± 1,5	7,4 ± 0,7
3-Nonanon	10,9 ± 1,3	6,8 ± 0,6
2-Nonanon	11,2 ± 1,4	7,2 ± 0,6
		<i>Resolving Power</i>
RIP	27,0 ± 0,1	32,3 ± 0,1

5.4 3D-gedrucktes Ionenmobilitätsspektrometer: Zusammenfassung und Fazit

Diese Kapitel stellt die Ergebnisse hinsichtlich der analytischen *Performance* eines vollständig mittels 3D-Druck gefertigten, modularen Ionenmobilitätsspektrometers dar. Erstmals konnte ein komplettes *Stand-Alone Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer bestehend aus Ionisierungskammer, Bradbury-Nielsen Gitter, Driftröhre und Detektor inklusive des Aperturgitters mittels 3D-Druck gefertigt und untersucht werden. Des Weiteren konnten durch den schnellen Fertigungsprozess mehrere Varianten des Ioneneinlassgitters sowie zwei unterschiedliche Driftröhren hergestellt und charakterisiert werden.

Entscheidend waren bei allen Ergebnissen die zum herkömmlichen, als Referenz genutzten PTFE-IMS abweichenden Materialeigenschaften des verdruckten PLAs. Bei der Untersuchung der 3D-gedruckten Einzelkomponenten war der größte Signalverlust bei dem 3D-gedruckten Detektor und dem exakten Replikat der Driftröhre des Referenz PTFE-IMS auszumachen. Mittels Anpassung der 3D-gedruckten Driftröhre durch eine Reduktion des Driftringinnendurchmessers konnten die Signalintensitäten um rund 20% gesteigert und somit dem Referenz PTFE-IMS angeglichen werden. Weiteres Steigerungspotential bietet die zukünftig geplante Aktivierung der 3D-gedruckten Detektoroberfläche, wie in anderen Studien beschrieben ¹⁰⁴. Beim Ioneneinlassgitter führten die unterschiedlichen Materialeigenschaften hingegen zu besseren Ergebnissen hinsichtlich der *Resolving Power* und schärferen Signalformen bei nahezu gleichbleibender Signalintensität.

Den 3D-Druck mit seinen einzigartigen Möglichkeiten der Formgebung ausnutzend, konnte zusätzlich ein vollkommen neues, ineinander verwobenes Design eines Ioneneinlassgitters gefertigt und untersucht werden. Dieses Design liefert zwei Ablenkungsachsen im Gegensatz zum klassischen Bradbury-Nielsen Gitter mit nur einer, wodurch eine weitere Steigerung des SNRs bewirkt wurde. Eine Begründung konnte in der hypothetisch verringerten Ionen-Ionen Wechselwirkungen gefunden werden, weshalb dieses neuartige Design für zukünftige *Performance*-Optimierungen besonders aussichtsreich erscheint.

Zusammenfassend erreicht das vollständig mittels 3D-Druck hergestellte IMS eine mit der Referenz, welche klassisch aus PTFE und in händischer Fertigungsweise gebaut war, vergleichbare *Performance*. Damit zeigt der 3D-Druck sich als alternativer Fertigungsprozess, welcher zusätzlich die Möglichkeit einer günstigeren Klein-Serienproduktion bietet, bis hin zu sogenannten „Einmal-Ionenmobilitätsspektrometern“, beispielsweise zum Einsatz für hochinfektiöse mikrobiologische Proben.

6 Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

In den vorherigen Kapiteln wurden ausschließlich gasförmige Proben mittels Ionenmobilitätsspektrometer untersucht. Wie sich in Kapitel 3 zeigte, eignet sich dies besonders für von Mikroorganismen erzeugte flüchtige Metaboliten, welche anschließend durch eine statische *Headspace*-Analyse detektiert werden können. Jedoch sind nicht alle für die Mikrobiologie relevanten Analyten flüchtig und im *Headspace* nachweisbar. Deshalb wurde bereits in der Vergangenheit an unterschiedlichen Methoden geforscht, um flüssige Proben in die Gasphase zu überführen und mittels Ionenmobilitätsspektrometrie nachzuweisen. Am weitesten verbreitet sind hier die Elektrospray-Ionisierung oder die Thermodesorption. Während die Thermodesorption meist für semivolatile in einem anorganischen Lösungsmittel gelöste Stoffe Anwendung findet, hat sich die Elektrospray-Ionisierung insbesondere in Kombination mit einem Massenspektrometer für die Analyse wässriger nicht flüchtiger Proben durchgesetzt^{13, 117, 118}. Alternativ sind auch Ansätze mittels Paper-Spray-Ionisierung zu finden, welche ebenfalls die direkte Analyse wässriger Proben ermöglicht^{119, 120}. Während die Elektrospray-Ionisierung einen häufigen Wechsel der benötigten Emitter erfordert, kann bei der Paper-Spray-Ionisierung die genutzte Papier-Träger-Matrix nur einmal benutzt werden und muss nach jeder Messung ausgetauscht werden. Dies limitiert den Einsatz auf qualifiziertes Fachpersonal und dadurch auch dessen Verbreitung auf dem Markt, insbesondere für *Stand-Alone* Ionenmobilitätsspektrometer. Deshalb besteht auch hier weiterhin Forschungsbedarf an alternativen anwenderfreundlichen Probezufuhrverfahren, um flüssige Proben in die Gasphase zu überführen und für die Ionenmobilitätsspektrometrie zugänglich zu machen. Hierzu wird im Folgenden ein neuartiger miniaturisierter Thermodesorptionschip – TDC – für die Analyse flüssiger Proben untersucht und charakterisiert. In vorherigen Studien zeigte dieser TDC bereits vielversprechende Ergebnisse bei der Aufkonzentrierung flüchtiger, gasförmiger Analyten^{121, 122}.

TDC. Der TDC stellt eine chipbasierte, miniaturisierte Anreicherungs- und Thermodesorptionseinheit dar, wobei die Größe der Chips bzw. das Adsorptionsvolumen variabel ist. Alle hier verwendeten TDCs wurden am *Institute for Microelectronics and Microsystems* (CNR-IMM) in Bologna, Italien, mittels Mikrostrukturierungsverfahren gefertigt. Sie bestehen aus einem Silizium Grundkörper, welcher durch reaktives Ionentiefenätzen, engl. *Deep Reactive Ion Etching* – DRIE – strukturiert wurde. Anschließend wurde auf der Unterseite eine dünne, ebenfalls strukturierte Platinschicht aufgebracht, welche als Heizung und gleichzeitig als Temperatursensor dient. Auf der Oberseite wurde mittels *Bonding* hitzebeständiges Pyrex-Glas aufgebracht, um die Kavitäten des TDC abzudichten. Anschließend wurde Tenax TA® (mesh 80/100, Supelco, Bellefonte, USA) als Adsorptionsmittel mittels einer Vakuumpumpe in den Chip gefüllt¹²¹. Ein Chip und dessen Querschnitt ist exemplarisch in Abbildung

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

33A dargestellt und in dieser Arbeit wurden drei verschiedene Chip-Varianten für die Experimente herangezogen. Die erste Variante beinhaltet 30 mg (Abbildung 33B/1), die zweite Variante 32 mg (Abbildung 33B/2) und die dritte Variante 36 mg Tenax TA® (Abbildung 33B/3).

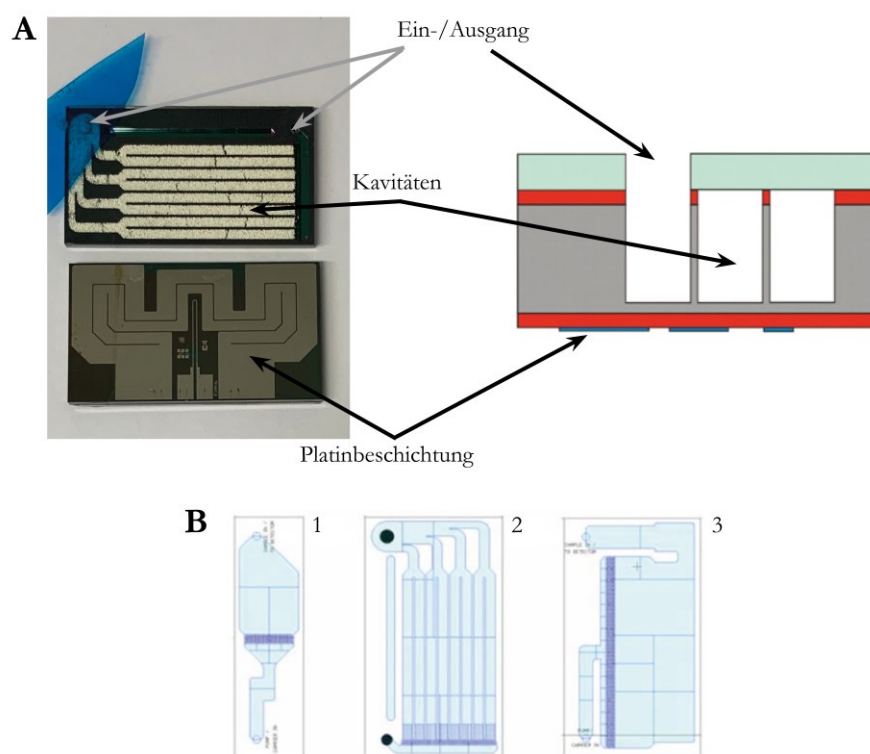


Abbildung 33: Darstellung des Thermodesorptionschips 2 als Photographie (A), und als schematische Querschnittsdarstellung. Markiert sind die Ein- bzw. Ausgänge für die Probe und das inerte Trägergas, die mit Tenax TA® gefüllten Kavitäten und der Platinbeschichtung auf dem Boden des Chips, welche als Heizelement und Temperatursensor dienen. In B sind die 3 unterschiedlichen Varianten an Kavitäten für das Tenax TA® dargestellt. Variante eins kann 30 mg Tenax aufnehmen, die Variante zwei, 32 mg und die Variante drei, 36 mg Tenax TA® (nach ¹²²).

Das Adsorptionsmittel Tenax TA® ist ein makroporöses organisches Polymer, welches aus 2,6-Diphenyl-p-phenylenoxid besteht. Neben anorganischen Adsorptionsmitteln, wie z.B. Silicagel, und graphitisierte Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Carbosieve®, ist Tenax TA® als festes Adsorptionsmittel für die Probenahme von flüchtigen organischen Stoffen weit verbreitet ¹²³. Insbesondere unpolare Kohlenwasserstoffe mit einer Kettenlänge von C₇ – C₂₆ ¹²⁴ wie z.B. unterschiedliche Pestizide ¹²⁵ ließen sich in der Vergangenheit erfolgreich aufkonzentrieren und anschließend durch schlagartigen Temperaturanstieg desorbieren und nachweisen. Die Wechselwirkungen welche eine Adsorption an Tenax TA® ermöglichen, sind die London-, van-der-Waals- aber auch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen. Durch die zusätzliche Temperaturstabilität bis 400 °C eignet sich Tenax TA® besonders für eine zyklische Thermodesorption. Des Weiteren weist Tenax TA® auf Grund seiner ausgeprägten lipophilen Eigenschaft eine geringe Affinität gegenüber Wasser oder Methanol auf ^{123, 126}.

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

Die Temperatursteuerung des jeweiligen Thermodesorptionschips kann mittels einer am CNR-IMM, Bologna, Italien, entwickelten Software und Steuereinheit erfolgen. Die Software ermöglicht zum einen die Aufheizdauer und zum anderen die Aufheizrate von bis zu 50 °C s^{-1} auf maximal 250 °C individuell anzupassen. In der hausinternen Werkstatt des ISAS e.V. wurde zum Verbinden des Ein- bzw. Ausgangs ein Anschlussmodul gefertigt, welches mit handelsüblichen HPLC-Verbindungen und Dichtungen an ein IMS angeschlossen werden kann. Eine Übersicht des Gesamtsystems, bestehend aus TDC Steuerboard und Anschlussmodul ist in Abbildung 34 dargestellt.

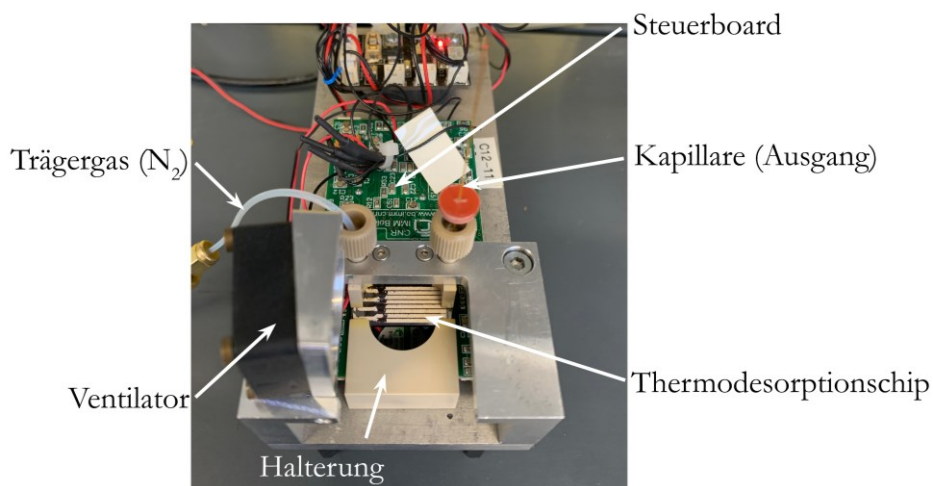


Abbildung 34: Übersicht des Gesamtsystems zur Steuerung und Anbindung des TDC. Zu erkennen sind das Steuerboard, der Thermodesorptionschip, die Trärgaszuführung und der Ausgang über eine Kapillare. Der TDC ist in einer Halterung aus PEEK auf den Kontakten des Steuerboards fixiert, gegenüber dem Trärgasein- und -ausgang ist der TDC mit Dichtringen abgedichtet. Zusätzlich ermöglicht ein Ventilator das beschleunigte Abkühlen des Thermodesorptionschips.

6.1 Vorversuche TDC-IMS

Dieser Abschnitt soll die vorangegangenen Entwicklungen hinsichtlich der Kopplung des untersuchten Thermodesorptionschips an ein IMS aufzeigen. Insbesondere spielte hierbei die Probenaufgabe auf den TDC und die Überführung in das jeweilige IMS eine entscheidende Rolle. Darüber hinaus wird das Problem auftretender Restfeuchte des TDC diskutiert, welches zwangsläufig durch den Einsatz flüssiger Proben entsteht. Besonders wird hier der Fokus auf die Auswertbarkeit des Messsignals und auf dessen Reproduzierbarkeit gelegt.

6.1.1 Probenaufgabe mittels doppelter 6-Wege-Ventil-Schaltung: TDC-MCC-IMS

Mit dem hier vorgestellten TDC war es bereits möglich unterschiedliche Substanzen (Eucalyptol, Benzaldehyd, Decanal) aus der Gasphase heraus zu adsorbieren anschließend zu thermodesorbieren, mittels IMS nachzuweisen und somit Nachweisgrenzen im ppq_v-Bereich zu erzielen¹²². Hierzu wurde in der gemeinsamen Publikation von Liedtke et al.¹²² der TDC schlagartig erhitzt. Mittels Trägergas, Probenschleife und 6-Wege-Ventil wurde die thermodesorbierte Probe auf eine Multikapillarsäule engl. *multi capillary column* – MCC – geleitet und anschließend in das IMS überführt. Analog dazu wurde in diesem Kapitel ein adaptierter Aufbau entwickelt, der die Aufgabe flüssiger Proben und die anschließende Messung der thermodesorbierten Analyten ermöglichen sollte^J.

Für die Analyse flüssiger Proben mittels TDC-MCC-IMS wurden zwei 6-Wege-Ventile gekoppelt. Das erste 6-Wege-Ventil wurde für eine reproduzierbare Beladung des TDC mit einem definierten flüssigen Probenvolumen genutzt. Das andere wiederum wurde für die Überführung der thermodesorbierten Probe auf eine Multikapillarsäule (OV-5 Sibertech, Novosibirsk, Russland) und anschließend in das IMS eingesetzt. Für diese ersten Vorversuche wurde ein am ISAS e.V. entwickeltes IMS eingesetzt, mit einer ⁶³Ni β-Strahlungsquelle (550 MBq), einer 12 cm langen Driftröhre und einem Driftgasfluss von 150 mL min⁻¹ Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland). Die Gitteröffnungszeit belief sich auf 300 μs und die angelegte Hochspannungsamplitude auf 4,38 kV. Die Ionendetektion wurde mit einer Faraday-Platte und einer Wiederholungsrate von 50 ms durchgeführt. Die Multikapillarsäule wurde mit einem Säulengasfluss von 150 mL min⁻¹ und auf einer konstanten Temperatur von 40 °C betrieben. Alle übrigen Trägergasflüsse, welche für die Beladung des TDC sowie dem Ausspülen bzw. dem Überführen der Probe durch alle beteiligten Ventile und Leitungen benötigt wurden, sind auf 100 mL min⁻¹ eingestellt worden. Die Probenschleife wurde auf 60 °C beheizt um die

^J Die Planung der Messungen und der experimentelle Aufbau wurde durch mich für ein von mir betreutes 16-wöchiges Praktikum von Herrn Marvin Pähler, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2018, entwickelt und aufgebaut, wobei Herr Pähler die folgenden vorgestellten Messungen durchgeführt hat.

Adsorption der Analyten an der Oberfläche und zurückbleibende Feuchte zu reduzieren. Für diese Messungen wurde die Chipvariante Abbildung 33B/1 mit 30 mg Tenax TA® eingesetzt. In Abbildung 35 ist die Übersicht des Gesamtaufbaus dargestellt.

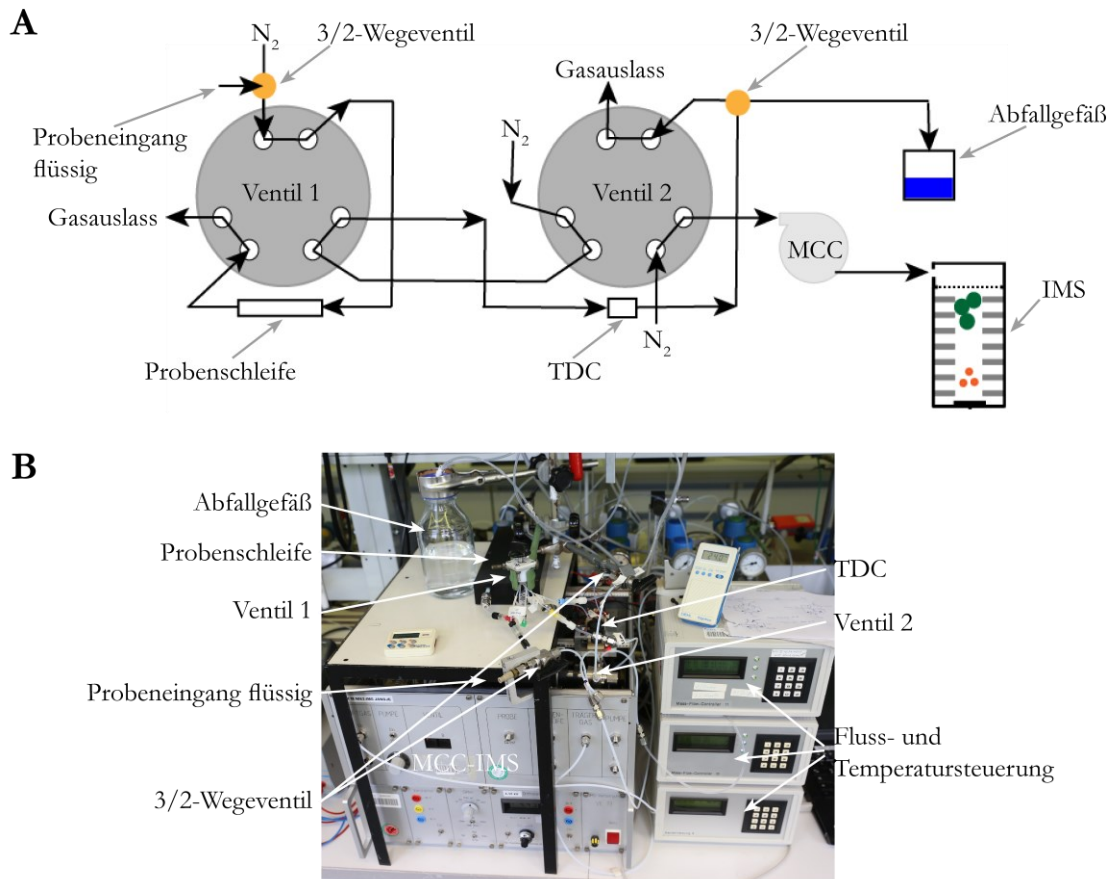


Abbildung 35: A, schematische Darstellung und B, Übersicht des ersten Aufbaus zur Zufuhr flüssiger Proben auf den TDC und die anschließende Überführung in das MCC-IMS. Zu erkennen sind die beiden 6-Wege-Ventile 1 und 2, die Probenschleife zur Aufgabe eines definierten Volumens auf den TDC, der TDC selbst, das Gehäuse des MCC-IMS und die Fluss- und Temperatursteuerungseinheiten.

Zu erkennen sind die beiden Ventile 1 und 2, die Probenschleife, das 3-Wege-Ventil für die Zufuhr der flüssigen Probe und der TDC. Das Probevolumen an flüssiger Probe entspricht dem Probenschleifenvolumen von 7,28 mL und die Probenaufgabe erfolgte über das 3/2-Wege-Ventil mit einer 10 mL Glasspritze. Als Beispielanalyt wurde hier 2-Heptanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), in einer Konzentration von 0,01 µg mL⁻¹ in wässriger Lösung angesetzt und verwendet.

Analyseablauf. Die Überführung der flüssigen Probe in den TDC sowie der anschließenden thermodesorbierten Probe in die Multikapillarsäule und das IMS, erfolgte in 4 Schritten. Die unterschiedlichen Beladungs- und Überführungsschritte mit dem jeweiligen Ventilstatus sind in Abbildung 36 dargestellt. In Schritt 1 wurde die flüssige Probe mittels 10 mL Glasspritze in die Probenschleife überführt. Dabei wurde 3-mal das Spritzenvolumen von 10 mL injiziert, um potentielle

Luftblasen innerhalb der Probenschleife auszuspülen. In Schritt 2 wurde dann die flüssige Probe für 90 Sekunden auf den TDC mittels angelegtem Stickstofffluss von 10 mL min⁻¹ überführt.

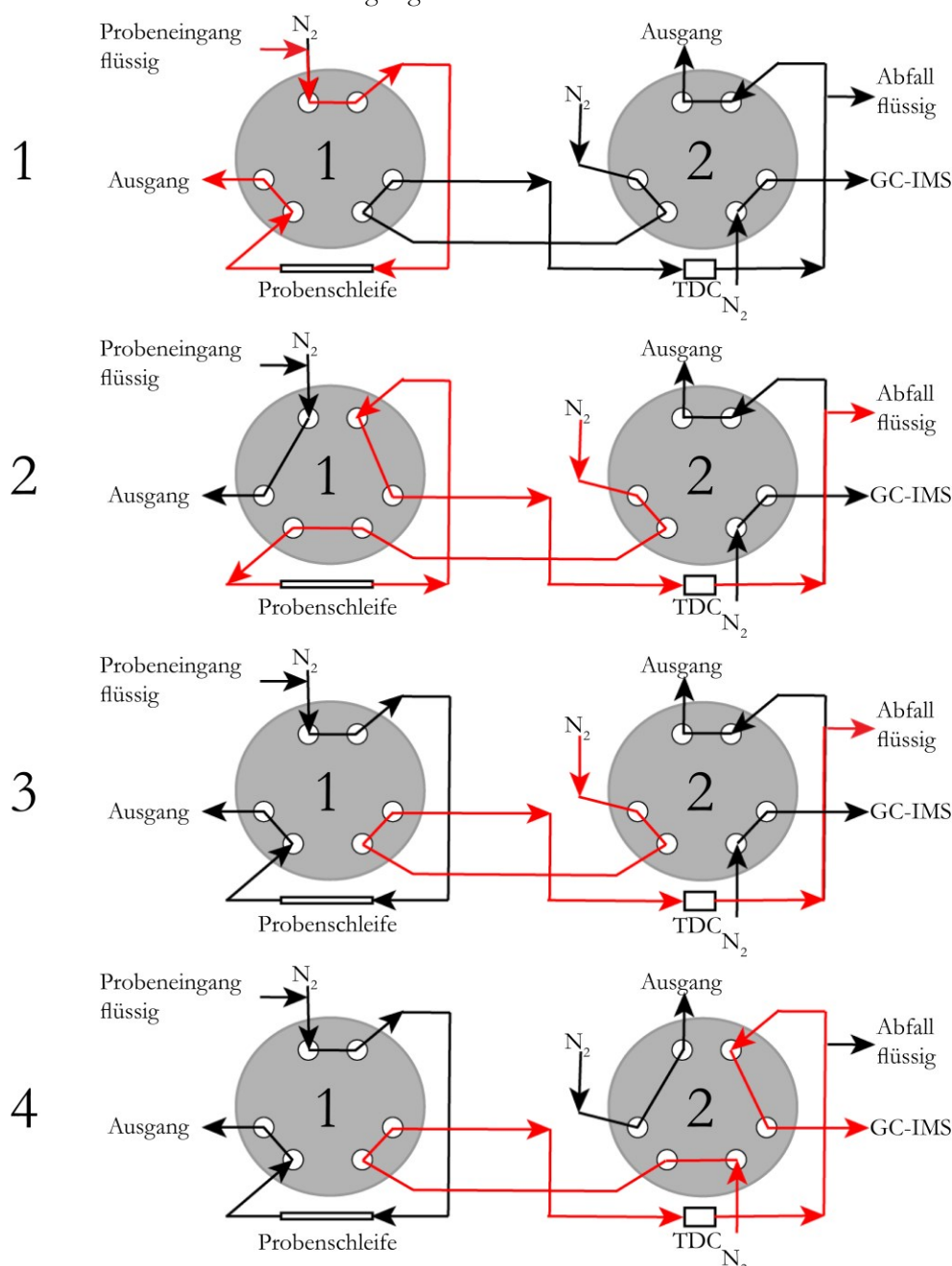


Abbildung 36: Darstellung der zur Überführung einer flüssigen Probe in das GC-IMS notwendigen Schritte. Auf der rechten Seite ist das Ventil 1 und auf der linken Seite das Ventil 2 dargestellt. In Schritt 1 wird die Probenschleife mit der flüssigen Probe beladen. Hierzu wurde 3-mal ein Volumen von 10 mL über einen Eingang des 3-Wegeventil in die 7,28 ml Probenschleife injiziert um eine Luftblasenbildung zu minimieren. In Schritt 2 wird dann die flüssige Probe in der Probenschleife auf den TDC gegeben. Hierzu wurde für 90 s Ventil 1 geschaltet und durch einen anliegenden Stickstofffluss von 10 mL min⁻¹ die flüssige Probe über den TDC gedrückt. Zusätzlich wird hier ein 3/2-Wege-Ventil für die Überführung der Probe in das Abfallgefäß umgelegt. Schritt 3 dient der Trocknung des TDC um eventuelle Restfeuchte zu minimieren und das Lösungsmittel auszutreiben. Hierzu wurde der TDC auf 50 °C beheizt und für 60 s ein Trockengasfluss an Stickstoff eingestellt. Im letzten Schritt 4, wird das 3/2-Wege-Ventil vom Abfall wieder auf das GC-IMS geschaltet und der TDC mit maximaler Aufheizrate auf 250 °C erhitzt und bei Erreichen der Zieltemperatur das Ventil 2 für 4 s geschaltet und die Messung gestartet.

Schritt 3 bildet den anschließenden Trockenschritt des TDCs ab, bei dem die Restfeuchte innerhalb des Adsorptionsmittels durch einen Trocknungsstrom von 100 mL min⁻¹ Stickstoff für eine Zeit von 60 Sekunden minimiert werden sollte. Zusätzlich wurde an dieser Stelle der TDC auf 50 °C beheizt. Der letzte Schritt 4 stellt dann die Überführung der adsorbierten Probe in das MCC-IMS dar. Hierzu wurde der TDC mit einer maximalen Aufheizrate von 50 °C min⁻¹ auf 250 °C erhitzt und bei Erreichen der Zieltemperatur die Messung gestartet, indem das zweite 6-Wege-Ventil für 4 Sekunden schaltete und die thermodesorbierte Probe in die Multikapillarsäule überführte. Vor jeder Messung erfolgte zudem eine Blindwertmessung des zuvor nur mit Reinstwasser beladenen TDC.

Abbildung 37 zeigt zwei durch diese Probenahme und anschließender MCC-IMS Analyse erzeugte 2D-Konturplots, zum einen den eines Blindwertes mit Reinstwasser, Abbildung 37A, und einer Messung von 0,01 µg mL⁻¹ 2-Heptanon in wässriger Lösung, Abbildung 37B. Bei diesen Messungen wurden insgesamt 200 Spektren aufgenommen, bei denen jedes Spektrum aus 10-fach Geräte-intern gemittelten Einzelspektren bestand.

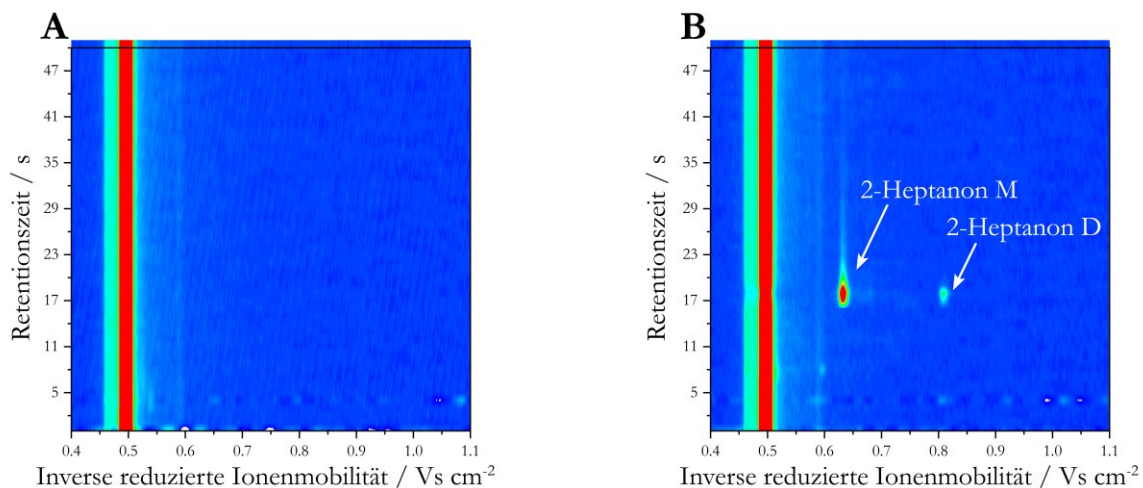


Abbildung 37: Darstellung zweier Messergebnisse der TDC-Messungen in Darstellung eines 2D-Konturplots. In A ist der Konturplot der Reinstwasser-Messung (Blindwert) und in B die Messung einer 0,01 µg mL⁻¹ an 2-Heptanon in wässriger Lösung dargestellt. Zu erkennen sind hier eindeutig der 2-Heptanon Monomer und Dimer. Aufgetragen sind auf der Ordinate die Retentionszeit und auf der Abszisse die inverse reduzierte Ionenmobilität. Die Intensität ist farbcodiert, von geringer Intensität (blau) hin zu hoher Intensität (rot).

Somit war es möglich durch diesen Aufbau und die Verschaltung zweier 6-Wege-Ventile flüssige Proben *in-line* mittels TDC aufzukonzentrieren und den thermodesorbierten Analyt mittels MCC-IMS zu detektieren.

Jedoch genügt es nicht Analyten aus Flüssigkeiten qualitativ nachzuweisen. Insbesondere für mikrobiologische Proben ist es von besonderem Interesse Grenzwertkontrollen, wie beispielsweise im Trinkwasser, definieren und angeben zu können. Deshalb wurde im Weiteren die Reproduzierbarkeit dieser Probenaufgabe durch Mehrfachmessungen überprüft und mit sehr hohen Standardabweichungen von rund 35 % als unzureichend eingestuft. In Abbildung 38 sind exemplarisch vier Einzelmessungen mit dem hier vorgestellten Probezufuhrsystem dargestellt, aus denen ersichtlich

ist, dass bei der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse noch weiterer Optimierungsbedarf besteht. Zu erklären ist dies durch die großen Totvolumina der verschiedenen Schläuche und Ventile. Obwohl die Probenschleife beheizt wurde, um mögliche Adsorption an der inneren Oberfläche zu minimieren, waren auch nach allen Spülprozessen Rückstände in den Verbindungsstücken, Schläuchen und Ventilen auszumachen. Um dies zu minimieren bzw. zu verhindern, sollte das gesamte System beheizt werden, so dass keine Rückstände im System verbleiben und außerdem ein deutlich miniaturisierter Aufbau realisiert werden. Darauf wurde jedoch auf Grund fehlender Heizsysteme zunächst verzichtet.

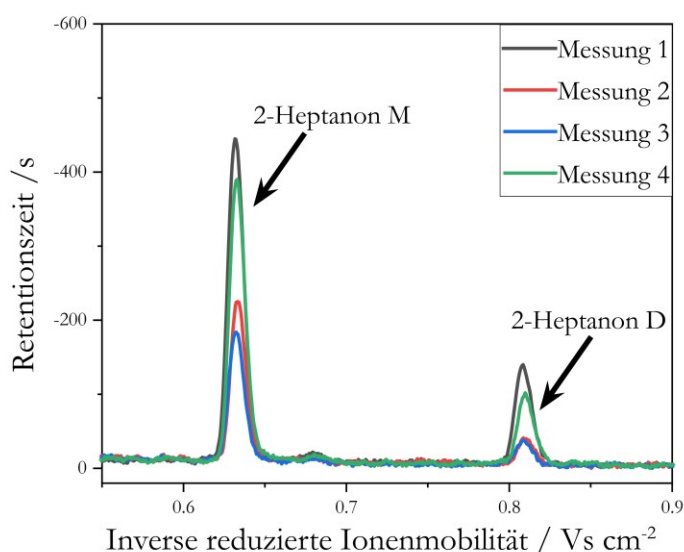


Abbildung 38: Ionenmobilitätsspektren von vier Einzelmessung von 2-Heptanon ($0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$) mit dem entwickelten Probenaufgabesystem. Die großen Abweichungen untereinander zeigen, dass keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden konnten.

6.1.2 Direkte Probenaufgabe ohne gaschromatographische Vortrennung: TDC-IMS

In einem weiteren Ansatz wurde deshalb die thermodesorbierte Probe direkt in das IMS geleitet, ohne zwischengeschaltetes 6-Wege-Ventil, um zusätzliche Totvolumina zu vermeiden bzw. zu minimieren[‡]. Auf die gaschromatographische Vortrennung wurde an diesem Punkt ebenfalls verzichtet, um die Thermodesorption der Probe von dem TDC mittels IMS untersuchen zu können.

[‡] Dieser Ausbau und die hier dargestellten Trennmethode wurde durch mich geplant und entwickelt. Die Messungen wurden dann im Rahmen einer durch mich betreuten Bachelorarbeit von Herrn Marvin Pähler¹²⁷ durchgeführt.

Analog zum vorherigen Kapitel wurde hier erneut eine ^{63}Ni β -Strahlungsquelle und ein IMS mit 12 cm langer Driftröhre und gleichen Messeinstellungen wie zuvor eingesetzt. In Abbildung 39 ist zu sehen, wie der TDC über ein kurzes ca. 3 cm langes Edelstahlrohr, welches direkt in die Ionisierungskammer führt, mit dem IMS verbunden wurde. Zusätzlich wurde dieses auf 200 °C erhitzt, um Kondensationen an den Innenwänden dieser *Transferline* zu minimieren. Für die Beladung des TDC mit einer flüssigen Probe wurden die Verschraubungen gelöst und 1 mL Probevolumen mit Hilfe einer Kolbenhubpipette über den Chip geleitet. Als TDC wurde der Chip aus Abbildung 33B/3 mit 36 mg Tenax TA® verwendet. Anschließend wurde die Trägergaszufuhr erneut angeschlossen und ein Trockenschritt mit 100 mL min^{-1} Stickstoff für 60 Sekunden eingeleitet. Erst im Anschluss an diesen Trockenschritt wurde dann die beheizte Transferline mit dem TDC verbunden und die IMS-Messung und parallel dazu das Temperaturprogramm des TDC gestartet. Der Trägergasfluss aus Stickstoff, welcher während der Messung zwecks Probentransports vom TDC zum IMS genutzt wird, betrug 200 mL min^{-1} .

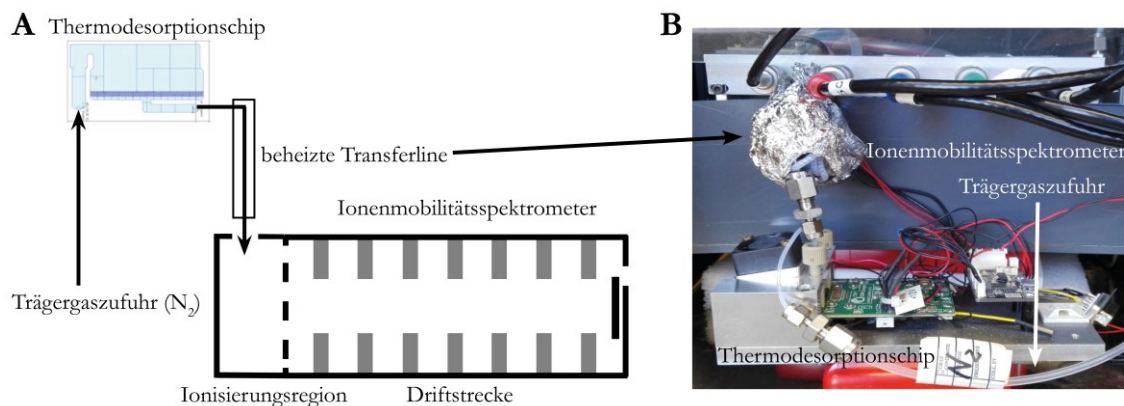


Abbildung 39: A, schematische Darstellung des Aufbaus für die direkte Probenaufnahme durch eine beheizte *Transferline* in die Ionisierungskammer eines ^{63}Ni -IMS. B, Photographie des Aufbaus. Ersichtlich ist der TDC, die beheizte *Transferline*, die Trägergaszufuhr und das IMS (teilweise nach ¹²⁷).

Zunächst wurde analog wie zu Kapitel 6.1.1 eine maximale Aufheizrate von 50 °C s^{-1} bis zu dem Maximalwert von 250 °C angelegt und die Messung mit Beginn des Aufheizens gestartet. Hier zeigte sich jedoch, dass keine reproduzierbaren Messungen möglich waren, da das Signal des RIP zeitweise verschwand. Dies ist durch die hohe Restfeuchte des TDC zu erklären, da ab einer Temperatur von ca. 100 °C , also der Siedetemperatur von Wasser (Lösungsmittel), dieses Phänomen zu beobachten war. Deshalb wurde zunächst das Lösungsmittel, bisher Reinstwasser, gegen Methanol ausgetauscht, da dieses im Vergleich zu Wasser einen geringeren Siedepunkt von 65 °C aufweist und durch den Trockenschritt schneller ausgespült werden sollte. Dies führte jedoch zu keiner signifikanten Verbesserung.

Deshalb wurde in einem weiteren Schritt die Aufheizrate angepasst. Diese Anpassung wurde überprüft mit Hilfe eines 1:1:1 molaren Keton-Mixes aus 2-Hexanon (Fluka, Seelze, Deutschland), (Sigma-

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

Aldrich, St. Louis, USA), 2-Octanon (Fluka, Seelze, Deutschland), 2-Nonanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und 2-Decanon (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), analog hergestellt zu Kapitel 5. Der hergestellte Keton-Mix wurde dann für die Messungen auf $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ in Methanol verdünnt. Untersucht wurden daraufhin zwei unterschiedliche Temperaturprogramme.

In der ersten der beiden modifizierten Temperaturprogramme wurde eine Temperaturrampe mit einer konstanten Aufheizrate und in dem zweiten Temperaturprogramm eine stufenförmige Temperaturrampe eingesetzt, welche schrittweise die Temperatur mit maximaler Aufheizrate auf definierte Temperaturniveaus anhebt. Die Temperaturplateaus wurden dabei auf $6 \text{ }^\circ\text{C}$ über den jeweiligen Siedepunkt des zu thermodesorbierenden Analyten eingestellt. Abbildung 40 zeigt die eingestellten Temperaturrampen (links) und die dadurch erzielten Messdaten als 2D-Konturplots (rechts), Abbildung 40A zeigt eine Temperaturrampe von $0,32 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ und Abbildung 40B das Programm mit den unterschiedlichen Temperaturniveaus. Bei beiden Programmen wurde zusätzlich ein kurzer Trockenschritt für 120 Sekunden bei $70 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C}$ über dem Siedepunkt des Lösungsmittels) eingestellt, um die möglichen Lösungsmittelreste auszutreiben.

Es ist ersichtlich, dass durch beide modifizierten Temperaturprogramme der zu untersuchende Keton-Mix nachgewiesen werden konnte ohne die Reaktantionen komplett aufzubrechen. Vielmehr war es durch beide Temperaturprogramme möglich das Gemisch durch seine unterschiedlichen Siedetemperaturen sogar aufzutrennen. Hierbei lieferte die kontinuierliche Methode (Abbildung 40A) im Vergleich zur Methode, bei welcher definierte Temperaturplateaus eingestellt wurden (Abbildung 40B), die besseren Ergebnisse. Zur Beurteilung wurde die Signalform herangezogen. Während bei beiden Programmen ein *Signal-Tailing* zu beobachten ist, ist das *Signal-Fronting* bei dem kontinuierlichen Temperaturprogramm geringer. Das stufenweise Aufheizen auf Temperaturniveaus verursachte bei dem hier gewählten Keton-Mix signifikant schwankende Signalmaxima, in Abhängigkeit der unterschiedlichen Temperaturniveaus für nur einen Analyten. Dies ist besonders bei 2-Heptanon und 2-Octanon ersichtlich. Das Signalmaximum des 2-Heptanon Signals tritt erst in der Stufe bei $6 \text{ }^\circ\text{C}$ über dem Siedepunkt von 2-Octanon und das Maximum von 2-Octanon erst im Temperaturplateau $6 \text{ }^\circ\text{C}$ über dem Siedepunkt von 2-Nonanon auf. Deshalb scheint diese Methode für den hier nachzuweisenden Keton-Mix als ungeeignet. In der Bachelorarbeit von M. Pähler¹²⁷ wurden noch weitere kontinuierliche Temperaturprogramme untersucht, jedoch konnte weder durch eine langsamere noch durch eine schnellere Aufheizrate eine signifikante Verbesserung der Trennleistung erzielt werden. Zudem war die Reproduzierbarkeit der Messungen hinsichtlich der erzielten Signalintensitäten erneut nicht zufriedenstellend.

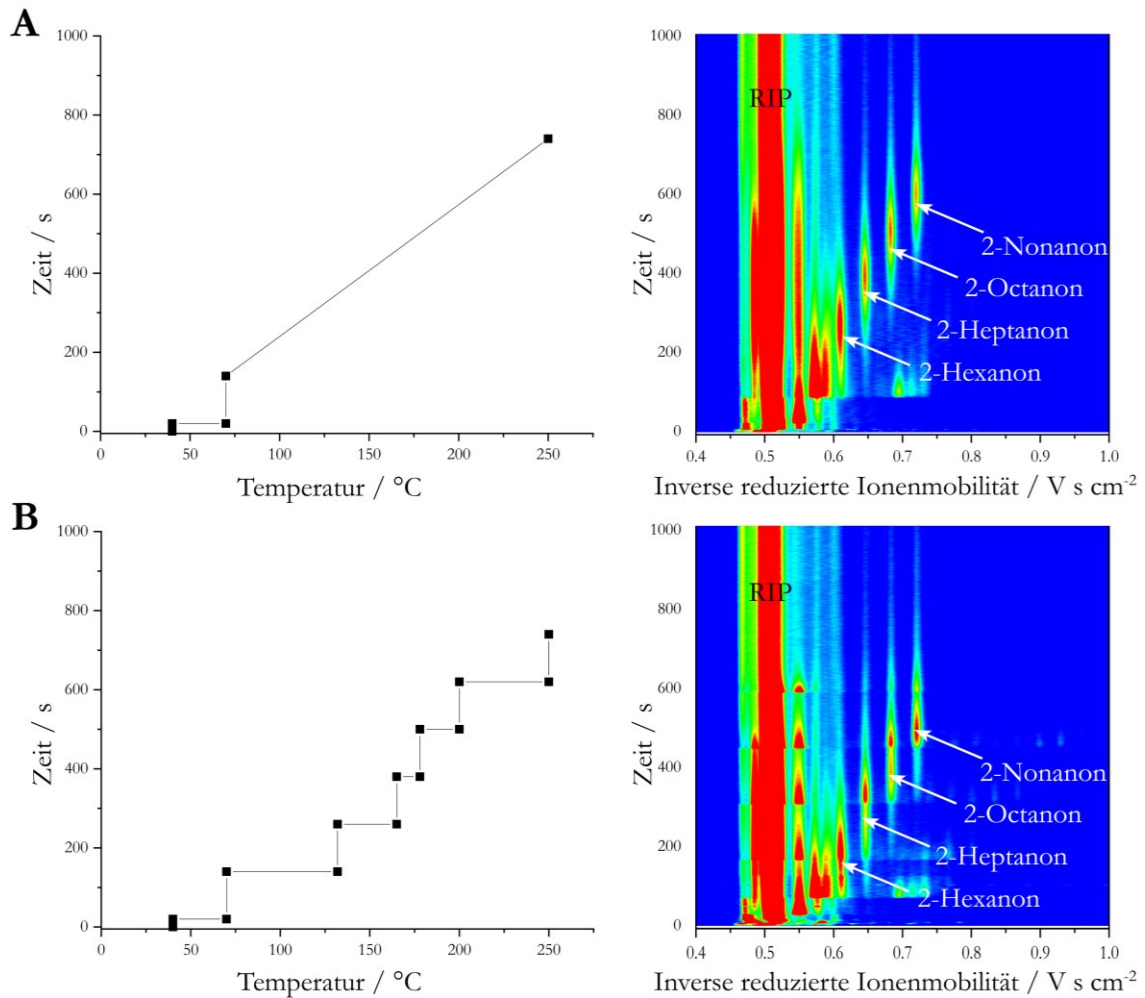


Abbildung 40: Darstellung der unterschiedlichen Aufheizraten mittels TDC (links) und die erzielten Messungen eines Keton-Mixes aus 2-Hexanon, 2-Heptanon, 2-Octanon und 2-Nonanon (rechts). In A ist eine kontinuierliche Aufheizrate von 0,32 °C s⁻¹ eingesetzt worden und in B ein stufenweises Aufheizen mit der maximalen Aufheizrate von 50 °C s⁻¹ auf definierte Temperaturniveaus. Zusammenfassend betrachtet, lieferte die Methode in A die besseren Ergebnisse hinsichtlich der erzielten Signalformen, eine hinreichende Trennung des Keton-Mixes ist jedoch mit beiden Methoden möglich. Zudem kann bei beiden Methoden im Vergleich zum Aufheizen mit der maximalen Aufheizrate ein durchgängiges RIP-Signal beobachtet werden.

6.1.3 Kopplung des F μ TP mit dem Thermodesorptionschip: TDC-F μ TP-IMS

In einem weiteren Ansatz sollte nun auch die Kopplung des TDCs mit dem in Kapitel 4 vorgestellten F μ TP untersucht werden, um im Weiteren auf eine radioaktive Ionisierungsquelle verzichten zu können. Hierzu wurden, unter Berücksichtigung der bisher erzielten Ergebnisse dieser Arbeit, verschiedene Optimierungsschritte hinsichtlich des Aufbaus des F μ TP-TDC-IMS durchgeführt¹. Insbesondere wurden für den optimierten Aufbau die Wechselwirkungen des elektrischen Feldes des F μ TPs mit dem elektrischen Feld des IMS und der Einfluss des Restfeuchte des TDC auf die Durchführung der IMS-Messungen berücksichtigt.

Da die Restfeuchte bzw. das Rest-Lösungsmittel der mittels TDC untersuchten Probe große Probleme in den bisherigen Vorversuchen bereitete, wurde im ersten Schritt eine 5 cm Desolvatisierungsstrecke mit zusätzlichen Trockengaszufuhr vor die Driftstrecke und das Ioneneinlassgitter für einen neuen experimentellen Aufbau des F μ TP-TDC-IMS gesetzt. Eine solche zusätzliche Desolvatisierungsstrecke wird auch bei Elektrospray-Ionisierungsquellen vor der Driftstrecke eingesetzt¹²⁹⁻¹³¹. Der Aufbau wurde zunächst „offen“, also nicht mit einer geschlossenen Ionisierungskammer konzipiert, so dass die Platzierung von F μ TP und TDC vor dem IMS freier gestaltet werden konnte. Das F μ TP wurde mittels x- y- z-Verschiebetisch und 3D-gedruckter Halterung vor dem Eingang des IMS analog zu Kapitel 4 axial zentriert. Damit konnte der Abstand des F μ TPs zum gepulsten Ioneneinlassgitter derart eingestellt werden, dass eine negative Beeinflussung des F μ TPs durch das IMS/Ioneneinlassgitter minimiert wurde. Um diese Beeinflussung des F μ TPs noch weiter zu reduzieren wurde das elektrische Feld derart eingestellt, dass der letzte Driftring vor dem F μ TP das Erdpotential aufweist. Da dies alleine noch nicht zu RIP-Signalen vergleichbar mit Kapitel 4 führte, wurde ein zusätzliches Gitter vor der Trockenstrecke implementiert und ebenfalls auf Masse gelegt. Mit Hilfe diese Gegenelektrode für das F μ TP konnte ein stabiles RIP-Signal erzeugt werden. Vermutlich wirkte im Aufbau aus Kapitel 4 das Ioneneinlassgitter als Gegenelektrode auf das F μ TP, weshalb hier durch die 5 cm lange Desolvatisierungsstrecke ein zusätzliches Gitter verbaut werden musste. Warum diese Gegenelektrode für das F μ TP zur Erzeugung reaktiver Spezies bzw. von Reaktantionen benötigt wird, muss in zukünftigen Studien geklärt werden.

Die Zuführung des TDC erfolgte über eine Kapillare und mit Hilfe einer 3D-gedruckten Halterung in einem Winkel von 45 ° zum F μ TP. Im Vergleich zu den vorherigen Aufbauten soll durch die verwendete Glaskapillare als Probenzufuhr das Totvolumen verringert werden. Der gesamte Aufbau des TDC-F μ TP-IMS ist in Abbildung 41 dargestellt. Hierbei stellt Abbildung 41A eine schematische

¹ Dieser Aufbau und das methodische Vorgehen aller Experimente und Optimierungsschritte wurde durch mich für die durch mich betreute Masterarbeit von Frau Annika Fechner¹²⁸ konzipiert und entwickelt. Die Messungen wurden dann von Frau Fechner durchgeführt. Die detaillierten Ergebnisse der einzelnen Optimierungsschritte analog zu der Publikation von Drees et al.⁸¹ sind in dieser Arbeit zu finden, weshalb auf eine ausführliche Darstellung aller Einzelergebnisse an dieser Stelle verzichtet wurde.

Darstellung des experimentellen Aufbaus dar, Abbildung 41B eine Draufsicht und Abbildung 41C eine Nahaufnahme der Halterung von TDC und F μ TP vor dem IMS dar. Für die folgenden Untersuchungen wurde die TDC Variante 2 (Abbildung 33B/2) eingesetzt, mit 32 mg Tenax TA[®].

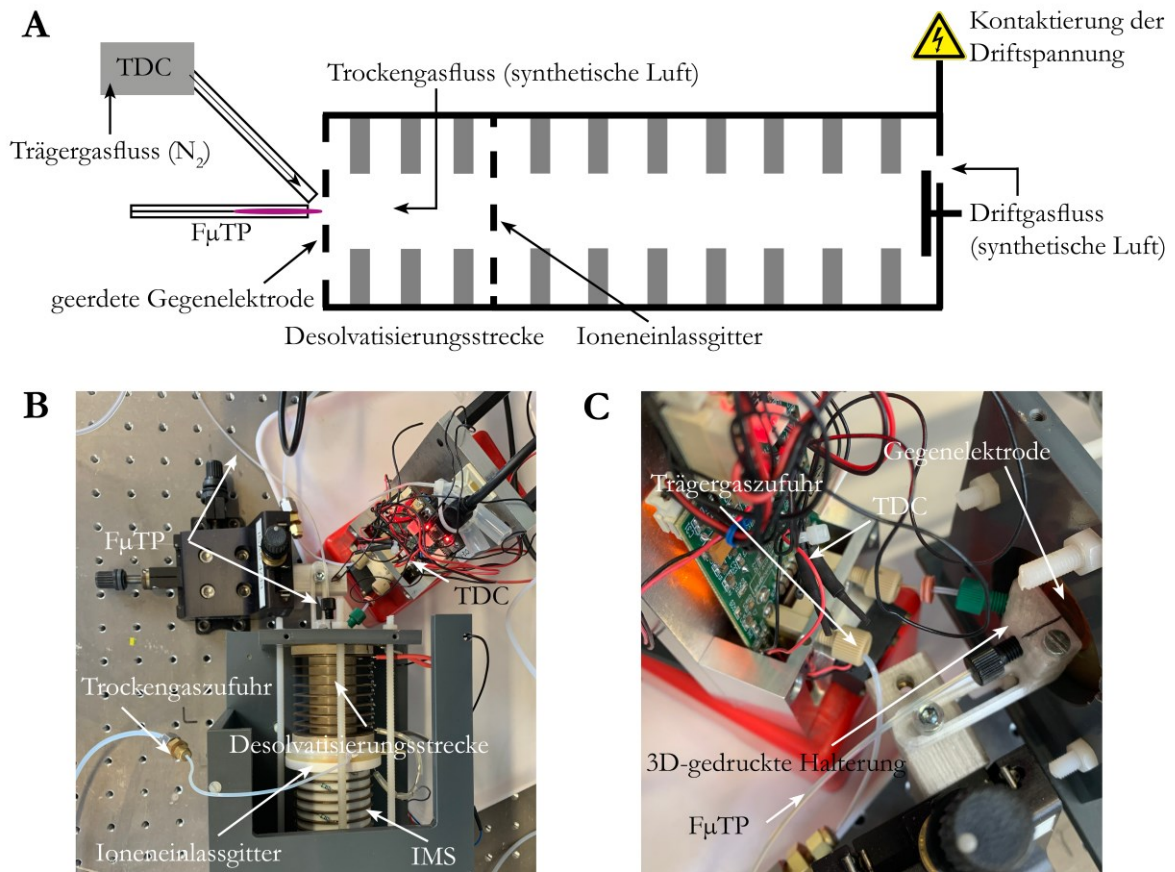


Abbildung 41: A, schematische Darstellung des TDC-F μ TP-IMS Aufbaus. B zeigt eine Photographie mit Draufsicht, bei der das IMS, die Desolvatisierungsstrecke das F μ TP und der TDC ersichtlich ist. In C ist eine Nahaufnahme des 3D-gedruckten Halters zur Ausrichtung des F μ TP und des TDC dargestellt. Zusätzlich ist das bei diesem Aufbau benötigte zusätzliche Gitter am Eingang der Desolvatisierungsstrecke ersichtlich.

F μ TP-IMS. Zur optimalen Kopplung des F μ TPs mit diesem IMS, wurde analog zu Kapitel 4 eine schrittweise Optimierung aller Parameter durchgeführt. Für das IMS wurde synthetische Luft 5.0 ((Reinheit = 99,999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) als Driftgas mit einem Fluss von 150 mL min⁻¹ eingesetzt. Die Driftspannung belief sich auf 5,49 kV, die Gitteröffnungszeit auf 300 μ s und der Trockengasfluss auf 150 ml min⁻¹. Das F μ TP wurde mit einem Heliumfluss von 10 mL min⁻¹ betrieben, bei einer Hochspannungsamplitude von 2 kV mit 20 kHz und einem *Duty-Cycle* von 50:50. Zudem wurde das F μ TP mit einer 50 μ m Drahtelektrode versehen, welche 7 mm vor dem Ausgang des F μ TP endete. Analog zu Kapitel 4 wurden in der Masterarbeit von A. Fechner¹²⁸ die F μ TP Hochspannungsamplitude, die Hochspannungsfrequenz, die Plasmagasflussrate und der *Duty-Cycle* der Hochspannungsamplitude untersucht. Hierzu wurde jedoch nur das Signalvolumen des RIPs anhand von 3-fach Messungen untersucht, da in Kapitel 4 eine Steigerung des RIP-Signals auch mit einer

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

Steigerung der Analytsignale einherging. Es zeigte sich jedoch, im Gegensatz zu den vorherigen Ergebnissen, dass durch diese Parametervariationen keine signifikante Verbesserung der Signalintensitäten erzielt werden konnten. Lediglich die Reduktion der $F_{\mu}TP$ -Hochspannungsamplitude zeigte bei Mehrfachmessungen eine Verbesserung in den erzielten relativen Standardabweichungen. Auch die Variation des *Duty-Cycles* der Hochspannungsamplitude, durch dessen Optimierung zuvor ⁸¹ die signifikantesten Signalsteigerungen erzielt werden konnten, zeigte kaum eine Auswirkung bei diesem Aufbau. Auch hier Bedarf die Aufklärung dieser Unterschiede weiterer Untersuchungen. Dennoch wurde für die nächsten Schritte der *Duty-Cycle* auf 95:5 eingestellt, um eine Vergleichbarkeit zu den vorherigen Ergebnissen zu gewährleisten. Zudem wurde die $F_{\mu}TP$ -Hochspannungsamplitude von 2 kV auf 1,8 kV reduziert, da hier die relative Standardabweichung des RIP-Signals minimal war.

TDC- $F_{\mu}TP$ -IMS. Zur Kopplung des TDC mit dem $F_{\mu}TP$ -IMS wurde zunächst die Probenaufgabe auf den TDC verändert um die Reproduzierbarkeit zu verbessern. Dazu wurde im Folgenden die Probe mittels Massenflussregler über den Chip geleitet und nicht mehr von Hand mittels Glasspritze. Dies führte zu einem reproduzierbaren Fluss über den TDC und somit für vergleichbare Bedingungen für die Adsorption der Probe am Tenax TA[®] des TDC. Zudem wurde der Chip nicht mehr bei unter Umständen schwankender Umgebungstemperatur mit der Probe beladen, sondern es wurde während der Probenaufgabe eine konstante Temperatur von 30 °C eingestellt. Der Aufbau für die Probenaufgabe ist in Abbildung 42 schematisch dargestellt.

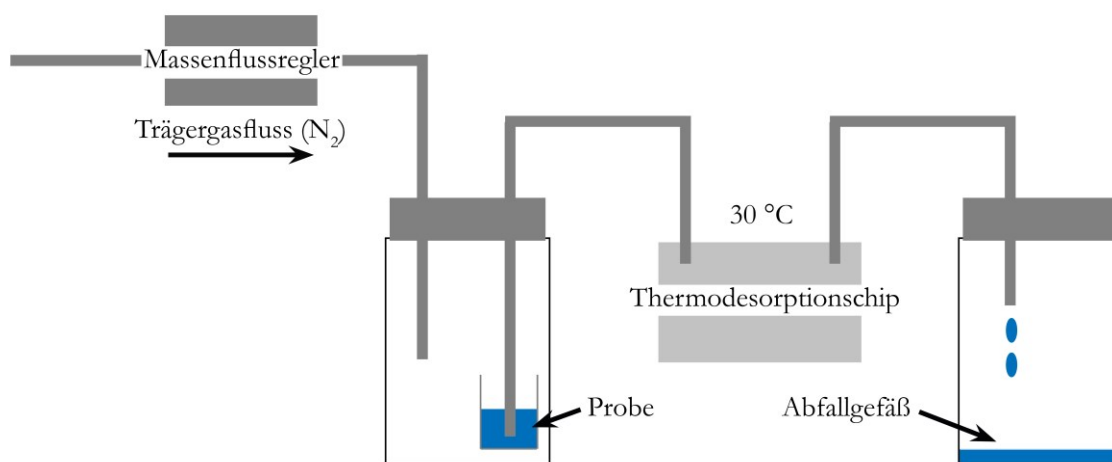


Abbildung 42: Schematische Darstellung der Probenaufgabe auf den Thermodesorptionschip. Durch einen definierten Massenfluss wird die flüssige Probe über den Thermodesorptionschip geleitet und anschließend in ein Abfallgefäß überführt. Als Trägergas wird Stickstoff verwendet und während der Probenaufgabe wird der Thermodesorptionschip auf 30 °C temperiert.

Als weitere Optimierungsparameter wurden der Trägergasfluss, welcher die thermodesorbierte Probe des TDC in das F μ TP-IMS überführt, untersucht. Zusätzlich wurde der Trockengasfluss der Desolvatisierungsstrecke optimiert. Alle Anpassungen erfolgten zum einen hinsichtlich maximaler Signalintensität und im gleichen Maße hinsichtlich der Reproduzierbarkeit innerhalb von 3-fach Messungen. Als Probe wurde 0,5 mL des Keton-Mix aus Kapitel 4 in Methanol untersucht und mittels TDC wurde ein Temperaturprogramm in Anlehnung an die Ergebnisse aus dem Kapitel 6.1.2 entwickelt. Hierzu wurde initial eine Temperatur von 50 °C (Haltezeit 10 s) eingestellt, gefolgt von einer Temperaturrampe (0,4 °C s⁻¹) bis 250 °C (Haltezeit 10 s) und anschließender Abkühlung. Als optimale Einstellungen erwiesen sich eine Trocknungszeit vor der Thermodesorption und anschließenden Messung der Probe am IMS von 300 s bei 70 °C. Während der Messung lieferten ein Trägergasfluss von 200 mL min⁻¹ über den TDC und ein Trockengasfluss von 100 mL min⁻¹ im IMS die besten Ergebnisse¹²⁸.

Kalibrierung. Für eine Überprüfung der optimierten Parameter wurde eine Quantifizierung mittels einer Kalibrierung eines 1:1:1:1 molaren Keton-Mixes aus 2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon, 2-Decanon (analog zu Kapitel 4 hergestellt) in Methanol durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse sind in Abbildung 43 für 2-Octanon und 2-Nonanon zu sehen.

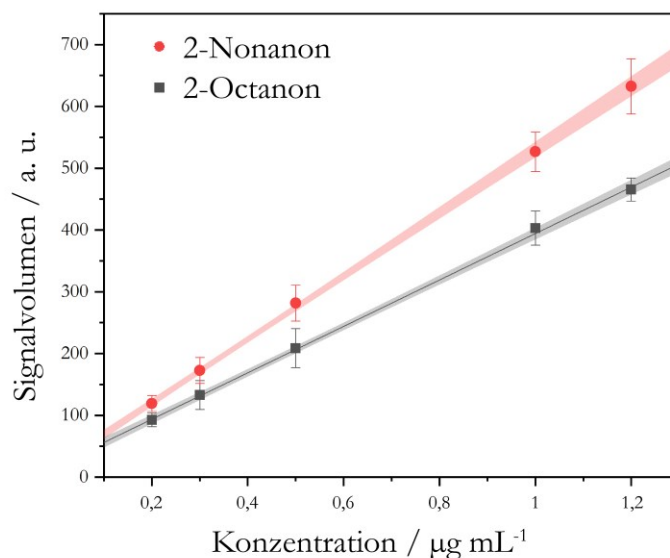


Abbildung 43: Darstellung der linearen Anpassung der kalibrierten Ketone 2-Octanon und 2-Nonanon, gemessen in einem Keton-Mix aus einem 1:1:1:1 molaren Gemisch aus 2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon und 2-Decanon in Methanol. Die durchgehende Linie zeigt die lineare Anpassung und die farbig schattierten Bereiche das obere und untere 95%-ige Konfidenzniveau (in Anlehnung an ¹²⁸).

¹²⁸ Für eine detaillierte Ausführung der Ergebnisse, siehe ¹²⁸.

Durch diese Kalibrierung war es möglich LODs (2-Heptanon: $0,039 \mu\text{g mL}^{-1}$; 2-Octanon: $0,024 \mu\text{g mL}^{-1}$; 2-Nonanon: $0,017 \mu\text{g mL}^{-1}$; 2-Decanon: $0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$) vergleichbar zu Kapitel 4 zu erzielen. Die erzielten relativen Standardabweichungen beliefen sich bei dieser Kalibrierung im Mittel aller Ketone auf $9,47\%$ im Bereich von $21,1\%$ ($0,15 \mu\text{g mL}^{-1}$ 2-Decanon) bis zu $2,87\%$ ($0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ 2-Heptanon). Dies stellt eine signifikante Verbesserung hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Messungen im Vergleich zu den Ergebnissen aus Kapitel 6.1.2 dar, in welchem für 2-Heptanon eine relative Standardabweichung von rund 35% erzielt wurde. Somit konnte durch den neuen Aufbau und durch die Optimierung der ausgewählten Parameter, mittels TDC-F μ TP-IMS eine reproduzierbare Quantifizierung von Analyten aus der flüssigen Phase erreicht werden.

Auflösungsvermögen TDC. Abschließend wurde das Auflösungsvermögen des TDC innerhalb des optimierten TDC-F μ TP-IMS Aufbaus anhand der unterschiedlichen Ketone untersucht. In Abbildung 44A ist eine der 3-fach durchgeführten Messungen des $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ Keton-Mix in Methanol dargestellt. Gekennzeichnet sind hier die inversen reduzierten Ionenmobilitäten der einzelnen Ketone (weiße Linie), bei der die maximale Signalintensität (farbkodiert von niedrig, blau, nach hoch, rot) detektiert wurde (Ordinate). Auf der Abszisse ist die Thermodesorptionszeit aufgetragen. In Abbildung 44B ist die Signalintensität gegen die Thermodesorptionszeit aufgetragen. Dargestellt sind hier die Mittelwerte (durchgehende Linie) mit der jeweiligen absoluten Standardabweichung (farbig schattiert) der zu den in Abbildung 44A gekennzeichneten inversen reduzierten Ionenmobilitäten der unterschiedlichen Ketone.

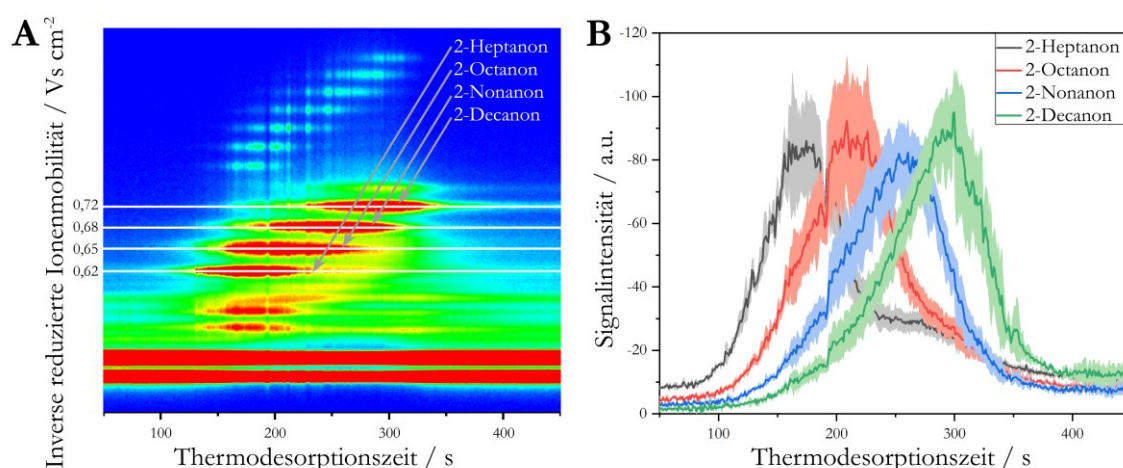


Abbildung 44: A, 2D-Konturplot einer der 3-fach durchgeführten Messungen des $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ Keton-Mix in Methanol. Gekennzeichnet sind hier die inversen reduzierten Ionenmobilitäten der einzelnen Ketone (weiße Linie), bei der die maximale Signalintensität (farbkodiert von niedrig, blau, nach hoch, rot) detektiert wurde (Ordinate). Auf der Abszisse ist die Thermodesorptionszeit aufgetragen. B, ermittelte 2D-Spektren der mittels TDC-F μ TP-IMS untersuchten Ketone (2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon und 2-Decanon). Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Thermodesorptionszeit. Als durchgezogene Linien sind die Signalverläufe der verschiedenen Ketone dargestellt. Schattiert ist die ermittelte absolute Standardabweichung der durchgeführten 3-fach Messungen zu den in A gekennzeichneten inversen reduzierten Ionenmobilitäten der einzelnen Ketone.

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

Ersichtlich ist, dass analog zu Kapitel 6.1.2 auch mit dem neuen Aufbau eine Antrennung der Ketone anhand deren unterschiedlicher Siedepunkte durch den TDC erfolgte. Dies ist besonders bemerkenswert, da lediglich 32 mg Tenax TA® innerhalb des hochgradig miniaturisierten TDC und einer Analysezeit von nur 500 s zum Einsatz kamen. Die berechnete *Resolution* aller Keton-Paare ist in Tabelle 10 aufgelistet. Angegeben ist hier der Mittelwert der *Resolution* der 3-fach durchgeführten Messungen und dessen relative Standardabweichung. Bemerkenswert ist auch hier, dass die relative Standardabweichung im Mittel bei nur 5,9 % liegt, was erneut die Reproduzierbarkeit der durchgeführten Messungen mit dem neuen Aufbau des TDC-F μ TP-IMS aufzeigt. Die errechneten Werte ergeben sich aus den Gauß-förmig angepassten Spektren der Einzelmessungen.

Tabelle 10: Gemittelte *Resolution* der Einzelanalyten des Keton-Mix mit relativer Standardabweichung. Untersucht wurde hier die *Resolution* während der Thermodesorptionszeit.

	<i>Resolution</i>	Rel. Standardabweichung / %
2-Heptanon/2-Octanon	0,38	5,26
2-Heptanon/ 2-Nonanon	0,76	11,84
2-Heptanon/ 2-Decanon	1,19	8,4
2-Octanon/2-Nonanon	0,35	5,71
2-Octanon/ 2-Decanon	0,73	1,37
2-Nonanon/2-Decanon	0,36	2,78

6.2 Nachweis von *N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton mittels TDC-F μ TP-IMS

Zur Kommunikation besitzen Prokaryoten (zelluläre Lebewesen ohne Zellkern) Regelmechanismen, die sie zur Kommunikation in heterogenen Lebensgemeinschaften (Biofilmen, Kolonien) nutzen. Dies wird als *Quorum Sensing* bezeichnet und ermöglicht eine Informationsweitergabe von der einen zur anderen Zelle, sogar über Gattungs- und Artgrenzen hinweg. *Quorum Sensing* beeinflusst die Expression von bestimmten Genen unter Berücksichtigung ökologischer Rahmenbedingungen und der vorliegenden Zelldichte¹³²⁻¹³⁴. Für die Kommunikation kommen unterschiedliche Signalmoleküle zum Einsatz, welche auch als Pheromone oder Autoinduktoren bzw. engl. *Autoinducer* bezeichnet werden. Diese amphiphilen Moleküle können auf Grund ihrer hydrophilen und lipophilen Eigenschaften, Zellwände durch Diffusionsprozesse passieren und somit an Proteinrezeptoren binden um eine Genexpression zu aktivieren. Diese Stoffe werden kontinuierlich von den einzelnen Zellen innerhalb einer Lebensgemeinschaft ausgeschieden, werden jedoch erst ab einem bestimmten Schwellenwert wirksam, wodurch unterschiedliche Prozesse wie die Ausscheidung von Enzymen aber auch Virulenzfaktoren initiiert werden können¹³⁴. Während gram-positive Bakterien häufig kurze modifizierte Peptide als Signalstoffe einsetzen, ist bei den gram-negativen Bakterien am häufigsten die Klasse der *N*-Acylhomoserinlactone als Botenstoff vertreten¹³⁵. Insbesondere gram-negative Bakterien sind klinisch relevant, da diese im Gegensatz zu den gram-positiven Bakterien eine weitere äußere Zellmembran aufweisen. Diese zusätzliche Membran besteht zu einem großen Teil aus Lipopolysacchariden welche als Endotoxine mitunter eine schwere Immunantwort beim Menschen hervorrufen können¹³⁶. Des Weiteren bietet diese äußere Zellmembran den gram-negativen Bakterien eine weitere Schutzschicht, welche von bestimmten Medikamenten, darunter auch Antibiotika, nicht passiert werden kann. Hier spricht man auch von einer intrinsischen Antibiotikaresistenz einiger gram-negativer Bakterien¹³⁷. Zusammenfassend können somit durch den Nachweis und die Quantifizierung spezifischer *Autoinducer* Rückschlüsse auf die Art eines Bakteriums und dessen Kommunikation mit seiner Umwelt getroffen werden. Mit dem zuvor dargestellten TDC-F μ TP-IMS (siehe Kapitel 6.1.3) soll im Folgenden der *Autoinducer* *N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton exemplarisch für die Klasse der *N*-Acyl-Homoserin-Lactone (AHL) nachgewiesen werden.

TDC-F μ TP-IMS. Für die hier durchgeführten Messungen, wurden die optimalen Messeinstellungen aus Kapitel 6.1.3 verwendet. Für die 12 cm lange Driftstrecke mit einer 5 cm langen Desolvatisierungsstrecke wurde eine Driftspannung von 5,49 kV, ein Driftgasfluss von 150 mL min⁻¹ und ein Trockengasfluss von 100 mL min⁻¹ synthetische Luft 5.0 ((Reinheit = 99,999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) eingestellt. Die Gitteröffnungszeit belief sich auf 300 μ s. Das F μ TP mit einer 50 μ m Drahtelektrode wurde mit einem Gasfluss von 10 mL min⁻¹ Helium, einer Hochspannungsamplitude von 1,8 kV bei einer Frequenz von 20 kHz und einem *Duty-Cycle* von 95:5 betrieben. Die Probenaufgabe auf den TDC erfolgte bei einer konstanten

Analyse flüssiger Proben mittels Thermodesorptionschips (TDC)

Temperatur von 30 °C und einem Trägergasfluss von 20 mL min⁻¹. Anschließend wurde ein Trocknungsschritt von 300 s bei 70 °C mit einem Trägergasfluss von 200 mL min⁻¹ Stickstoff 6.0 ((Reinheit = 99,9999 %) Linde GmbH, Pullach, Deutschland) durchgeführt. Für die Thermodesorption wurde für 60 s eine Temperatur von 100 °C eingestellt. Im Anschluss erfolgte eine Temperaturrampe von 0,3 °C s⁻¹, wobei sich der TDC innerhalb von 500 s von 100 °C auf 250 °C aufheizt. Bevor der Chip wieder abgekühlt wird, wird die Temperatur von 250 °C für weitere 250 s gehalten. Im Vergleich zum Programm aus Kapitel 6.1.3 wurde hier eine etwas schnellere Aufheizrate und im Anschluss an die Temperaturrampe eine längere Ausheizdauer gewählt, da der Siedepunkt bzw. die Zersetzungstemperatur von *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton nicht bekannt sind.

Probenvorbereitung. Zur Detektion von *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton (Cayman Chemical, Michigan, USA) mittels TDC-F μ TP-IMS wurde dieser in Methanol (> 99,8 %, VWR Chemicals, Pennsylvania, USA) als Standard angesetzt und untersucht. Hierbei war zu beachten, dass der jeweilige zu untersuchende Standard unmittelbar vor jeder Messung angesetzt werden musste, da bei längeren Lagerungszeiten unter Umgebungstemperatur eine deutlich geringere Reproduzierbarkeit der Messung beobachtet wurde. Dies ist durch mögliche für diesen *Autoinducer* bekannte Ringöffnungs-Reaktionen zu erklären.

Nachweis von *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton. Um *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton mittels TDC-F μ TP-IMS nachweisen und identifizieren zu können müssen analog zu Kapitel 3 Hintergrundsignale ausgeschlossen werden um eine eindeutige Zuordnung der Signale zu ermöglichen. Hierzu wurde im ersten Ansatz mit den zuvor beschriebenen Messeinstellungen und einem Probevolumen von 0,5 mL Methanol als Reinsubstanz der Hintergrund bestimmt. Dieser ist in Abbildung 45A zu sehen. Anschließend wurden dann 0,375 μ g *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton in 0,5 mL Methanol gemessen, das Ergebnis hierzu ist in Abbildung 45B als 2D-Konturplot zu sehen.

Es ist ersichtlich, dass neben den Hintergrundsignalen aus Methanol als Reinsubstanz zwei zusätzliche Signale zu beobachten sind welche *N*-hexanoyl-*L*-Homoserinlacton zuzuordnen sind (Signal A/ Signal B). Hierbei konnte für Signal A eine inverse reduzierte Ionenmobilität von 0,70 V s cm⁻² und für Signal B eine inverse reduzierte Ionenmobilität von 0,74 V s cm⁻² ermittelt werden

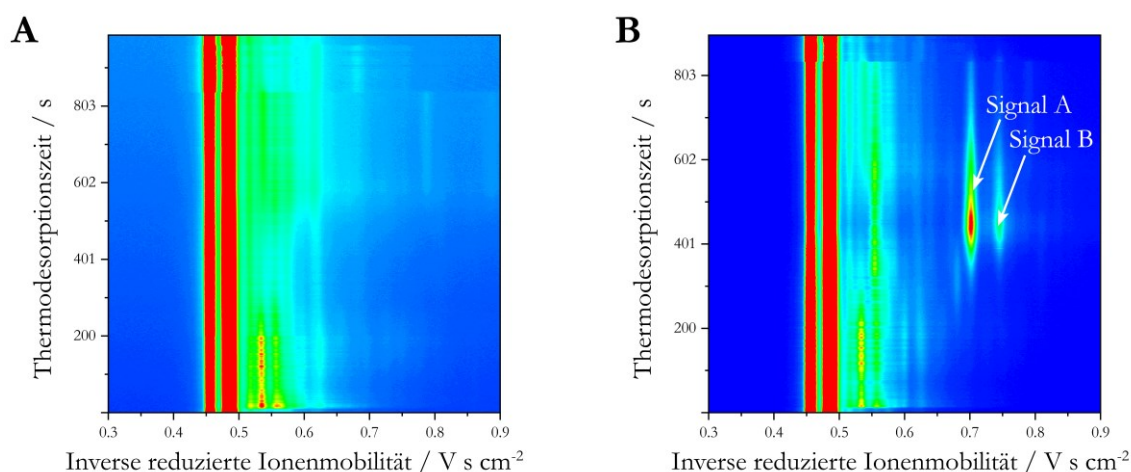


Abbildung 45: Darstellung einer Methanol Hintergrundmessung A und einer Messung von $0,750 \mu\text{g mL}^{-1}$ N-hexanoyl-L-Homoserinlacton in Methanol B. Dargestellt sind die Messungen in einem 2D-Konturplot, bei dem die Thermodesorptionszeit gegen die inverse reduzierte Ionenmobilität aufgetragen ist. Farbkodiert ist die Signalintensität dargestellt, von blau für eine niedrige Intensität zu rot für eine hohe Intensität. Beim Vergleich der Messungen sind die beiden zusätzlich auftretenden Signale A und B im rechten 2D-Konturplot dem *Autoinducer* N-hexanoyl-L-Homoserinlacton zuzuordnen.

Anhand dieser Signale erfolgte nun eine Quantifizierung des *Autoinducers* durch eine Kalibrierung. Es wurden Messungen im Bereich von $0,125 \mu\text{g mL}^{-1}$ bis $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ N-hexanoyl-L-Homoserinlacton in Methanol durchgeführt. Es ist ersichtlich, dass analog zu Kapitel 6.1.3 eine hohe Reproduzierbarkeit mit geringen Standardabweichungen (1,6 % bis 9,3 %) erzielt werden konnte. Des Weiteren konnte nach der Hubaux und Vos Methode ⁴⁶ ein LOD von $0,076 \mu\text{g mL}^{-1}$ ermittelt werden.

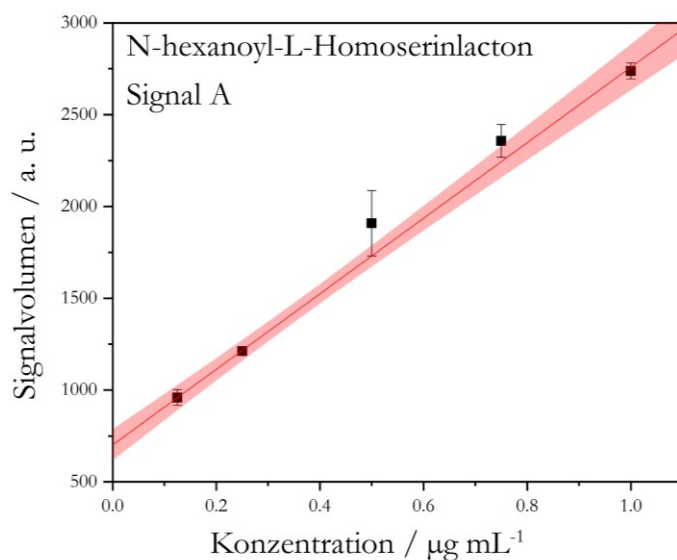


Abbildung 46: Darstellung der linearen Korrelation des kalibrierten *Autoinducer* N-hexanoyl-L-Homoserinlacton in Methanol. Die durchgehende Linie zeigt die lineare Anpassung auf und die farbig schattierten Bereiche das obere und untere 95%-ige Konfidenzniveau (in Anlehnung an ¹²⁸).

Somit war es durch den TDC-FuTP-IMS Aufbau erstmals möglich den *Autoinducer* N-hexanoyl-L-Homoserinlacton aus einer flüssigen Matrix heraus mittels TDC anzureichern, durch das FuTP zu ionisieren und mittels IMS nachzuweisen und zu quantifizieren.

6.3 Analyse flüssiger Proben: Zusammenfassung und Fazit

In diesem Kapitel sind die unterschiedlichen Entwicklungsschritte zum Aufbau eines auf der Kopplung von Ionenmobilitätsspektrometrie mit einem Thermodesorptionschip basierenden Messsystems zur Analyse flüssiger Proben dargestellt.

Dabei stellten sich die Probenezufuhr und -führung vom Thermodesorptionschip in das Ionenmobilitätsspektrometer als besonders herausfordernd dar. Ein schlagartiges Erhitzen des Thermodesorptionschips auf Grund verbleibender Restfeuchte trotz vorherigen Trocknungsschritts erwies sich als ungeeignet. Ein langsames kontinuierliches Aufheizen des Thermodesorptionschips ermöglichte hingegen die erstmalige Analyse eines Keton-Mix aus der flüssigen Phase heraus. Zunächst war es so möglich den Keton-Mix durch diese Methode über die unterschiedlichen Siedepunkte der einzelnen Ketone aufzutrennen.

Durch eine verbesserte und weiterentwickelte Probenaufgabe auf den Thermodesorptionschip konnte die Reproduzierbarkeit verbessert werden. Dabei brachte ein offener Aufbau eines Ionenmobilitätsspektrometers mit zusätzlicher Desolvatisierungsstrecke und dem FT μ P als Ionisierungsquelle letztendlich den durchschlagenden Erfolg. In dieser Kombination (TDC-FT μ P-IMS) war es erstmals möglich einen Keton-Mix aus der flüssigen Phase heraus auch quantitativ mittels Ionenmobilitätsspektrometer nachzuweisen. Darüber hinaus konnte mit diesem System, dem TDC-FT μ P-IMS, erstmals der *Autoinducer N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton in Methanol gemessen und quantifiziert werden. In einem weiteren Schritt soll anschließend an diese Arbeit der hier entwickelte Aufbau aus Thermodesorptionschip, FT μ P und Ionenmobilitätsspektrometer mit Desolvatisierungsstrecke für Realproben eingesetzt und untersucht werden. Da Messungen des reinen Kulturmediums erhebliche störende Hintergrundsignale aufwiesen, muss in weiteren Studien die Probenvorbereitung vor Aufgabe auf den Thermodesorptionschip untersucht werden, um für Realproben Anwendung finden zu können.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Die in dieser Arbeit vorgestellten Untersuchungen beschäftigen sich mit der Analyse mikrobiologischer Proben auf Basis der Ionenmobilitätsspektrometrie. Besonderer Fokus wurde hierbei – neben exemplarischen Anwendungen – auf die instrumentellen Entwicklungen gelegt, um die Einsatzmöglichkeiten der Ionenmobilitätsspektrometrie signifikant zu erweitern.

Als erste mikrobiologische Anwendung wurden Analysen des *Headspace*-Volumens auf charakteristische Metabolite Sepsis-relevanter Keime sowie eines Lebensmittel-assoziierten pathogenen Keims vorgestellt (Kapitel 3). Dazu wurden Messungen über Bakterienkulturen mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Ionenmobilitätsspektrometers mit gaschromatographischer Vortrennung durchgeführt. Für die verschiedenen Sepsis-relevanten Keime (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus faecalis*) konnten spezifische Signale bzw. Signalmuster (*Fingerprints*) identifiziert werden. Hierdurch war ein frühzeitiger Nachweis bakteriellen Wachstums schon nach 5 – 6 Stunden bei gleichzeitiger Identifizierung der unterschiedlichen Spezies möglich. Auch bei dem Lebensmittel-assoziierten Pathogen *Listeria monocytogenes* konnten spezifische Signale in Übereinstimmung mit der bakteriellen Wachstumskurve beobachtet werden. Dies war insbesondere durch die neu entwickelte automatisierte Probenahme (Inkubator mit Bakterienkammer) und einem damit einhergehenden deutlich längeren Untersuchungszeitraum möglich. Des Weiteren konnte der signifikante Einfluss des eingesetzten Nährmediums auf die Produktion Keim-spezifischer flüchtiger Stoffe nachgewiesen werden. So wies der *Headspace* von mit *Listeria monocytogenes* kontaminierten Milchkulturen ein deutlich schwächeres und weniger spezifisches Signalmuster auf als bei den korrespondierenden Versuchen von *Listeria monocytogenes* in einem komplexen *Brain-Heart-Infusion*-Medium. Im Anschluss an diese Experimente wird derzeit die Übertragung der mikrobiologischen Ergebnisse von Bakterien auf Viren erprobt. Aus aktuellem Anlass der SARS-CoV-2 Pandemie werden hierfür erste Vorversuche mit Influenza Viren in Zusammenarbeit mit der Universitätsmedizin Göttingen und dem Deutschen Primatenzentrums (Göttingen) als Vorbereitung für ein weiteres beantragtes Forschungsprojekt durchgeführt.

Als zunehmend gesuchte Alternative zu den üblichen radioaktiven Ionisierungsquellen wurde das *Flexible Microtube Plasma* als neue, plasmabasierte, miniaturisierte Ionisierungsquelle vorgestellt und mit einem Ionenmobilitätsspektrometer gekoppelt (Kapitel 4). Schrittweise wurde anhand einer Parametervariation der Aufbau aus *Flexible Microtube Plasma* und *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer hinsichtlich maximaler Ionenausbeute und Ionisierungseffizienz optimiert. Hier zeigte sich, dass die Anpassung der Amplitude und des *Duty-Cycles* der Rechteckspannung sowie der Durchmesser der Drahtelektrode die wichtigsten Optimierungsparameter

Zusammenfassung und Ausblick

darstellten. So war es möglich neben Helium als Arbeitsgas auch Stickstoff und sogar synthetische Luft einzusetzen. Im positiven Ionenmodus lieferten beide Ionisierungsmethoden, die *Flexible Microtube Plasma* Konfigurationen, zum einen mit Helium und zum anderen mit Stickstoff als Arbeitsgas und eine herkömmlichen ^{63}Ni β -Strahlungsquelle vergleichbare Ergebnisse. Somit bietet das *Flexible Microtube Plasma* eine vielversprechende Alternative zur radioaktiven β -Strahlungsquelle. Insbesondere der Einsatz von Stickstoff und synthetischer Luft als Arbeitsgas kann einen mobilen und kostengünstigen Einsatz dieser Ionierungsquelle ohne weitere regulatorische Auflagen ermöglichen und so die Akzeptanz der Ionenmobilitätsspektrometrie verbessern. Hierzu laufen derzeit weiterführende Untersuchungen im Rahmen eines geförderten Projektes namens NORISC (Förderkennzeichen 03VP07560) zur Kopplung und Validierung des F μ TP mit einem kommerziellen *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer.

Des Weiteren wurde ein additives Fertigungsverfahren für die Herstellung kostengünstiger *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer vorgestellt (Kapitel 5). Das vollständig durch 3D-Druck hergestellte *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer wurde am Beispiel der Detektion von drei Isomerpaaren mit einem Referenz-*Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer aus Polytetrafluorethylen verglichen. Es zeigte sich zunächst, dass das eingesetzte Material (leitfähiges und nicht leitfähige Polymilchsäure) einen signifikanten negativen Einfluss auf die *Performance* des 3D-gedruckten *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometers hat. Zum einen reduzierte die höhere Permittivität des gedruckten nichtleitfähigen Filaments im Vergleich zu der von PTFE die elektrischen Feldlinien und schwächte somit das elektrische Feld stärker ab. Zum anderen beeinflusste die sich auch bei dem leitfähigen Filament ausgebildete dielektrische Schicht beispielweise die Sensitivität des Detektors. Das Herstellungsverfahren ermöglichte jedoch eine schnelle Optimierungen der Driftröhre und des Ioneneinlassgitters und so konnte die *Performance* des 3D-gedruckten *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometers signifikant verbessert und der des Referenz-*Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometers aus PTFE angepasst werden. Darüber hinaus war es erstmals möglich ein neues komplexes Design eines Ioneneinlassgitters auf Basis des Bradbury-Nielsen Gitters zu fertigen und zu erproben. Dieses Ioneneinlassgitter bietet zwei Ablenkungsrichtungen, was wegen verringerter Ionen-Ionen Wechselwirkungen zu einem verbesserten Signal-zu-Rausch-Verhältnis führte. Durch diese neuen Möglichkeiten zur Fertigung von *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometern könnten in Zukunft „Einmal-Ionenmobilitätsspektrometer“ beispielsweise für die Analyse hochinfektiöser Proben zur Verfügung stehen, sowie weitere Design Veränderungen oder Optimierungen schnell und kostengünstig umgesetzt werden. Konkret werden derzeit weitere instrumentelle Entwicklungen, insbesondere für den 3D-Druck der Widerstandskette, zur Fokussierung und besseren IONENTRANSMISSION durchgeführt.

Eine weitere instrumentelle Entwicklung stellt die Kopplung eines miniaturisierten Anreicherungs- und Thermodesorptionschips mit einem *Drift-Time*-Ionenmobilitätsspektrometer zur Analyse flüssiger Proben dar (Kapitel 6). Dazu wurden die flüssigen Proben direkt durch den Adsorptionschip geleitet und anschließend thermodesorbiert, was mit dieser Kopplung einen *in-line* Einsatz ermöglicht und so hinderliche *off-line* Schritte, wie eine getrennte Probennahme und Injektion vermeidet. Hierbei erwies sich zunächst die verbleibende Restfeuchte des jeweiligen Lösungsmittels als problematisch. Nach Anpassung der Thermodesorption durch eine Temperaturrempe, dem Einbau einer zusätzlichen Desolvatisierungsstrecke und dem Einsatz des *Flexible Microtube Plasma* als Ionisierungsmethode konnte ein Keton-Mix aus einer flüssigen Matrix heraus nachgewiesen werden. Neben dem qualitativen Nachweis, wurden die Ketone auch quantitativ bestimmt. Darüber hinaus ermöglichte die eingesetzte Temperaturrempe eine Vortrennung der analysierten Ketone anhand ihrer unterschiedlichen Siedepunkte. Erstmals war es mit diesem neu entwickelten Aufbau aus Thermodesorptionchip, *Flexible Microtube Plasma* und Ionenmobilitätsspektrometer mit Desolvatisierungsstrecke möglich den *Autoinducer* N-hexanoyl-L-Homoserinlacton, ein Signalstoff für das *Quorum-Sensing* von Bakterien, als exemplarische Realprobe quantitativ und qualitativ nachzuweisen. Somit ermöglicht dieser Aufbau den Einsatz der Ionenmobilitätsspektrometrie zur Analyse flüssiger Proben auch auf ihre nicht-flüchtigen Bestandteile. Dies wird anhand von Realproben derzeit weiter untersucht. Zum Ausbau und zur Validierung dieses neuen Aufbaus wurde zudem bereits ein Projekt im Bereich der Qualitätskontrolle von Lebensmitteln (Kontamination von Geflügelprodukten mit *Campylobacter*) beantragt.

Durch die hier vorgestellten mikrobiologischen Anwendungen konnte gezeigt werden, dass mittels gezielter instrumenteller Entwicklungen, angefangen bei der Probenahme, der Ionisierungsmethode bis hin zur Fertigung von Ionenmobilitätsspektrometern die Akzeptanz der Methode verbessert und die möglichen Einsatzbereiche erweitert werden können. So wurden bereits parallel zu den hier vorgestellten, vornehmlich mikrobiologischen Experimenten auch Anwendungsgebiete im weitesten Sinne aus dem Bereich der Qualitätskontrolle zur Erkennung von Falschgeld in einer gemeinsamen Publikation von Vautz et al.¹³⁸ oder illegal behandelten Tischtennisschlägern in der Publikation von Drees et al.¹³⁹ erfolgreich bearbeitet.

A Anhang

A.1 Abkürzungsverzeichnis

mVOC	<i>microbial volatile organic compounds</i>
IMS	Ionenmobilitätsspektrometer
DMS	<i>Differential Mobility Spectrometer</i>
DTIMS	<i>Drift-Time-Ionenmobilitätsspektrometer</i>
TWIMS	<i>Traveling Wave Ion Mobility Spectrometer</i>
FAIMS	<i>Waveform Ion Mobility Spectrometer</i>
TIMS	<i>Trapped Ion Mobility Spectrometer</i>
RIP	Reaktant-Ionen-Peak
APCI	<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
R _p	<i>Resolving Power</i>
R	<i>Resolution</i>
LDR	<i>Linear Dynamic Range</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
SNR	<i>Signal-to-Noise Ratio</i>
BSI	<i>Blood Stream Infection</i>
GC	Gaschromatographie
MSD	<i>mass selective detector</i>
DSMZ	Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
LB	<i>lysogeny broth</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PC	<i>Principal Component</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
PDMS	Polydimethylsiloxan
F _μ TP	<i>Flexible Microtube Plasma</i>
LTP	<i>Low-Temperature Plasma</i>
DBDI	<i>dielectric barrier discharge ionisation</i>
PLA	<i>poly lactic acid</i>
TSB	<i>tryptic soy broth</i>
MFR	Massenfussregler
KA	Kapillare
SLS	<i>selective laser sintering</i>
SLA	<i>stereolithography apparatus</i>
FDM	<i>fused deposition modelling</i>
PTFE	<i>Polytetrafluorethylen</i>
FWHM	<i>full width at half maximum</i>
TDC	Thermodesorptionschip
DRIE	<i>Deep Reactive Ion Etching</i>
MCC	<i>multi capillary column</i>

A.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung eines DTIMS. Dargestellt sind die Ionisierungsregion, das Ioneneinlassgitter, die Driftstrecke inklusive der Driftringe (grau) und der Detektor.....	6
Abbildung 2:	Darstellung eines typischen Ionenmobilitätsspektrums. Dargestellt ist der preRIP, RIP und der Monomer M_1 sowie ein Dimer M_2 eines exemplarischen Analyten M. Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Driftzeit.	7
Abbildung 3:	A: Schematische Darstellung eines Bradbury-Nielsen Gitters. Dargestellt sind die zwei elektrisch isolierten verzahnten Elektroden des Bradbury-Nielsen Gitters. B: Injektionsmodus, bei welchem die beiden isolierten Elektroden auf demselben Potential liegen und die Ionen in die Driftröhre entlassen. C: Darstellung des Modus in dem das Ionengitter geschlossen ist. Hierbei werden die Ionen durch unterschiedliche Potentiale an den Gitterelektroden abgelenkt. Somit können die Ionen den Detektor nicht mehr erreichen.	11
Abbildung 4:	Darstellung wie in dieser Arbeit das Rauschen zur Bestimmung des SNR definiert wurde. Das Rauschen wurde als die 3-fache Standardabweichung (3σ) eines zufälligen Wertes X des gemittelten Ionenmobilitätsspektrums definiert.	16
Abbildung 5:	Graphische Darstellung zur Ermittlung des LODs nach Hubaux und Vos. Das untere und obere Konfidenzband und die Ebene durch den Punkt y_C und L_D (LOD) sind dargestellt.....	16
Abbildung 6:	Photographie einer aeroben (BacT/ALERT FA Plus) und einer anaeroben (BacT/ALERT FN Plus) Blutkulturflasche der Firma Biomérieux. Zu sehen sind die mit komplexen Medien gefüllten Flaschen, das Septum und der CO_2 Indikator am Flaschenboden.	21
Abbildung 7:	A Darstellung des Adapters aus verschiedenen Sarstedt Teilen zur dynamischen <i>Headspace</i> -Analyse. B Darstellung der durch eine Sauerstoffkontamination hervorgerufene Verfärbung des Nährmedium der anaeroben Blutkulturflasche, verursacht durch das dynamische <i>Headspace</i> -Analyse Verfahren.	22
Abbildung 8:	GC-MS Analyse der Hintergrundsignale einer aeroben Blutkulturflasche links, mit Auflistung der markantesten detektierten Signale rechts (nach ⁵⁶).....	23
Abbildung 9:	Signalmuster der detektierten Keim-spezifischen Signale im positiven Ionenmodus (GC Retentionszeit vs. inverse reduzierte Ionenmobilität). Grün sind die Signale markiert welche <i>Staphylococcus aureus</i> , rot <i>Pseudomonas aeruginosa</i> und blau <i>Escherichia coli</i> zugeordnet werden konnten. Die Keim-spezifischen Signale setzen sich signifikant von den Hintergrundmessungen und den anderen Keimmessungen ab. Bei einer Vielzahl der Signale konnte eine zeitabhängige Intensitätszunahme ermittelt werden. Beispielhaft ist dies für ein bei <i>Escherichia coli</i> (rechts) detektiertes Signal (links violett markiert) dargestellt. Besonders bemerkenswert ist hier die geringe Fehlerbehaftung der einzelnen Messpunkte (Standardabweichungen sind dargestellt).....	24
Abbildung 10:	PCA <i>Biplots</i> der Messergebnisse nach 4, 5, 6 und 7 Stunden Inkubationszeit der aeroben (grün) und anaeroben (orange) Blutkulturflaschen. Eine klare Differenzierung der 3 unterschiedlichen Keime ist hier nach 6 Stunden möglich (nach ⁵⁶).....	26
Abbildung 11:	PCA <i>Biplots</i> der Messergebnisse nach 3 und 6 Stunden Inkubationszeit der aeroben (grün, oben) und anaeroben (orange, unten) Blutkulturflaschen.....	27

- Abbildung 12: Photographie der bisher verfügbaren Bakterienkammer für die dynamische *Headspace*-Analyse. Die Kammer besteht vollständig aus Edelstahl. Die Petrischale wird in die Schublade eingelegt, worauf die Schublade dann durch Schrauben mit der Kammer verbunden und abgedichtet wird.....32
- Abbildung 13: CAD-Zeichnung der neu angefertigten Probenkammer zur Messung des *Headspace* über einer Bakterienkultur in einer Petrischale. Die Kammer wurde zum einen dahingehend gefertigt, dass der Deckel gegenüber der Petrischale abdichtet. Zum anderen wurde die Struktur des Deckels und dessen Probengasein- bzw. -auslass so entworfen, dass ein homogener Fluss oberhalb der Bakterienkultur entsteht und in die Probenschleife des GC-IMS geleitet wird.....32
- Abbildung 14: Steuerung der Ventile samt Probengas- und Säulengasflussrichtung. Ventilstatus A zeigt die Gasflüsse während einer Messung, bzw. nach einer Messung und während die Bakterienkultur in der Bakterienkammer inkubiert wird. Ventilstatus B zeigt die Gasflüsse bei der Aufgabe der *Headspace* Probe der Bakterienkultur in die Probenschleife, bevor die Probe auf die GC-Säule und anschließend ins IMS gegeben wird.....33
- Abbildung 15: Photographie des Gesamtsystems zur automatisierten Probenahme, bestehend aus GC-IMS (unten), Inkubator (oben) und neu entwickelter Bakterienkammer (innerhalb des Inkubators). Links ist das messbereite System mit durch Styroporverkleidung isoliertem Inkubator gezeigt. Mittig und rechts ist bei geöffnetem Inkubator-Deckel die an das GC-IMS gekoppelte Bakterienkammer ersichtlich.....34
- Abbildung 16: Signalmuster (A) der detektierten Signale von *Listeria monocytogenes* im positiven Ionenmodus (GC Retentionszeit vs. inverse reduzierte Ionenmobilität) in BHI-Medium (blau) und in H-Milch 3,5 % (rot). Die Keim-spezifischen Signale setzen sich signifikant von den Hintergrundmessungen ab. Exemplarisch dargestellt für das grün markierte Signal sind auf der rechten Seite (B) die Signalverläufe für *Listeria monocytogenes* in BHI-Medium (blau, oben) und in H-Milch 3,5 % (rot, unten). Zusätzlich in schwarz sind die Messungen des sterilen BHI-Mediums und der reinen H-Milch über die Zeit aufgezeigt.....35
- Abbildung 17: A, Schematische Darstellung des F μ TP. Dieses besteht aus einer Quarzkapillare, welche mit einem PTFE-Schlauch ummantelt ist. Im Inneren befindet sich ein Wolframdraht, welcher die Hochspannung führt und somit als Elektrode dient. B, Darstellung der 3D-gedruckten Ionisierungskammer, des positionierten F μ TP und dessen Installation vor dem Ioneneinlassgitter und der Driftröhre des IMS. C, zeigt den Grundkörper des F μ TP bestehend aus einem T-Stück aus PEEK, welches den Schlauch des F μ TPs gegenüber der Umwelt durch ein Fitting abdichtet, dem hochspannungführenden Draht, welcher durch den gegenüberliegenden Ausgang des T-Stücks führt und ebenfalls mittels Fitting abgedichtet und den dritten Eingang des T-Stücks für das Betriebsgas (nach ⁷⁰ und ⁸¹).....41
- Abbildung 18: Photographie des mit einem IMS gekoppelten F μ TPs. A, das T-Stück am HV-Generator, welches die Zuleitung des Plasmagases und die elektrische Kontaktierung der F μ TP Elektrode ermöglicht und das F μ TP gegenüber der Umwelt abdichtet. Zusätzlich ist die 3D-gedruckte Ionisierungskammer zu sehen, in der durch eine Schraube das F μ TP zentriert positioniert wird.....42

- Abbildung 19: Darstellung der angelegten Hochspannungsamplitude über die Zeit, bei einer eingestellten Hochspannungsamplitude von 3 kV, einer Hochspannungsfrequenz von 20 kHz und einem *Duty-Cycle* von 50:50 (Mitte). Links (A) und rechts (B) sind emissionsspektroskopische Messungen der Emissionslinie von Helium (706,5 nm) während des positiven Halbzyklus (A) und des negativen Halbzyklus (B) eines Plasmazyklus dargestellt. Es ist ersichtlich, dass sich das gezündete Plasma im positiven Halbzyklus (A) signifikant langsamer innerhalb der Kapillare, ausgehend von der Drahtspitze des F μ TP zur Kapillaröffnung, ausbreitet als im negativen Halbzyklus. 43
- Abbildung 20: Schematische Darstellung des HovaCAL Kalibriergasgenerators. Zu sehen sind die Probenpumpen, welche den flüssigen Analyten in den Verdampfer 1 (180 °C) leiten. Hier wird durch einen definierten Trägergasfluss mittels Massenflussreglers (MFR) das Gasgemisch weitergeleitet. Durch einen zweiten definierten Trägergasfluss wird das Gasgemisch erstmals verdünnt. Analog dazu findet ein zweiter Verdünnungsschritt durch einen weiteren definierten Trägergasfluss statt. Zusätzlich befindet sich hier ein weiterer Verdampfer 2 (90 °C), welcher die Zufuhr von feuchtem Gas durch ein weiteres Pumpensystem ermöglicht. Hier kann eine relative Feuchte von 0-100 % eingestellt werden. Alle Verbindungen und Kapillaren (KA) sind zur Minimierung von Kondensation auf 100 °C temperiert (nach ⁸¹). 46
- Abbildung 21: Dargestellt ist die Signalintensität gegen die inverse reduzierte Ionenmobilität für 3 ppb_v von 2-Nonanon. Die unterschiedlichen Farben zeigen die verschiedenen untersuchten Hochspannungsamplituden des F μ TPs. Bei steigender Amplitude ist eine Steigerung der Signalintensitäten des RIPs, des 2-Nonanon Monomers und Dimers zu erkennen. Zudem ist ersichtlich, dass sich das Verhältnis von Monomer- und Dimer-Signalintensität bei steigender Amplitude zu Gunsten des Monomers verschiebt (nach ⁸¹). 51
- Abbildung 22: Darstellung der gemessenen Signalmaxima des RIP (Rechtecke), des 2-Nonanon Monomer (Punkte) und Dimer (Dreiecke) (3 ppb_v) bei unterschiedlichen Hochspannungsamplituden und Plasmagasflüssen an Helium. Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Hochspannungsamplitude des F μ TP. Die Ergebnisse bei einem Plasmagasfluss von 10 mL min⁻¹ sind in rot dargestellt, bei 7 mL min⁻¹ in blau, bei 4 mL min⁻¹ in grün und bei 3 mL min⁻¹ in schwarz. Eine Reduktion des Plasmagasflusses geht mit einem Verlust an Signalintensität einher und es wird zusätzlich eine höhere Amplitude der Rechteckspannung des F μ TP benötigt um ein stabiles RIP Signal zu generieren (nach ⁸¹). 53
- Abbildung 23: Balkendiagramm welches den Zusammenhang von Drahtelektrodendurchmesser, verwendeter minimaler Betriebsspannung und Signalintensität des RIPs aufzeigt. Ein geringerer Drahtelektrodendurchmesser geht mit einer erhöhten Signalintensität des RIP und einer niedrigeren benötigten Betriebsspannung einher. Zusätzlich konnte hier Stickstoff als Plasmagas eingesetzt werden anstatt des kostenintensiveren Edelgases Helium (nach ⁸¹). 54
- Abbildung 24: Balkendiagramm des RIP und des Monomers und des Dimers von 2-Nonanon bei einer Konzentration von 5 ppb_v. Während unterhalb von 20 kHz große Standardabweichungen mit geringen Signalintensitäten einhergehen, liegt das Optimum bei 20 – 25 kHz der Hochspannungsfrequenz des F μ TPs (nach ⁸¹). 55
- Abbildung 25: Signalintensität aufgetragen gegen den eingestellten *Duty-Cycle* des F μ TPs in Kombination mit einem IMS. Eine länger andauernde Hochphase der eingestellten Rechteckspannung geht mit einer signifikant ansteigenden Signalintensität des RIPs und des 2-Nonanon Monomers und Dimers einher. Ein Optimum des *Duty-Cycles* kann bei 90:10 ermittelt werden (nach ⁸¹). 57

Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme des F μ TPs vor (A) und nach acht Tagen Dauerbetrieb (B). Deutlich zu sehen sind die Abnutzungs- und Ermüdungserscheinungen nach acht Tagen (nach ⁸¹).	58
Abbildung 27: Kalibrierung von 2-Nonanon mittels Helium-F μ TP und einer 75 μ m Drahtelektrode (grün) und zum anderen mittels Stickstoff-F μ TP und einer 13 μ m Drahtelektrode (rot). Die einzelnen Datenpunkte sind linear angepasst (durchgezogene Linien) und die jeweiligen 95 % Konfidenzintervalle sind als schattierte Flächen gekennzeichnet. Ein besseres Ergebnis hinsichtlich Detektionslimit (LOD) und linearen dynamischen Bereich (LDR) ist für die Konfiguration des Helium-F μ TPs ersichtlich (nach ⁸¹).	60
Abbildung 28: Photographien der einzelnen Komponenten des 3D-gedruckten (oben) und des herkömmlich aus PTFE hergestellten IMS (unten). Zu sehen sind jeweils die Ionisierungskammer (A), das Ioneneinlassgitter (B), die Driftröhre (C) und der Detektor (D). An jedem Bauteil sind auch die für einen schnellen Zusammenbau angebrachten Magnete zu sehen (nach ¹¹¹).	68
Abbildung 29: Photographie der vier verschiedenen, 3D-gedruckten Ioneneinlassgitter. Ioneneinlassgitter: 1) BN-Gitter 1: Replikat des kommerziell erhältlichen BN-Gitters mit identischen Parametern. 2) BN-Gitter 2: Doppelte Gitterstegbreite und Gitterstegabstand bei gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche wie 1). 3) BN-Gitter 3: Nahezu halbe Gitterstegbreite und Gitterstegabstand bei gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche. 4) BN-Gitter 4: Völlig neuartiges, ineinander verwobenes Gittergeflecht mit gleicher Gitterstegbreite und gleichem Verhältnis bedeckter/freier Fläche wie 1). Unterhalb der jeweiligen Photographie sind vergrößerte Abschnitte der Gitter dargestellt und mit einer Skala versehen. Zusammenfassend sind unter allen Gitterformen die Gitterkonstanten aufgelistet (nach ¹¹¹).	70
Abbildung 30: Photographie der zwei 3D-gedruckten Driftröhren. Hierbei ist Driftröhre 1 das Replikat zur Referenz Driftröhre im PTFE-IMS. Aus dem Innendurchmesser der Driftröhre und der Driftringe ergibt sich die Dicke der isolierenden Schicht zum Driftvolumen von 4,7 mm, weshalb die Driftringe nicht zu erkennen sind. Bei Driftröhre 2 hingegen ist durch den geringeren Innendurchmesser der Driftringe die isolierende Schicht mit 0,8 mm deutlich dünner und jeder Driftring scheint durch. Der innere Durchmesser bei beiden Driftröhren beläuft sich auf 15,2 mm (nach ¹¹¹).	71
Abbildung 31: Langzeitmessungen des PTFE-IMS (A), des PTFE-IMS mit eingebauter, 3D-gedruckter Driftröhre 1 (B), des PTFE-IMS mit eingebauter, 3D-gedruckter Driftröhre 2 (C) und des komplett 3D-gedruckten IMS mit verbauter Driftröhre 2 und BN-Gitter 3. Exemplarisch sind die elektrischen Feldlinien dargestellt sowie die Zeitpunkte des Erreichens des Gleichgewichtszustands markiert (nach ¹¹¹).	74
Abbildung 32: Ionenmobilitätsspektren der drei unterschiedlichen Isomerpaare 2-Heptanon/4-Heptanon, 2-Octanon/3-Octanon und 2-Nonanon/3-Nonanon gemessen mittels kompletten 3D-gedruckten IMS (A) unter Einsatz von Driftröhre 2 sowie BN-Gitters 3 und des Referenz PTFE-IMS (B). Die experimentell ermittelten Daten sind als graue Linie geplottet und die farblich gekennzeichneten Linien zeigen die Anpassungen nach Gauß für das jeweilige Keton (nach ¹¹¹).	78

- Abbildung 33: Darstellung des Thermodesorptionschips 2 als Photographie (A), und als schematische Querschnittsdarstellung. Markiert sind die Ein- bzw. Ausgänge für die Probe und das inerte Trägergas, die mit Tenax TA[®] gefüllten Kavitäten und der Platinbeschichtung auf dem Boden des Chips, welche als Heizelement und Temperatursensor dienen. In B sind die 3 unterschiedlichen Varianten an Kavitäten für das Tenax TA[®] dargestellt. Variante eins kann 30 mg Tenax aufnehmen, die Variante zwei, 32 mg und die Variante drei, 36 mg Tenax TA[®] (nach ¹²²). 82
- Abbildung 34: Übersicht des Gesamtsystems zur Steuerung und Anbindung des TDC. Zu erkennen sind das Steuerboard, der Thermodesorptionschip, die Trägergaszuführung und der Ausgang über eine Kapillare. Der TDC ist in einer Halterung aus PEEK auf den Kontakten des Steuerboards fixiert, gegenüber dem Trägergasein- und -ausgang ist der TDC mit Dichtringen abgedichtet. Zusätzlich ermöglicht ein Ventilator das beschleunigte Abkühlen des Thermodesorptionschips. 83
- Abbildung 35: A, schematische Darstellung und B, Übersicht des ersten Aufbaus zur Zufuhr flüssiger Proben auf den TDC und die anschließende Überführung in das MCC-IMS. Zu erkennen sind die beiden 6-Wege-Ventile 1 und 2, die Probenschleife zur Aufgabe eines definierten Volumens auf den TDC, der TDC selbst, das Gehäuse des MCC-IMS und die Fluss- und Temperatursteuerungseinheiten..... 85
- Abbildung 36: Darstellung der zur Überführung einer flüssigen Probe in das GC-IMS notwendigen Schritte. Auf der rechten Seite ist das Ventil 1 und auf der linken Seite das Ventil 2 dargestellt. In Schritt 1 wird die Probenschleife mit der flüssigen Probe beladen. Hierzu wurde 3-mal ein Volumen von 10 mL über einen Eingang des 3-Wegeventil in die 7,28 ml Probenschleife injiziert um eine Luftblasenbildung zu minimieren. In Schritt 2 wird dann die flüssige Probe in der Probenschleife auf den TDC gegeben. Hierzu wurde für 90 s Ventil 1 geschaltet und durch einen anliegenden Stickstofffluss von 10 mL min⁻¹ die flüssige Probe über den TDC gedrückt. Zusätzlich wird hier ein 3/2-Wege-Ventil für die Überführung der Probe in das Abfallgefäß umgelegt. Schritt 3 dient der Trocknung des TDC um eventuelle Restfeuchte zu minimieren und das Lösungsmittel auszutreiben. Hierzu wurde der TDC auf 50 °C beheizt und für 60 s ein Trockengasfluss an Stickstoff eingestellt. Im letzten Schritt 4, wird das 3/2-Wege-Ventil vom Abfall wieder auf das GC-IMS geschaltet und der TDC mit maximaler Aufheizrate auf 250 °C erhitzt und bei Erreichen der Zieltemperatur das Ventil 2 für 4 s geschaltet und die Messung gestartet. 86
- Abbildung 37: Darstellung zweier Messergebnisse der TDC-Messungen in Darstellung eines 2D-Konturplots. In A ist der Konturplot der Reinstwasser-Messung (Blindwert) und in B die Messung einer 0,01 µg mL⁻¹ an 2-Heptanon in wässriger Lösung dargestellt. Zu erkennen sind hier eindeutig der 2-Heptanon Monomer und Dimer. Aufgetragen sind auf der Ordinate die Retentionszeit und auf der Abszisse die inverse reduzierte Ionenmobilität. Die Intensität ist farbcodiert, von geringer Intensität (blau) hin zu hoher Intensität (rot). 87
- Abbildung 38: Ionenmobilitätsspektren von vier Einzelmessung von 2-Heptanon (0,01 µg mL⁻¹) mit dem entwickelten Probenaufgabesystem. Die großen Abweichungen untereinander zeigen, dass keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden konnten. 88
- Abbildung 39: A, schematische Darstellung des Aufbaus für die direkte Probenaufgabe durch eine beheizte *Transferline* in die Ionisierungskammer eines ⁶³Ni-IMS. B, Photographie des Aufbaus. Ersichtlich ist der TDC, die beheizte *Transferline*, die Trägergaszufuhr und das IMS (teilweise nach ¹²⁷). 89

- Abbildung 40: Darstellung der unterschiedlichen Aufheizraten mittels TDC (links) und die erzielten Messungen eines Keton-Mixes aus 2-Hexanon, 2-Heptanon, 2-Octanon und 2-Nonanon (rechts). In A ist eine kontinuierliche Aufheizrate von $0,32 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ eingesetzt worden und in B ein stufenweises Aufheizen mit der maximalen Aufheizrate von $50 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ auf definierte Temperaturniveaus. Zusammenfassend betrachtet, lieferte die Methode in A die besseren Ergebnisse hinsichtlich der erzielten Signalformen, eine hinreichende Trennung des Keton-Mixes ist jedoch mit beiden Methoden möglich. Zudem kann bei beiden Methoden im Vergleich zum Aufheizen mit der maximalen Aufheizrate ein durchgängiges RIP-Signal beobachtet werden.91
- Abbildung 41: A, schematische Darstellung des TDC-F μ TP-IMS Aufbaus. B zeigt eine Photographie mit Draufsicht, bei der das IMS, die Desolvatisierungsstrecke das F μ TP und der TDC ersichtlich ist. In C ist eine Nahaufnahme des 3D-gedruckten Halters zur Ausrichtung des F μ TP und des TDC dargestellt. Zusätzlich ist das bei diesem Aufbau benötigte zusätzliche Gitter am Eingang der Desolvatisierungsstrecke ersichtlich.93
- Abbildung 42: Schematische Darstellung der Probenaufgabe auf den Thermodesorptionschip. Durch einen definierten Massenfluss wird die flüssige Probe über den Thermodesorptionschip geleitet und anschließend in ein Abfallgefäß überführt. Als Trägergas wird Stickstoff verwendet und während der Probenaufgabe wird der Thermodesorptionschip auf $30 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert.94
- Abbildung 43: Darstellung der linearen Anpassung der kalibrierten Ketone 2-Octanon und 2-Nonanon, gemessen in einem Keton-Mix aus einem 1:1:1 molaren Gemisch aus 2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon und 2-Decanon in Methanol. Die durchgehende Linie zeigt die lineare Anpassung und die farbig schattierten Bereiche das obere und untere 95%-ige Konfidenzniveau (in Anlehnung an ¹²⁸).95
- Abbildung 44: A, 2D-Konturplot einer der 3-fach durchgeführten Messungen des $0,6 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ Keton-Mix in Methanol. Gekennzeichnet sind hier die inversen reduzierten Ionenmobilitäten der einzelnen Ketone (weiße Linie), bei der die maximale Signalintensität (farbkodiert von niedrig, blau, nach hoch, rot) detektiert wurde (Ordinate). Auf der Abszisse ist die Thermodesorptionszeit aufgetragen. B, ermittelte 2D-Spektren der mittels TDC-F μ TP-IMS untersuchten Ketone (2-Heptanon, 2-Octanon, 2-Nonanon und 2-Decanon). Aufgetragen ist die Signalintensität gegen die Thermodesorptionszeit. Als durchgezogene Linien sind die Signalverläufe der verschiedenen Ketone dargestellt. Schattiert ist die ermittelte absolute Standardabweichung der durchgeführten 3-fach Messungen zu den in A gekennzeichneten inversen reduzierten Ionenmobilitäten der einzelnen Ketone.96
- Abbildung 45: Darstellung einer Methanol Hintergrundmessung A und einer Messung von $0,750 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ *N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton in Methanol B. Dargestellt sind die Messungen in einem 2D-Konturplot, bei dem die Thermodesorptionszeit gegen die inverse reduzierte Ionenmobilität aufgetragen ist. Farbkodiert ist die Signalintensität dargestellt, von blau für eine niedrige Intensität zu rot für eine hohe Intensität. Beim Vergleich der Messungen sind die beiden zusätzlich auftretenden Signale A und B im rechten 2D-Konturplot dem *Autoinducer N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton zuzuordnen. 100
- Abbildung 46: Darstellung der linearen Korrelation des kalibrierten *Autoinducer N*-hexanoyl-L-Homoserinlacton Methanol. Die durchgehende Linie zeigt die lineare Anpassung auf und die farbig schattierten Bereiche das obere und untere 95%-ige Konfidenzniveau (in Anlehnung an ¹²⁸). 100

A.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Liste der 3D-Druck Parameter.....	45
Tabelle 2:	Parameter zur Herstellung eines 1:1:1:1 molaren Keton-Mixes mit einem Gesamtvolumen von 21,25 mL. Angegeben sind die Stoff-spezifischen Dichten und molaren Massen der einzelnen Ketone mit welcher die benötigten Reinsubstanzmengen des Keton-Mixes berechnet wurden. Zusätzlich ist die berechnete molare Masse des Keton-Mixes angegeben, welche für den Kalibrierungsgenerator erforderlich sind.	48
Tabelle 3:	Variierte Parameter (fett) für die schrittweise Optimierung eines F μ TP zur Kopplung an ein IMS. Variiert wird hierbei das Arbeitsgas des F μ TPs in Art und Flussrate, der Elektrodendurchmesser sowie die Position der Drahtelektrode und die jeweilige Einstellung der genutzten Hochspannung (HV), HV-Frequenz und HV <i>Duty-Cycle</i> nach ⁸¹	50
Tabelle 4:	Auflistung der Detektionslimits (LOD) und der linearen dynamischen Bereiche (LDR) unter Verwendung der unterschiedlichen F μ TP Konfigurationen (Helium-F μ TP, Stickstoff-F μ TP) sowie der radioaktiven ⁶³ Ni β -Strahlungsquelle. Die besten erzielten Ergebnisse sind jeweils hervorgehoben.....	60
Tabelle 5:	Auflistung aller <i>Slicing</i> -Rezepte spezialisiert auf das jeweilige Bauteil/-gruppe. Aufgeführt sind die wichtigsten Abweichungen vom dem im Text dargestellten Masterrezept (nach ¹¹¹).	66
Tabelle 6:	<i>Performance</i> -Parameter aller 3D-gedruckten Einzelkomponenten eingebaut in das PTFE-IMS und die des kompletten PTFE-IMS als Referenz. Bezogen wird sich dabei auf das RIP Signal. Verbesserte Werte im Vergleich zum PTFE-IMS sind hervorgehoben (nach ¹¹¹).	72
Tabelle 7:	Auflistung des ermittelten Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (SNR), der <i>Resolution</i> und der <i>Resolving Power</i> bei der Untersuchung zweier unterschiedlicher, 3D-gedruckten Driftröhren eingebaut im Referenz PTFE-IMS (nach ¹¹¹).	76
Tabelle 8:	Ermittelte <i>Performance</i> -Parameter der einzelnen 3D-gedruckten Ioneneinlassgitter. Aufgelistet ist das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR), die <i>Resolving Power</i> und die <i>Resolution</i> . Die einzelnen Gitter waren dabei im Referenz PTFE-IMS anstelle der kommerziellen Variante eingebaut (nach ¹¹¹).	77
Tabelle 9:	Auflistung der ermittelten <i>Performance</i> -Parameter, <i>Resolution</i> , Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) und <i>Resolving Power</i> des PTFE-IMS und des komplett mittels 3D-Druck gefertigten IMS (mit eingebauter Driftröhre 2 und BN-Gitter 3) (nach ¹¹¹).	79
Tabelle 10:	Gemittelte <i>Resolution</i> der Einzelanalyten des Keton-Mix mit relativer Standardabweichung. Untersucht wurde hier die <i>Resolution</i> während der Thermodesorptionszeit.	97

A.4 Literaturverzeichnis

1. Langevin, P., Sur la théorie du magnétisme. *J. Phys. Theor. Appl.* **1905**, 4 (1), 678-693.
2. Cohen, M. J.; Karasek, F. W., Plasma Chromatography - a New Dimension for Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *J Chromatogr Sci* **1970**, 8 (6), 330-&.
3. Karasek, F. W., Plasma chromatography of the polychlorinated biphenyls. *Anal Chem* **1971**, 43 (14), 1982-1986.
4. Karasek, F. W.; Kilpatrick, W. D.; Cohen, M. J., Qualitative studies of trace constituents by plasma chromatography. *Anal Chem* **1971**, 43 (11), 1441-1447.
5. Karasek, F. W.; Denney, D. W., Evaluation of the Plasma Chromatograph as a Qualitative Detector for Liquid Chromatography. *Analytical Letters* **1973**, 6 (11), 993-1004.
6. Karasek, F. W.; Hill, H. H.; Kim, S. H.; Rokushika, S., Gas chromatographic detection modes for the plasma chromatograph. *Journal of Chromatography A* **1977**, 135 (2), 329-339.
7. Borsdorf, H.; Eiceman, G. A., Ion Mobility Spectrometry: Principles and Applications. *Applied Spectroscopy Reviews* **2006**, 41 (4), 323-375.
8. Schulz, S.; Dickschat, J. S., Bacterial volatiles: the smell of small organisms. *Nat Prod Rep* **2007**, 24 (4), 814-842.
9. Vautz, W.; Baumbach, J. I., Analysis of Bio-Processes using Ion Mobility Spectrometry. *Engineering in Life Sciences* **2008**, 8 (1), 19-25.
10. Vautz, W.; Zimmermann, D.; Hartmann, M.; Baumbach, J. I.; Nolte, J.; Jung, J., Ion mobility spectrometry for food quality and safety. *Food Additives & Contaminants* **2006**, 23 (11), 1064-1073.
11. Ruzsanyi, V.; Baumbach, J. I.; Eiceman, G., Detection of the mold markers using ion mobility spectrometry. *Int. J. Ion Mobility Spectrom.* **2003**, 6, 53-57.
12. Maddula, S.; Blank, L. M.; Schmid, A.; Baumbach, J. I., Detection of volatile metabolites of *Escherichia coli* by multi capillary column coupled ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2009**, 394 (3), 791-800.
13. Eiceman, G. A.; Karpas, Z.; Hill, H. H., Ion Mobility Spectrometry, 3rd Edition. *Ion Mobility Spectrometry, 3rd Edition* **2014**, 1-400.
14. Kirk, A. T.; Zimmermann, S., Ionenmobilitätsspektrometrie. *Chemie in unserer Zeit* **2016**, 50 (5), 310-315.
15. Suresh, M.; Vasa, N. J.; Agarwal, V.; Chandapillai, J., UV photo-ionization based asymmetric field differential ion mobility sensor for trace gas detection. *Sensor Actuat B-Chem* **2014**, 195, 44-51.
16. Baim, M. A.; Eatherton, R. L.; Hill, H. H., Ion Mobility Detector for Gas-Chromatography with a Direct Photo-Ionization Source. *Anal Chem* **1983**, 55 (11), 1761-1766.
17. Davis, A. L.; Clowers, B. H., Stabilization of gas-phase uranyl complexes enables rapid speciation using electrospray ionization and ion mobility-mass spectrometry. *Talanta* **2018**, 176, 140-150.

18. Maestre, R. F., Calibration of the mobility scale in ion mobility spectrometry: the use of 2,4-lutidine as a chemical standard, the two-standard calibration method and the incorrect use of drift tube temperature for calibration. *Anal Methods-Uk* **2017**, *9* (29), 4288-4292.
19. Zou, N.; Chen, R. H.; Qin, Y. H.; Song, S. Y.; Tang, X. L.; Pan, C. P., Comparison of pulse glow discharge-ion mobility spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry based on multiplug filtration cleanup for the analysis of tricaine mesylate residues in fish and water. *J Sep Sci* **2016**, *39* (18), 3638-3646.
20. Xia, Q.; Zhang, Y.; Ouyang, J. T., Ion source for IMS based on wire-to-plate corona discharge. *Eur Phys J-Spec Top* **2017**, *226* (13), 2955-2964.
21. Roscioli, K. M.; Davis, E.; Siems, W. F.; Mariano, A.; Su, W. S.; Guharay, S. K.; Hill, H. H., Modular Ion Mobility Spectrometer for Explosives Detection Using Corona Ionization. *Anal Chem* **2011**, *83* (15), 5965-5971.
22. Cumeras, R.; Figueras, E.; Davis, C. E.; Baumbach, J. I.; Gracia, I., Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 1: current instrumentation. *Analyst* **2015**, *140* (5), 1376-1390.
23. Andrade, F. J.; Shelley, J. T.; Wetzels, W. C.; Webb, M. R.; Gamez, G.; Ray, S. J.; Hieftje, G. M., Atmospheric pressure chemical ionization source. 1. Ionization of compounds in the gas phase. *Anal Chem* **2008**, *80* (8), 2646-2653.
24. Good, A.; Durden, D. A.; Kebarle, P., Ion-Molecule Reactions in Pure Nitrogen and Nitrogen Containing Traces of Water at Total Pressures 0.5-4 Torr Kinetics of Clustering Reactions Forming H+(H₂O)_n. *J Chem Phys* **1970**, *52* (1), 212-&.
25. Vogel, P.; Lazarou, C.; Gazeli, O.; Brandt, S.; Franzke, J.; Moreno-González, D., Study of Controlled Atmosphere Flexible Microtube Plasma Soft Ionization Mass Spectrometry for Detection of Volatile Organic Compounds as Potential Biomarkers in Saliva for Cancer. *Anal Chem* **2020**, *92* (14), 9722-9729.
26. Head-Space-Technik (Dampfdruckanalyse) Sammelmethode [Biomonitoring Methods in German language, 1978]. In *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety*, pp 1-18.
27. Peng, L.; Hua, L.; Wang, W.; Zhou, Q.; Li, H., On-site Rapid Detection of Trace Non-volatile Inorganic Explosives by Stand-alone Ion Mobility Spectrometry via Acid-enhanced Evaporization. *Scientific Reports* **2014**, *4* (1), 6631.
28. Degen, S. Entwicklung eines Messverfahrens auf Thermodesorptionsbasis zur Detektion schwerflüchtiger Kohlenwasserstoffe in Spurenkonzentrationen mit Gassensoren. Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2001.
29. Ghosal, P. S.; Gupta, A. K., Determination of thermodynamic parameters from Langmuir isotherm constant-revisited. *Journal of Molecular Liquids* **2017**, *225*, 137-146.
30. Peter W. Atkins, J. d. P., *Physikalische Chemie*. Wiley-VCH: 2006; Vol. 4.
31. Riegel, A. Physikalisch-Chemisches Grundpraktikum für Pharmazeuten Seminar P8 – Adsorptionisothermen 2018/2019.
32. Vautz, W.; Franzke, J.; Zampolli, S.; Elmi, I.; Liedtke, S., On the potential of ion mobility spectrometry coupled to GC pre-separation - A tutorial. *Anal Chim Acta* **2018**, *1024*, 52-64.

33. Lottspeich, F.; Engels, J. W.; Solodkoff, Z. L., *Bioanalytik*. Spektrum Akademischer Verlag: 2012.
34. Rister, A. L.; Dodds, E. D., Liquid chromatography-ion mobility spectrometry-mass spectrometry analysis of multiple classes of steroid hormone isomers in a mixture. *J Chromatogr B* **2020**, 1137.
35. Cammann, K., *Instrumentelle Analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen, Qualitätssicherung*. Spektrum Akademischer Verlag: 2000.
36. Chen, C.; Chen, H.; Li, H. Y., Pushing the Resolving Power of Tyndall-Powell Gate Ion Mobility Spectrometry over 100 with No Sensitivity Loss for Multiple Ion Species. *Anal Chem* **2017**, 89 (24), 13398-13404.
37. Kirk, A. T.; Zimmermann, S., Bradbury-Nielsen vs. Field switching shutters for high resolution drift tube ion mobility spectrometers. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **2014**, 17 (3), 131-137.
38. Bradbury, N. E.; Nielsen, R. A., Absolute Values of the Electron Mobility in Hydrogen. *Physical Review* **1936**, 49 (5), 388-393.
39. Yoon, O. K.; Zuleta, I. A.; Robbins, M. D.; Barbula, G. K.; Zare, R. N., Simple template-based method to produce Bradbury-Nielsen gates. *J Am Soc Mass Spectr* **2007**, 18 (11), 1901-1908.
40. Du, Y.; Cang, H.; Wang, W.; Han, F.; Chen, C.; Li, L.; Hou, K.; Li, H., Note: Design and construction of a simple and reliable printed circuit board-substrate Bradbury-Nielsen gate for ion mobility spectrometry. *Review of Scientific Instruments* **2011**, 82 (8), 086103.
41. Mason, E. A.; McDaniel, E. W., Transport Properties of Ions in Gases. *Wiley-VCH* **1988**, 1. Aufl.
42. Siems, W. F.; Wu, C.; Tarver, E. E.; Hill, H. H.; Larsen, P. R.; McMinn, D. G., Measuring the Resolving Power of Ion Mobility Spectrometers. *Anal Chem* **1994**, 66 (23), 4195-4201.
43. Sheehan, T. L.; Yost, R. A. In *What@ s the Most Meaningful Standard for Mass Spectrometry : Instrument Detection Limit or Signal-to-Noise Ratio ?*, 2017.
44. Stavros Kromidas, H.-J. K., *Chromatogramme richtig integrieren und bewerten Ein Praxishandbuch für die HPLC und GC*. Wiley-VCH: 2008; Vol. 1. Auflage.
45. Jerrold T. Bushberg, J. A. S., Edwin M. Leidholdt Jr., John M. Boone, *The Essential Physics of Medical Imaging*. Lippincott Williams & Wilkins: 2002; Vol. 2. Auflage.
46. Hubaux, A.; Vos, G., Decision and detection limits for calibration curves. *Anal Chem* **1970**, 42 (8), 849-855.
47. Cypionka, H., *Grundlagen der Mikrobiologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 2010.
48. Woese, C.; Kandler, O.; Wheelis, M., Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1990**, 87, 4576 - 4579.
49. Ho, C.-S.; Jean, N.; Hogan, C. A.; Blackmon, L.; Jeffrey, S. S.; Holodniy, M.; Banaei, N.; Saleh, A. A. E.; Ermon, S.; Dionne, J., Rapid identification of pathogenic bacteria using Raman spectroscopy and deep learning. *Nature Communications* **2019**, 10 (1), 4927.

50. Laupland, K. B., Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clin Microbiol Infec* **2013**, *19* (6), 492-500.
51. Warhurst, G.; Dunn, G.; Chadwick, P.; Blackwood, B.; McAuley, D.; Perkins, G. D.; McMullan, R.; Gates, S.; Bentley, A.; Young, D.; Carlson, G. L.; Dark, P., Rapid detection of health-care-associated bloodstream infection in critical care using multipathogen real-time polymerase chain reaction technology: a diagnostic accuracy study and systematic review. *Health Technol Asses* **2015**, *19* (35).
52. Tabak, Y. P.; Vankeepuram, L.; Ye, G.; Jeffers, K.; Gupta, V.; Murray, P. R., Blood Culture Turnaround Time in US Acute Care Hospitals and Implications for Laboratory Process Optimization. *J Clin Microbiol* **2018**, *56* (12).
53. Kunze, N.; Gopel, J.; Kuhns, M.; Junger, M.; Quintel, M.; Perl, T., Detection and validation of volatile metabolic patterns over different strains of two human pathogenic bacteria during their growth in a complex medium using multi-capillary column-ion mobility spectrometry (MCC-IMS). *Appl Microbiol Biot* **2013**, *97* (8), 3665-3676.
54. Junger, M.; Vautz, W.; Kuhns, M.; Hofmann, L.; Ulbricht, S.; Baumbach, J. I.; Quintel, M.; Perl, T., Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria. *Appl Microbiol Biot* **2012**, *93* (6), 2603-2614.
55. Lemfack, M. C.; Gohlke, B. O.; Toguem, S. M. T.; Preissner, S.; Piechulla, B.; Preissner, R., mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res* **2018**, *46* (D1), D1261-D1265.
56. Drees, C.; Vautz, W.; Liedtke, S.; Rosin, C.; Althoff, K.; Lippmann, M.; Zimmermann, S.; Legler, T. J.; Yildiz, D.; Perl, T.; Kunze-Szikszay, N., GC-IMS headspace analyses allow early recognition of bacterial growth and rapid pathogen differentiation in standard blood cultures. *Appl Microbiol Biot* **2019**, *103* (21-22), 9091-9101.
57. Gibson, B.; Wilson, D. J.; Feil, E.; Eyre-Walker, A., The distribution of bacterial doubling times in the wild. *Proc Biol Sci* **2018**, *285* (1880), 20180789.
58. Domingue, G.; Costerton, J. W.; Brown, M. R. W., Bacterial doubling time modulates the effects of opsonisation and available iron upon interactions between *Staphylococcus aureus* and human neutrophils. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **1996**, *16* (3-4), 223-228.
59. Babic, D. A., Induktion und Detektion des VBNC-Zustandes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dissertation, Bergische Universität Wuppertal* **2017**.
60. Bunge, M.; Araghipour, N.; Mikoviny, T.; Dunkl, J.; Schnitzhofer, R.; Hansel, A.; Schinner, F.; Wisthaler, A.; Margesin, R.; Märk, T. D., On-Line Monitoring of Microbial Volatile Metabolites by Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology* **2008**, *74* (7), 2179.
61. Hettinga, K. A.; van Valenberg, H. J. F.; Lam, T. J. G. M.; van Hooijdonk, A. C. M., Detection of Mastitis Pathogens by Analysis of Volatile Bacterial Metabolites. *Journal of Dairy Science* **2008**, *91* (10), 3834-3839.
62. Umber, B. J.; Shin, H. W.; Meinardi, S.; Leu, S. Y.; Zaldivar, F.; Cooper, D. M.; Blake, D. R., Gas signatures from *Escherichia coli* and *Escherichia coli*-inoculated human whole blood. *Clin Transl Med* **2013**, *2*, 13.

63. Dickschat, J. S.; Wenzel, S. C.; Bode, H. B.; Müller, R.; Schulz, S., Biosynthesis of volatiles by the myxobacterium *Myxococcus xanthus*. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* **2004**, *5* (6), 778-87.
64. Ursula Mikolajetz, T. S., Bettina Rosner, Petra Lubner, Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland 2018 Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, R. K. I., Ed. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: 2019.
65. Gandhi, M.; Chikindas, M. L., *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology* **2007**, *113* (1), 1-15.
66. Koch-Institut, R., Infektions-epi-demi-ologisches Jahr-buch für 2018. Robert Koch-Institut Berlin 2019.
67. Klein, P. G.; Juneja, V. K., Sensitive detection of viable *Listeria monocytogenes* by reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology* **1997**, *63* (11), 4441.
68. Chen, J.; Tang, J.; Shi, H.; Tang, C.; Zhang, R., Characteristics of volatile organic compounds produced from five pathogenic bacteria by headspace-solid phase micro-extraction/gas chromatography-mass spectrometry. *J Basic Microbiol* **2017**, *57* (3), 228-237.
69. Brandt, S.; Klute, F. D.; Schutz, A.; Franzke, J., Dielectric barrier discharges applied for soft ionization and their mechanism. *Anal Chim Acta* **2017**, *951*, 16-31.
70. Brandt, S.; Klute, F. D.; Schutz, A.; Marggraf, U.; Drees, C.; Vogel, P.; Vautz, W.; Franzke, J., Flexible Microtube Plasma (FμTP) as an Embedded Ionization Source for a Microchip Mass Spectrometer Interface. *Anal Chem* **2018**, *90* (17), 10111-10116.
71. Vautz, W.; Michels, A.; Franzke, J., Micro-plasma: a novel ionisation source for ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2008**, *391* (7), 2609-2615.
72. Na, N.; Zhao, M. X.; Zhang, S. C.; Yang, C. D.; Zhang, X. R., Development of a dielectric barrier discharge ion source for ambient mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectr* **2007**, *18* (10), 1859-1862.
73. Garcia-Reyes, J. F.; Harper, J. D.; Salazar, G. A.; Charipar, N. A.; Ouyang, Z.; Cooks, R. G., Detection of Explosives and Related Compounds by Low-Temperature Plasma Ambient Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* **2011**, *83* (3), 1084-1092.
74. Bregy, L.; Sinues, P. M. L.; Nudnova, M. M.; Zenobi, R., Real-time breath analysis with active capillary plasma ionization-ambient mass spectrometry. *J Breath Res* **2014**, *8* (2).
75. Wolf, J. C.; Etter, R.; Schaer, M.; Siegenthaler, P.; Zenobi, R., Direct and Sensitive Detection of CWA Simulants by Active Capillary Plasma Ionization Coupled to a Handheld Ion Trap Mass Spectrometer. *J Am Soc Mass Spectr* **2016**, *27* (7), 1197-1202.
76. Gyr, L.; Wolf, J. C.; Franzke, J.; Zenobi, R., Mechanistic Understanding Leads to Increased Ionization Efficiency and Selectivity in Dielectric Barrier Discharge Ionization Mass Spectrometry: A Case Study with Perfluorinated Compounds. *Anal Chem* **2018**, *90* (4), 2725-2731.
77. Michels, A.; Tombrink, S.; Vautz, W.; Miclea, M.; Franzke, J., Spectroscopic characterization of a microplasma used as ionization source for ion mobility spectrometry. *Spectrochim Acta B* **2007**, *62* (11), 1208-1215.

78. Jafari, M. T., Low-Temperature Plasma Ionization Ion Mobility Spectrometry. *Anal Chem* **2011**, *83* (3), 797-803.
79. Brandt, S. Entwicklungen und Kombinationen miniaturisierter Probenzufuhr- und Ionisierungssysteme. TU Dortmund, 2020.
80. Drees, C. Anwendung einer miniaturisierten Plasma-Ionisierungsquelle für die Ionenmobilitätsspektrometrie. Hochschule Hamm-Lippstadt, 2017.
81. Drees, C.; Schütz, A.; Niu, G. H.; Franzke, J.; Vautz, W.; Brandt, S., Stepwise optimization of a Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an ionization source for Ion Mobility Spectrometry. *Anal Chim Acta* **2020**, *1127*, 89-97.
82. Kogelschatz, U.; Eliasson, B.; Egli, W., Dielectric-Barrier Discharges. Principle and Applications. *J. Phys. IV France* **1997**, *07* (C4), C4-47-C4-66.
83. Klute, F. D.; Brandt, S.; Vogel, P.; Biskup, B.; Reiningger, C.; Horvatic, V.; Vadla, C.; Farnsworth, P. B.; Franzke, J., Systematic Comparison between Half and Full Dielectric Barrier Discharges Based on the Low Temperature Plasma Probe (LTP) and Dielectric Barrier Discharge for Soft Ionization (DBDI) Configurations. *Anal Chem* **2017**, *89* (17), 9368-9374.
84. Chen, J.; Tang, J. N.; Tang, C.; Shi, H.; Gu, H. Y.; Lu, X. Z., Growth and Volatile Compounds of Escherichia coli O157:H7 on Irradiated Pork. *J Food Quality* **2016**, *39* (6), 766-772.
85. Elgaali, H.; Hamilton-Kemp, T. R.; Newman, M. C.; Collins, R. W.; Yu, K. S.; Archbold, D. D., Comparison of long-chain alcohols and other volatile compounds emitted from food-borne and related Gram positive and Gram negative bacteria. *J Basic Microb* **2002**, *42* (6), 373-380.
86. Briard, B.; Heddergott, C.; Latge, J. P., Volatile Compounds Emitted by Pseudomonas aeruginosa Stimulate Growth of the Fungal Pathogen Aspergillus fumigatus. *Mbio* **2016**, *7* (2).
87. Blom, D.; Fabbri, C.; Connor, E. C.; Schiestl, F. P.; Klauser, D. R.; Boller, T.; Eberl, L.; Weiskopf, L., Production of plant growth modulating volatiles is widespread among rhizosphere bacteria and strongly depends on culture conditions. *Environ Microbiol* **2011**, *13* (11), 3047-3058.
88. Rees, C. A.; Nordick, K. V.; Franchina, F. A.; Lewis, A. E.; Hirsch, E. B.; Hill, J. E., Volatile metabolic diversity of Klebsiella pneumoniae in nutrientreplete conditions. *Metabolomics* **2017**, *13* (2).
89. Bergen, I.; Liedtke, S.; Güssgen, S.; Kayser, O.; Hariharan, C.; Drees, C.; Vautz, W., Calibration of complex mixtures in one sweep. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **2018**, *21* (3), 55-64.
90. Schütz, A.; Klute, F. D.; Brandt, S.; Liedtke, S.; Jestel, G.; Franzke, J., Tuning Soft Ionization Strength for Organic Mass Spectrometry. *Anal Chem* **2016**, *88* (10), 5538-5541.
91. MacDonald, E.; Wicker, R., Multiprocess 3D printing for increasing component functionality. *Science* **2016**, *353* (6307).

92. Harada, S.; Honda, W.; Arie, T.; Akita, S.; Takei, K., Fully Printed, Highly Sensitive Multifunctional Artificial Electronic Whisker Arrays Integrated with Strain and Temperature Sensors. *Acs Nano* **2014**, *8* (4), 3921-3927.
93. Loke, G.; Yuan, R.; Rein, M.; Khudiyev, T.; Jain, Y.; Joannopoulos, J.; Fink, Y., Structured multimaterial filaments for 3D printing of optoelectronics. *Nature Communications* **2019**, *10*.
94. Truby, R. L.; Lewis, J. A., Printing soft matter in three dimensions. *Nature* **2016**, *540* (7633), 371-378.
95. Ambrosi, A.; Pumera, M., 3D-printing technologies for electrochemical applications. *Chem Soc Rev* **2016**, *45* (10), 2740-2755.
96. Symes, M. D.; Kitson, P. J.; Yan, J.; Richmond, C. J.; Cooper, G. J. T.; Bowman, R. W.; Vilbrandt, T.; Cronin, L., Integrated 3D-printed reactionware for chemical synthesis and analysis. *Nat Chem* **2012**, *4* (5), 349-354.
97. Ambrosi, A.; Pumera, M., Self-Contained Polymer/Metal 3D Printed Electrochemical Platform for Tailored Water Splitting. *Adv Funct Mater* **2018**, *28* (27).
98. Meloni, G. N., 3D Printed and Microcontrolled: The One Hundred Dollars Scanning Electrochemical Microscope. *Anal Chem* **2017**, *89* (17), 8643-8649.
99. Meloni, G. N.; Bertotti, M., 3D printing scanning electron microscopy sample holders: A quick and cost effective alternative for custom holder fabrication. *Plos One* **2017**, *12* (7).
100. Hensleigh, R. M.; Cui, H. C.; Oakdale, J. S.; Ye, J. C. C.; Campbell, P. G.; Duoss, E. B.; Spadaccini, C. M.; Zheng, X. Y.; Worsley, M. A., Additive manufacturing of complex micro-architected graphene aerogels. *Mater Horiz* **2018**, *5* (6), 1035-1041.
101. Farahani, R. D.; Dubé, M.; Therriault, D., Three-Dimensional Printing of Multifunctional Nanocomposites: Manufacturing Techniques and Applications. *Advanced Materials* **2016**, *28* (28), 5794-5821.
102. Novotný, F.; Urbanová, V.; Plutnar, J.; Pumera, M., Preserving Fine Structure Details and Dramatically Enhancing Electron Transfer Rates in Graphene 3D-Printed Electrodes via Thermal Annealing: Toward Nitroaromatic Explosives Sensing. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2019**, *11* (38), 35371-35375.
103. Foo, C. Y.; Lim, H. N.; Mahdi, M. A.; Wahid, M. H.; Huang, N. M., Three-Dimensional Printed Electrode and Its Novel Applications in Electronic Devices. *Scientific Reports* **2018**, *8* (1), 7399.
104. Browne, M. P.; Novotný, F.; Sofer, Z.; Pumera, M., 3D Printed Graphene Electrodes' Electrochemical Activation. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2018**, *10* (46), 40294-40301.
105. Kwok, S. W.; Goh, K. H. H.; Tan, Z. D.; Tan, S. T. M.; Tjiu, W. W.; Soh, J. Y.; Ng, Z. J. G.; Chan, Y. Z.; Hui, H. K.; Goh, K. E. J., Electrically conductive filament for 3D-printed circuits and sensors. *Applied Materials Today* **2017**, *9*, 167-175.
106. Xu, Y.; Wu, X.; Guo, X.; Kong, B.; Zhang, M.; Qian, X.; Mi, S.; Sun, W., The Boom in 3D-Printed Sensor Technology. *Sensors (Basel, Switzerland)* **2017**, *17* (5).

107. Manzanares Palenzuela, C. L.; Novotný, F.; Krupička, P.; Sofer, Z.; Pumera, M., 3D-Printed Graphene/Polylactic Acid Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis. *Anal Chem* **2018**, *90* (9), 5753-5757.
108. Hollerbach, A.; Baird, Z.; Cooks, R. G., Ion Separation in Air Using a Three-Dimensional Printed Ion Mobility Spectrometer. *Anal Chem* **2017**, *89* (9), 5058-5065.
109. Hollerbach, A.; Fedick, P. W.; Cooks, R. G., Ion Mobility–Mass Spectrometry Using a Dual-Gated 3D Printed Ion Mobility Spectrometer. *Anal Chem* **2018**, *90* (22), 13265-13272.
110. Hauck, B. C.; Ruprecht, B. R.; Riley, P. C.; Strauch, L. D., Reproducible 3D-printed unibody drift tubes for ion mobility spectrometry. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *323*, 128671.
111. Drees, C.; Höving, S.; Vautz, W.; Franzke, J.; Brandt, S., 3D-printing of a complete modular ion mobility spectrometer. *Materials Today* **2021**.
112. Protoplant, P. P.-. Conductive PLA - Technical Data Sheet (Rev 1 ed.). https://cdn.shopify.com/s/files/1/0717/9095/files/TDS_Conductive_PLA_1.0.1.pdf?1771 (accessed 07.08.2020).
113. Höving, S. Development and Optimization of a 3D-printed Ion Gate for Ion Mobility Spectrometry. Bachelor Thesis, TU Dortmund, 2019.
114. Ehrlich, P., Dielectric Properties of Teflon from Room Temperature to 3140 C and from Frequencies of 102 to 105 c/s. *Journal of Research of the National Bureau of Standards* **1953**, *51 No.4*, 185-188.
115. Dichtl, C.; Sippel, P.; Krohns, S., Dielectric Properties of 3D Printed Polylactic Acid. *Advances in Materials Science and Engineering* **2017**, *2017*, 6913835.
116. Koimtzis, T.; Goddard, N. J.; Wilson, I.; Thomas, C. L., Assessment of the feasibility of the use of conductive polymers in the fabrication of ion mobility spectrometers. *Anal Chem* **2011**, *83* (7), 2613-21.
117. Kanu, A. B.; Dwivedi, P.; Tam, M.; Matz, L.; Hill, H. H., Jr., Ion mobility-mass spectrometry. *J Mass Spectrom* **2008**, *43* (1), 1-22.
118. Laphorn, C.; Pullen, F.; Chowdhry, B. Z., Ion mobility spectrometry-mass spectrometry (IMS-MS) of small molecules: Separating and assigning structures to ions. *Mass Spectrometry Reviews* **2013**, *32* (1), 43-71.
119. Sukumar, H.; Stone, J. A.; Nishiyama, T.; Yuan, C.; Eiceman, G. A., Paper spray ionization with ion mobility spectrometry at ambient pressure. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **2011**, *14* (2), 51.
120. Huang, Y.-C.; Chung, H.-H.; Dutkiewicz, E. P.; Chen, C.-L.; Hsieh, H.-Y.; Chen, B.-R.; Wang, M.-Y.; Hsu, C.-C., Predicting Breast Cancer by Paper Spray Ion Mobility Spectrometry Mass Spectrometry and Machine Learning. *Anal Chem* **2020**, *92* (2), 1653-1657.
121. Zampolli, S.; Elmi, I.; Mancarella, F.; Betti, P.; Dalcanale, E.; Cardinali, G. C.; Severi, M., Real-time monitoring of sub-ppb concentrations of aromatic volatiles with a MEMS-enabled miniaturized gas-chromatograph. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, *141* (1), 322-328.

122. Liedtke, S.; Zampolli, S.; Elmi, I.; Masini, L.; Barboza, T.; Dalcanale, E.; Pinalli, R.; Pähler, M.; Drees, C.; Vautz, W., Hyphenation of a MEMS based pre-concentrator and GC-IMS. *Talanta* **2019**, *191*, 141-148.
123. Marcillo, A.; Jakimovska, V.; Widdig, A.; Birkemeyer, C., Comparison of two common adsorption materials for thermal desorption gas chromatography - mass spectrometry of biogenic volatile organic compounds. *J Chromatogr A* **2017**, *1514*, 16-28.
124. Dettmer, K.; Engewald, W., Adsorbent materials commonly used in air analysis for adsorptive enrichment and thermal desorption of volatile organic compounds. *Anal Bioanal Chem* **2002**, *373* (6), 490-500.
125. Clément, M.; Arzel, S.; Le Bot, B.; Seux, R.; Millet, M., Adsorption/thermal desorption-GC/MS for the analysis of pesticides in the atmosphere. *Chemosphere* **2000**, *40* (1), 49-56.
126. Lee, J. H.; Batterman, S. A.; Jia, C.; Chernyak, S., Ozone artifacts and carbonyl measurements using Tenax GR, Tenax TA, Carbopack B, and Carbopack X adsorbents. *Journal of the Air & Waste Management Association (1995)* **2006**, *56* (11), 1503-17.
127. Pähler, M. Charakterisierung eines Thermodesorptionsverfahrens zur Messung und Trennung von flüssigen Gemischen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Bachelor Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2019.
128. Fechner, A. Kopplung eines miniaturisierten Thermodesorptionschips und einer μ -Plasma-Ionisierungsquelle zur Analyse flüssiger Proben mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Master Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2020.
129. Mullen, M.; Giordano, B. C., Combined secondary electrospray and corona discharge ionization (SECDI) for improved detection of explosive vapors using drift tube ion mobility spectrometry. *Talanta* **2020**, *209*, 120544.
130. Hartner, N. T.; Raddatz, C.-R.; Thoben, C.; Piendl, S. K.; Zimmermann, S.; Belder, D., On-Line Coupling of Chip-Electrochromatography and Ion Mobility Spectrometry. *Anal Chem* **2020**, *92* (22), 15129-15136.
131. Guo, J.; Li, G.; Zhang, H.; Jia, X.; Meng, Q.; Liu, W., Coupling of capillary electrophoresis with electrospray ionization multiplexing ion mobility spectrometry. *ELECTROPHORESIS* **2019**, *40* (12-13), 1639-1647.
132. Jiang, Q.; Chen, J.; Yang, C.; Yin, Y.; Yao, K., Quorum Sensing: A Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases. *BioMed Research International* **2019**, *2019*, 2015978.
133. Mukherjee, S.; Bassler, B. L., Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol* **2019**, *17* (6), 371-382.
134. Ottow, J., *Mikrobiologie von Böden*. Springer, Berlin, Heidelberg: 2011.
135. Wu, S.; Liu, J.; Liu, C.; Yang, A.; Qiao, J., Quorum sensing for population-level control of bacteria and potential therapeutic applications. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2020**, *77* (7), 1319-1343.
136. Greenhalgh, A.; Ista, O.; Cooper, R. L., Bacterial endotoxin lipopolysaccharide enhances synaptic transmission at low-output glutamatergic synapses. *Neuroscience Research* **2020**.

137. Exner, M.; Bhattacharya, S.; Christiansen, B.; Gebel, J.; Goroncy-Bermes, P.; Hartemann, P.; Heeg, P.; Ilschner, C.; Kramer, A.; Larson, E.; Merkens, W.; Mielke, M.; Oltmanns, P.; Ross, B.; Rotter, M.; Schmithausen, R. M.; Sonntag, H.-G.; Trautmann, M., Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hyg Infect Control* **2017**, *12*, Doc05-Doc05.
138. Vautz, W.; Liedtke, S.; Martin, B.; Drees, C., Data interpretation in GC-ion mobility spectrometry: Pecunia non Olet? *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **2018**, *21* (3), 97-103.
139. Drees, C.; Knieb, M.; Fechner, A.; Franzke, J.; Herweg, C.; Vautz, W., Detection of illegal treatment of table tennis rackets using gas chromatography coupled to ion mobility spectrometry – A feasibility study. *Anal Chim Acta* **2021**, *1154*, 338227.

A.5 Publikationsverzeichnis

Im Laufe meiner Forschungsarbeiten sind die nachfolgenden Publikationen entstanden.

Erstautor

Drees, C.; Höving, S.; Vautz, W.; Franzke, J.; Brandt, S., 3D-printing of a complete modular ion mobility spectrometer. *Materials Today* 2021

Drees, C.; Knieb, M.; Fechner, A.; Franzke, J.; Herweg, C.; Vautz, W., Detection of illegal treatment of table tennis rackets using gas chromatography coupled to ion mobility spectrometry – A feasibility study. *Anal Chim Acta* 2021, 1154, 338227

Drees, C.; Schütz, A.; Niu, G. H.; Franzke, J.; Vautz, W.; Brandt, S., Stepwise optimization of a Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an ionization source for Ion Mobility Spectrometry. *Anal Chim Acta* 2020, 1127, 89-97.

Drees, C.; Vautz, W.; Liedtke, S.; Rosin, C.; Althoff, K.; Lippmann, M.; Zimmermann, S.; Legler, T. J.; Yildiz, D.; Perl, T.; Kunze-Szikszay, N., GC-IMS headspace analyses allow early recognition of bacterial growth and rapid pathogen differentiation in standard blood cultures. *Appl Microbiol Biot* 2019, 103 (21-22), 9091-9101.

Co-Author

Liedtke, S.; Zampolli, S.; Elmi, I.; Masini, L.; Barboza, T.; Dalcanale, E.; Pinalli, R.; Pähler, M.; **Drees, C.;** Vautz, W., Hyphenation of a MEMS based pre-concentrator and GC-IMS. *Talanta* 2019, 191, 141-148.

Bergen, I.; Liedtke, S.; Güssgen, S.; Kayser, O.; Hariharan, C.; **Drees, C.;** Vautz, W., Calibration of complex mixtures in one sweep. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 2018, 21 (3), 55-64.

Vautz, W.; Liedtke, S.; Martin, B.; **Drees, C.;** Data interpretation in GC-ion mobility spectrometry: Pecunia non Olet? *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 2018, 21 (3), 97-103.

Brandt, S.; Klute, F. D.; Schütz, A.; Marggraf, U.; **Drees, C.**; Vogel, P.; Vautz, W.; Franzke, J., Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an Embedded Ionization Source for a Microchip Mass Spectrometer Interface. *Anal Chem* 2018, 90 (17), 10111-10116.

A.6 Patentschriften

W. Vautz, **C. Drees**, A. Fechner, S. Zampolli, I. Elmi, M. Pähler. „In-line Trennung des flüssigen Proben­trägermediums von den zu detektierenden Spurenstoffen vor der Einleitung in ein analytisches System“. DE102020131488.4. ION-GAS GmbH. 2021.

S. Brandt, **C. Drees**, S. Höving, S. Höving, W. Vautz und J. Franzke. “Verfahren zur Herstellung eines dreidimensionalen, einen elektrischen Widerstand bildenden Körpers”. DE102020109649.6. Leibniz - Institut für Analytische Wissenschaften - ISAS - e.V. 2020.

A.7 Betreute Abschlussarbeiten

Fechner, A. Kopplung eines miniaturisierten Thermodesorptionschips und einer μ -Plasma-Ionisierungsquelle zur Analyse flüssiger Proben mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Bachelor Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2020.

Knieb, M. Entwicklung einer Prüfmethode für Beläge von Tischtennisschlägern mittels Headspace-Gaschromatographie-Ionenmobilitätsspektrometrie (HS-GC-IMS). Bachelor Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2020

Höving, S. Development and Optimization of a 3D-printed Ion Gate for Ion Mobility Spectrometry. Bachelor Thesis, TU Dortmund, 2019.

Pähler, M. Charakterisierung eines Thermodesorptionsverfahrens zur Messung und Trennung von flüssigen Gemischen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Bachelor Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2019

A.8 Erklärung zur Reproduktion vorab veröffentlichter Inhalte

Die Inhalte dieser Forschungsarbeit sind in den Verbundprojekten „Frühe adäquate Sepsis-Therapie durch *Point-of-Care* Blutkulturdiagnostik mittels Ionenmobilitätsspektrometrie“ (FAST-IMS: Förderzeichen: 13GW0191B) und „Entwicklung eines Schnelldiagnostiksystems für die Detektion von *Listeria monocytogenes* in Milch“ (QS-Listeria: Förderzeichen: ZF4162102AW7) erarbeitet worden.

Teile dieser Arbeit sind bereits vom Autor veröffentlicht und präsentiert worden oder basieren auf Messdaten, die im Rahmen der genannten Projekte durch die Universitätsmedizin in Göttingen, in dem Unternehmen Quh-Lab Lebensmittelsicherheit in Siegen und betreuter studentischer Arbeiten in der Arbeitsgruppe Miniaturisierung des Leibniz-Instituts für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V. entstanden sind. Insbesondere die Datenerfassung erfolgte auf den explizit genannten Beiträgen anderer Autoren:

Kapitel 3	3.1	In Teilen modifiziert aus Datenerfassung durch Universitätsmedizin Göttingen Vorab in Teilen präsentiert	[A] [1], [2], [3]
	3.2	Datenerfassung durch Quh-Lab Lebensmittelsicherheit (Siegen) Vorab in Teilen präsentiert	 [1], [2], [3]
Kapitel 4	4.1	In Teilen modifiziert aus Vorab in Teilen präsentiert	[B], [C] [4], [5]
	4.2	In Teilen modifiziert aus Vorab in Teilen präsentiert	[B], [C] [4], [5]
Kapitel 5	5.1	In Teilen modifiziert aus Ioneneinlassgitterdesign in Teilen aus Vorab in Teilen präsentiert	[D], [a] [6], [7]
	5.2	In Teilen modifiziert aus Ioneneinlassgitterdesign in Teilen aus Vorab in Teilen präsentiert	[D], [a] [6], [7]
	5.3	In Teilen modifiziert aus Ioneneinlassgitterdesign in Teilen aus Vorab in Teilen präsentiert	[D], [a] [6], [7]

Kapitel 6	6.1	6.1.1	Datenerfassung in Teilen durch M. Pähler, modifiziert aus	[b]
		6.1.2	Datenerfassung in Teilen durch M. Pähler, modifiziert aus	[c]
		6.1.3	Datenerfassung in Teilen durch A. Fechner modifiziert aus	[d]
			Vorab in Teilen präsentiert	[8]
	6.2		Datenerfassung in Teilen durch A. Fechner, modifiziert aus	[d]
			Vorab in Teilen präsentiert	[8]

Publikationen (peer-reviewed Artikel)

- [A] **Drees, C.**; Vautz, W.; Liedtke, S.; Rosin, C.; Althoff, K.; Lippmann, M.; Zimmermann, S.; Legler, T. J.; Yildiz, D.; Perl, T.; Kunze-Szikszay, N., GC-IMS headspace analyses allow early recognition of bacterial growth and rapid pathogen differentiation in standard blood cultures. *Appl Microbiol Biot* 2019, 103 (21-22), 9091-9101.
- [B] **Drees, C.**; Schütz, A.; Niu, G. H.; Franzke, J.; Vautz, W.; Brandt, S., Stepwise optimization of a Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an ionization source for Ion Mobility Spectrometry. *Anal Chim Acta* 2020, 1127, 89-97.
- [C] Bergen, I.; Liedtke, S.; Güssgen, S.; Kayser, O.; Hariharan, C.; **Drees, C.**; Vautz, W., Calibration of complex mixtures in one sweep. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 2018, 21 (3), 55-64.
- [D] **Drees, C.**; Höving, S.; Vautz, W.; Franzke, J.; Brandt, S., 3D-printing of a complete modular ion mobility spectrometer. *Materials Today* 2021

Datenerfassung im Rahmen studentischer Arbeiten

- [a] Höving, S. Development and Optimization of a 3D-printed Ion Gate for Ion Mobility Spectrometry. Bachelor Thesis, TU Dortmund, 2019.
- [b] Pähler, M. Praktikumsbericht. Hochschule Hamm-Lippstadt, 2018.
- [c] Pähler, M., Charakterisierung eines Thermodesorptionsverfahrens zur Messung und Trennung von flüssigen Gemischen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Bachelor Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2019
- [d] Fechner, A. Kopplung eines miniaturisierten Thermodesorptionschips und einer μ -Plasma-Ionisierungsquelle zur Analyse flüssiger Proben mittels Ionenmobilitätsspektrometrie. Master Thesis, Hochschule Hamm-Lippstadt, 2020.

Präsentationen (Poster und Vorträge)

Inhalte dieser Promotion wurden in folgenden Präsentationen vorab präsentiert. Der Vortragende ist hierbei markiert (unterstrichen).

- [1] **Drees C.**, Brandt S., Vautz W., Liedtke S., Rosin C., Lippmann M., Zimmermann S., Perl T., Kunze-Szikszay N., Podzun M., Ermert A. L., Frettlöh M., Überwachung von mikrobiellem Wachstum mittels GC-IMS, 8. IMS-Anwendertreffen, virtuell, 2021
- [2] **Drees, C.**, Brandt, S.; Vautz, W.; Liedtke, S.; Rosin, C.; Lippmann, M.; Zimmermann, S.; Perl, T.; Kunze-Szikszay, N.; Podzun, M.; Frettlöh, M., On-line monitoring and differentiation of microbial growth using GC-IMS, ISIMS, 2020 (Virtual Poster Symposium)
- [3] **Drees, C.**; Brandt, S.; Vautz, W.; Liedtke, S.; Rosin, C.; Lippmann, M.; Zimmermann, S.; Perl, T.; Kunze-Szikszay, N.; Podzun, M.; Ermert, A.L.; Frettlöh, M., Surveillance of bacteria growth using GC-IMS, ISIMS, Hannover, 2019 (Vortrag)
- [4] **Drees, C.**; Bergen, I; Liedtke, S.; Vautz, W., Calibration of a complex mixture in one sweep. ISIMS, Calgary, 2018 (Vortrag)
- [5] **Drees, C.**; Brandt, S.; Schütz, A.; Franzke, J.; Vautz, W., Anwendung einer miniaturisierten Plasma-Ionisierungsquelle (F μ TP) für die Ionenmobilitätsspektrometrie. 7. IMS-Anwendertreffen, Reutlingen, 2018. (Vortrag)
- [6] **Drees, C.**, Höving, S., Vautz, W., Franzke, J., Brandt, S., 3D-Druck eines kompletten modularen Ionenmobilitätsspektrometers, 8. IMS-Anwendertreffen, virtuell, 2021
- [7] Brandt, S., **Drees, C.**, Höving, S., Vautz, W., Franzke, J., Detection of isomeric volatile organic compounds by a completely 3D-printed modular Ion Mobility Spectrometer, ISIMS, 2020 (Virtual Poster Symposium)
- [8] Fechner, A., Vautz, W., Pähler, M., Franzke, J., **Drees, C.**, Analyse flüssiger Proben mittels F μ TP-TDC-IMS, 8. IMS-Anwendertreffen, virtuell, 2021

Danksagungen

Abschließend möchte ich an dieser Stelle den Menschen danken, die mir zum Gelingen dieser Arbeit mit Rat und Tat beiseite standen.

Dabei danke ich besonders:

- meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. Oliver Kayser für die Übernahme des ersten Gutachtens und dem Interesse an meiner Arbeit.
- Herrn PD Dr. Joachim Franzke, als meinen Zweitgutachter, und Chef der Arbeitsgruppe in der ich meine Arbeit durchführen durfte. Vielen lieben Dank für die stets freundliche und anregende Unterstützung, den Küchen- bzw. Flurdiskussionen und die Motivation die zum Anfertigen dieser Arbeit in den letzten Jahren erheblich beigetragen haben. Aber jetzt muss auch mal wieder gearbeitet werden ☺.
- Herrn Dr. Wolfgang Vautz für die intensive Unterstützung, die tollen Ratschläge und Ideen während meiner gesamten Promotionszeit hinsichtlich aller Belange. Ohne deine „Visionen“ á la „mach doch mal ...“ wäre diese Arbeit erheblich dünner ausgefallen. Dafür danke ich dir wirklich sehr!
- den Kooperationspartnern mit denen ich im Rahmen meiner Promotion zusammenarbeiten durfte. Insbesondere danke ich hier Zaaaascha von der ION-GAS GmbH; Nils, Thorsten und Claudia der UMG Göttingen und der Firma Quh-Lab Lebensmittelsicherheit.
- der gesamten Arbeitsgruppe Miniaturisierung für die Unterstützung und das äußerst nette Arbeitsklima in den letzten Jahren. Danke für die lustigen Gespräche, Kaffee- und Kuchenpausen, Sommer- und Weihnachtsfeiern.
- meinen Studenten, dem Lieblings-Jupp, dem Lieblings-Markus, der Lieblings-Annika, dem Lieblings-Simon und dem Lieblings-Christopher.
- meiner Familie und meinen Freunden für Ihre seelische Unterstützung und die motivierenden Worte. Ganz besonders danke ich jedoch zu guter Letzt noch meiner besseren Hälfte Sebastian, ohne dich hätte ich diese Promotion gar nicht erst begonnen und durchgezogen. Danke für deine Unterstützung, die hitzigen Diskussionen und deinen steten Rückhalt in jeder Situation.