

**Analyse flüchtiger Metaboliten
von der Ausatemluft
mittels Ionenmobilitätsspektrometer**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

Dr.-Ing.

vom Fachbereich Bio- und Chemieingenieurwesen der Universität
Dortmund

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. Veronika Ruzsányi

aus

Budapest, Ungarn

Tag der mündlichen Prüfung: 25.04.2005

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Manz

2. Gutachter: Prof. Dr. A. Schmid

Dortmund 2005

1	EINLEITUNG	1
1.1	Problemstellung	1
1.2	Medizinische Aspekte	2
1.2.1	Infektionen der Atemwege und der Lunge	3
1.3	Stand der Technik	4
2	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	10
2.1	Ionenmobilitätsspektrometrie	10
2.1.1	Die Mobilität von Ionen im elektrischen Feld	10
2.1.2	Aufbau eines Ionenmobilitätsspektrometers.....	12
2.1.3	Ionisationsmethoden	14
2.1.3.1	Ionisation mittels radioaktiver Strahlungsquellen	14
2.1.3.2	Ionisation mittels UV-Strahlungsquellen	17
2.1.3.3	Einfluss der Feuchte des Trägergases	18
2.2	Vortrennverfahren	20
2.2.1	Trennung von Gasen mittels einer Membran	20
2.2.2	Gaschromatographische Trennung.....	22
2.2.2.1	Kopplung von Ionenmobilitätsspektrometrie mit Gaschromatographie	24
2.2.2.2	Einsatz von Multikapillarsäulen.....	25
3	MATERIAL UND METHODE	27
3.1	Chemikalien und Materialien	27
3.2	Testgase.....	28
3.2.1	Herstellung von Testgasen mittels Permeationspatronen	28
3.2.2	Exponentielle Verdünnung	28
3.2.3	Befeuchtung der Testgasproben	29
3.3	Experimenteller Aufbau	30
3.3.1	Ionenmobilitätsspektrometer	30
3.3.2	Trennmethoden.....	32
3.3.2.1	Membraneinlasssystem	32

3.3.2.2	Kopplung des IMS mit Gaschromatographie	32
3.4	Datenerfassung und Verarbeitung	35
3.5	Probenahme und Analyse der Atemluftproben	37
3.5.1	Analyse der Atemluft stationärer Patienten außerhalb der Intensivstation	39
3.5.2	Analyse der alveolaren Luft bei beatmeten Patienten auf der Intensivstation	40
3.6	Probenahme und Analyse der Bakterienkulturen	42
3.6.1	Probenvorbereitung	44
3.6.2	Probenahme und Emissionsmessungen von gezüchteten Bakterienkulturen	44
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	46
4.1	Entwicklung des IMS für die Atemluftanalyse	46
4.1.1	Auswahl der geeigneten Ionisationsquelle	46
4.1.2	Einfluss der Feuchte des Trägergases auf das IMS Signal	49
4.1.3	Optimierung des Probeneinlasssystems	53
4.1.3.1	Membraneinlasssystem	53
4.1.3.2	Kopplung des IMS mit Gaschromatographie	56
4.1.3.3	Trennung von Wasser- und Analytmoleküle mittels MCC	60
4.1.4	Optimierung der Atemluftanalyse	63
4.1.5	Normierung	63
4.1.6	Reproduzierbarkeit der Atemluftanalyse	65
4.2	On-line Analyse durch Bakterien produzierte Metaboliten	67
4.2.1	Nährböden	69
4.2.2	Bakterien	71
4.3	On-line Atemluftanalyse	82
4.3.1	Kontrollgruppe	82
4.3.1.1	Kontaminationen der Raumluft	83
4.3.1.2	Andere Kontaminationsquellen	84
4.3.2	Patienten mit infektiösen Lungenkrankheiten	87
4.3.2.1	Stationäre Patienten außerhalb der Intensivstation	87

4.3.2.2	Beatmungspatienten der Intensivstation	97
4.3.3	Einfluss von Medikamenten	99
4.3.3.1	Theophyllin	99
4.3.3.2	Antibiotika	101
4.4	Mustererkennung	103
5	ZUSAMMENFASSUNG	108
6	AUSBLICK	112
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	114
8	LITERATUR	117

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Das Interesse an der Analyse von Metaboliten in anderen Medien als in Blut hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen, was die steigende Anzahl wissenschaftlicher Publikationen zur Entwicklung nichtinvasiver analytischer Methoden belegt¹. Solche Untersuchungsmethoden sind zumeist schnell und kostengünstig, außerdem weniger belastend für den Patienten, der die Methode im Idealfall selbst anwenden kann¹.

In-situ durchgeführte Untersuchungen erlauben eine deutliche Verringerung der Analysenzeiten und somit eine schnellere Diagnose, was bei vielen Krankheiten die Heilungschancen deutlich verbessert². Ein weiterer Vorteil solcher Methoden ist die einfache Anwendung, die zusätzliches Fachpersonal oder die Beteiligung eines Fachlabors überflüssig macht. Damit werden die Anforderungen an eine Standarduntersuchungsmethode für Arztpraxen und Krankenhäuser erfüllt, welche zum Einen schnelle und reproduzierbare Ergebnisse liefern muss, zum Anderen wegen der häufigen Anwendung keine hohen Kosten verursachen darf.

In vielen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass aus der Zusammensetzung der ausgeatmeten Luft auf verschiedene Krankheiten gefolgert werden kann². Die Analyse der Atemluft als reproduzierbare und nichtinvasive diagnostische Methode ist auf Grund der einfachen Anwendung und der schnellen Ergebnisse eine sinnvolle Ergänzung zu den gängigen Untersuchungen von Urin oder Blutproben.

Die Ionenmobilitätsspektrometrie bietet eine schnelle, sensitive und selektive Detektion flüchtiger organischer Verbindungen. In Hinsicht auf die Atemluftanalyse verfügt sie über wesentliche Vorteile wie die Bereitstellung von Information (Spektren) in wenigen Millisekunden, die Anwendung von Luft als Trägergas sowie die Möglichkeit zur Konstruktion miniaturisierter Systeme.

Daher ist Ziel dieser Arbeit, auf Basis der Ionenmobilitätsspektrometrie eine on-line, in-situ durchführbare Methode zur Analyse der Ausatemluft zu entwickeln.

1.2 Medizinische Aspekte

Vom ersten bis zum letzten Atemzug steht der Mensch über den Respirationstrakt mit der Atmosphäre in Verbindung. Die Lunge ist damit das weitaus größte (Oberfläche ca. 100 m²) und intensivste Kontaktorgan unseres Körpers zur atmosphärischen Umwelt. Dabei werden täglich ca. 10.000-20.000 Liter Luft gefiltert, um dabei zum Einen den lebensnotwendigen Sauerstoff aufzunehmen und zum Anderen eine Vielzahl von flüchtigen Stoffwechselprodukten - vor allem Kohlendioxid - abzugeben.

Die menschliche Atemluft enthält neben den Hauptbestandteilen CO₂, N₂, O₂ und H₂O mehr als 200 unterschiedliche flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds, VOC) in sehr geringen Konzentrationen. Die meisten VOC in der Atemluft sind Stoffwechselprodukte, wobei die Metabolismen nur zum Teil genau bekannt sind. Einige Beispiele hierfür sind Isopren, das aus der Cholesterol-Synthese^{3,4} gebildet wird, Aceton als Produkt des Glukose-Metabolismus. Alkane z.B. Ethan und Pentan, die bei der Lipidperoxidation entstehen^{5,6}, also der Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren der Membranen durch Radikale, was zu einer Schädigung des Gewebes führt⁷. Andere VOCs können durch Wechselwirkungen mit der Umwelt im Körper akkumuliert werden⁸.

Die flüchtigen organischen Verbindungen können vom Blut durch einen passiven Transport durch die alveolaren Membranen der Lunge in die ausgeatmete Luft gelangen. Die Messung dieser endogenen Spurengase kann wichtige Informationen über physiologische und pathophysiologische Prozesse im Organismus liefern.

Es ist seit langem bekannt, dass die Veränderung der Zusammensetzung der Ausatemluft, also z.B. eine erhöhte Konzentration bestimmter VOCs mit verschiedenen Krankheiten korreliert. So wird z.B. beim diabetischen und urhämischen Koma sowie bei hepatischen Erkrankungen der veränderte Geruch der Ausatemluft als diagnostisches Merkmal verwendet⁴. Tabelle 1 zeigt einige Beispiele für Veränderungen der Ausatemluft, die auf verschiedene Erkrankungen hinweisen.

Zusätzlichen Einfluss auf die Zusammensetzung der Atemluft haben die in der Atmosphäre in unterschiedlichen Konzentrationen vorhandenen gasförmigen, flüssigen und festen Bestandteile, die mit der Atmung inhaliert werden¹.

Tabelle 1: Beispiele für die Korrelation von in der Atemluft detektierten Verbindungen mit verschiedenen Krankheiten^{4,5,9-11}

Biomarker	Krankheit
Aceton	Diabetes
Ammoniak	Hepatische Krankheiten
Dimethylsulfid	Leberzhyrrose
Alkane (Ethan, Pentan)	Lipidperoxidation
Kohlenmonoxid	Asthma
Stickstoffmonoxid	Entzündung der Atemwege
Verhältnis von Alkanen zu Benzolderivaten	Lungenkrebs
Hydrogenperoxid	Oxidativer Stress in der Atemwege

Solche Bestandteile der Luft bergen Risiken für die menschliche Gesundheit, wenn sie im Organismus gespeichert werden oder wenn durch ihre Metabolisierung reaktive toxische Produkte entstehen⁸. Für viele dieser inhalativ in den Körper gelangenden Komponenten kann eine Korrelation der Konzentration im Blut und der Konzentration in der Atemluft nachgewiesen werden¹². Dieser Umstand kann beispielsweise zur Überwachung z.B. der beruflichen Exposition mittels Atemluftanalyse genutzt werden¹³.

1.2.1 Infektionen der Atemwege und der Lunge

Der Respirationstrakt ist Teil des Systems, das den Sauerstoff der Außenluft zu allen Zellen unseres Organismus leitet. Die Lunge steht mit der äußeren Umgebung ständig in Verbindung. Die inhalierte Luft enthält allerdings auch toxische Substanzen und pathogene Mikroorganismen, die mit den Atemwegen und Bronchien in Kontakt kommen und Krankheiten verursachen können¹⁴. So ist es nicht verwunderlich, dass Atemwegserkrankungen eine große Rolle in der Medizin spielen¹⁵.

Lungenerkrankungen sind außerdem von zunehmender gesundheitsökonomischer Relevanz. Krankheitsbilder wie die akute Bronchitis, die chronische obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Bronchiektasen und das Lungenemphysem gehen oft mit Entzündungen einher, die für die Patienten ein erhöhtes Morbiditätsrisiko darstellen.

Die Standardmethode zur Diagnostik von Entzündungen der Atemwege ist die mikroskopische Untersuchung von nichtinvasiv oder invasiv gewonnenen Proben

(Bronchialsekret, Bronchiallavageflüssigkeit, Gewebebiopsien). Weitere nichtinvasive diagnostische Methoden, wie radiologische Untersuchungen, Lungenfunktionsdiagnostik und Belastungstests liefern zwar Informationen zur Funktion der Lunge¹⁶, geben aber nur wenig Auskunft über die möglicherweise zugrunde liegenden Entzündungen. Dies führte dazu, dass in den letzten Jahren eine Vielzahl von Untersuchungen zum Monitoring von Entzündungen und insbesondere zum oxidativen Stress durchgeführt wurde.

Die meisten Studien beschäftigten sich mit dem Nachweis von Stickstoffmonoxid¹⁷⁻²¹, in jüngerer Vergangenheit aber auch mit der Detektion flüchtiger Gase wie Ethan, Pentan oder Kohlenmonoxid in der Ausatemluft^{22,23}.

Nicht nur die flüchtigen Bestandteile, auch die Makromoleküle in der Atemluft werden als Markerkomponenten bei einigen Analysemethoden untersucht. So wird beim sogenannten Atemkondenstest die Atemluft durch eine Kühlfalle geleitet. Das so erhaltene Kondensat wird auf das Vorkommen nicht flüchtiger Verbindungen, wie zum Beispiel Proteine untersucht^{24,25}.

Auslöser einer Entzündung in den Atemwegen sind häufig bakterielle oder virale Infektionen²⁶. Eine Diagnose solcher Infektionen mit mikrobiologischen Methoden dauert i.A. mehrere Tage. Sofern über eine *in-vitro* Untersuchung der freigesetzten flüchtigen Stoffwechselprodukte der Bakterien eine Differenzierung dieser pathogenen Keime gelingt, könnte damit auch zumindest eine *in-vivo* Detektion der bakteriellen Infektionen anhand von Atemluftanalysen direkt möglich sein. Eine schnellere, in-situ durchzuführende, spezifische Diagnostik, die auf der Detektion geeigneter Markersubstanzen in der Atemluft beruht, kann den Behandlungserfolg über einen frühzeitigeren Therapiebeginn verbessern.

1.3 Stand der Technik

Klassische Analysemethoden werden seit mehr als 50 Jahren zur Detektion von organischen Verbindungen in der Atemluft angewendet. Im Jahre 1959 hat MacKay²⁷ dazu erstmalig einen Gaschromatographen mit einem Argon-Detektor gekoppelt. Schon 1960 konnten elf organische Substanzen in der menschlichen Atemluft identifiziert werden. Der hierzu am häufigsten eingesetzte Detektor war ein

Flammenionisationsdetektor (FID), der wegen seiner niedrigen Nachweisgrenzen für organische Komponenten ausgewählt wurde²⁸.

Seither sind zahlreiche Publikationen zu diesem Thema erschienen:

- Ein klassisches Beispiel zur Analyse der Atemluft ist die Detektion von Ethanol²⁹, die weltweit im Straßenverkehr zur Kontrolle des Alkoholspiegels im Blut der Autofahrer angewandt wird.
- Euler et al.³⁰ bestimmten die Konzentration von Isopren, Aceton, Ethan und Pentan in der Alveolarluft (endexpiratorische Luft) von Rauchern und Nichtrauchern und schlossen aus erhöhten Konzentrationen dieser Substanzen, dass Rauchen eine großflächige Lipidperoxidation verursacht.
- Michael Phillips et al., der in der Atemluft von 50 gesunden Personen 3481 verschiedene VOCs detektierte, konnte damit zeigen, dass die Zusammensetzung der Ausatemluft von Person zu Person stark variiert und von der Umweltbelastung abhängt³.

Da die Konzentration der Markerkomponenten in der Atemluft im Bereich von wenigen µg/L – also im Spurenbereich – liegt, stellt die Bestimmung dieser Substanzen hohe Anforderungen an das angewendete analytische Verfahren. Zudem müssen die zu analysierenden Komponenten in einer komplexen Matrix detektiert werden können, die neben eine Vielzahl weiterer Verbindungen eine große Menge Wasserdampf enthält und es treten häufig große Konzentrationsunterschiede auf.

Heute werden meist indirekte Methoden für Atemluftuntersuchungen angewandt, wie die Kopplung eines gas-chromatographischen Systems mit unterschiedlichen Detektoren²⁴⁻³³. Elektroneneinfang- (ECD), Flammenionisations- (FID), oder Photoionisationsdetektoren (PID) werden zur quantitativen Bestimmung, Massenspektrometer (MS)^{34,35} und IR-Spektrometer zur Identifizierung der Substanzen eingesetzt (Tabelle 2). FTIR-Messungen erlauben die gleichzeitige Messung unterschiedlicher Gase einschließlich Kohlendioxid, die Unterscheidung von Verbindungen mit gleichen funktionellen Gruppen ist jedoch schwierig. Die auf Ion-Neutron-Reaktionen beruhende sog. Selected Ion Flow Tube (SIFT)-Technik ermöglicht eine direkte Detektion und Quantifizierung von Spurkomponenten wie zum Beispiel Aceton, Ammoniak und Isopren in der Atemluft³⁶⁻³⁸. Wegen der Größe dieser

Geräte ist eine in-situ Analyse jedoch schwierig. Andere Verfahren sind die chemische Lumineszenz für Stickoxid-Analysen^{39,40} und elektrochemische Detektoren zur direkten Bestimmung von Kohlenmonoxid⁴¹. Die sog. SAW (Surface Acoustic Wave) Sensor⁴² wie auch Biosensoren sind zwar portabel und zeigen eine sehr hohe Sensitivität, haben jedoch den Nachteil hoher Querempfindlichkeiten in komplexen Gemischen.

In einigen Veröffentlichungen wurde beschrieben, dass colorimetrische Methode für die Messung bestimmter Substanzen wie HCN benutzt⁴³ wurde. Tabelle 2 vergleicht die verschiedenen Methoden zur Analyse der Atemluft bezüglich ausgewählter Eigenschaften und erreichter Empfindlichkeit.

Wegen der geringen Konzentrationen der VOCs in Atemluft im Bereich einiger ppm_v bis ppb_v ist häufig eine Voranreicherung nötig⁴⁴. Im Allgemeinen werden folgende Methoden angewandt: Kühlfallen⁴⁵, adsorptive Bindung, chemische Bindung⁴⁶ oder Kryofokussierung⁴⁷. Die Probenahme wird bei diesen indirekten Methoden oft mit Hilfe von Glasflaschen, Beuteln oder Kanistern durchgeführt.

Tabelle 2: Analytische Methoden zur Analyse von Atemluft

Analysemethode	Eigenschaften	Sensitivität
GC	<ul style="list-style-type: none"> • Quantitative Messung der VOCs • Trennung der Substanzen 	ppb - ppm _v
GC/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Qualitative Bestimmung der VOCs • Identifizierung isotoper Verbindungen 	unterer ppb _v - ppm _v
FTIR	<ul style="list-style-type: none"> • Simultane Multi-Komponenten-Analyse • Schwierigkeiten bei der Differenzierung von Substanzen mit gleichen funktionellen Gruppen 	ppb _v
SIFT	<ul style="list-style-type: none"> • Messung der Proben ohne Vorkonzentration • Identifikation und Quantitative Bestimmung von verschiedenen Substanzen 	unterer ppb _v
SAW	<ul style="list-style-type: none"> • Tragbare Geräte • Benutzbar für Vor-Ort Messung der Atemluft 	unterer ppb _v
Biosensor	<ul style="list-style-type: none"> • Große Sensitivität • Schnelle Analyse • Gute Spezifität 	ppt _v – ppb _v

Aus vielen Publikationen wird es deutlich, dass die Anzahl der detektierten Komponenten und der ermittelten Konzentrationen stark von der angewandten

Methode und der Probenahme abhängen. In den meisten Fällen wurden Aceton (Werte zwischen 1.2-1880 ppb_v), Isopren (12-580 ppb_v), Ethanol (13-1000 ppb_v) und Methanol (160-200 ppb_v) als Hauptkomponente bei gesunden Personen detektiert.

Die angewandten Techniken sind oftmals nur im Labor einsetzbar, wobei der Transport der Proben und die Analyse durch Fachpersonal⁴⁸ sehr kosten- und zeitintensiv sind. Ein weiterer Nachteil ist, dass bei der Probenahme oft systematische Fehler auftreten, die Fehler bei der Konzentrationsbestimmung zur Folge haben können⁴⁹. Außerdem kann z.B. die Adsorption an der Oberfläche des Probenahmegefäßes zu signifikanten Verlusten des Analyten führen. Schließlich muss beachtet werden, dass die Analyse der Atemluft sehr schnell nach der Probenahme erfolgen muss, um Veränderungen der chemischen Zusammensetzung, z.B. aufgrund der hohen Feuchte oder den unterschiedlichen Außentemperaturwerten zu vermeiden.

Für den Einsatz der Atemluftanalyse in der klinischen Diagnostik muss sie als biologische Monitoringtechnik einschließlich der Probenahme mindestens folgenden Bedingungen genügen:

- einfach zu handhabende in-situ Probenahme,
- on-line Analyse,
- schnelle, reproduzierbare Ergebnisse,
- keine Belastung für die Patienten,
- geringe Kosten (keine Verbrauchsmaterialien, keine Laboranalyse, kein Probentransport).

Eine Methode, die im Gegensatz zu den klassischen Verfahren alle oben genannten Anforderungen erfüllt, ist die Ionenmobilitätsspektrometrie^{50,51}. Mittels Ionenmobilitätsspektrometer (IMS) können flüchtige organische Verbindungen im Bereich einiger ppb_v erfolgreich detektiert werden und die Ionenmobilitätsspektren liegen meist innerhalb weniger Millisekunden vor. Die eingesetzten Geräte sind miniaturisierbar, leicht, kostengünstig und wegen der kurzen Analysenzeiten für mobile, kontinuierliche in-situ Messungen geeignet⁵².

Sie benötigen keine aufwendige Probenvorbereitung und können bei Umgebungstemperatur und -druck betrieben werden. Gerade für die Atemluftanalyse ist der Einsatz von Luft als Trägergas ein entscheidender Vorteil.

Obwohl die Prozesse der Ionenbildung in Luft seit dem Ende des 19. Jahrhunderts bekannt sind, gehört die Ionenmobilitätsspektrometrie zu den vergleichsweise jungen analytischen Methoden. Zwar haben Cohen und Karasek⁵⁰ die ersten kommerziellen Geräte bereits im Jahre 1970 vorgestellt, jedoch wurde die Ionenmobilitätsspektrometrie erst in den 90er Jahren für unterschiedliche zivile Anwendungsgebiete eingesetzt.

Die meisten Anwendungen der inzwischen weltweit mehr als 70.000 IMS lagen zunächst im militärischem und im Forschungsbereich. Hierzu gehört neben der Detektion chemischer Kampfstoffe⁵³ (z.B. Tabun, Sarin) und Sprengstoffe^{54,55} (z.B. Nitroglycerin, Hexogen), die infolge instrumenteller Weiterentwicklung mögliche Detektion unterschiedlicher Verbindungen wie Nikotin⁵⁶ oder Substanzklassen wie Alkane⁵⁷, Alkohole⁵⁸, halogenierte aliphatische und aromatische Verbindungen^{59,60}, Nitrosamine⁶¹ und Nitroaromaten⁶², Ammonium⁶³ und Polymere⁶⁴. Parallel wurden weitere wichtige Applikationsfelder für die Ionenmobilitätsspektrometrie erschlossen, wie unter anderem die Detektion von Bakterien in Lebensmitteln⁶⁵, von Sprengstoffen bei der Gepäckkontrolle an Flughäfen, von Drogen^{66,67} (z.B. Cannabinol, Morphin-Alkaloide, Cocain) und von Gefahrstoffen an Arbeitsplätzen oder in der Umwelt.

In den letzten Jahren wurden Anwendungen für die Prozessanalytik veröffentlicht. Die kontinuierliche Detektion des Gases SF₆ in den elektrischen Schaltanlagen dient zur online Qualitätskontrolle.⁶⁸ Die Analyse von halogenierten Verbindungen mittels Teilentladungs-IMS ermöglicht Anwendungen im industriellen und medizinischen Bereich⁶⁹. Umweltschadstoffe wie Benzol, Toluol und Xylol (BTX) oder Methyl-tert-butyl-ether (MTBE) können im ng/L-Bereich mittels IMS detektiert und quantifiziert werden^{70,71}.

Die Kopplung von IMS mit gaschromatographischen Säulen ermöglicht die Detektion einzelner Analyten in komplexen Gasgemischen und erweitert damit die Anwendungsmöglichkeiten^{72,73}.

In der vorliegenden Arbeit soll die Entwicklung einer Methode zur Atemluftanalyse mittels Ionenmobilitätsspektrometrie vorgestellt werden. Die Hauptvorteile der entwickelten Methode sind:

- die Verwendung von Luft als Trägergas und damit die direkte Analyse der Atemluft.
- die niedrigen Nachweisgrenzen des IMS für organische Verbindungen (Nachweisgrenzen bis zum unteren ppt_v-Bereich), die eine Vorkonzentration der Proben überflüssig macht.
- die Möglichkeit der on-line Probenahme und Analyse.
- die Möglichkeit der in-situ Untersuchung, aufgrund der Mobilität der kleinen, leichten Geräte und der Unabhängigkeit von Versorgungsgasen.

Da die zu analysierenden Metaboliten in der Atemluft meist nur in geringen Konzentrationen auftreten, sollte eine für diese Analyten geeignete Ionisationsquelle gewählt werden.

Eine weitere Problemstellung der Untersuchungen ist die hohe relative Feuchte der Atemluftproben. Daher musste eine Möglichkeit zur on-line Abtrennung der Feuchte gefunden werden, um on-line Analysen zu erlauben.

Nach der Entwicklung eines IMS zur Atemluftanalyse und Validierung der Analyseergebnisse sollte die neu entwickelte Methode an der Lungenklinik Hemer in der klinischen Diagnostik eingesetzt werden. Hier sollte das System zu verschiedenen diagnostischen Szenarien angepasst und optimiert werden. Die Ergebnisse der Atemluftanalysen einer ausgewählten Patientengruppe mit Lungeninfektionserkrankungen sollte mit den vorliegenden medizinischen Befunden korreliert sowie mit einer „gesunden“ Kontrollgruppe verglichen werden.

Da Infektionen oft durch Bakterien ausgelöst sind, sollte überprüft werden, ob die durch Bakterien *in-vitro* produzierten Metaboliten eine Korrelation mit der in der Atemluft bei Infektionen der Respirationstrakt auftretenden Komponenten zeigen. Daher sollten die Emissionen von Reinkulturen ausgewählter infektiöser Bakteriumsspezies, die im Hygieneinstitut in Iserlohn gezüchtet wurden, mittels IMS vermessen werden. Dies sollte zeigen, dass sich die entwickelte Methode ebenfalls zur on-line Detektion von Metaboliten verschiedener Bakteriumsarten eignet.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Ionenmobilitätsspektrometrie

In der Ionenmobilitätsspektrometrie werden die mittels eines Trägergases ins System geführten Analytmoleküle durch eine geeignete Ionisationsquelle bei Umgebungsdruck ionisiert. Hierzu können in Abhängigkeit von den Eigenschaften der Analyten unterschiedliche Ionisationsquellen – zum Beispiel radioaktive Strahlungsquellen, UV-Lampen oder Teilentladungen – angewendet werden. Durch ein sich periodisch öffnendes Einlassgitter gelangen Schwärme der gebildeten Ionen in den Driftraum des Ionenmobilitätsspektrometers, in dem ein äußeres, möglichst homogenes elektrisches Feld vorliegt. Hier bewegen sich die Ionen gegen die Strömungsrichtung eines Gases (sog. Driftgas), welches verhindert, dass neutrale Moleküle in den Driftraum gelangen und mit den Ionen Cluster bilden können. Im Driftraum bewegen sich die Ionen entlang der Feldlinien in Richtung einer Elektrode. Aufgrund ihrer Struktur, Masse und Ladung und der Stöße mit den Driftgasmolekülen entwickeln sie dabei unterschiedliche Geschwindigkeiten und werden somit im Idealfall aufgetrennt. Die an der Elektrode auftreffenden Ionen erzeugen ein elektrisches Signal, dessen Variation mit der Driftzeit zu einem sog. Ionenmobilitätsspektrum führt.

2.1.1 Die Mobilität von Ionen im elektrischen Feld

Das Prinzip der Ionenmobilitätsspektrometrie beruht auf der Bewegung von Ionen im elektrischen Feld in Anwesenheit von Gasen. Die Beschleunigung der Ionen im elektrischen Feld einerseits und das Abbremsen der Ionen durch Stöße mit den neutralen Gasmolekülen andererseits führen vergleichsweise schnell zu einer mittleren Geschwindigkeit der Ionen im Driftraum.

Unter der Voraussetzung, dass die elektrische Feldstärke E_d in der Driftstrecke homogen ist, gilt für die mittlere Geschwindigkeit der Ionen v_d direkt Proportionalität zu E_d :

$$v_d = K * E_d . \quad (1)$$

Den Proportionalitätskoeffizienten K bezeichnet man als die Mobilität der Ionen.

Die Geschwindigkeit der Ionen wird aus dem Quotienten der Länge l_d der Driftstrecke und der Zeit t_d , welche die Ionen vom Einlassgitter zum Erreichen der Faraday-Platte benötigen, berechnet:

$$v_d = \frac{l_d}{t_d}. \quad (2)$$

Aus Gleichung 1 und 2 lässt sich die Mobilität K bestimmen:

$$K = \frac{l_d}{t_d * E_d}. \quad (3)$$

Änderungen von Druck oder Temperatur beeinflussen nach dem idealen Gasgesetz die Moleküldichte des Driftgases, welche umgekehrt proportional zur Mobilität der Ionen ist⁷⁴. Zur besseren Vergleichbarkeit der Messergebnisse wird daher die auf Standardbedingungen (Druck und Temperatur) normierte reduzierte Mobilität K_0 eingeführt:

$$K_0 = K * \left(\frac{p}{p_0} \right) * \left(\frac{T_0}{T} \right), \quad (4)$$

mit $p_0 = 101,3 \text{ kPa}$ und $T_0 = 273 \text{ K}$.

Auf der Basis der gaskinetischen Gesetze von Revercomb und Mason⁷⁵ lässt sich die Mobilität der Ionen wie folgt berechnen:

$$K = \frac{3}{16} * \frac{q}{N_g} * \left(\frac{m + M_m}{m * M_m} \right)^{1/2} * \left(\frac{2\pi}{k_B * T} \right)^{1/2} * \frac{(1 + \alpha)}{\Omega_d(T)}. \quad (5)$$

Dabei ist q die Ladung des Ions, m die Ionenmasse, M_m die Masse der neutralen Gasmoleküle, k_B die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur des Gases, N_g die spezifische Molekülzahl des Driftgases, α ein Korrekturfaktor der für $m > M_m$ kleiner 0.02 ist, und $\Omega_d(T)$ der temperaturabhängige Stoßquerschnitt von Ion und Gasmolekül⁷⁵.

Die Mobilität ist also abhängig von der Temperatur, der Ladung der Ionen und von der Masse und der Größe der Ionen. Gleichung 5 kann umgeformt werden zu:

$$K^{-1} \propto \mu^{1/2} * \Omega_d. \quad (6)$$

Dabei ist $\mu = \frac{m \cdot M_m}{m + M_m}$ die reduzierte Ionenmasse.

Für atomare Ionen wird daher der Stoßquerschnitt Ω_d nahezu konstant, so dass die Mobilität nur noch durch die Masse μ bestimmt wird. Bei schweren Moleküllionen dagegen ist μ nahezu konstant (wenn $m \gg M_m$) und die Mobilität wird deswegen vom Stoßquerschnitt bestimmt. Aufgrund dieses Zusammenhanges können organische Isomere mittels Ionenmobilitätsspektrometrie voneinander unterschieden werden⁷⁶.

Der Einfluss des Driftgases auf die Ionenmobilität wird wesentlich durch die Polarisierbarkeit der Driftgasmoleküle bestimmt. Bei Driftgasen, die besser polarisierbar sind (z.B. CO₂), entstehen stärkere elektrostatische Kräfte zwischen den Analytionen und dem induzierten Dipol- oder Quadrupolmoment der neutralen Moleküle, wie systematische Untersuchungen mit unterschiedlichen Driftgasen wie Stickstoff, Luft, Argon und Kohlendioxid zeigten^{77,78}. Die durch den Konzentrationsgradienten der Ionen hervorgerufene Diffusion erhöht die Beweglichkeit.

2.1.2 Aufbau eines Ionenmobilitätsspektrometers

Ein Ionenmobilitätsspektrometer besteht aus drei Hauptkomponenten: Dem Ionisationsraum, in dem die neutralen Analytmoleküle ionisiert werden, der Driftstrecke, in welcher die Auftrennung der Ionen stattfindet und der Faraday-Platte, welche die Ladung der Ionen aufnimmt (siehe Abb.1).

Der Analyt wird mit Hilfe eines Trägergases (i.A. Stickstoff oder Luft) durch ein Probeneinlasssystem in den Ionisationsraum des IMS geleitet. Ein Teil der im Ionisationsraum erzeugten Ionen (A⁺, B⁺, C⁺ in Abb. 1) gelangt durch das sich periodisch öffnende Gitter in die Driftstrecke, in der deren Wanderung in Richtung einer Elektrode, der sog. Faraday-Platte, erfolgt⁷⁹.

Der durch das Auftreffen der Ionen an der Faraday-Platte erzeugte Strom wird mittels eines Strom-Spannungs-Wandlers verstärkt und liefert so das Messsignal. Vor der Faraday-Platte befindet sich ein Aperturgitter, welches zu einer kapazitiven Entkopplung der Ionen in der Driftstrecke und der Faraday-Platte führt.

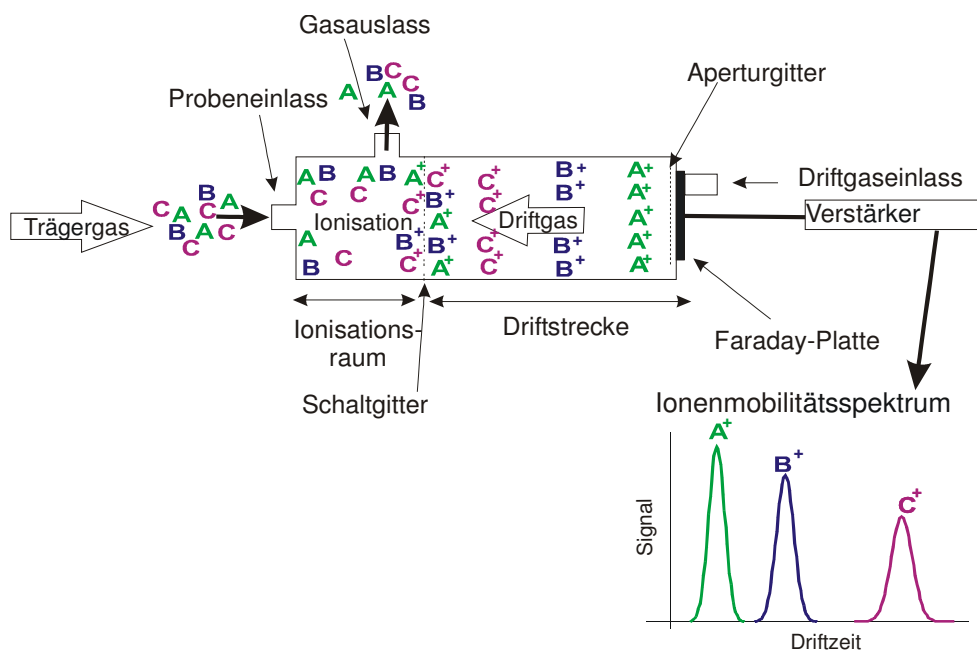


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Ionenmobilitätsspektrometers

Als Schaltgitter wird ein Bradbury-Nielsen-Gitter⁸⁰ verwendet. Durch eine Potentialdifferenz (typischerweise 50-100 V) zwischen zwei parallel positionierten Reihen von Gitterdrähten wird ein elektrisches Querfeld orthogonal zum elektrischen Feld im Driftstrom entsteht, damit wird das Gitter geschlossen. Dadurch wird das Eintreten der Ionen in die Driftstrecke verhindert. Eine andere Möglichkeit für das Schaltgitter ist die Anordnung nach Tyndall⁸¹, die aus zwei Gittern besteht, die in einem Abstand von ca. 1 mm angeordnet sind. Gitteröffnungszeiten liegen zwischen 10 μs und 1000 μs .

Die Driftstrecke ist zumeist aus Schichten von Metall- und Isolatorringen (Glas, Keramik, Teflon) aufgebaut. Die elektrische Feldstärke beträgt typischerweise zwischen 200 und 500 V/cm⁸². Die Homogenität des elektrischen Feldes ist vom Radius der Metallringe und deren Abstand abhängig^{50,51}.

Für die Einleitung des Driftgases gibt es zwei verschiedenen Möglichkeiten: Bei der unidirektionalen Driftgasführung wird es entgegen der Wanderungsrichtung der driftenden Ionen über einen Einlass an der Faraday-Platte in die Driftstrecke eingeleitet. Diese Konstruktion wird bei den im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten IMS verwendet. Bei der bidirektionalen Driftgasführung wird ein zusätzlicher Driftgasstrom aus Richtung des Einlasssystems zum Schaltgitter geführt⁸³.

2.1.3 Ionisationsmethoden

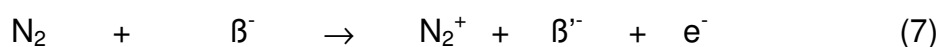
Als Ionisationsquellen werden in den meisten kommerziell erhältlichen IMS radioaktive Strahlungsquellen (z.B. ^{63}Ni , ^3H) eingesetzt. Diese sind sowohl mechanisch als auch physikalisch stabil und haben den Vorteil, dass sowohl positive als auch negative Ionen erzeugt und damit detektiert werden können. In den letzten Jahren wurden alternative Ionisationsquellen wie Photoionisation^{71,84,85}, Elektrospray⁸⁶⁻⁸⁸, Laser⁸⁹⁻⁹¹ und die Ionisation über Teilentladungen^{69,92} eingeführt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden hauptsächlich Ionenmobilitätsspektrometer mit radioaktiver ^{63}Ni -Strahlungsquelle, aber auch mit UV-Strahlungsquelle eingesetzt. Diese beiden Ionisationsmethoden werden im Folgenden vorgestellt.

2.1.3.1 Ionisation mittels radioaktiver Strahlungsquellen

Bei der Ionisierung mittels ^{63}Ni - Strahlungsquellen werden durch das Isotop ^{63}Ni β -Teilchen mit einer maximalen Energie von 67 keV emittiert. Danach beginnt ein sog. indirekter Ionisierungsprozess, bei dem zunächst die Moleküle des Trägergases ionisiert und dabei die sogenannten Reaktionsionen gebildet werden.

Bei Stickstoff oder Luft als Trägergas wird für die Bildung eines Ionenpaares durchschnittlich 35 eV benötigt. Ein großer Teil dieser Energie wird in kinetische Energie der gebildeten Ionen umgesetzt:

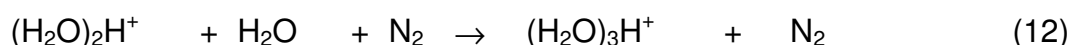
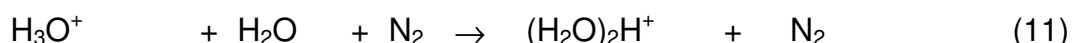
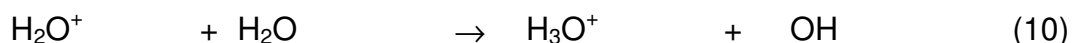
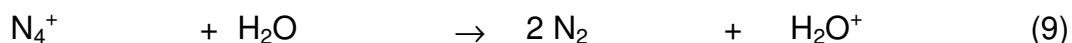
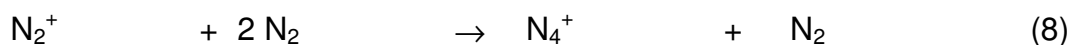


wobei β'^- ein β^- -Teilchen mit reduzierter Energie bedeutet.

Dieser primäre Prozess initiiert eine Reaktionskette, welche mit dem im Trägergas enthaltenen Kontaminationen (z.B. Spuren von Wassermolekülen, Ammoniak oder Stickstoffmonoxid⁹³) zur Bildung von Reaktionsionen führt. So entstehen hauptsächlich die folgenden Ionen⁹⁴: $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$, $(\text{H}_2\text{O})_x\text{NO}^+$ und $(\text{H}_2\text{O})_y\text{NH}_4^+$. Die chemische Identität der Reaktionsionen ist von der Anwesenheit neutraler Moleküle sowie Feuchte und Temperatur des Trägergases abhängig.

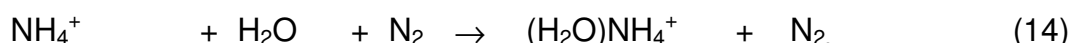
Bei Verwendung von Stickstoff als Träger- bzw. Driftgas und in Anwesenheit von Spuren von Wasser wurde die Bildung des Ions $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ von Good et al. und

Shahin^{94,95} massenspektrometrisch aufgeklärt. Die folgenden Reaktionsgleichungen zeigen die einzelnen Reaktionsschritte:

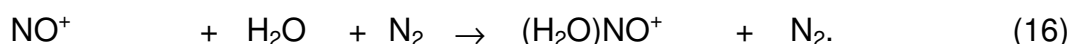


wobei nur die in der Gleichung 10 und 11 gebildeten hydratisierten Protonen stabil sind.

Nach dem gleichen Prinzip entstehen Reaktionsionen durch Protonentransfer zwischen den Ionen H_3O^+ und Spuren von Ammoniak:



In Anwesenheit von NO werden $(\text{H}_2\text{O})_x\text{NO}^+$ Reaktionsionen erzeugt, wobei $x = 0$ oder 1 ist:



Die Bildung von negativen Ionen erfolgt simultan zu der von positiven Ionen und hängt vom verwendeten Drift- und Trägergas ab. Wird gereinigter Stickstoff als Träger- bzw. Driftgas verwendet, sind hauptsächlich thermische Elektronen die Ladungsträger. Bei Luft als Drift- und- Trägergas ist O_2^- der häufigste Ladungsträger und bildet mit Spuren von Wasser Ionen wie $\text{O}_2^-(\text{H}_2\text{O})_n$. Außer diesen wurden auch noch CNO^- , $\text{O}(\text{H}_2\text{O})_2^-$, Cl^- , $(\text{H}_2\text{O})\text{OH}^-$, NO_2^- , CO_4^- und CN^- Ionen nachgewiesen⁹⁶.

Die so entstehenden Reaktionsionen ionisieren durch Kollision die Moleküle des Analyten. Entsprechend der Ladung der Reaktionsionen können die so erzeugten Analytionen positiv oder negativ sein.

Positive Analytionen werden hauptsächlich dann durch Kollision der neutralen Gasmoleküle und $H^+(H_2O)_n$ durch Proton-Transfer Reaktionen gebildet, wenn die Protonenaffinität der Analytmoleküle größer ist als die der Reaktionsionen:



Von den meisten organischen Verbindungen wie Alkoholen, Aldehyden, Ketonen, Ester, Karbonsäuren, Thiolen, Sulfiden, Nitrilen und Aminen werden gemäß Gleichung 17 Analytionen erzeugt. Die so gebildeten Analytionen sind meist stabil, eine Dissoziation oder Fragmentierung tritt selten auf⁵¹.

Eine höhere Analytkonzentrationen kann zur Dimerbildung führen:



Andere Reaktionsmechanismen sind Ladungstransfer, welche z.B. zwischen $(H_2O)_yNO^+$ und den Derivaten von Benzol beobachtet wurde:



Außerdem spielt die nukleophile Anlagerung eine Rolle, die z.B. als Reaktion zwischen NO^+ und Nitroaromaten beschrieben wurde⁹⁷:

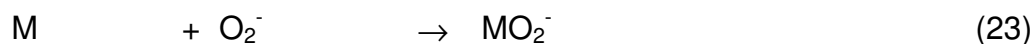


Die Bildung negativer Analytionen wird durch die Elektronenaffinität der Analyten gesteuert und erfolgt einerseits über assoziativen Elektroneneinfang von thermischen Elektronen gemäß Gleichung 21 oder dissoziativen Elektroneneinfang nach Gleichung 22:



Dissoziativer Elektroneneinfang tritt bei halogenierten Substanzen auf, wobei X^- Halogenidanionen entstehen.⁹⁸

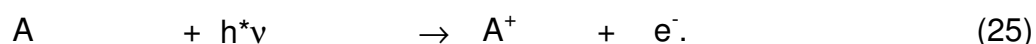
In Anwesenheit von Sauerstoff werden durch Elektroneneinfang O_2^- Ionen gebildet. Analog der thermischen Elektronen reagieren auch diese mit den Analytmolekülen wie in den folgenden Gleichungen gezeigt:





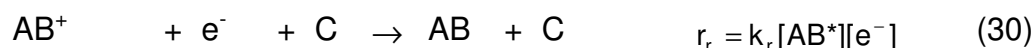
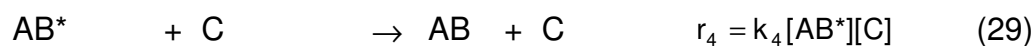
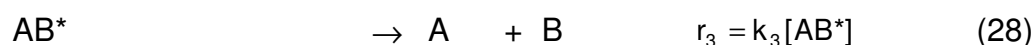
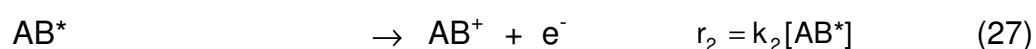
2.1.3.2 Ionisation mittels UV-Strahlungsquellen

Die Photoionisation ist eine direkte oder Primärionisation der Analytmoleküle. Bei Bestrahlung eines Moleküls mit UV Licht erfolgt nur dann eine Ionisation, wenn die Ionisationsenergie des Moleküls kleiner ist als die Energie ($E = h \cdot \nu$) der emittierten Photonen:



Kommerziell erhältliche UV-Lampen verfügen über 8,6, 9,6, 10,0, 10,2, 10,6 oder 11,7 eV maximale Photonenenergie. Die Ionisationsenergie für organische Moleküle liegt häufig zwischen 7 und 10 eV, so dass die Auswahl der geeigneten Lampe eine selektive Ionisation der Analytmoleküle ermöglichen kann.

Bei der Bestrahlung wird zuerst das Analytmolekül in einen angeregten Zustand überführt. Danach erfolgt der Energieabbau aus diesem Zustand. Gemäß Gleichung 27 kann das angeregte Analytmolekül in ein positiv geladenes Ion und auf ein Elektron zerfallen oder in neutrale Fragmente dissoziieren (Gleichung 28). Der Energieüberschuss des angeregten Moleküls kann außerdem durch Zusammenstöße mit Trägergasmolekülen (Gleichung 29) oder durch Rekombination der gebildeten Ionen (Gleichung 30) abgegeben werden.



AB ist das neutrale Analytmolekül und AB* das angeregte Analytmolekül bzw. [AB*] dessen Konzentration. [C] bezeichnet die Konzentration der Trägergasmoleküle C. Die Reaktionsgeschwindigkeiten der einzelnen Reaktionen werden mit r_{1-5} gekennzeichnet, dabei sind k_{1-5} die Reaktionskonstanten, I_0 und I^* die Anteile der immittierten bzw. der adsorbierten Photonen pro Sekunde.

Gemäß dem Lambert-Beerschen-Gesetz hängt die Möglichkeit der Absorption eines Photons vom Absorptionsquerschnitt s des Moleküls AB ab:

$$I = I_0 \exp(-s * N_0 * [AB] * L). \quad (31)$$

Dabei ist L die Länge des Ionisationsraumes und N_0 die Avogadro'sche Zahl. Die sog. Photoionisationseffizienz η gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der durch die Adsorption eines Photons ein Ion gebildet wird. Sie kann als der Quotient der Anzahl der ionisierten Analytmoleküle und der Gesamtzahl der angeregten Moleküle gebildet werden:

$$\eta = \frac{k_2}{k_2 + k_3 + k_4}. \quad (32)$$

Der an der Faraday-Platte erzeugte Strom i kann mit der folgenden Gleichung beschrieben werden, wenn die Rekombination der Ionen durch ein entsprechend hohes elektrisches Feld behindert wird:

$$i = I_0 * \eta * s * N_0 * F * L * [AB] \quad (35)$$

mit F für die spezifische Faraday-Konstante. Das Produkt $\eta*s$ wird als Photoionisations-querschnitt bezeichnet, welcher die Wahrscheinlichkeit zeigt, dass ein Molekül ein Photon absorbiert und als Folge davon ionisiert wird.

2.1.3.3 Einfluss der Feuchte des Trägergases

Die menschliche Atemluft ist mit Wasserdampf gesättigt (relative Feuchte 100%), was bei vielen Analysemethoden eine Reduktion der Empfindlichkeit des Systems verursachen kann. Bei der Analyse hängt der tatsächliche Effekt der Feuchtigkeit von der Konzentration des Wassers im Probengas ab, welcher als absoluter Feuchtigkeitsgehalt bezeichnet wird. Der Zusammenhang der relativen und absoluten Feuchtigkeit ist temperatur- und druckabhängig:

$$AF = \frac{10^3 * m_w * RF * e_w}{R * (T + 273,15)}. \quad (36)$$

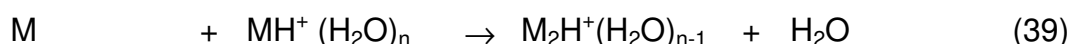
AF ist die absolute Feuchte in g/m^3 , RF die relative Feuchte in %, m_w das Molekulargewicht des Wasserdampfes, R die allgemeine Gaskonstante, e_w der

Sättigungsdampfdruck über Wasser bei einer Lufttemperatur T in $^{\circ}\text{C}$ ^{99,100}. Werte für den Sättigungsdampfdruck können mit guter Genauigkeit mit Hilfe der Magnus-Formel berechnet werden:

$$e_w = A * e^{\frac{a*T}{b+T}}, \quad (37)$$

mit $A = 6,11 \text{ kPa}$; $a = 17,62$; $b = 243,12 \text{ K}$.

Eine hohe Konzentration von Wasserdampf in der Probeluft kann auch das IMS-Messsignal beeinflussen. Da bei der Ionisation mittels radioaktiver Strahlungsquellen die Anwesenheit von Spuren vom Wasser bei der Erzeugung von positiven Analytionen eine wichtige Rolle spielt, führt offensichtlich eine erhöhte Menge an Wasser im Trägergas zu einer Veränderung des Antwortsignals. Es wurde massenspektroskopisch nachgewiesen, dass bei hohem Feuchtigkeitsniveau hydratisierte Monomere und Dimere auftreten können⁹³.



Die Mobilität dieser Ion-Wasser-Clusters ist verschieden von den nicht hydratisierten Ionen, was zu einer Verschiebung der Driftzeiten zu höheren Werten führt. Außerdem lassen sich Substanzen mit niedriger Protonaffinität bei hoher Wasserkonzentration nur schwer ionisieren⁵¹.

Der Grad der Hydratation ist ein von der Temperatur abhängiger Prozess. Mit steigender Temperatur nimmt die Stabilität der Ion-Wasser-Clusters ab und damit ebenso die Anzahl der angelagerten Wassermoleküle.

Bei der Ionisation mittels Photoionisation stört der Wasserdampf ebenfalls das Messsignal. Einerseits kann der Wasserdampf die Ionenbildung behindern: Der angeregte Zwischenzustand wird „gequencht“, d.h. die Energie wird durch Wechselwirkung mit den Wasserdampfmolekülen ohne Ionenbildung abgebaut. Andererseits können sich Wassermoleküle – wie auch bei der Ionisation mittels radioaktiver Strahlungsquelle – an die schon gebildeten Ionen anlagern, wobei mit zunehmender Masse der Ladungsträger die Ionenbeweglichkeit abnimmt.

Dieser Einfluss kann durch eine Reduzierung der Feuchtigkeit des verwendeten Gases mit geeigneten Trockenmitteln oder auch durch eine höhere

Betriebstemperatur der IMS verringert werden. Die Zusammensetzung des Driftgases muss während der Messungen konstant gehalten werden, damit reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden können.

Bei Proben, die über einen hohen relativen Feuchtigkeitsgehalt verfügen, wird die Clusterbildung durch geeignete Probeneinlasssysteme verringert. Hierzu gehört das oft bei transportablen Geräten angewendete Membraneinlasssystem, bei dem der Analyt über eine geeignete Polymermembran eingeleitet wird. Der Permeationsprozess hängt von den molekularen Eigenschaften des Analyten und des Membranmaterials sowie von der Temperatur ab. Die häufig verwendete Polydimethylsiloxan-Membran weist eine schlechte Durchlässigkeit für Wassermoleküle¹⁰¹ auf. Andere Methoden zur Erhöhung der Selektivität und Empfindlichkeit des IMS sind gekoppelte Techniken, wie zum Beispiel die gaschromatographische (GC/IMS), flüssigchromatographische (LC/IMS) oder Superkritische- Flüssigchromatographie SFC/IMS Vortrennung.

2.2 Vortrennverfahren

2.2.1 Trennung von Gasen mittels einer Membran

Eine Trennung der unterschiedlichen Komponenten in Gasgemischen ist auf Grund unterschiedlicher Permeabilitäten verschiedener Gase durch eine Polymermembran möglich. Die Permeation eines Gases durch eine Polymermembran erfolgt in drei Schritten:

- Gasmoleküle werden an der Membranoberfläche adsorbiert und lösen sich im Membranmaterial.
- in der Membran gelöste Moleküle diffundieren durch die Membran in Richtung des Konzentrationsgefälles.
- an der zweiten Membranoberfläche ankommende Moleküle werden desorbiert und verdampft.

Die Diffusion in der Membran lässt sich durch die Fickschen Gesetze beschreiben¹⁰²:

$$J = -D * \frac{dC}{dx} = -D * \frac{\Delta C}{X}, \quad (40)$$

mit $\Delta C = C_2 - C_1$ (C_1 und C_2 Konzentration des Gases an Eintritts- bzw. Ausgangsseite der Membran), wobei J den diffusiven Stofftransport bezeichnet, D den Diffusionskoeffizienten und X die Membrandicke.

Der Diffusionskoeffizient eines Gases durch ein Polymer hängt u.a. von der Molekülgeometrie und dem Molekülvolumen sowie von der Anwesenheit funktioneller Gruppen ab¹⁰³. Zur Beschreibung des gesamten Stoffübergangs durch die Membran muss die Löslichkeit S der permeierenden Komponente in der Membran berücksichtigt werden. Hierzu dient der Permeabilitätskoeffizient P :

$$P = D * S. \quad (41)$$

Bei idealem Verhalten von Membran und reinem Permeand ergibt sich der stationäre Pervaporationsfluß im einfachen System zu¹⁰⁴:

$$J = D * S * \frac{(p_{01} - p_{02})}{X}. \quad (42)$$

Dabei sind p_{01} und p_{02} die Partialdrücke an der Ein- und Austrittsseite. Sowohl Löslichkeit als auch Diffusion sind stark temperaturabhängig. Die Temperaturabhängigkeit der Diffusion folgt dem exponentiellen Ansatz nach Arrhenius:

$$D_T = D_0 * e^{\frac{E_a}{RT}}. \quad (43)$$

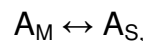
Hier steht E_a für die Aktivierungsenergie, R für die allgemeine Gaskonstante und T für die Temperatur in Kelvin. Nach Arrhenius lässt sich die Löslichkeitsverhalten der Komponenten in Polymeren bei der Temperatur T beschreiben:

$$S_T = S_0 * e^{\frac{\Delta H}{RT}}. \quad (44)$$

Die Lösung organischer Verbindungen in einem hydrophoben Polymer ist ein exothermer Vorgang, was durch das negative Vorzeichen der Lösungsenthalpie ΔH wiedergegeben wird. Bei steigender Temperatur nimmt also die Löslichkeit organischer Komponenten im Polymer ab. Die Aktivierungsenergie der Diffusion ist dagegen positiv, so dass die Diffusion bei Erhöhung der Temperatur steigt.

2.2.2 Gaschromatographische Trennung

Die Gaschromatographie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren, bei dem die zu trennenden Substanzen zwischen zwei Phasen verteilt werden, von denen die eine flüssige oder feste stationäre Phase festliegt, während die andere, gasförmige mobile Phase sich in einer bestimmten Richtung bewegt. Während die mobile Phase das Bett der stationären Phase durchströmt, trägt sie die einzelnen Komponenten des zu trennenden Substanzgemisches mit. Dabei unterliegen die zu separierenden Verbindungen einer oder mehreren Gleichgewichtseinstellungen zwischen der mobilen und der stationären Phase. Dies führt dazu, dass sich die Analytmoleküle zeitweise in oder an der stationären Phase aufhalten. Für einen Analyten in einem Trennsystem lässt sich das folgende dynamische Gleichgewicht formulieren:



mit A_M als Analyt in der mobilen und A_S als Analyt in der stationären Phase. Gemäß dem Nernst'schen Verteilungsgesetz ist das Verhältnis der Konzentrationen eines Stoffes in zwei nicht miteinander mischbaren Phase bei gegebener Temperatur eine Konstante¹⁰⁵:

$$K_C = \frac{C_S}{C_M}. \quad (45)$$

Hierbei ist C_S die Konzentration des Analyten in der stationären Phase und C_M die Konzentration in der mobilen Phase. Zu einer effektiven Auftrennung der einzelnen Verbindungen müssen die Verteilungskonstanten der Analyten hinreichend verschieden sein.

Die Zahl der Gleichgewichtseinstellungen während der Gesamtaufenthaltszeit in der Säule hängt von ihrer Länge ab, aber auch davon, wie vollständig diese Gleichgewichtseinstellung bei gegebenen Säulen und Strömungsparametern erfolgt. Zur Beschreibung der Effizienz einer gaschromatographischen Säule wird die Trennstufenhöhe (High Equivalent of a Theoretical Plate, HEPT)¹⁰⁶ definiert:

$$H_T = \frac{l_s}{N}. \quad (46)$$

Die Anzahl der theoretischen Böden N ergibt sich aus folgendem Zusammenhang:

$$N = 5,54 * \left(\frac{t_r}{b_{0,5}} \right)^2, \quad (47)$$

wobei l_s die Länge der Säule, t_r die Nettoretentionszeit und $b_{0,5}$ die Breite des Peaks in halber Höhe kennzeichnet.

Die Effizienz des Trennsystems wird von der Geschwindigkeit des Transports, also der Lineargeschwindigkeit des Trägergases beeinflusst.

Der quantitative Zusammenhang zwischen der Bodenhöhe H und der Geschwindigkeit der mobilen Phase ist in der van Deemter-Gleichung formuliert:

$$H_T = A_D + \frac{B_D}{u} + C_D * u. \quad (48)$$

Dabei bezeichnet A_D die Eddy-Diffusion, die zur Bandenverbreiterung liefert, B_D ist der Anteil der Longitudinaldiffusion, während C_D die Verzögerung des Stoffaustausches zwischen mobiler und stationärer Phase berücksichtigt.

Gaschromatographische Säulen lassen sich in zwei verschiedene Typen unterteilen: Gepackte Säulen (stationäre Phase als Packung) und Kapillarsäulen (stationäre Phase als Oberflächenfilm).

Bei der Wahl der optimalen Säule spielen mehrere Faktoren eine Rolle: Die stationäre Phase und ihre Dicke, der Säulendurchmesser und die Säulenlänge. Das Phasenverhältnis δ ist ein geeigneter Parameter in der Kapillar-GC, um Säulen unterschiedlicher Dimensionen zu vergleichen:

$$\delta = \frac{V_G}{V_S} = \frac{d_c}{4d_f}. \quad (49)$$

Hier bedeutet V_G das Volumen der Gasphase, V_S das Volumen der stationären Phase, d_c den Innendurchmesser der Kapillare und d_f die Filmdicke der stationären Phase. Ein kleineres Phasenverhältnis führt zu einem größeren Anteil der stationären Phase im Volumen der Trennsäule und damit zu einer besseren Auflösung.

2.2.2.1 Kopplung von Ionenmobilitätsspektrometrie mit Gaschromatographie

Die gleichzeitige Ionisation aller Ionen in einem komplexen Gemisch mittels IMS kann dazu führen, dass sich die Signale verschiedener Analyten überlappen und so nicht mehr identifiziert werden können. Um die Substanzen in einem Gemisch qualitativ und quantitativ bestimmen zu können, ist dann eine Vortrennung der Substanzen notwendig. Dabei erhält man mit der Retentionszeit eine weitere Information, die zur Identifizierung der Komponenten zusätzlich zu den Driftzeiten genutzt werden kann. Bereits 1972 wurde ein Interface zur GC/IMS von Karasek und Keller vorgestellt¹⁰⁷. Eingesetzt wurden zunächst gepackte Säulen, die aber zu den Problemen, wie u.a. Säulenblutung, zusätzliche Ionen-Molekülreaktionen wegen der großen Verweilzeit von Molekülen im Ionisationsraum führten. Verbesserungen wurden durch Verwendung von Kapillarsäulen, Verkleinerung des Ionisationsraumes, unidirektionale Gasführung sowie seitliche Probengaszuführung zwischen Ionenquelle und Schaltgitter erreicht¹⁰⁸. Bei der herkömmlichen Gaschromatographie handelt es sich um häufig eine zeitaufwendige Technik. Zur Verkürzung von Analysezeiten bieten sich verschiedene Ansätze bei der Kapillar-GC an. Die Retentionszeiten lassen sich durch die Erhöhung von Analysentemperatur, Einlassdruck oder durch Verkürzung der Kapillarsäule verringern. In den letzten Jahren wurden Entwicklungen in der Fast-GC bzw. High-Speed-GC vorgebracht. Die hier angewendeten Kapillarsäulen mit reduziertem Innendurchmesser (typischerweise im Bereich zwischen 50-150 μm) ermöglichen eine extrem schnelle Trennung, jedoch ist die Probenkapazität gering und der Einsatz dieser Technik in portablen Geräten meist zu aufwendig. Die Analyse von Verbindungen in einem größeren molekularen Massenbereich wurde bei den Labor-Gaschromatographen mit Hilfe von Temperatur-Programmen gelöst, welche die Möglichkeit einer eventuellen Miniaturisierung begrenzt. Eine alternative Möglichkeit eine schnelle Trennung der Analyten durchzuführen, ist die Anwendung von Multikapillarsäule (multi capillary column, MCC), wobei Analysezeiten von einigen Sekunden bis zu wenigen Minuten zu erreichen sind¹⁰⁹.

2.2.2.2 Einsatz von Multikapillarsäulen

Multikapillarsäulen wurden zuerst in 1994 als Vortrennung bei der Analyse von Sprengstoffen mittels IMS vorgestellt¹¹⁰. MCCs wurden ursprünglich in der früheren UdSSR entwickelt. Die ersten Veröffentlichungen berichten über sehr kurze Retentionszeiten (<40 s) und eine mit den Kapillarsäulen vergleichbaren Trennstufenhöhe^{111,112}. Sie verfügen über bis zu 1200 gleichartige Einzelkapillaren, die parallel in einem Bündel angeordnet sind. Abbildung 2 zeigt den Querschnitt einer Multikapillarsäule.

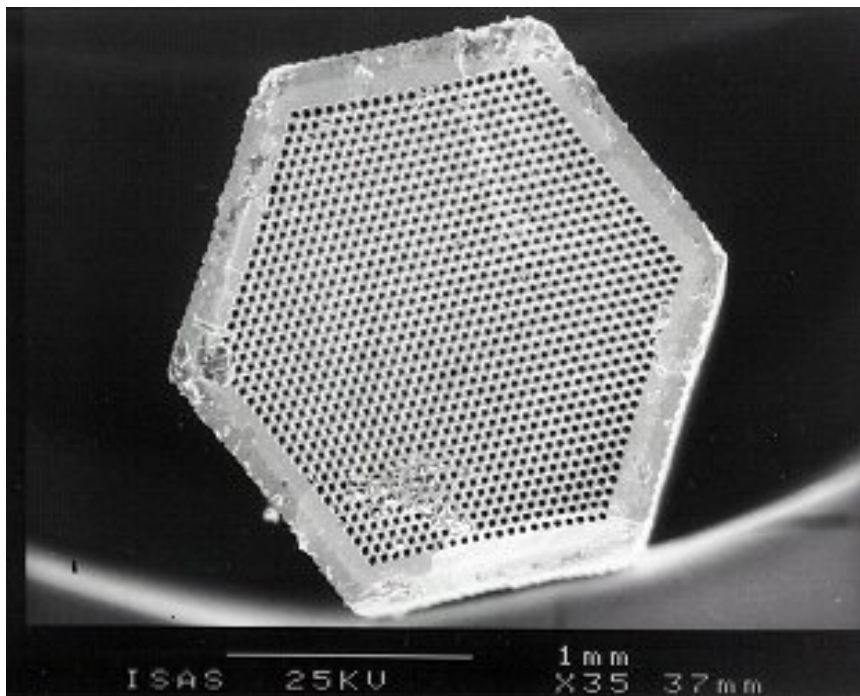


Abbildung 2: Querschnitt einer Multikapillarsäule

Der Durchmesser der einzelnen Kapillaren liegt typischerweise zwischen 50 - 250 μm , die Länge der Säule lässt sich zwischen 50 - 300 mm variieren. MCCs erlauben eine größere Probenkapazität als Kapillarsäulen und damit eine on-column Injektion¹¹³. Durch einen Bündelinnendurchmesser von ca. 3 mm können die Multikapillarsäulen im Vergleich zu herkömmlichen Kapillarsäulen mit größeren Flussraten betrieben werden, weshalb auch eine niedrigere Analysentemperatur für vergleichbare Trennleistung nötig ist. Zudem haben Flussschwankungen des

Trärgases einen geringeren Einfluss auf die Retentionszeiten, so dass sie insbesondere für tragbare Geräte geeignet sind.

Der für die MCCs optimale Flussratenbereich von 15 – 300 mL/min entspricht dem in der Ionenmobilitätsspektrometrie üblicherweise verwendeten Trärgasfluss, so dass die durch die MCC getrennten Substanzen direkt ins IMS geleitet werden können¹¹⁴. Die konventionellen stationären Phasen für Multikapillarsäule sind gebundene Siloxane (z.B. 5%- oder 10%- Phenylmethylsiloxan). MCCs sind mit unterschiedlichen stationären Phasen erhältlich¹¹⁵.

3 Material und Methode

3.1 Chemikalien und Materialien

Aceton, puriss., p.a. 99,5%, Fluka, Steinheim

Ammoniak, Lösung, ca 25% NH₃, für Analyse, Riedel de Haën, Seelze

Ethanol, 99,9%, Merck, Darmstadt

Isopren, purum, 98%, Fluka, Steinheim

Isopropanol, purum, ≥99,5%, Fluka, Neu-Ulm

3-Pentanon, 99%, Merck, Hohenbrunn

2-Hexanon, purum, 98% (GC), Fluka, Steinheim

E-2-Hexenal, >96% (GC), Merck, Darmstadt

2-Heptanon, purum, 98% (GC), Fluka, Steinheim

2-Octanon, purum, 97% (GC), Fluka, Steinheim

5-Nonanon, purum, ≥97%, Fluka, Steinheim

(-)-Menthol, >99%, Merck, Darmstadt

(+)-Longifolen, puriss., ≥99%, Fluka, Steinheim

CPS ID2 Agar

Fertige Platten, Cat. Nr.: 43 211, Biomérieux Deutschland GmbH, Nürtingen

Columbia Agar

Fertige Platten mit 5% Schafblut, Cat. Nr.: 254005, BD GmbH, Heidelberg

Schokoladen-Agar

Bestandteile und Menge für 60 Platten:

2*1000 mL Aqua dest.

38 g Müller Hinton II-Agar (BBL Becton Dickinson)

20 g Hämoglobin-Pulver (BBL Becton Dickinson)

20 mL IsoVitallex-Anreicherung (lyophilisiert, BBL Becton Dickinson)

1.2 g Bacitracin (Calbiochem)

Die Menge der Nährböden pro Platte beträgt 14±1 mL.

3.2 Testgase

3.2.1 Herstellung von Testgasen mittels Permeationspatronen

Testgase wurden durch Permeation flüssiger Chemikalien durch eine Membran erzeugt. Als Permeationspatronen wurden 1 mL Glasfläschchen (CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe) verwendet. Als Verschluss diente eine Schraubkappe mit einer Öffnung von 2 mm Durchmesser. Diese Permeationspatronen wurden mit den reinen, flüssigen Substanzen gefüllt, die nun bei konstanter Temperatur mit einer konstanten Permeationsrate durch die Membrane permeieren. Zur Einstellung unterschiedlicher Permeationsraten können die Temperatur, das Material und die Dicke der Membran variiert werden. Zur Erstellung höherer Permeationsraten wurde Polydimethylsiloxan (PDMS, Dicke: 1 mm; Reichelt Chemietechnik GmbH + Co., Heidelberg) verwendet, das eine gute Durchlässigkeit für VOC aufweist. Um niedrigere Permeationsraten zu erhalten wurde eine 0,15 mm dünne Teflon-Membran (Bohlender GmbH, Grünsfeld) eingesetzt. Die Patronen wurden in eine Gasflasche gegeben (Abbildung 3), durch die synthetische Luft mit einer konstanten Flussrate von 50 mL/min geleitet wurde, wodurch die aus der Patrone herauspermeierenden Substanzen in das System geleitet werden konnten. Die Gasflasche wurde durch einen Thermostat (DC10, Thermo Haake, Karlsruhe) bei Verwendung von PDMS-Membran bei 30 °C, im Fall der Teflon-Membran bei 60 °C konstant gehalten. Die Permeationsraten wurden durch regelmäßige Differenzwägung der Permeationspatronen auf einer Mikrowaage (Fa. Sartorius, Typ. BP 211D, Göttingen) bestimmt.

3.2.2 Exponentielle Verdünnung

Die exponentielle Verdünnung ist eine häufig angewandte Methode für die Kalibration von Gasetektoren¹¹⁶. Hierzu wurde ein Glasgefäß (2,31 L) verwendet, durch das über einen Schraubverschluss ein Trägergas geleitet wurde (Abb. 4). Bei kontinuierlichem Trägergasstrom wurde das Glasgefäß während mindestens 12 Stunden mit Testgas gefüllt. Danach kann angenommen werden, dass ausschließlich Testgasmoleküle im Glasgefäß sind. Schließlich wurde das Testgas mit einem kontinuierlichen Trägergasfluss ausgespült, wodurch die Konzentration des

Testgases exponentiell abnimmt. Die Berechnung der Konzentration in der Flasche zu einem beliebigen Zeitpunkt t ergibt sich aus der folgenden Gleichung:

$$c(t) = c_0 * e^{-\frac{f}{V_F} t}, \quad (50)$$

wobei c_0 die anfängliche Konzentration, f die Flussrate des Trägergases und V_F das Volumen der Flasche bezeichnet.



Abbildung 3:
Permeationsflasche

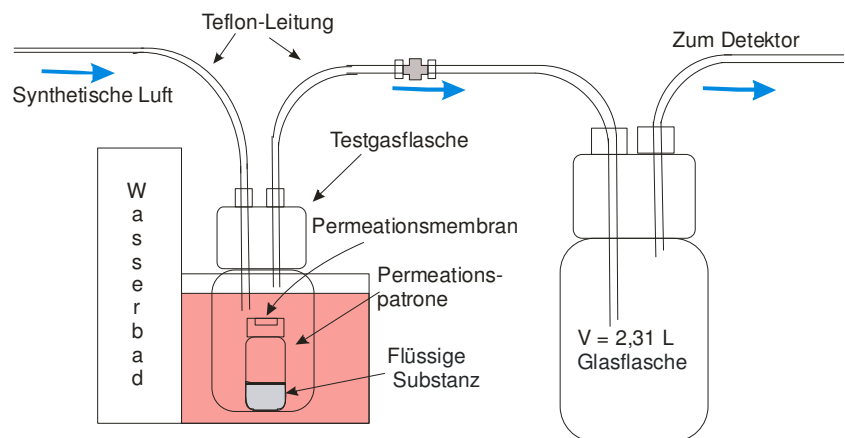


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Testgasherstellung
mittels exponentieller Verdünnung

3.2.3 Befeuchtung der Testgasproben

Um die hohe Feuchte der Atemluftproben auch bei den verwendeten Testgasen simulieren zu können, wurde ein Befeuchtungssystem aufgebaut, das eine Befeuchtung der Testgase bis zu 100 % relativer Feuchte erlaubt (Abbildung 5).

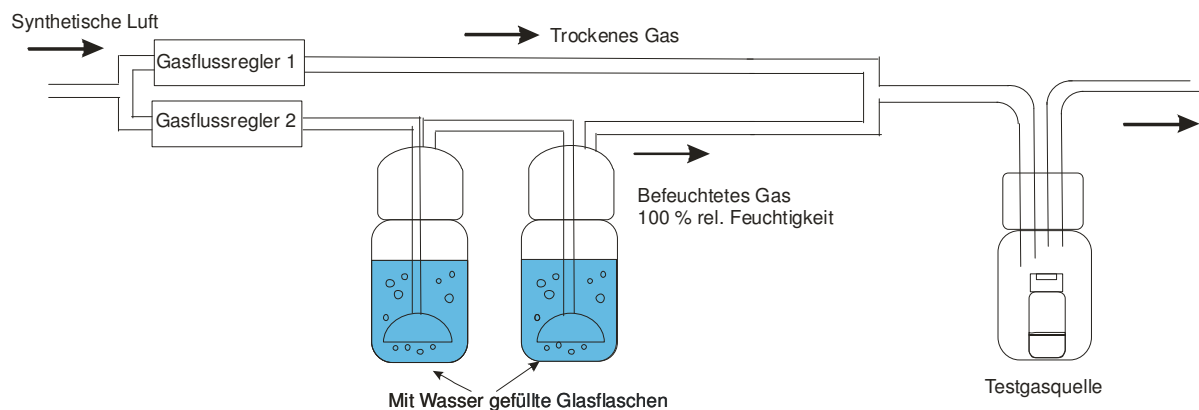


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Gasbefeuchtungssystems

Im Befeuchtungssystem wurde der Probengasstrom in zwei Ströme geteilt. Ein Gasstrom wurde mit einer maximalen Flussrate von 100 mL/min durch zwei mit destilliertem Wasser gefüllte Waschflaschen geleitet und so mit Wasserdampf gesättigt (100% relative Feuchte). Das befeuchtete Gas konnte dann mit dem zweiten, trockenen Gasstrom gemischt werden. Die Flussraten von beiden Gasströmen waren durch Gasflussregler (Typ PR4000, MKS Instruments Deutschland, München) frei einstellbar, so dass durch unterschiedliche Verhältnisse von feuchtem zu trockenem Gas Testgase mit unterschiedlichen relativen Feuchten (0 – 100 % RF) erzeugt werden konnten. Die relative Feuchtigkeit der hergestellten Testgase wurde mittels eines Feuchtesensors (Testoterm, Typ 4510) überprüft.

3.3 Experimenteller Aufbau

3.3.1 Ionenmobilitätsspektrometer

Zur Detektion der organischen Substanzen wurden am ISAS entwickelte Ionenmobilitätsspektrometer mit unterschiedlichen Strahlungsquellen verwendet. Eine schematische Darstellung des Aufbaus der IMS ist in Abbildung 6 gezeigt.

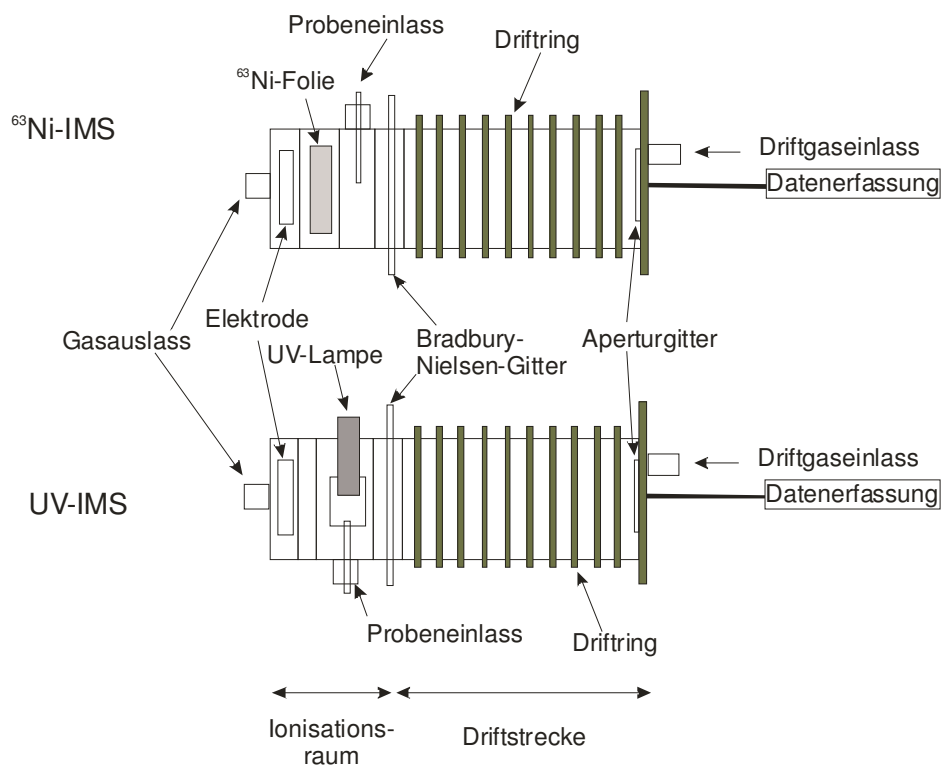


Abbildung 6: Schematische Aufbau der am ISAS entwickelten UV und ^{63}Ni -Ionenmobilitätsspektrometer

Als Ionisationsquellen wurden eine 10.6 eV UV-Lampe bzw. eine 510 MBq ^{63}Ni -Folie verwendet. Die Injektion der erzeugten Ionen in die Driftstrecke erfolgt durch ein sich periodisch öffnendes und schließendes Bradbury-Nielsen-Gitter, welches aus parallel angeordneten Ni-Drähten besteht. Sowohl für den Ionisationsraum als auch für die Driftstrecke wurde Teflon als Material verwendet, welches eine inerte Oberfläche besitzt. Das homogene elektrische Feld in der Driftstrecke wurde mit in gleichen Abständen angeordneten Messing-Ringen an der Außenseite der Driftröhre aufgebaut, die über eine Widerstandskette miteinander verbunden sind. Am Ende der Driftstrecke befindet sich eine Faraday-Platte, welche die durch die Driftstrecke gewanderten Ionen registriert. Zur Abschirmung der Faraday-Platte vor der sich nähernden Ladung dient das Aperturgitter. Die Steuerung des IMS erfolgt mittels einer im ISAS entwickelten Versorgungseinheit, womit die Gitteröffnungszeit im Bereich von 100 μs bis 1 ms, die Gitterimpulse zwischen 20 und 100 ms und die Driftspannung von 0 bis 5 KV einstellbar sind.

Die relevanten Parameter der ^{63}Ni - und UV-IMS sind in Tabelle 3 zusammen gefasst.

Tabelle 3: Relevante Parameter der UV- und ^{63}Ni -IMS

Parameter	UV-IMS	^{63}Ni -IMS
Ionisationsquelle	UV-Lampe (10.6 eV)	^{63}Ni (510 MBq)
Elektrisches Feld	331 V/cm	326 V/cm
Länge der Driftstrecke	12 cm	
Durchmesser der Driftstrecke	15 mm	
Länge des Ionisationsraumes	15 mm	
Gitteröffnungszeit	100 μs – 1 ms	
Gitterimpulsfolge	20, 100 ms	
Driftgas	Synthetische Luft (20,5 % O_2 (4.5), 79,5% N_2 (5.0))	
Driftgasfluss	300 mL/min	100 mL/min
Temperatur	24 °C (Raumtemperatur)	
Druck	101 kPa (Umgebungsdruck)	

3.3.2 Trennmethode

3.3.2.1 Membraneinlasssystem

Zur Minderung des Feuchtigkeitsgehalts der zu analysierenden Atemluftproben wurde ein Membraneinlasssystem (G.A.S. Gesellschaft für analytische Sensorsysteme mbH, Dortmund) verwendet (Abbildung 7). Die 25 µm dicke Polydimethylsiloxan-Membran befindet sich in einem Edelstahlgehäuse, welches auf beiden Seiten über je zwei Gasanschlüsse verfügt. Die Membran wird durch ein Stahlgewebe stabilisiert. Da die Diffusion der Komponenten durch die Membran temperaturabhängig ist, wurde für das Gehäuse mit Hilfe von 10 Ohm Heizwiderständen und einem Labornetzgerät (Voltcraft, PS 152A, Conrad, Dortmund) eine Heizung aufgebaut. Die so gewährleistete konstante Temperatur von 40 °C vermeidet außerdem Kondensation im Membransystem. Die Ausspülseite der Membran wurde mit einer unbehandelten Kapillare (fused silica, 200 mm, 0,53 mm ID, Resteck GmbH, Bad Homburg) direkt mit dem Ionisationsraum des ^{63}Ni -IMS gekoppelt.

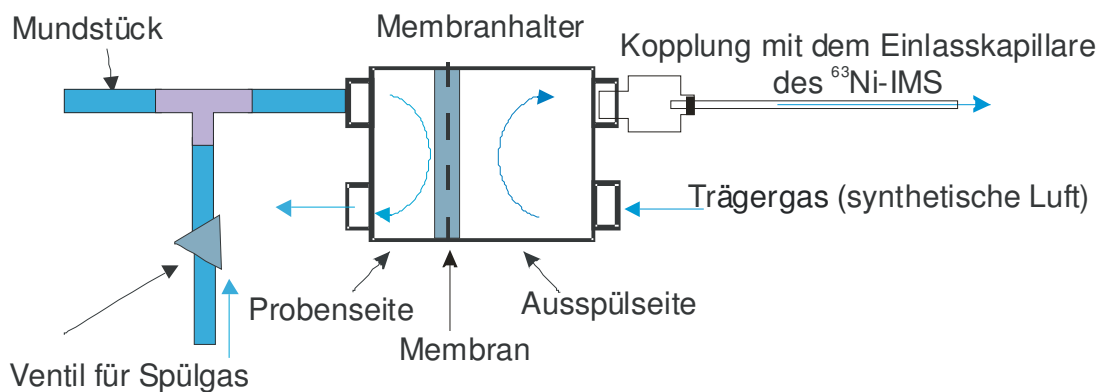


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Probeneingabe durch ein Membraneinlasssystem

3.3.2.2 Kopplung des IMS mit Gaschromatographie

Multikapillarsäule

Aus der Literatur ist bekannt, dass mittels GC-MS Analysen hauptsächlich polare Analyten wie Alkohole, Ketone, Aldehyde aber auch Aromaten in größeren Konzentrationen in der Atemluft nachgewiesen werden können¹⁷. Für eine direkte

Vortrennung der Analyten wurde eine Multikapillarsäule (MCC, OV-5 Sibertech, LTD, Novosibirsk, Russland) gewählt.

Die stabförmige MCC besteht aus ca. 1000 Kapillaren und verfügt über eine Länge von 20 cm. Die einzelnen Kapillaren haben einen Innendurchmesser von 40 μm und eine Filmdicke von 0,2 μm . An beiden Enden der MCC befinden sich Edelstahl-Schraubkappen, welche mit Hilfe der vom Hersteller mitgelieferten Säulendichtungen durch Edelstahlverschraubungen (Swagelok, Best, Düsseldorf) gasdicht sowohl an die Edelstahlleitung des zur Probenaufgabe dienenden elektrischen 6-Wege-Ventils (Valco, Macherey-Nagel, Düren) als auch an den Einlass des IMS angeschlossen werden konnten (Abbildung 8).

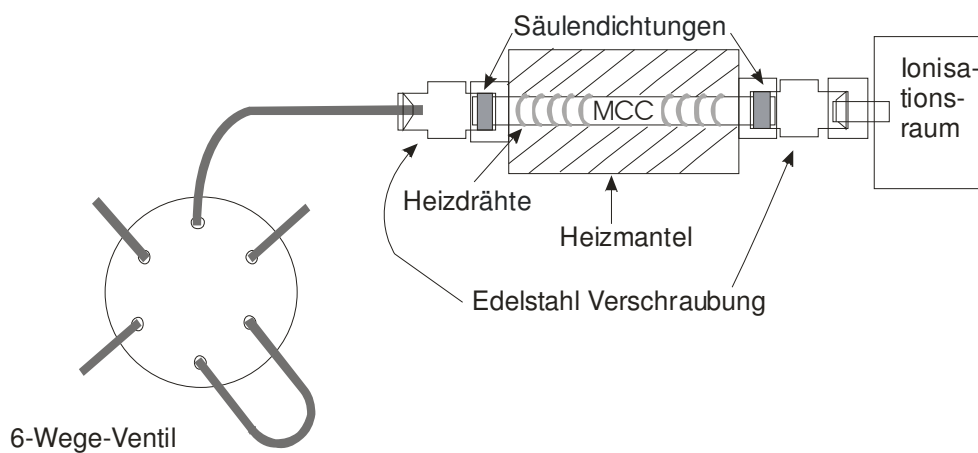


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Kopplung von MCC, 6-Wege-Ventil und IMS

Eine Beheizung der Säule wurde durch um die MCC gewickelte Heizdrähten erreicht. Als Wärmeschutz wurde die MCC in einem Polymermaterial eingebettet. Die Heizung im Polymermantel und deren Regelung (Mikrokontrollregler RD3551) wurden von der Firma Horst GmbH in Lorsch angefertigt (Abb. 9).



Abbildung 9: Beheizte Multikapillarsäule, eingebettet in Polymermaterial

MXT-Volatiles Kapillarsäule

Alternativ wurde eine oft in transportablen Gaschromatographen eingesetzte Kapillarsäule (weiterhin MXT-Kapillarsäule; VOCOL, 15 m / 0.53 mm / 3 µm, MXT-Volatiles, Restek GmbH, Bad Homburg) verwendet. Der im Vergleich zu den anderen Kapillarsäulen größere Durchmesser und eine Flindicke von 3 µm erlauben eine höhere Probenkapazität. Aufgrund der isothermen Bedingungen wurde eine Länge von 15 m gewählt (die Hälfte der allgemeinen kommerziellen Länge), um eine schnellere Trennung und eine geringere Peakverbreiterung zu erreichen.

Die Enden der metall-beschichteten Säule wurden mit 1/16“ Edelstahl Verschraubungen bei entsprechender Abdichtung mit Hilfe von Teflon-Band sowohl mit dem 6-Wege-Ventil als auch mit der Probeneinlass des IMS verbunden (Abb. 10).

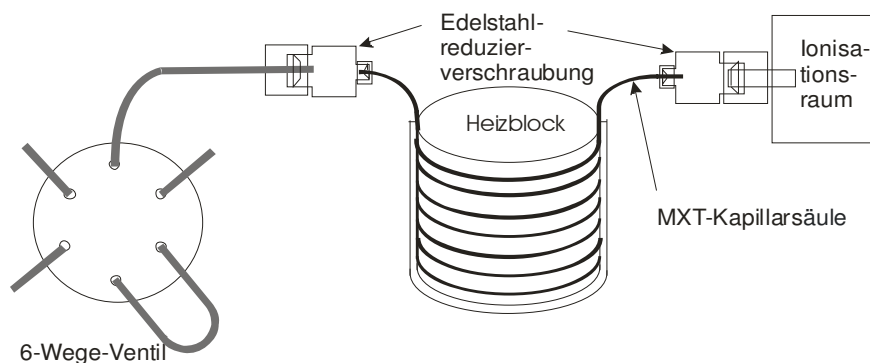


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Kopplung von MXT-Kapillarsäule

Die isothermen Bedingungen der Säule wurden mit Hilfe eines am ISAS entwickelten zylinderförmiger Heizblocks aus Aluminium gewährleistet, in dem 2 Heizpatronen mit einer Leistung von jeweils 120 W und einem Pt100 als Thermoelement eingesetzt wurden. Mit Hilfe eines Temperaturreglers (Typ. 2416, Eurotherm GmbH, Limburg an der Lahn) ist die Temperatur bis 150 °C einstellbar. Die Metall-Kapillarsäule wurde auf das in der Außenoberfläche des Zylinders gedrehte Gewinde aufgewickelt. Wegen des besseren Wärmekontaktes wurde zusätzlich noch eine 3 mm dünne äußere Hülle aus Aluminium eingesetzt (Abb.11).

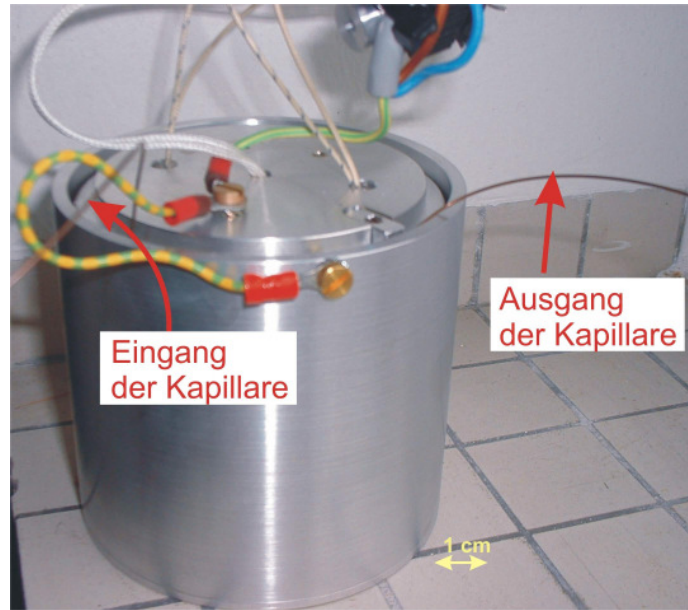


Abbildung 11: Heizblock für den isothermen Betrieb der MXT-Kapillarsäule

3.4 Datenerfassung und Verarbeitung

Die von UV und ^{63}Ni -IMS erzeugten Messsignale liegen im nA-Bereich und wurden mit Hilfe einem 10^{10} V/A -Strom-Spannungsumwandler (Entwicklung ISAS Dortmund) verstärkt. Zur Datenaufnahme für das ^{63}Ni -IMS wurde ein Notebook (Dell M800, 800 MHz, 512MB RAM) mit einer 12/16-bit A/D-Konverter-Karte (KPCMCI-12AIAO, Fa. Keithley Metrabyte Corporation, Taunton, MA, USA) verwendet, für das UV-IMS ein Personalcomputer (Pentium 1, 133 MHz, 32 MB RAM) mit einer 16 bit A/D-Konverter-Karte (DAS 1200, Fa. Keithley Metrabyte Corporation, Taunton, MA, USA). Zur Messung wurde ein im ISAS entwickeltes Datenerfassungsprogramm¹¹⁸ verwendet, das auf der Software Test Point für Windows (Fa. The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) basiert. Durch das Messprogramm wurde ein gemittelttes Signal durch Mittlung von zehn Spektren gebildet, wodurch das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert wurde. Zur Auswertung der Daten wurde das Programm Origin (Version 6.0 und 7.0, Microcal, USA) verwendet. Die Peaklagen wurden aus dem Maxima der Gaußkurvenunterlegung bestimmt. Bei einer nicht gaußförmigen Peakform erfolgte eine manuellen Auswertung mit Hilfe des Programms Peak Fit (Version 4, SPSS Inc. Richmond, USA).

Die Peakflächen wurden durch Integration bestimmt. Dabei wurde vor jeder Integration eine Basislinienkorrektur durchgeführt. Zur Bestimmung der Nachweisgrenzen wurde ein Signal/Rauschverhältnis von 3:1 zugrunde gelegt.

Bei der Kopplung des IMS mit chromatographischem Trennverfahren erfolgte die Datenaufnahme durch quasi-kontinuierliches Speichern des gemittelten Signals. Dabei konnte ein Datensatz innerhalb von 1,1 s erfasst werden. Die so erhaltenen Datensätze wurden mittels eines am ISAS entwickelten IMS2dx-Programmes¹¹⁹ in ein „Matrix“-file konvertiert. Eine Basislinien-Korrektur der einzelnen Spektren dieser Matrix erfolgte mittels des IMS-Auswertungsprogrammes GASpector (Version v 3.69 DSP, und v 3.99.024 DSP, Gesellschaft für analytische Sensorsysteme mbH, Dortmund). Zur dreidimensionalen Darstellung dieser konvertierten und korrigierten Spektrenserien wurde ebenfalls Origin verwendet. Die Retentionszeiten wurden aus der Zeit berechnet, zu der die einzelnen Spektren abgespeichert wurden. Dabei wurde die Zeit als Retentionszeit angenommen, zu der die eluierte Substanz mit der größten Intensität (Peakmaximum) detektiert wird. Für mathematische Operationen (z.B. Subtraktion) an den Matrizen wurde das Programm Excel (Fa. Microsoft Corporation, Redmont, WA, USA) verwendet.

3.5 Probenahme und Analyse der Atemluftproben

Zur on-line Probenahme und Analyse der Atemluft wurde ein ^{63}Ni -IMS mit einer Multikapillarsäule wie in Kapitel 3.3.2.2 beschrieben gekoppelt. Um immer das gleiche Probenvolumen untersuchen zu können, wurde die Probeeingabe mittels eines 6-Wege-Ventil und einer Probenschleife durchgeführt. Einerseits ist wegen der geringen Konzentration der zu analysierenden Spurenkomponenten ein großes Probenvolumen sinnvoll, andererseits ist wegen der hohen Feuchte der Proben - insbesondere ohne vorherige Abtrennung des Wasserdampfes – ein möglichst kleines Volumen zu verwenden. Daher musste die auf die MCC gegebene Probenmenge optimiert werden. Hierzu wurden unterschiedliche Probenahmeschleifen mit einem Volumen von 2 mL, 5 mL, 10 mL und 15 mL getestet. Mit der größten Schleife von 15 mL konnte der ins System gelangende Wasserdampf nur während sehr langen Ausspülzeiten wieder entfernt werden, so dass neben der Beeinflussung der Messergebnisse auch die Pausen zwischen 2 Messungen verlängert wurden. Mit der 2 mL- und 5 mL-Schleifen war die Probenmenge für eine Analyse nicht ausreichend. Deswegen wurde als optimales Volumen zur Probeneingabe die 10 mL Probenschleife ausgewählt, bei der einerseits der Feuchteeinfluss und die Ausspülzeiten relativ gering waren und andererseits die Menge der ins IMS gelangenden Substanzen noch eine Detektion erlaubten. Um die Wandadsorption der Komponenten zu verringern, wurde eine Probenahmeschleife mit einem Innendurchmesser von 3 mm (Länge: 140 mm, AD: 6 mm) aus Edelstahl selbst konstruiert. Der größeren Innendurchmesser und die damit verbundene geringere Länge verringert im Vergleich zu einer handelsüblichen 10 mL-Gasschleife die Oberfläche.

Während der Probenahme strömt die Atemluft durch die Probenahmeschleife. Eine miniaturisierte Saugpumpe (Typ G6/02-850163, ASF Thomas, Wülfrath) wurde am Auslass der Schleife angeschlossen, um eine gleichmäßige Strömung der Atemluftproben auch bei verschiedenen Personen zu gewährleisten. Die Ansaugrate der Pumpe wurde bei 350 mL/min optimiert. Dabei war die Probenahme auch für die Patienten - deren Konstitution im Allgemeinen geschwächt bzw. deren Lungenvolumen verringert war - nicht zu anstrengend, trotzdem konnte die für die Analyse erforderliche Probenmenge der Atemluft abgegeben werden.

Mit dem Umschalten des elektrischen 6-Wege-Ventils wurden 10 mL der Probe auf die Multikapillarsäule aufgegeben. Dort erfolgte die chromatographische Trennung und danach im ^{63}Ni -IMS die Detektion der Analyten. Die Flussraten von Drift- und Trägergas (beides synthetische Luft) wurden durch 2 Massenflussregler (Typ. PR4000, MKS Instruments Deutschland, München) konstant gehalten. Um das System zu reinigen, wurde die Probenahmeschleife nach der Probenahme mit synthetischer Luft gespült. Zur Bestimmung des Blindwertes wurden Proben der Raumluft vor jeder Atemluftanalyse über die Pumpe ins System geleitet und analysiert. Abbildung 12 zeigt eine schematische Darstellung der Probenahme und Eingabe in das IMS.

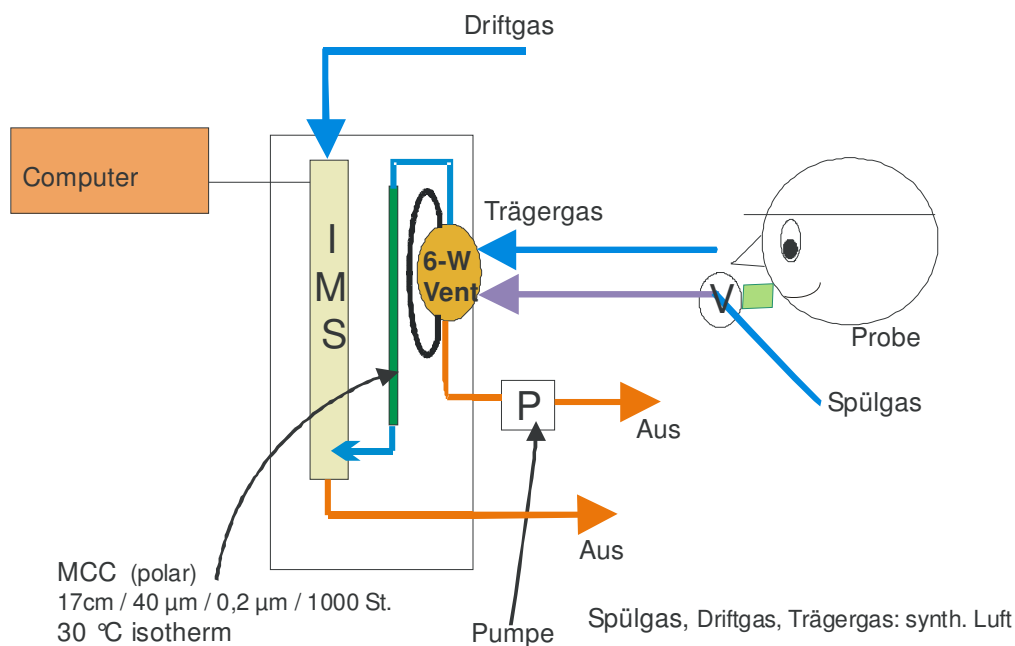


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Probenahme und Eingabe in das IMS

Ein Teil der Atemluftmessungen wurde im Laboratorium des ISAS durchgeführt. Bei diesen Messungen wurde die Atemluft „gesunder“ Mitarbeiter als Kontrollgruppe analysiert.

Weitere Atemluftanalysen wurden an Patienten der Lungenklinik Hemer mit verschiedenen Lungenkrankheiten und den häufigsten Infektionserkrankungen des Respirationssystems durchgeführt. Hierzu gehören akute und chronische Bronchitis, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) einschließlich akute

Exazerbationen, Bronchiektasen, Lungenemphysem und Pneumonien. Diese Krankheiten lassen sich grob in zwei Gruppen unterteilen: einerseits in chronische Lungenerkrankungen, bei denen eine irreversible Veränderung in der Lunge vorliegt^{120,121}, andererseits in akute Erkrankungen, bei denen hauptsächlich eine virale oder bakterielle Infektion in einer primär nicht vorgeschädigten Lunge besteht und die Veränderungen meist reversibel sind, wie z.B. akute Bronchitis oder Pneumonie¹²². In Verbindung mit chronischen Lungenerkrankungen steht in den meisten Fällen ein erhöhter Tabak-Konsum¹²³, der über eine Schädigung der Bronchien und Lungenbläschen chronisch entzündliche Veränderungen der Bronchialschleimhaut und eine emphysematöse Umwandlung des Lungengewebes bewirkt. Im Langzeitverlauf kommt es häufig zu zusätzlichen bakteriellen Superinfektionen, die den Krankheitsverlauf ungünstig beeinflussen.

Zur Gasversorgung für das MCC-⁶³Ni-IMS in der Lungenklinik wurde ebenfalls synthetische Luft (10 L Gasflaschen, Messer Griesheim GmbH, Dortmund) verwendet.

In der Lungenklinik Hemer wurde das entwickelte Verfahren an zwei verschiedenen Patientengruppen angewandt:

- Analyse der Atemluft stationärer Patienten außerhalb der Intensivstation
- Analyse der alveolaren Luft bei beatmeten Patienten auf der Intensivstation.

3.5.1 Analyse der Atemluft stationärer Patienten außerhalb der Intensivstation

Die Atemluftmessungen bei den stationären Patienten wurden nach der im Kapitel 3.5 beschriebenen Methode in einem separaten Raum durchgeführt. Bei der Probenahme exhaliert die Testperson ihre Ausatemluft über eine Teflon-Leitung in dem Einlass der Probenahmeschleife (Abb. 13). Dazu wurde ein Mundstück verwendet, welches über einen Messing Adapter mit der Teflonleitung verbunden wurde (Abb. 14). Bei dieser Technik atmet der Patient direkt in die Probenahmeschleife, da hierbei ein geschlossenes System entsteht, konnte die Menge der Umgebungsluft bei der Probenahme gesenkt werden.

Mit der geeigneten Atemtechnik kann der Anteil der Raumluft in der Probe verringert werden. Hierzu atmet der Patient lange aus und die Probenahme erfolgt nur am Ende des Ausatmens – also von der alveolaren Atemluft. Sowohl das Mundstück als auch die Adapter und die Teflon-Leitungen wurden nach jeden Messungen entsprechend der hygienischen Vorschriften der Lungenklinik Hemer mit Ethanol (70 %) desinfiziert und anschließend mit destilliertem Wasser gereinigt.

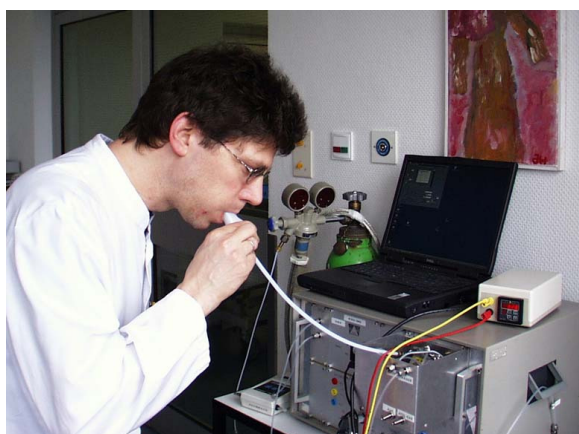


Abbildung 13: Probenahme durch das Mundstück

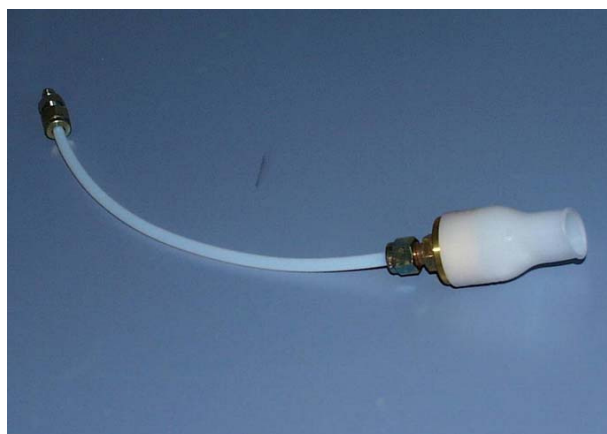


Abbildung 14: Mundstück

3.5.2 Analyse der alveolaren Luft bei beatmeten Patienten auf der Intensivstation

Die Luftanalyse bei den Patienten auf der Intensivstation erfolgte während der medizinischen Behandlung, bei welcher der Arzt mit Hilfe eines Endoskopes (Bronchoskop Abb. 15) die Luftröhre und Bronchien von innen untersucht hat.

Der Bronchoskop besteht aus einem Schlauch, an dessen einem Ende sich eine Lichtquelle und eine Kamera befindet und an dessen anderem Ende eine optische Einheit das Bild des Körperinneren zeigt und dieses gegebenenfalls auf einen Bildschirm überträgt. Der Schlauch, der in den Körper eingeführt wird, besteht aus 2 Kanälen: ein Kanal nimmt die Licht-Technik und die Kamera auf, durch einen zweiten Kanal (Instrumentierkanal) können medizinische Instrumente eingeführt werden, die das Einbringen von Medikamenten oder das Entnehmen von Gewebeproben oder Körperflüssigkeiten ermöglichen.

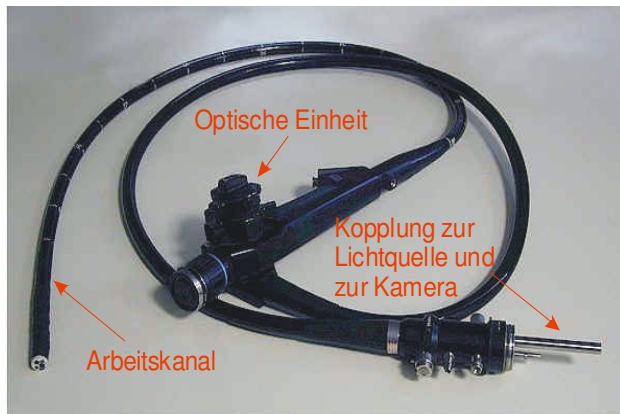


Abbildung 15: Bronchoskop

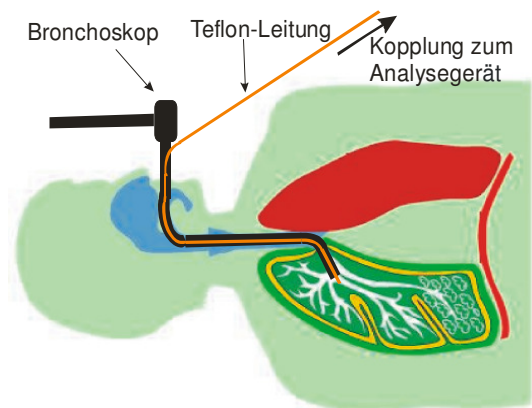


Abbildung 16: Direkte Probenahme von der Lunge

Vor der Probenahme wurde ein 1/16 " Teflon-Schlauch in den Instrumentenkanal des Bronchoskopes eingeführt und mit der Probenahmeschleife des MCC-⁶³Ni-IMS über eine Edelstahlverschraubung verbunden. Die Teflon-Leitungen wurden vor der Analysen zur Einhaltung der hygienischen Vorschriften der Klinik autoklaviert. Der Bronchoskop wurde von dem Arzt durch den Mund des Patienten in die Luftröhre bis zu den Bronchien geführt (Abb. 16) und in der Nähe der erkrankten oder entzündeten Gewebe platziert. Von dort wurde nun die Luft mittels der oben angegebenen Pumpe durch die Teflon-Leitung und die Probenahmeschleife in das Atemluftanalysegerät angesaugt und Vor-Ort gemessen. Dadurch, dass der Patient durch die Nase mit Sauerstoff beatmet war, wurde die Kontamination durch Raumluft verringert.

In den meisten Fällen befand sich der Patient in künstlichem Koma, so dass während der Untersuchung keine Betäubungs- und Schmerzmittel verabreicht wurden, welche die eigentlichen Messungen stören könnten.

3.6 Probenahme und Analyse der Bakterienkulturen

In Kooperation mit dem Hygieneinstitut in Iserlohn wurden in Rahmen dieser Arbeit Analyse der Emissionen folgender, insbesondere bei Atemwegsinfektionen relevanter Bakterienspezies durchgeführt: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermalis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus B*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* sowie der häufig auftretende Pilz, *Candida albicans* (siehe Tabelle 4).

Viele dieser infektiösen Bakterienarten produzieren unterschiedliche Schleimsubstanzen (Kapseln), Gifte, sog. Toxine und Exoenzyme (β -Hämolysin, Fibrinolysin, Desoxyribonuklease, Lipase, Protease), welche die Ausbreitung der Bakterien erleichtern und damit den Infektionsprozess verstärken. Für die diagnostische Bakteriologie dienen die für einzelne Bakterienarten unterschiedlichen biochemischen Leistungen und Stoffwechselprodukte als wichtige Merkmale für ihre Differenzierung¹²⁴.

Die morphologischen, physiologischen Eigenschaften, sowie die chemische Zusammensetzung der Zellkomponente (u.a. Struktur der Zellmembrane, Zellwand) und die metabolischen Eigenschaften sind bei den verschiedenen Arten unterschiedlich. Ein wichtiges Instrument zur Charakterisierung der Bakterien ist die Gram-Färbung, die zwischen gram-negativen und gram-positiven Bakterien unterscheidet. Mit dieser Methode wird die Zellwand von Bakterien eingefärbt: Gram-positiven Bakterien erscheinen violett/blau, gram-negativen Bakterien dagegen rot. Dies ist ein wichtiges Kriterium für Unterscheidung verschiedener Bakterien bei der Diagnostik von Infektionskrankheiten, da die gram-positiven und gram-negativen Bakterien auf Antibiotika unterschiedlich reagieren¹²⁵.

Daneben wird u.a. die Wachstumscharakteristik (in Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Sauerstoff, aerob oder anaerob Umgebung), das Vorhandensein von Katalase, Oxidase, Phosphatase, Urease, die Verwertung von unterschiedlichen Substraten, Abbau von Kohlenhydraten und die Bildung von gasförmigen Produkten geprüft. Die wichtigsten Eigenschaften der ausgewählten Bakterien sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Ihre Differenzierung ist in Tabelle 5 angegeben.

Tabelle 4: Relevante Eigenschaften der ausgewählten Bakterienarten^{126,127,128}

Genus	Bakterien-Spezies	Wachstum	Kapsel o. Zellwand	Toxin	Enzyme	Produzierte Substanzen
Staphylokokken	<i>Staphylococcus aureus</i>	fakultativ anaerob	Peptidoglycan, Teichonsäure	Leukozidin, Enterotoxin α -Toxin	Lipase, β -Galaktosidase	
	<i>Staphylococcus epidermalis</i>	fakultativ anaerob				
Pasteurellaceae	<i>Haemophilus influenzae</i>	aerob	Polyribosyl-Ribitol Phosphate	Endotoxin Ig-A-Protease	Neuraminidase, Protease	
Streptokokken	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Gruppe B)	fakultativ anaerob	Hyaluronsäure	Streptolysin O β -Hämolyysin		Milchsäure
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		Polysaccharid	Pneumolysin, α -Hämolyysin	IgA-Protease	H ₂ O ₂ , Milchsäure
Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	aerob, anaerob	Stickstoffhaltiger Polysaccharid	Endotoxin	Gluconate-dehydrogenase	Glukosabbau durch Gasbildung
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	aerob, anaerob		Endotoxin	Lysin, Decarboxylase	Glukosabbau durch NH ₃
	<i>Escherichia coli</i>	aerob, anaerob	Polysaccharid	Endotoxin, Enterotoxin α - und β -Hämolyysin	β -Galaktosidase	Kohlenhydratabbau durch Gasbildung
	<i>Serratia marcescens</i>	aerob	Hemagglutinin	Enterobactin, Hämolyysin	Protease	
Pseudomonaden	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	aerob, anaerob		Exotoxin A β -Hämolyysin	Protease	o-Aminoacetophenon

Tabelle 5: Differenzierung der Bakterien aufgrund ihrer Enzymeigenschaften

Bakterien	Gram-Färbung	Katalase	Oxidase	Hämolyse	Koagulase	Glukosefermentation	Urease
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+		+
<i>Staphylococcus epidermalis</i>	+	+	+	-	-		+
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	+	+				+
<i>Streptococcus agalactiae</i> (Gruppe B)	+	-	-	+(meist)		+	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	-	-	+		+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-			+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	-		+	+
<i>Escherichia coli</i>	-		-	+		+	-
<i>Serratia marcescens</i>	-		-	+		+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+			-	+

3.6.1 Probenvorbereitung

Die Herstellung von den Bakterienkulturen der ausgewählten infektiösen Lungenbakterienstämme wurde von den Mitarbeitern des Hygieneinstituts in Iserlohn durchgeführt. Reine Kulturen wurden auf Nährmedien in Petri-Schalen gezüchtet. Bei dem Bakterium *Haemophilus influenzae* wurde der sog. Schokoladen-Agar (s. Kapitel 3.1) wegen seiner eigenen Wachstumseigenschaften benutzt, im Fall von den anderen 10 Bakterienarten wurde der sog. Columbia-Agar (s. Kapitel 3.1) verwendet. Die Platten wurden im Brutschrank bis zur Zeitpunkt der Analyse auf 37 °C inkubiert.

3.6.2 Probenahme und Emissionsmessungen von gezüchteten Bakterienkulturen

Die Probenahme und Analyse wurden in dem Labor des Hygieneinstituts Iserlohn durchgeführt. Abbildung 17 zeigt ein Foto von einer der angefertigten und vermessenen Bakterienplatten (*Klebsiella pneumoniae*- Kultur). Vor der Messung wurde die obere Schale durch einen anderen Petrischalendeckel ausgetauscht, welcher in der Mitte ein 4 mm Loch hat. Durch dieses Loch erfolgte die Probenahme bei konstantem Ansaugen die Luft über die Kulturen mit Hilfe einer 1/8" Teflon-Leitung (Abbildung 18), welche mit dem Probenahmeschleife des 6-Wege-Ventils des Analysegerätes gekoppelt wurde.



Abbildung 17: Foto von der vermessenen *Klebsiella pneumoniae* - Kultur

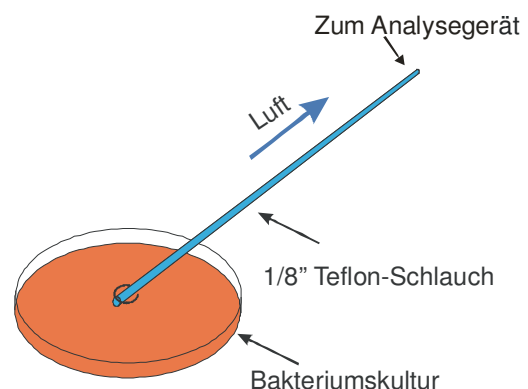


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Probenahme von Bakterienkulturen

Wegen den größeren emittierten Substanzmengen der Kulturen im Vergleich zu den Analyten in der Atemluft wurde die Ansaugflussrate der Pumpe bei der Probenahme auf 150 mL/min optimiert, ansonsten wurden die Probenahme und Analyse gemäß

Abschnitt 3.5 durchgeführt. Die Emission der Nährböden wurde zur Bestimmung des Blindwerts mit der gleichen Methode vermessen. Vor jeder Messung wurde ebenfalls die Raumluft analysiert.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Entwicklung des IMS für die Atemluftanalyse

4.1.1 Auswahl der geeigneten Ionisationsquelle

Über die Auswahl der Ionisationsquelle kann die Selektivität und Empfindlichkeit des IMS beeinflusst werden. Bei der Ionisation mittels radioaktiver Strahlungsquellen ist die Protonaffinität der relevante physikalische Parameter, bei der Photoionisation die Ionisationsenergie der Moleküle.

Um die jeweils geeignete Ionisationsquelle für die Detektion der Atemluftkomponenten auszuwählen, wurden sechs flüchtige Testsubstanzen (Aceton, Ethanol, Isopropanol, Isopren, 3-Pentanon und E-2-Hexenal) ausgewählt, die anhand der Literatur¹¹⁷ und nach Atemluftanalysen mittels GC-MS des Institut für Chemie und Biosensorik in Münster häufig in der Atemluft detektiert wurden.

Die gemäß Kapitel 3.2 angefertigten Testgase dieser Substanzen wurden einzeln sowohl mittels ⁶³Ni-IMS als auch UV-IMS vermessen. Mit Hilfe der exponentiellen Verdünnung wurden die Nachweisgrenzen bestimmt. Die Abbildungen 19 bis 21 zeigen Beispiele für die Kalibrationsgeraden und Einzelspektren der ausgewählten Substanzen.

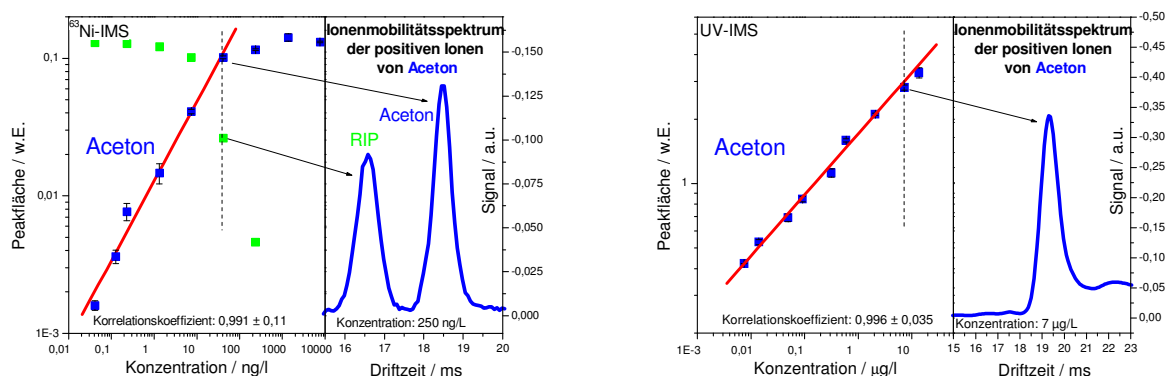


Abbildung 19: Kalibrationsgeraden für Aceton bei Messungen mit ⁶³Ni-IMS und UV-IMS

Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Konzentrationen bei den Messungen mittels ⁶³Ni-IMS in ng/L, mittels UV-IMS in µg/L angegeben, für die Peakflächen wurden jeweils willkürliche Einheiten gewählt. Bei den Substanzen, die mehrere

Analytionenpeaks aufweisen wurde die Summe der Peakflächen der Analytionenpeaks dargestellt.

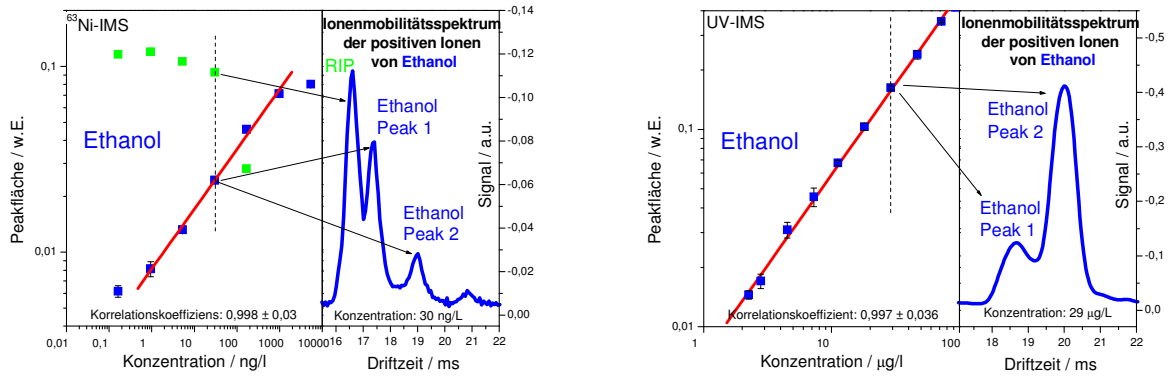


Abbildung 20: Kalibrationsgeraden für Ethanol bei Messungen mit ⁶³Ni-IMS und UV-IMS

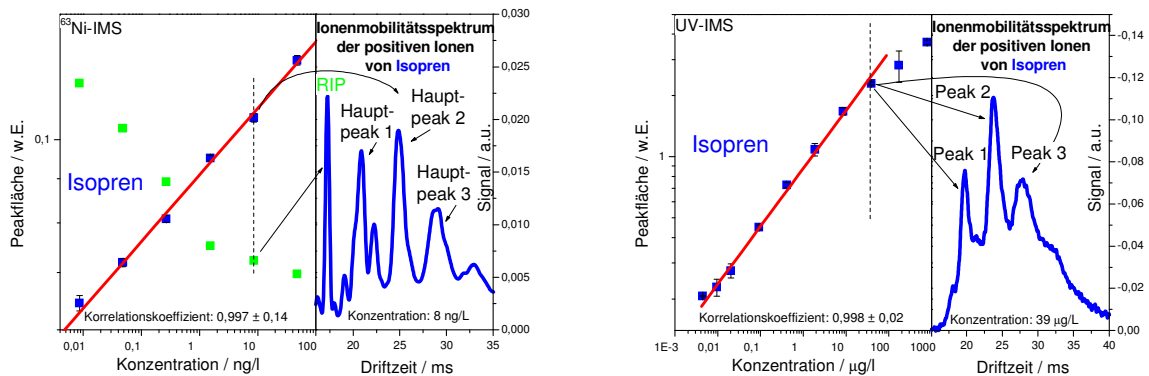


Abbildung 21: Kalibrationsgeraden für Isopren bei Messungen mit ⁶³Ni-IMS und UV-IMS

Tabelle 6: Nachweisgrenzen und reduzierte Mobilitäten der ausgewählten Substanzen (⁶³Ni-IMS)

Substanz	⁶³ Ni-IMS					Nachweisgrenze	
	Reduzierte Mobilität [cm ² /Vs]					[pg/L]	[ppt _v]
	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5		
Aceton	1,81 ± 0,02					50	20
Ethanol	1,89 ± 0,02	1,73 ± 0,03				1000	525
Isopropanol	1,76 ± 0,02	1,56 ± 0,02				508	203
Isopren	1,85 ± 0,02	1,64 ± 0,02	1,55 ± 0,02	1,39 ± 0,03	1,19 ± 0,03	8	3
3-Pentanon	1,85 ± 0,02	1,66 ± 0,02	1,52 ± 0,03			170	48
E-2-Hexenal	1,70 ± 0,02	1,56 ± 0,02	1,34 ± 0,03	1,07 ± 0,03		21	5

Tabelle 7: Nachweisgrenzen und reduzierte Mobilitäten der ausgewählten Substanzen (UV-IMS)

Substanz	UV-IMS				
	Reduzierte Mobilität [cm^2/Vs]			Nachweisgrenze	
	Peak1	Peak2	Peak3	[ng/L]	[ppb _v]
Aceton	<i>1,82 ± 0,02</i>			8	3
Ethanol	1,86 ± 0,02	<i>1,73 ± 0,03</i>		2000	1044
Isopropanol	1,74 ± 0,02	<i>1,57 ± 0,03</i>		1000	401
Isopren	<i>1,63 ± 0,02</i>	<i>1,36 ± 0,03</i>	<i>1,18 ± 0,03</i>	10	4
3-Pentanon	<i>1,50 ± 0,03</i>			14	4
E-2-Hexenal	1,55 ± 0,02	<i>1,34 ± 0,02</i>	<i>1,18 ± 0,03</i>	182	45

Die Tabellen 6 und 7 zeigen zusammenfassend die Nachweisgrenzen und die aus den Einzelspektren ermittelten reduzierten Mobilitäten der mittels der beiden IMS vermessenen Substanzen.

Die chemischen Eigenschaften dieser Substanzen sind hinsichtlich ihrer Polarität unterschiedlich: Aceton und 3-Pentanon als Ketone, Ethanol und Isobutanol als Alkohole und E-2-Hexenal als Aldehyd sind polare Substanzen, Isopren als Alken ist unpolar. Die Polarität hat unter anderem einen Einfluss auf die Fragmentbildung, da polare Gruppen die Bindungsstärke zwischen Atomen in einem Molekül beeinflussen können. Die gebildeten Molekülonen bei Alkanen und Alkenen sind oft nicht stabil und dissoziieren schnell. Deswegen weist das Molekülspektrum oft Fragmente auf. Die Fragmente, die als Peak eine größere Intensität aufweisen, wurden als „Hauptpeak“ genannt und sind in den Tabellen 6 und 7 mit kursiven Buchstaben markiert. Dementsprechend verfügt Isopren über die meisten Peaks bei der Ionisation sowohl mittels radioaktiven als auch mittels UV-Strahlungsquellen. Die reduzierten Mobilitäten der drei „Hauptpeaks“ von Isopren zeigen eine gute Übereinstimmung bei der Messung mittels ⁶³Ni-IMS und UV-IMS. Im Fall von Aceton entspricht der detektierte Peak dem Dimer, wie es durch massenspektrometrische Untersuchungen von Eiceman et. al gezeigt wurde⁷³. Die K₀-Werte von Aceton und der beiden ausgewählten Alkohole bei beiden IMS stimmen ebenfalls gut überein. Dagegen verfügen 3-Pentanon und E-2-Hexenal über eine unterschiedliche Anzahl an Peaks, welche eventuell auf die unterschiedliche Intensität der Bestrahlung der Ionisationsquellen zurückzuführen ist. Hierbei zeigen die Mobilitäten des einen Peaks von 3-Pentanon und von zwei Peaks bei E-2-Hexenal eine gute Übereinstimmung.

Die Nachweisgrenzen der ausgewählten Substanzen liegen bei Ionisierung mittels der radioaktiven Strahlungsquelle hauptsächlich in pg/L- Bereich. Besonders die Komponenten, die über größere Protonaffinitäten verfügen, zeigen sehr niedrige Nachweisgrenzen. So beträgt die Protonenaffinität z.B. für Aceton¹²⁹ 812 kJ/mol und für Ethanol¹²⁹ 776,4 kJ/mol. Erwartungsgemäß liegen die Nachweisgrenzen bei Aceton, E-2-Hexenal und Isopren bei 50 pg/L, 21 pg/L und 8 pg/L. Für Alkohole sind die Nachweisgrenzen höher, für Ethanol liegen sie bei 1000 pg/L und für Isopropanol bei 508 pg/L.

Bei der Ionisation mittels der UV-Strahlungsquelle wurden grundsätzlich höhere Nachweisgrenzen gefunden und zwar für Aceton 8 ng/L, für 3-Pentanon 14 ng/L und für Isopren 10 ng/L. Für die untersuchten Alkohole liegen die Nachweisgrenzen in unterem µg/L- Bereich.

Der Vergleich der mit Hilfe der unterschiedlichen Strahlungsquellen ermittelten Nachweisgrenzen zeigt, dass die Werte mittels radioaktiver Strahlungsquelle zwei, manchmal sogar drei Größenordnungen tiefer liegen und damit eine bessere Empfindlichkeit für diese Substanzen gewährleisten. Daher wurde für die weiteren Analysen eine ⁶³Ni- Strahlungsquelle als Ionisationsquelle gewählt.

4.1.2 Einfluss der Feuchte des Trägergases auf das IMS Signal

Bei der Ionisation mittels einer radioaktiven Strahlungsquelle wird zuerst das Trägergas selbst ionisiert, was eine ganze Serie von Reaktionen induziert. Zunächst bilden sich die Reaktionsionen, bei denen es sich – falls das Trägergas (z.B. synthetische Luft) keine Kontaminationen enthält – hauptsächlich um $(\text{H}_3\text{O})^+(\text{H}_2\text{O})_n$ (hydratisierte Protonen) handelt⁵¹. Diese Reaktionsionen bilden mit den neutralen Molekülen über Ionen-Molekül-Reaktionen die Produktionen. Daher kann eine erhöhte Menge an Wasser im Trägergas die Anzahl und die Zusammensetzung sowohl der Reaktionsionen als auch der Produktionen beeinflussen. Da die Ausatemluft mit Wasser gesättigt ist (100 % rel. Feuchte), wurde der Einfluss des bis zur Sättigung befeuchteten Trägergases sowohl auf die Bildung von Reaktionsionen als auch auf die Entstehung von Produktionen bei der Modellsubstanz Aceton untersucht. Die Befeuchtung des Trägergases bzw. der Testgasproben wurden gemäß Kapitel 3.2.3 durchgeführt. Abbildung 22 zeigt das Signal des ⁶³Ni-IMS bei

Einleitung des Trägergases mit unterschiedlicher relativer Feuchte (RF) und ohne Zuführung von Analyten.

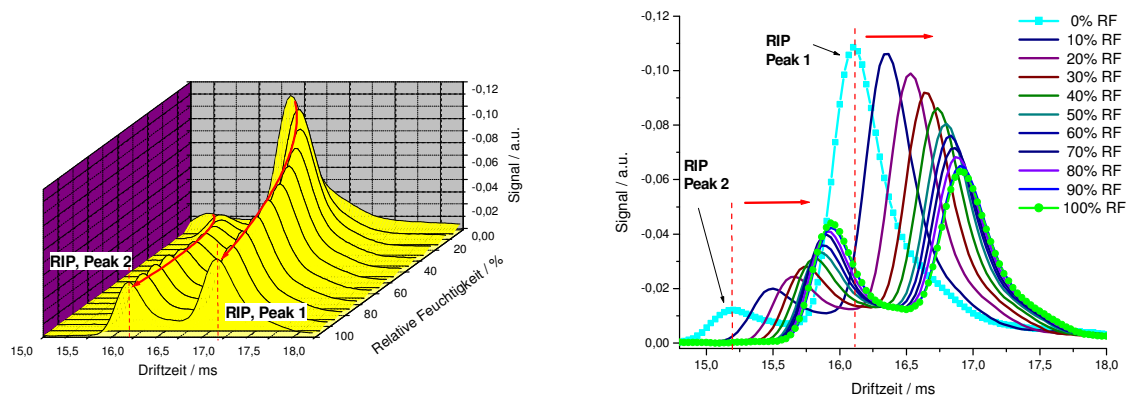


Abbildung 22: Einfluss der Feuchte des Trägergases (RF) auf die Bildung der Reaktionsionen

Bei Anwendung von reiner, nicht befeuchteter synthetischer Luft weist das Ionenmobilitätsspektrum zwei Reaktionsionenpeaks auf, die in Abbildung 22 mit RIP Peak 1 und RIP Peak 2 bezeichnet sind. Massenspektrometrische Untersuchungen der gebildeten Reaktionsionen im IMS bei Anwendung von Luft als Trägergas von Eiceman et al. haben gezeigt, dass Peak 1 ($K_0 = 2,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) dem hydratisierten Proton $(\text{H}_3\text{O})^+(\text{H}_2\text{O})_n$ und Peak 2 ($K_0 = 2,14 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) dem hydratisierten Ammonium $(\text{NH}_4)^+(\text{H}_2\text{O})_y$ entspricht. Letzteres kann aus den im System vorhandenen Spuren von Ammoniak entstehen, welche durch das Wasser von der Wandoberfläche der Gasleitungen oder Testgasflaschen desorbiert werden könnte. Mit zunehmender relativer Feuchte des Trägergases bewegen sich die Maxima beider Peaks in Richtung der größeren Driftzeiten. Dies weist auf eine Reduktion der Mobilitäten hin, welche mit der Entstehung größerer Molekülcluster, also einer Zunahme der angelagerten Wassermoleküle zu erklären ist. Diese Zunahme der Driftzeiten wird allerdings mit steigender Feuchte schwächer. Eine Erklärung dafür kann sein, dass die stark hydratisierten Ionen während der Bewegung im Driftraum und durch Stöße mit den Driftgasmolekülen Wassermoleküle verlieren.

Auch die Intensitäten der beiden Peaks werden vom Feuchtegehalt des Trägergases beeinflusst. Während die Höhe von Peak 1 (hydratisierter Proton) mit zunehmender Feuchte sinkt, steigt die Intensität von Peak 2 (hydratisierter Ammonium) an. Erklärt werden kann dies damit, dass die freie Energie für Wasser zur Addition zum NH_4^+

höher ist als zum H_3O^+ . Dementsprechend können im Fall vom hydratisierten Ammonium kleinere Cluster gebildet werden, die eine größere Chance haben, die Faraday-Platte zu erreichen. Außerdem kann bei hohem Feuchtegehalt eine zusätzliche Abnahme der Anzahl der stark hydratisierten Protonen ($\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_{25}$ oder größer) im Ionisierungsraum auftreten, weil diese Ionen so groß werden, dass die Verluste an den Wänden und am Gitter eine Detektion verhindern¹³⁰.

Der Einfluss der Feuchte auf das IMS Signal bei Verwendung eines Trägergases mit geringer Acetonkonzentration (200 ng/L) ist in Abbildung 23 dargestellt.

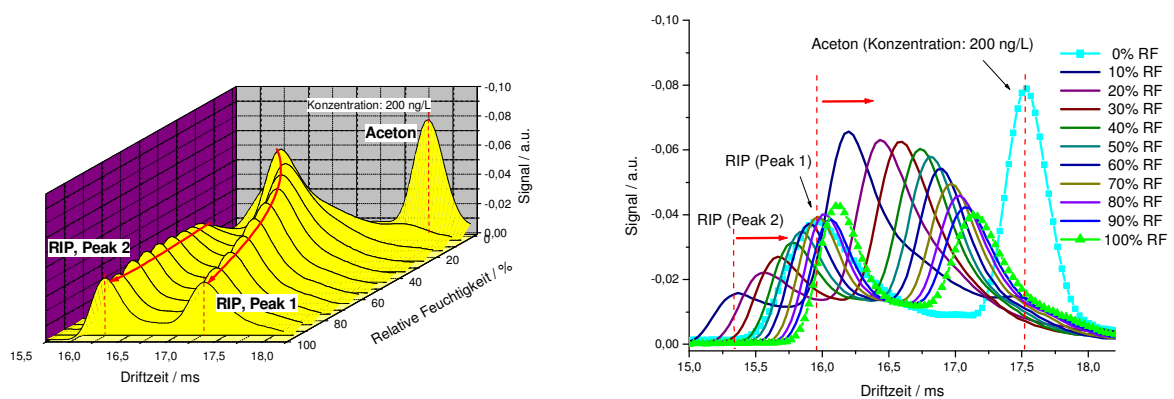
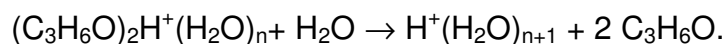


Abbildung 23: Einfluss der Feuchte (RF) auf die Bildung der Produktionen wenn das Trägergas Spuren von Aceton enthält

Bei trockenem Trägergas erzeugt Aceton ein klares Signal ($K_0 = 1,80 \text{ cm}^2/\text{Vs}$). Bereits schon bei 10 % relativer Feuchte des Testgases zeigt sich eine drastische Abnahme des Acetonsignals, da die Addition von Wasser die Produktionen von Aceton nach der folgenden Gleichung zerstört¹³⁰:



Bei weiterer Zunahme der Feuchte kann Aceton nicht mehr detektiert werden, und es ergibt sich eine Verschiebung des RIP zu höheren Driftzeiten mit einem ähnlichen Verlauf wie bei der Messung ohne Analyten.

Auch die Menge des eingeleiteten Analyten beeinflusst die Bildung von Produktionen. Bei einem Testgas von 29 $\mu\text{g}/\text{L}$ Acetonkonzentration bilden sich aus allen Reaktionsionen Produktionen, d.h. der Reaktionsionenpeak verschwindet völlig zu Gunsten des Signals für den Analyten. Bei Befeuchtung eines solchen Testgases bilden sich Cluster durch die Anlagerung von Wassermolekülen an die Produktionen,

was breitere Peaks bei größeren Driftzeiten und kleinere Intensitäten zur Folge hat (Abb.24).

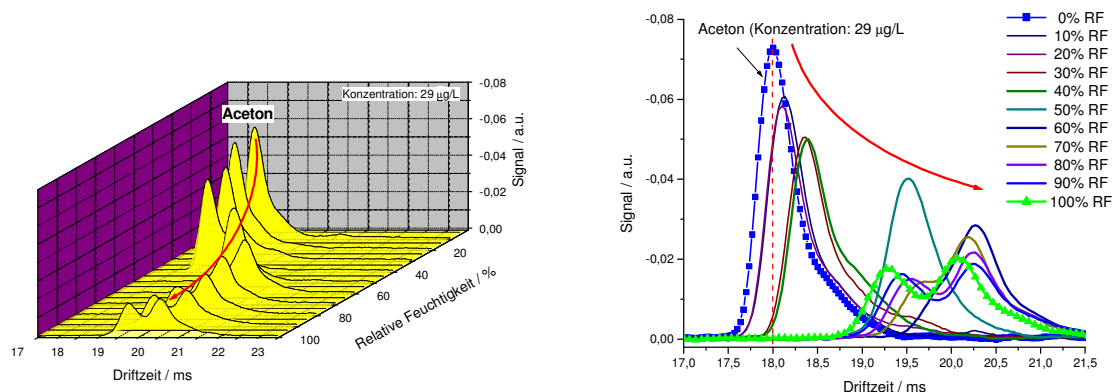


Abbildung 24: Einfluss der Feuchte (RF) auf die Bildung der Produktionen bei hoher Acetonkonzentration

Bei noch höherem Wassergehalt verursacht ein Aufspalten des Analytsignals in zwei verschiedene Peaks, was auf die Anwesenheit von unterschiedlichen Ionen hinweist. Wenn das zur Sättigung verwendete Wasser – wie oben erwähnt – Spuren von Ammoniak enthält, können neben $(C_3H_6O)_2H^+(H_2O)_n$ Ionen auch $(C_3H_6O)_2NH^+(H_2O)_n$ Ionen entstehen¹³⁰.

Die oben beschriebenen Prozesse machen die Interpretation der mit Wasser gesättigten Atemluftproben sehr schwierig oder teilweise sogar unmöglich. Aus diesem Grund ist eine Abtrennung des Wassers vor der eigentlichen Analyse nötig, damit die oben beschriebenen negativen Effekte auf das detektierte Signal vermieden werden.

4.1.3 Optimierung des Probeneinlasssystems

Bei einer on-line Analyse von Atemluftproben sollte möglichst direkt nach der Probenahme eine Abtrennung von Feuchte und Analyten erfolgen, damit die Analytmoleküle von den Wassermolekülen getrennt in den Ionisierungsraum gelangen, um so den im Kapitel 4.1.2 beschriebenen negativen Einfluss der Feuchte auf das Messsignal zu vermeiden.

4.1.3.1 Membraneinlasssystem

Eine Möglichkeit zur Trennung von Wasserdampf und Analyten ist der Einsatz des im Kapitel 3.3.2.1 beschriebenen Membraneinlasssystems. Die Durchlässigkeit der Membran für die relevanten Analyten wurde zunächst mit Aceton getestet. Die Testgasproben wurden in unterschiedlichen Konzentrationen an der Membran vorbei geleitet. Außerdem wurden die gleichen Proben direkt, ohne Membraneinlasssystem, mit dem IMS gemessen. Hierbei ergibt sich die maximale Signalhöhe bei einer Driftgasflussrate von 50 mL/min und bei einer Probenflussrate von 30 mL/min, deswegen wurden diese Messparameter sowohl bei Messungen mit direkter Einführung der Proben als auch beim Einsatz des Membraneinlasssystems verwendet (hierbei wurde 30 mL/min als Trägergasflussrate auf der Ausspülseite der Membran (siehe Abb. 7) benutzt).

Während das Testgas durch die Probenseite des Membraneinlasssystems strömt, permeieren die flüchtigen Komponenten auf die andere Seite der Membran, auf der sie vom vorbeiströmenden Trägergas (synthetische Luft) wieder aufgenommen und zum IMS transportiert werden.

Änderungen der Probegasflussrate verändern das Druckverhältnis im Membrangehäuse, wodurch die Permeation der Komponenten beeinflusst wird. Daher wurden die Proben bei zwei unterschiedlichen Trägergasflussraten (30 mL/min und 100 mL/min) durch die Probenseite des Membrangehäuses geleitet, um den Einfluss einer Druckveränderung auf das detektierte Signal zu untersuchen.

Die Peakflächen des im IMS gemessenen Acetonsignals für verschiedene Testgaskonzentrationen bei direkter Einleitung in das IMS bzw. bei Verwendung des Membraneinlasssystems sind in Abbildung 25 dargestellt.

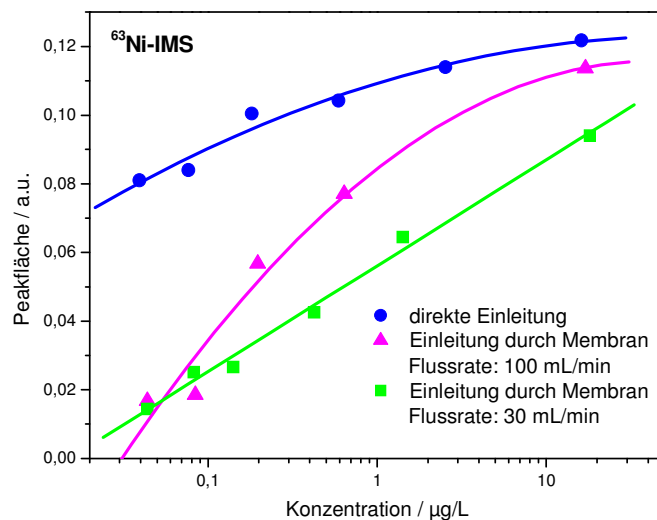


Abbildung 25: Peakflächen des Messsignals in Abhängigkeit von der Acetonkonzentration bei direkter Einleitung des Testgases in das IMS und bei Einleitung über das Membraneinlasssystem mit zwei unterschiedlichen Probengasflussraten

Der Vergleich dieser Kurven zeigt eine deutliche Abnahme der Peakflächen bei Verwendung des Membraneinlasssystems, da es nur für einen Teil der Acetonmoleküle durchlässig ist. Die Differenz erhöht sich bei niedrigeren Konzentrationen, was eine deutliche Erhöhung der Nachweisgrenzen nach sich zieht. Die höhere Flussrate von 100 mL/min verbessert diese Ergebnisse bei höheren Konzentrationen, hat aber keinen Einfluss bei geringen Konzentrationen.

Trotz der Verschlechterung der Nachweisgrenze bei Aceton wurde das Membraneinlasssystem bei Atemluftproben getestet. Dabei sollte überprüft werden, ob dennoch die Nachweisvermögen des Systems für die in der Atemluft vorkommenden Komponenten ausreicht. Die Atemluftprobenahme erfolgte während eines langen Ausatmens eines Probanden durch die Probenseite des Membrangehäuses. Während dessen erfolgte eine kontinuierliche Datenaufnahme. Nach der Probe-nahme wurde die Probenseite der Membran mit synthetischer Luft ausgespült. Abbildung 26 zeigt die Spektren der Atemluftproben von zwei verschiedenen Probanden. Bei beiden konnte Aceton nach 2 s ab Beginn des Ausatmens detektiert werden. Die Peaks wurden anhand der Mobilitäten identifiziert.

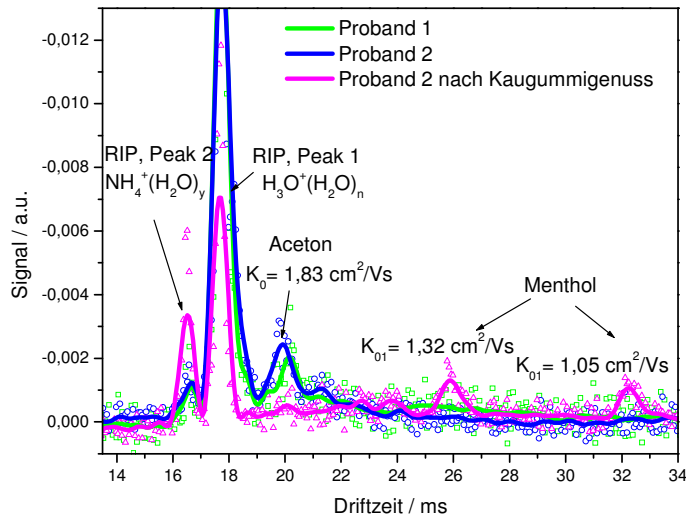


Abbildung 26: Atemluftspektren mittels Vortrennung von Membraneinlasssystems

Der zweite Proband gab die Probe nach der Einnahme eines mentholhaltigen Kaugummis. In dem Atemluftspektrum konnte Menthol anhand der reduzierten Mobilitäten der reinen Testsubstanz ($K_{01} = 1,34 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{02} = 1,06 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) nachgewiesen werden.

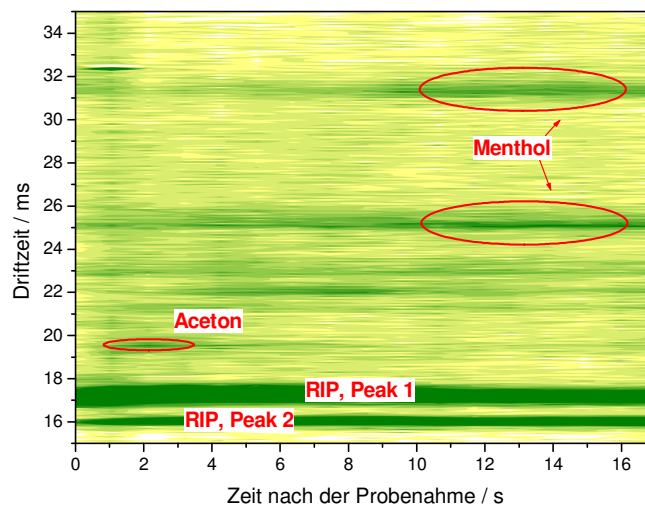


Abbildung 27: Auftrennung der von der Atemluft detektierten Komponenten mittels des Membraneinlasssystems

Da die Permeation durch das Membranmaterial von der Größe und Struktur der Komponenten abhängig ist, kann eine zeitliche Auftrennung verschiedener Analyten erfolgen, wie es in Abbildung 27 zu sehen ist. Dementsprechend wurde Menthol mehrere Sekunden nach Aceton detektiert. Jedoch nehmen die Peakintensitäten bedingt durch die längeren Ausspülzeiten der Analyten ab. Diese Vortrennung ermöglicht zwar eine Detektion von Aceton, einer der Hauptkomponenten in der Atemluft, ist jedoch für die Analyse anderer Komponenten nicht ausreichend nachweisstark genug.

Eine Erhöhung von Druck bzw. Temperatur auf der Probeseite der Membran erhöht die Permeationsrate. Dies führt aber ebenfalls zu einer größeren Durchlässigkeit für Wassermoleküle und würde damit die Empfindlichkeit des Detektors reduzieren. Für die weiteren Analysen wurden deswegen die chromatographischen Vortrennungsmethoden gegenüber der Vortrennung mit dem Membraneinlasssystem bevorzugt.

4.1.3.2 *Kopplung des IMS mit Gaschromatographie*

Eine andere Methode zur Vortrennung von Analyt und Wasser ist die Anwendung der Gaschromatographie, die eine Trennung der Analyten in einem Gasgemisch ermöglicht. Außerdem liefern die Retentionszeiten zusätzlich zu den Mobilitätswerten eine weitere Information zur Identifikation der Analyten. Man erhält aus einer solchen Messung also eine Matrix von den Retentionszeiten und von den Driftzeiten welche zusätzlich die Signalhöhen enthält. Diese Analysedaten können nun mehrdimensional dargestellt werden, wobei die Retentionszeiten auf der x-Achse, die Driftzeiten auf der y-Achse und die Signalhöhe auf der z-Achse drei-dimensional im sog. Peakhöhendigramm dargestellt sind. So ist zum Beispiel in Abbildung 28 die klare Trennung der Analyten eines 2-Komponentengemisches von 2-Pentanon und 2-Hexanon, insbesondere im oberen Peakhöhendigramm zu erkennen. Die Matrizen können außerdem für einen schnellen Vergleich der Ergebnisse bei gleichen Messparametern genutzt werden.

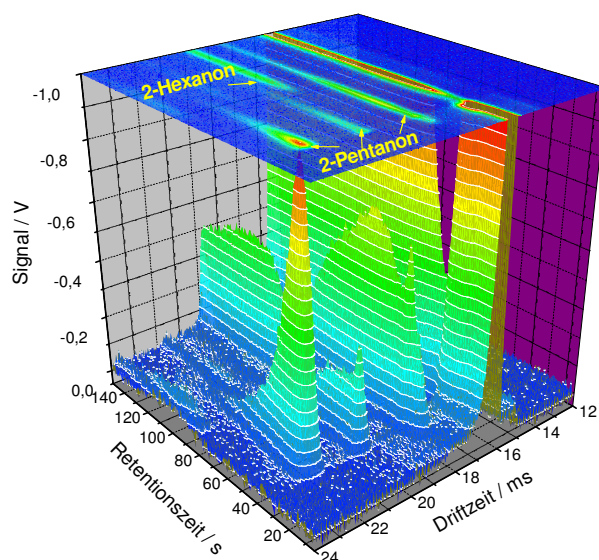


Abbildung 28: Drei-dimensionale und topographische Darstellung der Trennung eines Zweikomponentengemisches

Hinsichtlich der Auswahl einer geeigneten gaschromatographischen Säule für die Atemluftanalyse mussten die folgenden Kriterien erfüllt werden: Große Probenkapazität, Möglichkeit für eine on-column Injektion bei der on-line Analyse, kurze Analysezeiten bei einer vor-Ort Messung, aber dennoch gute Trennung von Komponenten in einem großen molekularen Massenbereich. Die beiden letzten Punkte werden in der Gaschromatographie meist durch die Anwendung eines Temperaturprogramms gelöst, was jedoch die Möglichkeit zur Miniaturisierung beschränkt. Multikapillarsäulen ermöglichen im Vergleich dazu einen größeren Durchfluss und eine geringere Betriebstemperatur bei gleicher Trennungseffizienz. Daher sind sie auch isotherm anwendbar für Moleküle in einen größeren Molmassenbereich und damit gerade für tragbare Geräte besser einsetzbar. Aus diesen Gründen wurde untersucht, ob die Anwendung einer Multikapillarsäule als Vortrennungsmethode für die Atemluftanalyse geeignet ist.

Isotherme Vortrennung mit der Multikapillarsäule

Um die Anwendbarkeit der im Abschnitt 3.3.2.2 beschriebenen Multikapillarsäule und MXT-Kapillarsäule für eine isotherme Trennung zu untersuchen, wurde eine Testgasmischung aus 4 Ketonen (3-Pentanon, 2-Hexanon, 2-Heptanon, 3-Octanon

hergestellt (siehe Kapitel 3.2). Diese Substanzen liegen in einem größeren Molmassenbereich (zwischen 86,1 und 128,2 g/mol) bzw. in einem größeren Dampfdruckbereich (zwischen 2 kPa für 3-Pentanon und 186 Pa für 3-Octanon¹²⁹ bei 20 °C), so dass deren Trennung üblicherweise mit Hilfe von einem Temperaturprogramm erfolgen würde. Die Konzentrationen der einzelnen Substanzen im Gasgemisch betragen für 3-Pentanon 1300 ng/L, für 2-Hexanon 1200 ng/L, für 2-Heptanon 800 ng/L und für 3-Octanon 600 ng/L. Bei beiden Säulen wurde 100 µL des Testgasgemisches über die Probenahmeschleife auf die Säulen gegeben. Abbildung 29 und 30 zeigen die Peakhöhendendiagramme der detektierten Substanzen nach Vortrennungen mittels einer Multikapillarsäule und einer MXT-Kapillarsäule.

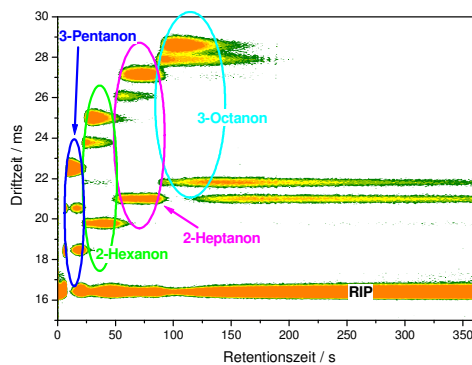


Abbildung 29: Isotherme Trennung ausgewählter Ketone mittels MCC

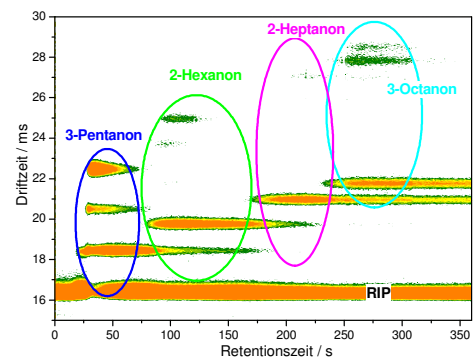


Abbildung 30: Isotherme Trennung ausgewählter Ketone mittels MXT-Kapillarsäule

Bei allen vier Ketonen treten jeweils drei Peaks auf, unter der mit höchster Wahrscheinlichkeit protongebundene Monomere und Dimere gehören, die noch massenspektrometrisch identifiziert werden müssen. Die Bildung dieser Peaks hängt von der Konzentration der Analyten ab. Die Wahrscheinlichkeit der Adduktbildung steigt mit der Analytkonzentration an. Die Formation der größeren Addukte kann in den topographischen Plots der Abb. 29 und 30 verfolgt werden. In Tabelle 8 sind die Mobilitäten der detektierten Komponenten zusammengefasst.

Tabelle 8: Retentionszeiten und Mobilitäten der getrennten Ketone

Substanz	MXT- Kapillarsäule				Multikapillarsäule			
	Reduzierte Mobilität [cm ² / Vs]			Reten- tionszeit [s]	Reduzierte Mobilität [cm ² / Vs]			Reten- tionszeit [s]
	Peak1	Peak2	Peak3		Peak1	Peak2	Peak3	
3-Pentanon	1,85	1,67	1,52	30	1,85	1,66	1,52	18
2-Hexanon	1,73	1,44	1,37	100	1,73	1,43	1,37	25
2-Heptanon	1,63	-	1,26	205	1,63	1,31	1,26	68
3-Octanon	1,56	1,23	1,19	283	1,57	1,23	1,20	98

Die reduzierten Mobilitäten der entsprechenden Peaks, die den vermessenen Analyten zuzuordnen sind, stimmen bei beiden Säulen gut überein. Dagegen zeigt sich erwartungsgemäß ein Unterschied in den Retentionszeiten der getrennten Ketone zwischen der Trennung mit der MCC und der MXT-Kapillarsäule.

Bei der MCC erfolgte eine Separation der Komponenten innerhalb von 100 s bei einer Flussrate von 50 mL/min und einer Säulentemperatur von 30°C. Eine vergleichbare Trennung konnte mittels MXT-Kapillarsäule unter isothermen Bedingungen erst bei einer Temperatur von 70°C (Abb. 30) – die für ein transportables Gerät noch akzeptierbar ist – mit einer Flussrate von 60 mL/min erfasst werden. Bei der Wanderung der einzelnen Substanzen durch die Säule nehmen die Peakbreiten im Fall der isothermen Trennung mit der Retentionszeit zu. Bei der MCC ist dieser Effekt deutlich kleiner als bei der MXT-Kapillarsäule. Die Trennung mittels MCC erfolgt bei kürzeren Retentionszeiten und somit in höheren Peakmaxima. Dies ist in dem Peakhöhendigramm daran zu erkennen, dass die Intensitäten der größeren Addukten bei der Trennung mittels der MCC deutlich größer sind.

Bei der MXT-Kapillarsäule kann eine schnellere Trennung und damit eine Reduktion der Peakverbreiterung durch Erhöhung der Säulentemperatur erreicht werden. Bei 180°C und einer Flussrate von 6 mL/min (optimaler Bereich der Linear-geschwindigkeit einer 15 m Kapillarsäule) wurde bei 3-Pentanon und 2-Hexanon eine höhere Peakintensität, als bei der Trennung mit den oben beschriebenen Trennparametern erreicht. 2-Heptanon und 3-Octanon konnten wegen der oben erwähnten Longitudinaldiffusion weiterhin nur in sehr kleinen Intensitäten detektiert werden. Mit der Erhöhung des Trägergasflusses bei dieser Temperatur wurde zwar

die Peakverbreiterung auch bei 2-Heptanon und 3-Octanon verkleinert, eine vollständige Trennung der Komponenten konnte aber auch hier nicht erfolgen.

Da die MCC schon bei einer Säulentemperatur von 30°C isotherm eine schnelle Trennung der ausgewählten Testsubstanzen bei geringen Peakverbreiterungen auch bei Substanzen mit großen Retentionszeiten gewährleistet, ist sie für on-line in-situ Analysen von Spurenkomponenten besser geeignet und wurde daher für die nachfolgenden Messungen eingesetzt.

4.1.3.3 Trennung von Wasser- und Analytmoleküle mittels MCC

Bei der on-line Atemluftanalyse mittels MCC-IMS werden 10 mL der Atemluft direkt auf die MCC injiziert, welche die einzelnen Komponenten auftrennt. Trotz der 100 % relative Feuchte der Proben wird vor der Injektion keine Abtrennung des Wassers der Proben durchgeführt. Jedoch wird der störende Effekt der Feuchte (siehe Kapitel 4.1.2) durch die Trennung mit der Multikapillarsäule verringert. In Abbildung 31 sind die ersten 35 Spektren der Analyse einer befeuchteten Testgasprobe mit Aceton dargestellt.

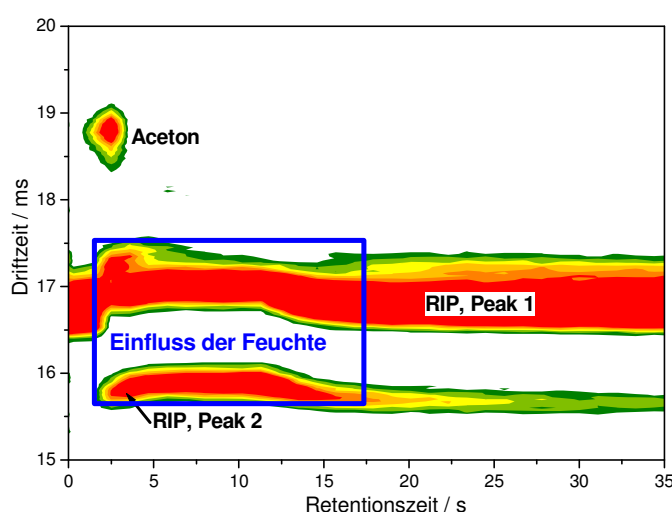


Abbildung 31: Peakhöhendendiagramm der ersten 35 Spektren des befeuchteten Testgases von Aceton bei Trennung mittels Multikapillarsäule

Der Peak von Aceton tritt nach ca. 2 Sekunden nach der Injektion der Probe auf die Säule auf. Gleichzeitig beginnt die Elution der Feuchte. Dies zeigt sich in der

Entstehung des hydratisierten Ammoniumpeaks. Daneben erfolgt eine Verschiebung sowohl des Reaktionsionenpeaks als auch des hydratisierten Ammoniumpeaks zu größeren Driftzeiten. Wegen des hohen Trägergasflusses der MCC von 100 mL/min eluiert die größte Menge an Feuchte schon innerhalb der nächsten 10 Sekunden, was die Zurückwanderung der Driftzeiten beider Peaks und die Absenkung der Intensität des hydratisierten Ammoniumpeaks zeigt. Die Zunahme des Reaktionsionenpeaks auf ca. 95 % des Maximums wird nach einer Retentionszeit von 20 s erreicht. Mit Hilfe dieses Prozesses gelingt die zeitliche Abtrennung des Wassers, so dass es nur am Anfang der Analyse einen negativen Einfluss auf das Signal verursacht.

Aus Abbildung 31 ist zu erkennen, dass trotz nahezu gleicher Retentionszeiten von Aceton und Wasser keine Peakverschiebung zu beobachten ist und der K_0 -Wert bei befeuchtetem Testgas ($K_0 = 1,80 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) dem bei unbefeuchtetem Acetontestgas ($K_0 = 1,81 \pm 0,02$) entspricht.

Der Einfluss des Wassers auf die Peakflächen der befeuchteten und der nicht befeuchteten Testgasproben von Aceton für unterschiedliche Konzentrationen sind in Abbildung 32 dargestellt. Der Vergleich der zwei Kurven zeigt, dass das Wasser auch im Fall der MCC eine Erhöhung der Nachweisgrenze von Aceton verursacht.

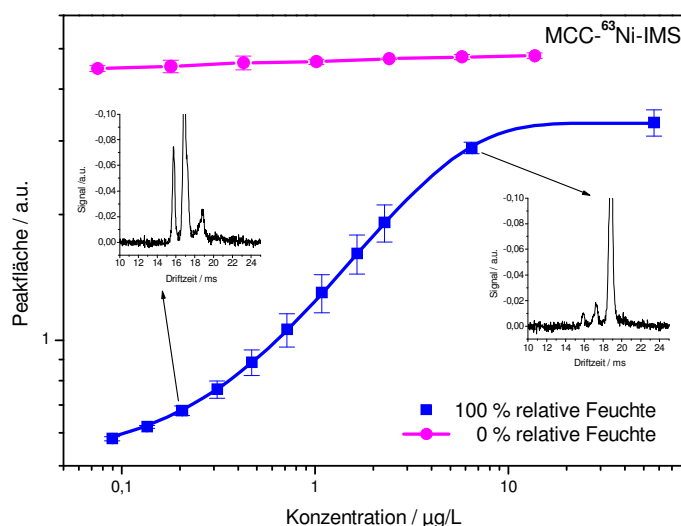


Abbildung 32: Kalibrationskurve der gesättigten Testgasproben von Aceton

In Abbildung 33 sind die ersten 35 Spektren einer Atemluftspektrenserie dargestellt. Es zeigt den gleichen Verlauf wie bei der gesättigten Testgasprobe und auch hier übt die Feuchte nur während der ersten 20 Sekunden der Analyse einen Einfluss auf die Ionenbildung aus.

Neben Aceton kann auch Ethanol in der Atemluftprobe anhand der charakteristischen Mobilität ($K_0 = 1,90 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) identifiziert werden. Die reduzierte Mobilität von Aceton ($1,80 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) zeigt, dass entsprechend der befeuchteten Testgasproben sich hier auch keine Veränderung der Mobilität von Aceton ergibt.

Dementsprechend ermöglicht die MCC eine on-line Abtrennung der Feuchte bei allen Atemluftmessungen.

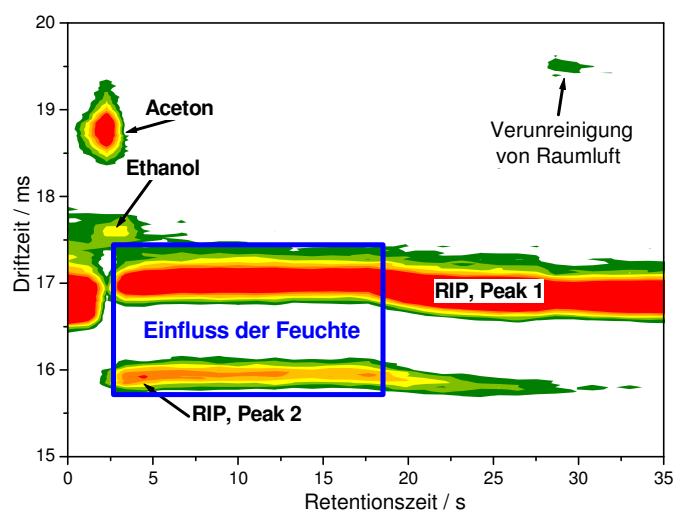


Abbildung 33: Peakhöhendigramm der ersten 35 Spektren einer Atemluftprobe bei Trennung mittels Multikapillarsäule

Aceton ist ein wichtiger Metabolit in der Atemluft, deren quantitative Veränderung ein Informationsträger bei der Diagnostik von Diabetes sein kann³⁷. Anhand der hier angewendeten Methode mittels MCC-IMS könnte eine schnelle, nichtinvasive Kontrolle der Diabetespatienten erfolgen.

4.1.4 Optimierung der Atemluftanalyse

Die Optimierung der Probenahme und der Messbedingungen wurde hauptsächlich in der Lungenklinik Hemer durchgeführt, um die Möglichkeiten zum Einsatz der on-line Atemluftanalyse in der klinischen Diagnostik berücksichtigen zu können. Es wurde ein Driftgasfluss von 100 mL/min und ein Trägergasfluss von 100 mL/min eingestellt. Unter diesen Bedingungen erfolgte innerhalb von 10 Minuten (500 Spektren) eine gute Trennung der Komponenten. Einige Messungen wurden zudem mit einem Trägergasfluss von 150 mL/min durchgeführt. Dabei war neben der immer noch ausreichenden chromatographischen Trennung eine Abnahme der Diffusion zu beobachten, was zu einem höheren Messsignal führte. Dies erlaubte eine sichere Detektion von Komponenten, bei denen das Signal/Rausch-Verhältnis mittels der 100 mL/min Trägergasflussrate gerade 2/1 betrug. Deswegen ist eine Flussrate von 150 mL/min als Trägergas besser geeignet. Außerdem wurden so die Analysezeiten verringert.

Die Temperatur der MCC lag isotherm bei 30 °C. Allerdings traten bei den Untersuchungen durch den Transport des Gerätes und die unterschiedlichen Umgebungstemperaturen Schwankungen im Bereich zwischen 30 und 32 °C auf.

Die Trägergasflussrate sowie die Temperatur der chromatographischen Säule haben einen erheblichen Einfluss auf die Retentionszeiten der Analyten, so dass die bei unterschiedlichen Parametern ermittelten Spektren nicht verglichen werden können und eine Identifizierung unmöglich machen würden. Um trotzdem die Vergleichbarkeit der Retentionszeiten bei den verschiedenen Trägergasflüssen und Temperaturen zu gewährleisten, wurden die Messergebnisse auf einen Trägergasfluss von 100 mL/min und eine Säulentemperatur von 30 °C normiert.

4.1.5 Normierung

Zur Bestimmung des Einflusses der Temperaturschwankung der Säulenheizung auf die Messergebnisse bei der Trennung mittels Multikapillarsäule wurden Testgase von 5-Nonanon (0,15 µg/L), Menthol (5,5 µg/L) und Longifolen (2,9 µg/L) wie in Kapitel 3.2 beschrieben hergestellt. Die Retentionszeiten der Substanzen wurden jeweils bei 30, 31 und 32 °C mit einer Trägergasflussrate von 100 mL/min und 150 mL/min aus

den IMS-Chromatogrammen bestimmt. Um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, wurden jeweils Dreifachbestimmungen durchgeführt.

Tabelle 9 zeigt die Mittelwerte der Retentionszeiten der Messungen (t_r) und deren Standardabweichung (sd) für die unterschiedlichen Kombinationen von Flussrate und Säulentemperatur. Die Standardabweichungen der Retentionszeiten lagen zwischen 0,9 % (bei Longifolen) und 4,8 % (bei 5-Nonanon) und nahmen mit zunehmender Retentionszeit ab, da dann Abweichungen, die durch den manuellen Start der Datenaufnahme begründet sind, geringeren Einfluss hatten.

Tabelle 9: Retentionszeiten bei unterschiedlicher Flussrate und Säulentemperatur

Substanz	Retentionszeit [s]											
	30 °C				31 °C				32 °C			
	100 mL/min		150 mL/min		100 mL/min		150 mL/min		100 mL/min		150 mL/min	
	t_r [s]	sd [%]	t_r [s]	sd [%]	t_r [s]	sd [%]	t_r [s]	sd [%]	t_r [s]	sd [%]	t_r [s]	sd [%]
5-Nonanon	130	4,8	111	4,7	125	3,6	107	4,6	123	3,8	105	2,2
Menthol	335	3,6	278	3,8	319	2,9	266	2,1	304	3,1	252	3,5
Longifolen	1308	1,9	1029	1,0	1170	1,3	957	1,2	1050	1,4	876	0,9

Aus diesen Messergebnissen folgt bei jeder Temperatur ein linearer Zusammenhang zwischen den Retentionszeiten bei den zwei verschiedenen Flussraten. Dabei ergibt sich ein Faktor von $f_1 = 1,20 \pm 0,04$. Die Retentionszeiten bei einem Trägergasfluss von 150 mL/min wurden mit Gleichung 48 auf 100 mL/min normiert:

$$t_{r\ 100\ \text{mL/min}} = t_{r\ 150\ \text{mL/min}} * 1,2. \quad (51)$$

Durch die Korrektur ergibt sich eine prozentuale Abweichung von 2,5 %.

Außerdem ergibt sich aus den Messungen folgender Korrekturfaktor f_2 für den Einfluss der Temperatur:

$$t_{r\ 30^\circ\text{C}} = t_{r2} + t_{r2} * f_2 * (T_2 - T_{30^\circ\text{C}}), \quad (52)$$

wobei t_{r2} die aus den Messsignalen ermittelte Retentionszeit bei der Säulentemperatur T_2 ist. Die Veränderung der Retentionszeiten bei den untersuchten Temperaturen folgt keinem linearen Verlauf, da f_2 mit zunehmenden Retentionszeiten ansteigt.

Anhand der Daten von Tabelle 9 zeigt sich für f_2 der folgende lineare Zusammenhang:

$$f_2 = 7 \cdot 10^{-5} \cdot t_{r2} + 0,024. \quad (53)$$

Bei dieser Korrektur ergibt sich ein Fehler unter 4 % für die korrigierten Retentionszeiten, so dass die bei unterschiedlichen Temperaturen ermittelten Daten miteinander verglichen werden konnten.

4.1.6 Reproduzierbarkeit der Atemluftanalyse

Bei der Analyse mittels IMS kann die reduzierte Mobilität K_0 der detektierten Komponenten zur Identifizierung der Komponenten verwendet werden. Im Fall der Atemluftanalyse kommt Aceton – das mittels IMS leicht zu bestimmen ist - bei allen Personen vor. Aus diesem Grund wurde das in der Atemluft detektierte Aceton genutzt, um die Reproduzierbarkeit des eingesetzten Messsystems für die Atemluftanalyse zu überprüfen.

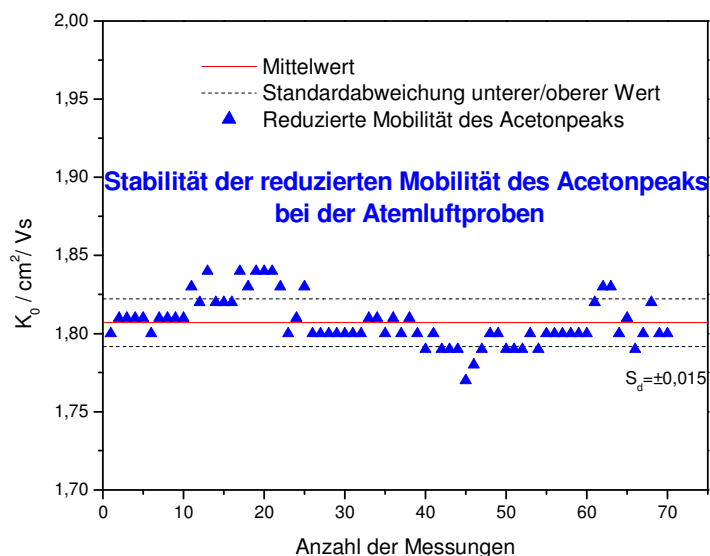


Abbildung 34: Überprüfung der Driftzeitstabilität von Aceton bei der Atemluftmessungen

Abbildung 34 zeigt die berechneten reduzierten Mobilitäten der von der Atemluft von 72 Kontrollpersonen detektierten Acetonpeaks. Der Mittelwert der K_0 -Werte liegt bei 1,81 cm^2/Vs mit einer Standardabweichung von $\pm 0,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, was den bei Testgasproben von Aceton ermittelten Werten entspricht.

In der Spurengasanalyse ist eine quantitativ gleich bleibende Probenahme besonders wichtig. Nicht nur das Ergebnis der quantitativen Analyse, sondern auch

der Nachweis der Komponenten kann durch ein schwankendes Probenvolumen beeinflusst werden. Im Probenahmeprozess der im Kapitel 3.5 beschriebenen on-line Atemluftanalyse wird immer ein festes Volumen von 10 mL der Ausatemluft in das System geleitet. Das Analysegerät muss nun bei gleicher Konzentration - nicht nur bei reinen Testsubstanzen, sondern auch bei komplexen, realen Proben die gleiche Signalintensität liefern. Dies wurde anhand der Peakfläche des in der Atemluft detektierten Acetonpeaks überprüft. Die Acetonkonzentration der Atemluft gesunder Personen hängt von der Menge und Qualität der konsumierten Lebensmittel und von der seit der Mahlzeit vergangenen Zeit ab. Innerhalb einer kurzen Zeitspanne von etwa 30 Minuten ist die Acetonkonzentration in der Atemluft stabil. Deswegen wurden Wiederholungsmessungen während dieses Zeitraums am gleichen Probanden durchgeführt.

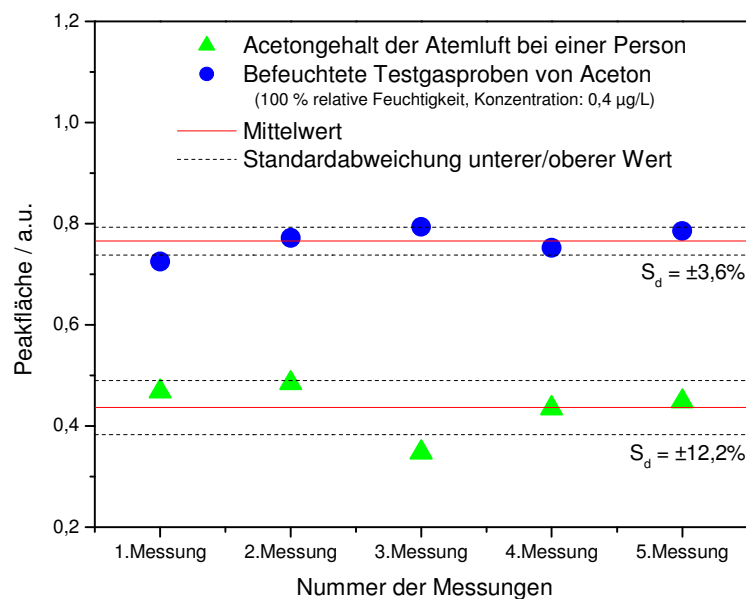


Abbildung 35: Überprüfung der Stabilität der detektierten Acetonpeaks bei befeuchteten Testgasproben und bei realen Atemluftproben

Parallel wurde die Stabilität der im Kapitel 4.1.3.3 diskutierten, mit Wasser gesättigten Testgasproben von Aceton überprüft. Die Peakflächen der in den Atemluftproben und in den Testgasen detektierten Acetonpeaks bei den verschiedenen Messpunkten der Wiederholungsmessungen sind in Abbildung 35 dargestellt.

Die Standardabweichungen aus diesen Wiederholungsmessungen liegen für Testgasproben bei 3,6 % und für Atemluftproben bei 12,2 %. Die größere Abweichung bei den Atemluftproben liegt einerseits an der komplexeren Matrix der Ausatemluft und andererseits an dem unterschiedlichen Auspusten der Probanden bei der Probenahme. Die Atemluft besteht neben eingatmeter Raumluft, welche am Anfang des Ausatmens aus dem oberen Respirationstrakt stammt, auch aus am Ende des Ausatmens abgegebener alveolarer Luft. Letztere stammt aus dem unteren Teil der Lunge (Lungenbläschen) und trägt die hinsichtlich der Atemluftanalyse wichtigen Informationen. Das Verhältnis dieser Lufttypen in der Probe kann die Messergebnisse beeinflussen. Um bei der Probenahme eine maximale Menge der alveolaren Luft zu gewinnen, wurde die Probe am Ende des Auspustens genommen. Die Probenahme wurde den Probanden erklärt und vor der eigentlichen Messung mehrmals geübt. Dennoch sind Schwankungen nicht nur von Proband zu Proband sondern auch von Probenahme zu Probenahme bei jedem einzelnen Probanden nicht zu vermeiden.

Es besteht die Möglichkeit, das Ende des Auspustens mit analytischen Methoden genau zu bestimmen. Einige Versuche basieren auf der quantitativen Bestimmung des CO₂-Gehalts und der Messung der Atemlufttemperatur. Da alveolare Luft mehr CO₂ enthält und höhere Temperaturwerte besitzt als die Atemluft der oberen Atemwege, wachsen die CO₂-Konzentration und die Temperatur der ausgeatmeten Luft während des Ausatmens. In Rahmen dieser Arbeit konnten die erwähnten Techniken nicht zur Optimierung der Probenahme eingesetzt werden, in der Zukunft soll deren Anwendung die Präzision der Messungen jedoch verbessern.

4.2 On-line Analyse der durch Bakterien produzierte Metaboliten

Im Allgemeinen gehört eine mikrobielle Besiedlung zum normalen Zustand des Körpers. So sind aerobe und anaerobe Bakterien und Pilze, die regelmäßig anzutreffen sind und die der menschliche Organismus toleriert, als Normalflora anzusehen. Der Zustand der Normalflora hängt von den physiologischen Gegebenheiten des Makroorganismus (u.a. Allgemeinzustand, Alter, Schwangerschaft) ab und wird durch äußere Faktoren wie Ernährung, bestimmte Lebensgewohnheiten und die Umwelt des Menschen beeinflusst. Die normale

Standortflora füllt eine Schutzfunktion des Körpers durch Hemmung der Ansiedlung pathogener Mikroorganismen aus. Ebenso verhindert ein intaktes Abwehrsystem des Körpers die Vermehrung pathogener Bakterien und somit die Entstehung von Infektionen. Bei Änderung der Standortmilieus oder der Abwehrlage können Bakterien eine pathogene Bedeutung erlangen. Die Schleimhaut des Bronchialsystems allerdings weist normalerweise keine bakterielle Besiedlung auf, so dass der Nachweis von Bakterien in den Atemwegen diagnostisch relevant ist.

Aufgrund der medizinischen und mikrobiologischen Erfahrungen verfügen sowohl die unterschiedlichen Bakteriumskulturen als auch der Raum der an infektiösen Respirationserkrankungen leidenden Patienten über einen charakteristischen Geruch, welcher auf eine Produktion von flüchtigen Substanzen hinweist. Die während einer Infektion im Respirationstrakt auftretenden Keime wachsen hauptsächlich auf der Schleimhautmembran der Epithelzellen des Atemwegs- und Lungengewebes. Die gleichen Bakterienarten lassen sich als Reinkultur auf Nährböden kultivieren, welche die entsprechenden Substrate und Wachstumsfaktoren enthalten. Darüber hinaus werden die zum optimalen Wachstum benötigten Umweltbedingungen, wie Temperatur, CO₂-Gehalt, Feuchtigkeit, usw. so eingestellt, dass die im natürlichen Milieu existierenden metabolischen Wege in der künstlichen Umgebung analog, meistens mit den gleichen Endprodukten, ablaufen können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Emission der im Kapitel 3.6 beschriebenen, ausgewählten Bakterienspezies in künstlichen Kulturen ermittelt, und deren Muster wurde mit den Atemluftspektren der Patienten mit den im Abschnitt 3.5 erwähnten infektiösen Lungenkrankheiten verglichen. Die Zielsetzung dieser Untersuchungen war die Evaluierung der Anwendungsmöglichkeit der Atemluftanalyse als eine bakterienspezifische, diagnostische Methode bei den unterschiedlichen Infektionserkrankungen des Respirationstraktes.

Um die Ergebnissen vergleichen zu können, erfolgte eine analoge Auswertung der Spektrenserien sowohl bei der Bakterien- als auch bei den Atemluftproben. Bei der Übereinstimmung von zwei Peaks in zwei unterschiedlichen Proben wurde eine prozentuale Abweichung der Retentionszeiten von 5% - aufgrund der Standardabweichungen der Retentionszeiten von Testsubstanzen toleriert (s. Kapitel

4.1.5). Für die Abweichung der Mobilitäten wurde $\pm 0,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ gemäß der Stabilität des ^{63}Ni -IMS bei den gemessenen Testsubstanzen akzeptiert (s. Kapitel 4.1.1).

4.2.1 Nährböden

Die für die Züchtung der Bakterien verwendeten Nährböden (siehe Kapitel 3.1) können ebenfalls flüchtige Komponenten emittieren, welche die Analyse stören können. Deswegen sollte ein über wenig Matrix verfügendes Medium gewählt werden, welches gleichzeitig das optimale Wachstum der Bakterien sichert. Aus diesem Grund wurden im Hygiene-Institut in Iserlohn zwei unterschiedliche Nährmedien zur Verfügung gestellt, deren Emissionen bestimmt wurden. Die Messungen wurden wie es im Kapitel 3.6 beschrieben ist durchgeführt. Beide Medien waren bakteriell unspezifisch und damit für die Züchtung von den ausgewählten Stämmen – ausgenommen *Haemophilus influenzae* – geeignet. Abbildung 36 bis 38 zeigen die Emissionsspektren der vermessenen Nährmedien, wobei jeweils die Raumluftwerte subtrahiert wurden.

Das IMS-Chromatogramm vom CPS Medium weist einen Peak (Peak 2, $K_0 = 1,63 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) mit großer Intensität auf, welcher durch die ganze Spektrenserie auftritt und für ca. 70 Sekunden über die maximale Ionenmenge verfügt. Dieses deutet auf eine hochkonzentrierte Verbindung hin, die vermutlich eine starke Protonenaffinität aufweist, welche sich darin zeigt, dass mit deren Abnahme ein Peak von einer anderen Komponente (Peak 1, $K_0 = 1,97 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 250 \text{ s}$) mit größerer Mobilität zu beobachten ist.

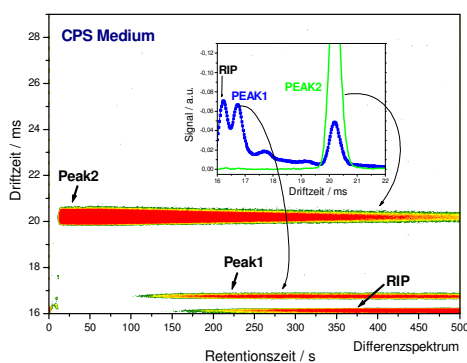


Abbildung 36: Emission des CPS Mediums

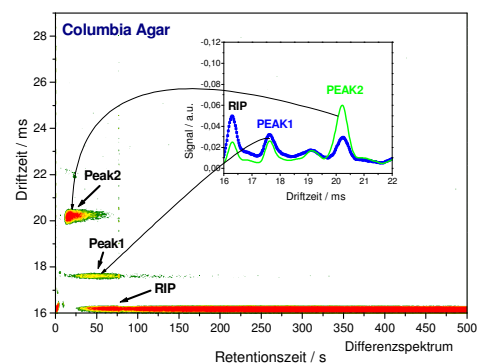


Abbildung 37: Emission des Columbia Agars

Neben einer so starken Emission können Spurenkomponenten nicht nachgewiesen werden, weshalb dieses Medium nicht weiter verwendet wurde.

Das Peakhöhendigramm von Columbia Agar weist ebenso zwei Peaks auf (Abb. 37). Die Mobilitäten des zweiten Peaks (Peak 2, $K_0 = 1,63 \text{ cm}^2 / \text{Vs}$, $t_r = 30 \text{ s}$) bei diesen zwei Medien stimmen überein, was auf die gleiche Substanz hindeutet. Der Unterschied zeigt sich nur in der emittierten Substanzmenge. Im Fall vom CPS Agar kommt diese Verbindung in größerer Konzentration vor, weil Peak 2 während der ganzen Analyse detektierbar ist. Beim Columbia Agar ist dieser Peak nur am Anfang der Spektrenserie anwesend, was auf eine viel geringere Substanzmenge hinweist. Der im Columbia Agar detektierte andere Peak (Peak 1, $K_0 = 1,87 \text{ cm}^2 / \text{Vs}$, $t_r = 42 \text{ s}$) verfügt über eine geringere Intensität.

Bei der Auswahl muss auch berücksichtigt werden, dass die Bakterien unter solchen Bedingungen kultiviert werden sollen, welche sie zum idealen Wachstum bringt. Beide Medien verfügen über komplexere Zusammensetzungen, die sich dem natürlichen Milieu der Bakterien annähern. Somit besteht eine Vergleichbarkeit der produzierten Metaboliten zwischen Reinkultur und menschlichem Körper. Aus dem Grund der zu großen Emission des CPS Mediums wurde Columbia Agar als Nährboden für die Züchtungen gewählt.

Haemophilus influenzae verfügt über spezielle Wachstumskriterien und benötigt Hemin (thermostabilen Komplex aus Protoporphyrin) sowie NAD/NADP (Nikotin-Adenin-Dinukleotid/~Phosphat) im Nährboden.

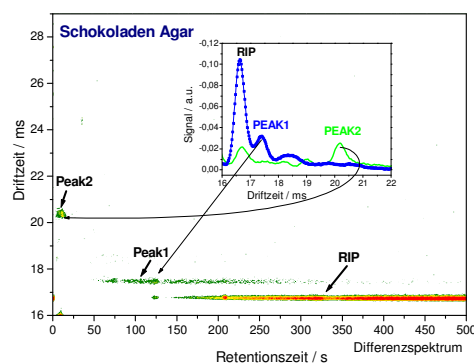


Abbildung 38: Emission des Schokoladen-Agars

Die Kultivierung erfolgt deshalb auf einem speziellen Agar, dem so genannten Schokoladen-Agar, welcher diese Bestandteile enthält. Abbildung 38 zeigt das IMS-Chromatogramm von der Emission des Schokoladen-Agars.

Am Anfang der Spektrenserie ist hier ebenso ein Peak (Peak 1) mit einem K_0 -Wert von $1,63 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ zu finden. Diese Mobilität ist mit den beiden vermessenen Agar-Arten identisch, allerdings stimmt die Retentionszeit ($t_r = 10 \text{ s}$) nicht überein, so dass es sich in diesem Fall nicht um die gleiche Substanz wie beim CPS und beim Columbia Agar handeln kann. Daneben weist der 2D-Plot noch einen zusätzlichen Peak ($K_0 = 1,92 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 120 \text{ s}$) auf, dessen Intensität jedoch ebenfalls gering ist, so dass dieses Medium für die spätere Analyse verwendet werden kann.

4.2.2 Bakterien

Die Probenahme und Emissionsmessungen der gezüchteten Bakterienkulturen wurden gemäß Kapitel 3.6 durchgeführt. Von den unten dargestellten Spektren wurden die sowohl von den Raumluftmessungen als auch von den Nährböden bestimmten Blindwerte subtrahiert.

Um die ermittelten Daten übersichtlicher darstellen zu können, wurden den einzelnen Bakterien Abkürzungen zugeordnet. Darüber hinaus wurden die einzelnen Peaks nummeriert, damit sie sich besser vergleichen lassen und eindeutiger angegeben werden können. Die reduzierten Mobilitäten und die Retentionszeiten der in den Emissionsspektren der verschiedenen Bakterien gefundenen Peaks sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

Einige Bakterienspezies produzieren durch ihre Urease-Aktivität in der Hydrolyse von Harnstoff neben CO_2 auch Ammoniak, so dass bei *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Haemophilus influenzae* das IMS-Chromatogramm durch Ammoniak hervorgerufene Peaks aufweist.

Tabelle 10: Reduzierte Mobilitäten und die Retentionszeiten der von den Emissionsspektren ermittelten Peaks

Bakterium	Bezeichnung	Peak1 (01)		Peak2 (02)		Peak3 (03)		Peak4 (04)		Peak5 (05)	
		K_0 [$\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$]	t_r [s]	K_0 [$\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$]	t_r [s]	K_0 [$\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$]	t_r [s]	K_0 [$\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$]	t_r [s]	K_0 [$\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$]	t_r [s]
<i>Staphylococcus aureus</i>	B-Sa	1,86	33								
<i>Staphylococcus epidermalis</i>	B-Se	1,85	34	1,79	25	1,66	9				
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	B-Sp	1,72	35								
		1,54	35								
		1,39	35								
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B-Sb	1,82	5	1,65	10	1,73	25				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B-Kp	1,85	27	1,67	79						
		1,53	27								
		1,38	27								
<i>Enterobacter aerogenes</i>	B-Eb	1,86	5	1,68	11	1,87	29	1,54	53		
						1,55	29				
						1,36	29				
<i>Escherichia coli</i>	B-Ec	1,76	35	1,72	50	1,41	80	1,33	129	1,28	327
<i>Serratia marcescens</i>	B-Sm	1,91	9	1,93	23	1,83	60	1,66	45	1,55	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B-Pa	1,94	34	1,77	21	1,61	30	1,65	108	1,48	147
<i>Haemophilus influenzae</i>	B-Hi	1,77	8	1,66	10	1,86	31				
<i>Candida albicans</i>	B-Ca	1,80	33	1,81	48	1,78	64	1,47	119	1,73	293
		1,64	33								

Die in Abbildung 39 dargestellte gestrichelte Linie zeigt das klassische Mobilitätsspektrum mit den Peaks des hydratisierten Protons (RIP, $K_{01} = 2,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) und hydratisierten Ammoniumions (RIP, $K_{02} = 2,15 \text{ cm}^2/\text{Vs}$), letzteres resultiert aus Spuren von Ammoniak. Dadurch, dass Ammoniak eine starke Protonenaffinität aufweist, zeigt das von der Bakterienemission stammende Spektrum (blaue Linie in Abbildung 39) nur einen sehr kleinen $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ Peak. Zusätzlich treten zwei große Peaks mit kleineren Driftzeiten auf, die aus dem produzierten Ammoniak resultieren. Aus den großen Mobilitäten dieser Peaks lässt sich schließen, dass es sich bei dem ersten Peak ($K_{01} = 2,23 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) um das Ammoniumion und bei dem zweiten Peak ($K_{01} = 2,07 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) um einen Addukt aus den hydratisierten Protonen und Ammonium handelt.

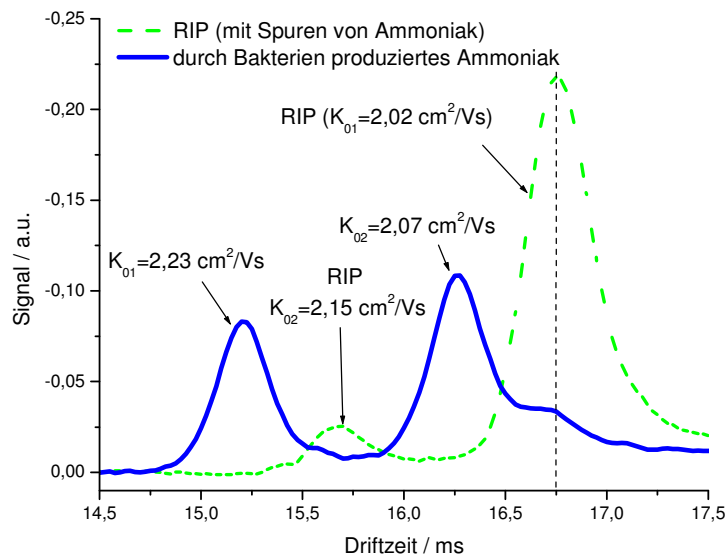


Abbildung 39: Detektion von Ammoniak bei Urease-positiven Bakterien

Um die verschiedenen Keime besser vergleichen zu können, werden im Folgenden die einzelnen Bakterienfamilien diskutiert.

Staphylokokken

Von den ausgewählten pathogenen Bakterien gehören *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermalis* in die Gruppe der Staphylokokken. Staphylokokken sind gram-positive Bakterien, die über Oxidasen und Katalasen verfügen und sich durch Hämolyse und Koagulase Eigenschaften unterscheiden lassen. Die Emission der *Staphylococcus epidermalis* Kultur ist in Abbildung 40 dargestellt.

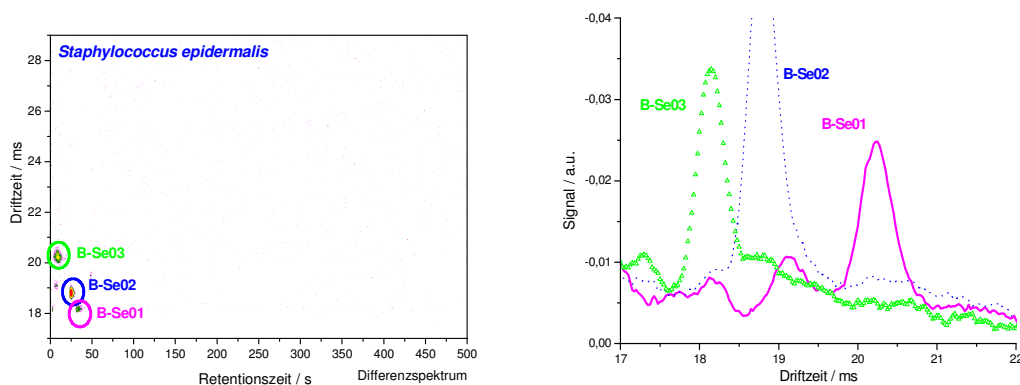


Abbildung 40: Emission der *Staphylococcus epidermalis*-Kultur

Das 2D-IMS Chromatogramm weist einen Peak (B-Sa01) auf, welcher in den Emissionsspektren von *Staphylococcus epidermalis* auch zu finden ist (B-Se01). Abbildung 41 zeigt, dass die zwei Peaks in der Mobilität, den Retentionswerten (s. Tabelle 10) und den Signalhöhen gut übereinstimmen. Dies deutet auf eine durch beide Staphylokokken produzierte Komponente hin, was auf die Übereinstimmung mehrerer metabolischen Prozesse der zwei Bakterienspezies zurückzuführen ist.

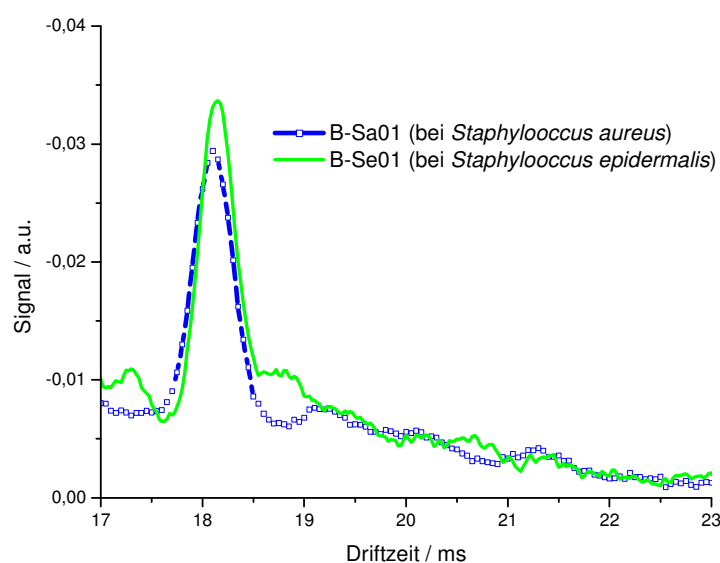


Abbildung 41: Vergleich zweier durch ausgewählten Staphylokokken- Spezies produzierten Komponenten

Streptokokken

Zu dieser Gruppe gehören *Streptococcus pneumoniae* und *Streptococcus agalactiae*, deren Emissionsspektren in Abbildung 42 und 43 dargestellt sind. Entsprechend der bereits erwähnten Staphylokokken, verfügen diese Bakterien auch über eine „coccoïd“, runde Form und sind gram-positiv.

Die Peakhöhendigramme der zwei Streptokokken weisen unterschiedliche Muster auf. Bei *Streptococcus pneumoniae* ist eine Komponente (B-Sp01) zu finden, die über drei Peaks verfügt.

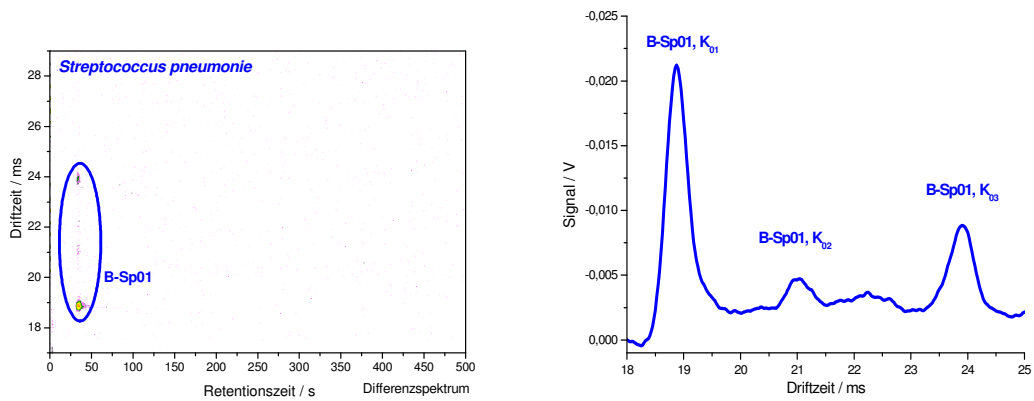


Abbildung 42: Emissionsspektren der *Streptococcus pneumoniae* -Kultur

Bei der Betrachtung der Veränderung der Peakmaxima der ersten und zweiten Peaks von B-Sp01 im GC-Profil lässt sich zeigen, dass diese Peaks einem klassischen Monomer-Dimer Muster folgen. Die Intensität des Monomers ($K_{01} = 1,72 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) wächst zuerst, dann eluieren die größeren Addukte ($K_{02} = 1,54 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) und ($K_{03} = 1,36 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) zusammen. Anschließend ist nur noch der Monomer zu erkennen.

Das Peakhöhendendiagramm von *Streptococcus agalactiae* hingegen weist ein ähnliches Muster wie *Staphylococcus epidermalis* auf, wobei der B-Sb02 Peak mit dem B-Se03 Peak eine Übereinstimmung zeigt.

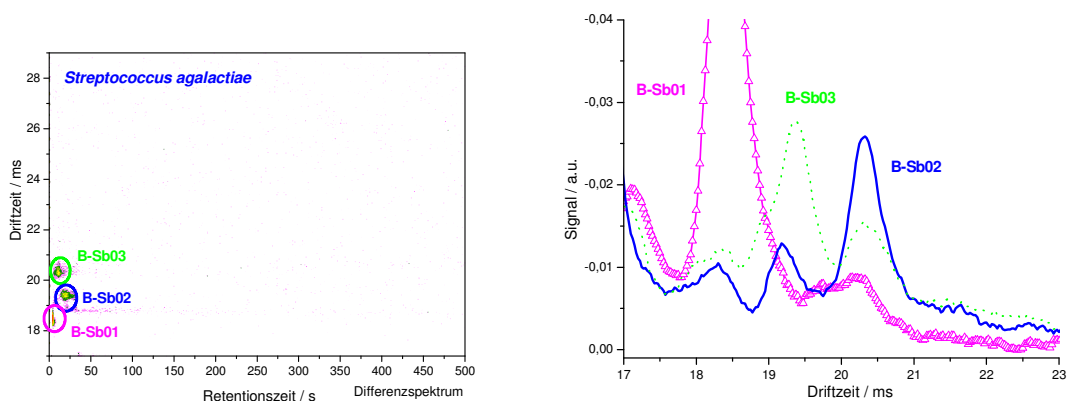


Abbildung 43: Emissionsspektren der *Streptococcus agalactiae* -Kultur

Enterobacteriaceae

Zu dieser Familie gehören gram-negative, stäbchen-förmige Bakterien, wie *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* und *Serratia marcescens*. Für diese Spezies ist ein oxidase-negatives Verhalten und die Glukose-Fermentation charakteristisch, wobei der Abbau der Glukose über unterschiedliche metabolische Wege ablaufen kann. Abbildung 44 zeigt die Emission der *Enterobacter aerogenes*- Kultur, die hinsichtlich ihrer metabolischen Eigenschaften *Klebsiella pneumoniae* am ähnlichsten ist.

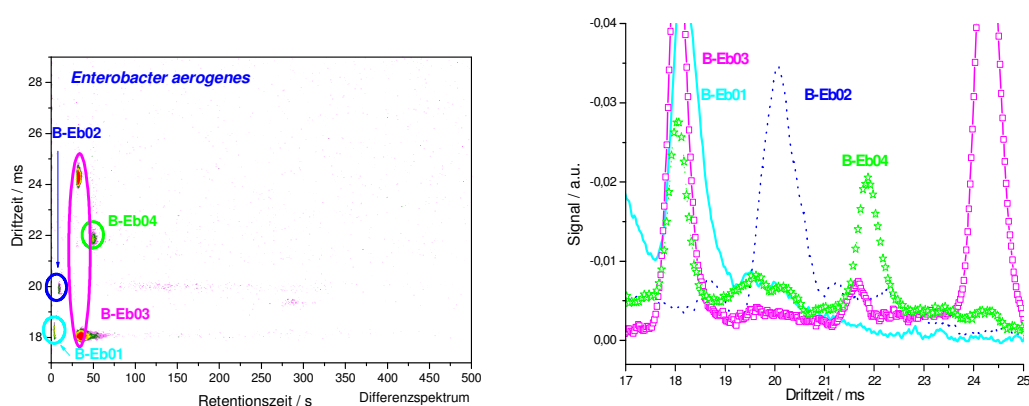


Abbildung 44: Emissionsspektren der *Enterobacter aerogenes* - Kultur

Beim Vergleich der auftretenden Peaks weisen beide Emissionsspektren eine Komponente auf, die über drei Peaks verfügt und eine große Intensität aufweist (Abb. 44). Sowohl die Mobilitäten des einzelnen Peaks von B-Eb03 ($K_{01}= 1,87 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{02}= 1,55 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{03}= 1,36 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) bei *Enterobacter aerogenes* und des Peaks von B-Kp01 ($K_{01}= 1,85 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{02}= 1,53 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{03}= 1,38 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) bei *Klebsiella pneumoniae*, als auch die Retentionszeitwerte ($t_r = 29 \text{ s}$ bei B-Eb03 und $t_r = 27 \text{ s}$ bei B-Kp01) zeigen eine gute Übereinstimmung. Dieses bestätigt, dass in beiden Fällen nur eine Verbindung relevant ist. Der Charakter dieser Verbindung ist ähnlich der durch *Streptococcus pneumoniae* produzierten B-Sp01 Substanz. Allerdings zeigen die unterschiedlichen Mobilitäten der Addukte, dass es sich in diesem Fall vermutlich um zu einer Substanzklasse gehörende, aber verschiedene Verbindungen handelt. Die Intensitäten dieser Peaks sind in den drei Kulturen unterschiedlich, was an der produzierten Substanzmenge der verschiedenen Bakterien liegen kann.

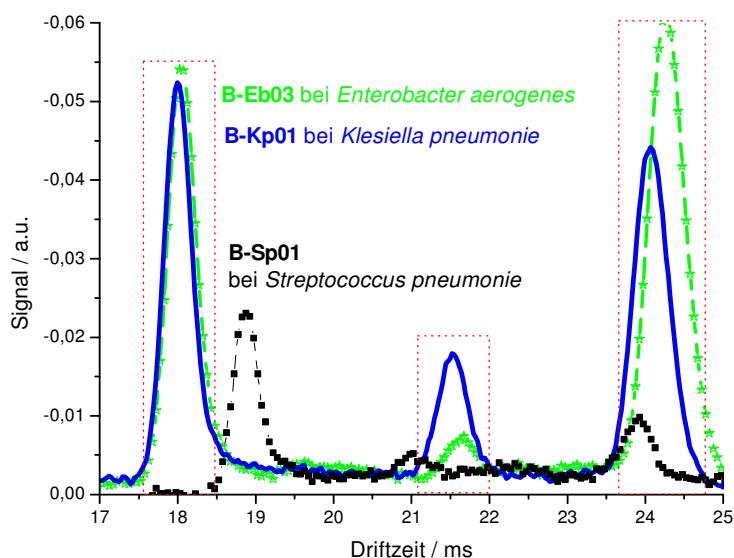


Abbildung 45: Die durch *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* und *Streptococcus pneumoniae* emittierten Komponenten

Das IMS-Chromatogramm von *Escherichia coli* (Abb. 46) zeigt ein ganz anderes Muster als die oben genannten zwei Bakterien der Enterobacteriaceae. *E. coli* wächst nur in Anwesenheit von Fettsäuren als einziger Kohlenwasserstoffquelle. Wenn diese Fettsäuren länger als 12 oder mehr Kohlenstoffatome sind, werden sie durch den so genannten β -Oxidationsmechanismus degradiert. In diesem Abbaupfad wird eine Reihe von homologen Substraten durch homologe Intermediate oxidiert¹³¹.

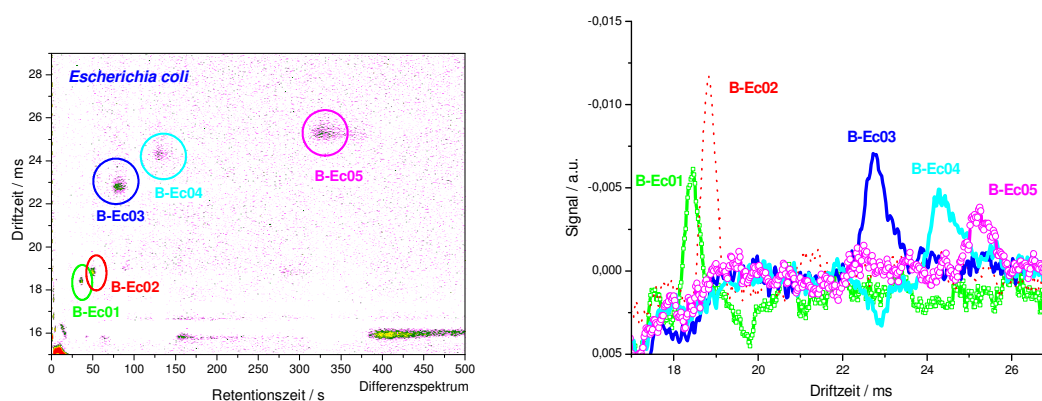


Abbildung 46: Emissionsspektren der *Escherichia coli* - Kultur

Die Emissionsspektren weisen dementsprechend neben den kleineren, flüchtigen Substanzen auch Peaks (B-Ec04, $K_0 = 1,33 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ und B-Ec05, $K_0 = 128 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) mit größeren Retentionszeiten ($t_{r \text{ B-Ec04}} = 129 \text{ s}$ und $t_{r \text{ B-Ec05}} = 327 \text{ s}$) auf. Die

detektierten Komponenten verfügen auch bei den größeren Driftzeiten über nur einen Peak (Monomer). Darüber hinaus assoziieren größere Retentionszeitwerte mit kleineren Mobilitäten, was ein charakteristisches Merkmal homologischer Reihen ist. Bei der isothermischen Trennung ist das Verhältnis zwischen der Masse der Substanzen und der Retentionszeiten nahezu logarithmisch. Würden die Mobilitäten in Abhängigkeit der Retentionszeit in dem topographischen Plot von *E. coli* aufgetragen, zeigten die drei letzten Peaks ebenso einen logarithmischen Ablauf. Die Intensität der auftretenden Peaks ist kleiner als die der bei den anderen Bakterienarten detektierten Peaks und weist kleinere Abweichungen auf.

Im Hinblick auf die metabolischen und enzymatischen Prozesse¹³² verfügt *Serratia marcescens*, welches im Genus *Serratia* gehört, über die wenigsten Übereinstimmungen mit den anderen Genera der Familie Enterobacteriaceae. Dementsprechend können die beobachteten Peaks nicht den vorgekommenen Peaks in den Emissionen der anderen examinierten Spezies dieser Gruppe (s. Tabelle 10) zugeordnet werden.

Pseudomonas aeruginosa gehört zum Genus der Pseudomonaden. Ein Unterscheidungsmerkmal zu den bisher untersuchten Bakterienarten ist, dass dieses Genus keine additionalen, organischen Wachstumsfaktoren benötigt, welche eine Besiedlung von zahlreichen Materialien und damit eine schnelle Verbreiterung erlauben. Unterschiedliche Tests beruhen auf der Produktion von Pigmenten, Verwendung organischer Säuren, hydrolytischer Enzymaktivität und der Decarboxylase von Aminosäuren bei *Pseudomonas aeruginosa*¹³³ zur Abgrenzung zu anderen Pseudomonaden. Als einziges Mitglied des Genus der Pseudomonaden weist die Emissionsspektrenserie von *Pseudomonas aeruginosa* keinen Peak auf, der in der Emission von anderen vermessenen Bakterienspezies auftritt (Abbildung 47). Die detektierten Peaks - außer dem B-Pa05 Peak - kommen hauptsächlich bei kleineren Retentionszeiten vor und verfügen über kleinere Intensitäten.

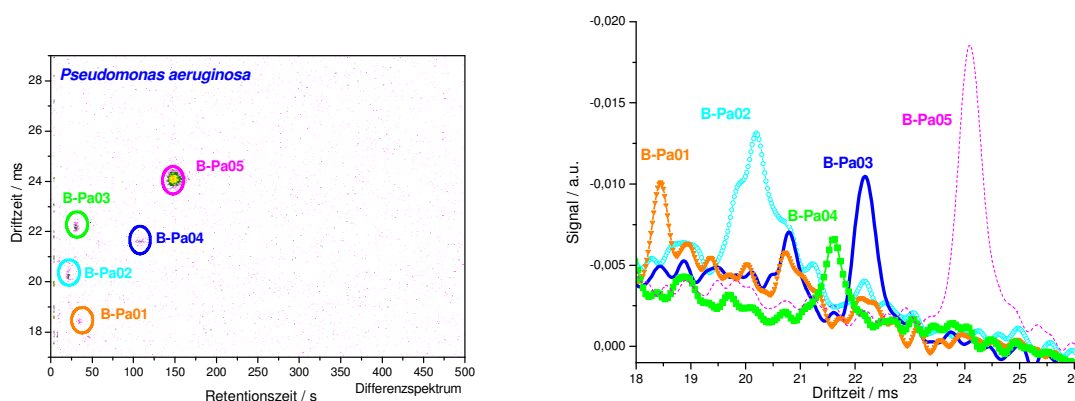


Abbildung 47: Emissionsspektren der *Pseudomonas aeruginosa*- Kultur

Die letzte untersuchte Bakterienspezies, *Haemophilus influenzae*, ist Mitglied einer neuen Familie, der so genannten Pasteurellaceae. Aufgrund der anderen Metabolisierungseigenschaften kann sie nicht den anderen ausgewählten Bakterien zugeordnet werden. Wie es im Kapitel 3.6 beschrieben wurde, benötigt dieses Bakterium spezielle Wachstumsfaktoren, welche bei der Identifikation auch eine Rolle spielen.

Im Peakhöhendigramm von *Haemophilus influenzae* tritt der B-Hi02, ($K_0 = 1,66 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 9 \text{ s}$) Peak auf, der im für die Züchtung dieses Bakteriums verwendeten Schokoladen-Agar auch zu detektieren ist. Aus diesem Grund kann dieser Peak dem Emissionsspektrum des Nährbodens und damit dem Blindwert zugeordnet werden und wird in Tabelle 10 in Form kursiver Zahlen dargestellt.

Der B-Hi03 Peak ($K_0 = 1,86 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 31 \text{ s}$) stimmt trotz des unterschiedlichen verwendeten Nährbodens mit den B-Sa01 und B-Se01 Peaks überein, die bei den Staphylokokken auftreten (Abb. 48).

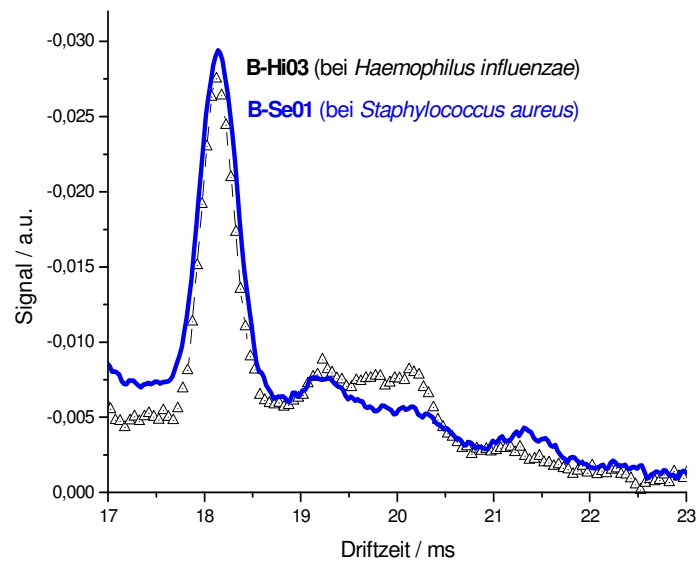
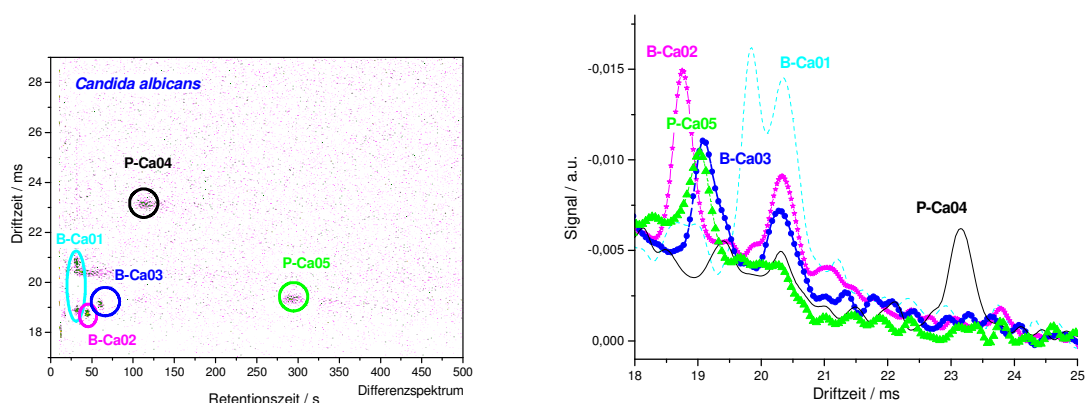


Abbildung 48: Durch *Haemophilus influenzae* und *Staphylococcus aureus* produzierte Komponenten

Der ausgewählte pathogene Pilz, *Candida albicans*, ist ein zweigestaltiger Organismus, der seine Hefe-Form in eine myceliale Pilz-Form wechseln kann. Die Hefe-Form ist ein nichtinvasiver, zuckerfermentativer Organismus. Die Pilz-Form bildet lange, wurzelförmige Strukturen, welche invasiv sind und die Schleimhaut durchdringen können. Dieser Form produziert metabolische Toxine, die zusammen mit unvollständig abgebauten Proteinen in den Blutstrom gelangen können^{119,134}.

Die Charakterisierung von den *Candida*-Arten beruht hauptsächlich auf der morphologischen Untersuchung der gezüchteten Spezies. Die Emissionsspektren der vermessenen *Candida albicans*- Kultur sind in Abbildung 49 dargestellt. Die B-Ca01, Komponente besteht jeweils aus zwei Peaks. Aufgrund des Elutionsmusters des Peakhöhendigrammes handelt es sich in diesem Fall vermutlich um koeluiierende Substanzen. Der zweite Peak der erwähnten drei Komponenten ist aufgrund dessen Mobilität und Retentionszeit ($K_0 = 1,64 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 33 \text{ s}$) trotz der Substraktion des Agarblindwertes vermutlich ein Bestandteil des Columbia-Agars. Deswegen ist dieser Peak ähnlich wie bei der vorherigen Bakteriumsspezies, *Haemophilus influenzae* in Tabelle 10 kursiv gezeichnet und zum Blindwert zugeordnet.

Die auftretenden Peaks zeigen keine Übereinstimmung mit den detektierten Peaks der Emissionen der vermessenen Bakterienkulturen.

Abbildung 49: Emissionsspektren der *Candida albicans* -Kultur

Das Beispiel der ausgewählten Keimkulturen zeigt, dass die Detektion der flüchtigen Metaboliten unterschiedlicher Bakterienspezies eine neue Möglichkeit zur Bakteriendiagnostik ergeben kann. Mit der Bestimmung eines charakteristischen Musters der Bakterienkulturen – bei konstanten Parametern – könnten die verschiedenen Keime mittels Ionenmobilitätsspektrometrie unterschieden werden. Mit Hilfe einer zu der IMS-Analyse parallel durchgeführten massenspektrometrischen Detektion könnten die produzierten Verbindungen identifiziert werden. Die Ergebnisse könnten zu einer Muster-Bibliothek der Kulturen zusammengestellt werden, welche außer in der klinischen Bakteriologie noch in einer Vielzahl von mikrobiologischen Bereichen (u.a. Überwachung von Fermentationsprozess, Analyse von unterschiedlichen enzymatischen Prozesse über die produzierten Metaboliten) angewendet werden könnte.

4.3 On-line Atemluftanalyse

4.3.1 Kontrollgruppe

Zur Ermittlung eines typischen IMS-Musters der Atemluft für nicht erkrankte Personen wurde die Ausatemluft von insgesamt 72 „gesunden“ Mitarbeitern des ISAS und der Lungenklinik Hemer vermessen. Sowohl im ISAS als auch in der Lungenklinik Hemer wurden die Probenahmen und Analysen der Atemluft gemäß Kapitel 3.5.1 durchgeführt. Im gleichen Raum, in dem die Atemluftproben genommen wurden, wurde die Umgebungsluft gemessen. Deren Werte (Blindwerte) wurden von den Atemluftspektren abgezogen. Abbildung 50 zeigt ein subtrahiertes 2D-IMS-Chromatogramm der Atemluft einer gesunden Person.

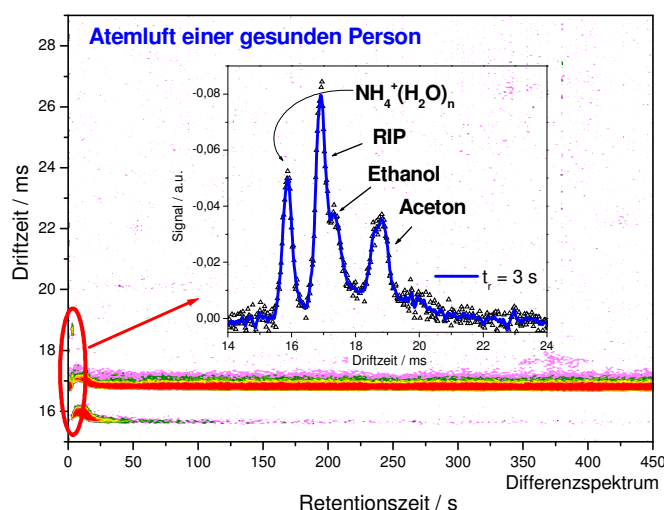


Abbildung 50: Atemluft einer gesunden Person

In den 2D-IMS-Chromatogrammen wurde – wie es schon im Abschnitt 4.1.3.3 beschrieben wurde – neben dem hydratisierten Ammoniumpeak ($K_0 = 2,11 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) Aceton ($K_0 = 1,79 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) und Ethanol ($K_0 = 1,90 \text{ cm}^2/\text{Vs}$) aufgrund der jeweiligen Mobilitätswerte identifiziert. Die drei Komponenten verfügen über gleiche Retentionszeiten, aber das Mobilitätsspektrum weist eine klare Trennung der Analyten auf, welche für eine qualitative Analyse ausreichend ist. Alle drei Komponenten als wesentliche qualitative Bestandteile der Ausatemluft sind für eine Analyse sehr wichtig, da das Fehlen der Signale dieser Substanzen z.B. auf Fehler bei der Probenahme hinweisen kann. Außer den drei oben genannten Analyten weist

das IMS-Chromatogramm nach der Subtraktion der Raumluft keine zusätzlichen Peaks auf.

4.3.1.1 Kontaminationen der Raumluft

Trotz der ständigen Analyse der Raumluft und Korrektur der Atemluftspektren spielt die Kontamination der Umgebungsluft für die Ergebnisse der Analyse eine wichtige Rolle. In den Untersuchungsräumen im Krankenhaus werden unterschiedliche flüchtige Chemikalien, u.a. Arzneien, Desinfektionsmittel verwendet. Nach einer bestimmten Aufenthaltsdauer können diese Verbindungen durch Inhalieren in der Lunge adsorbiert werden und in der Atemluft auftreten. In solchen Untersuchungsräumen verkehren außer den Patienten auch Pflegepersonal und Ärzte, so dass die Atemluft von mehreren Ärzten und Krankenpflegern(innen) der Lungenklinik öfter vermessen wurde, um eventuelle Kontaminationen durch die Raumluft auszuschließen.

Abbildung 51 zeigt ein Beispiel für einen durch kontaminierte Raumluft auftretenden Peak in einer Atemluftspektrenserie. Die Atemluftprobe wurde von einem Probanden genommen, der sich vor der Analyse in einem Operationssaal aufgehalten hat.

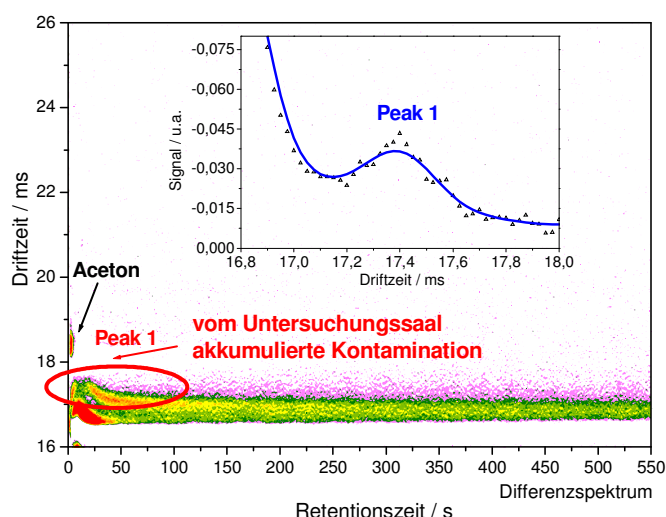


Abbildung 51: Der Einfluss von kontaminierter Raumluft auf die Atemluftemission

Das 2D-Chromatogramm zeigt einen Peak (Peak 1, $K_0 = 1,97 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 2 \text{ s}$), welcher über die ganze Analyse verfolgt werden kann. Nur am Anfang der

Spektrenserie ist dieser Peak solange nicht zu finden, bis durch die Multikapillarsäule getrennte Feuchte detektiert wird. Dies deutet auf einen leichtflüchtigen, aber vermutlich stark polaren Analyten hin, der von der MCC wegen der stärkeren Bindung an der stationären Phase nur verzögert eluiert.

Dieser Peak wurde nur bei den Ärzten gefunden, von denen direkt nach einer Untersuchung oder Operation Atemluftproben genommen wurden. Deshalb wurde dieser Peak einer Kontamination der Raumluft zugeordnet und im Fall der Patienten nicht interpretiert.

4.3.1.2 Andere Kontaminationsquellen

Die wichtigsten Kontaminationsquellen sind die aus der Ernährung und dem Tabakkonsum resultierenden flüchtigen Verbindungen. Abbildung 52 zeigt die Atemluftspektren einer Person, die 15 Minuten vor der Analyse geraucht hat. Daneben ist die Atemluftspektrenserie nach Kaugummigenuss in Abbildung 53 dargestellt.

Beide IMS-Chromatogramme weisen mehrere zusätzliche Peaks auf. So zeigt das Beispiel der Atemluftanalyse nach Einnahme eines mentholhaltigen Kaugummis, wie viele andere Verbindungen außer Menthol - welches aufgrund seiner Mobilitäts- und Retentionswerte ($K_{01} = 1,34 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $K_{02} = 1,06 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 335 \text{ s}$ für reine Testsubstanz) identifiziert wurde - in der Atemluft nachzuweisen sind.

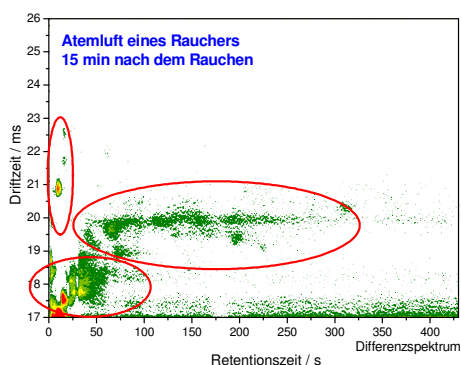


Abbildung 52: Atemluftmuster nach Tabakrauch

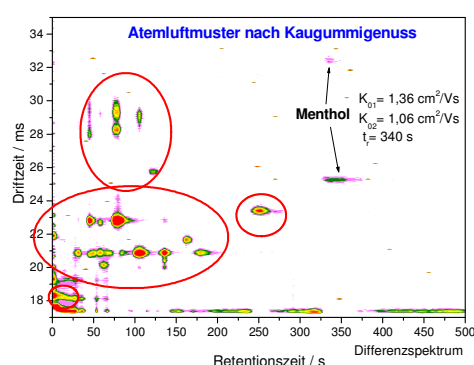


Abbildung 53: Atemluftmuster nach Kaugummigenuss

Um den Zeitabstand nach dem Essen, Trinken oder Rauchen zu bestimmen, nach welchem das Atemluftspektrum keine aus diesen Prozessen resultierenden Produkte aufweist, wurden Messungen in unterschiedlichen Zeitabständen nach dem Konsum von verschiedenen Lebensmitteln und Zigaretten durchgeführt. Die Verdauung der einzelnen Nahrungsmittel ergibt unterschiedliche Emissionen, welche wegen der Vielzahl der Lebensmittel im Rahmen dieser Arbeit nicht kontrolliert werden konnte. Die im ISAS durchgeführten Experimente zeigten, dass zwei Stunden nach dem Konsumieren – außer in bestimmten Ausnahmen, die weiter unten diskutiert werden – nur die in Abbildung 50 gezeigten Peaks gefunden wurden.

Die Abbildung 54 weist zwei Peaks auf, die bei mehreren gesunden Personen vorgekommen sind, die zwei Stunden vor der Analyse nichts zu sich genommen und nicht geraucht hatten. Die Atemluftprobe wurde von einem Probanden abgegeben, der vor der Analyse in einem Untersuchungssaal war, sodass die bereits erwähnte Raumluftkontamination in diesen Atemluftspektren zu sehen ist.

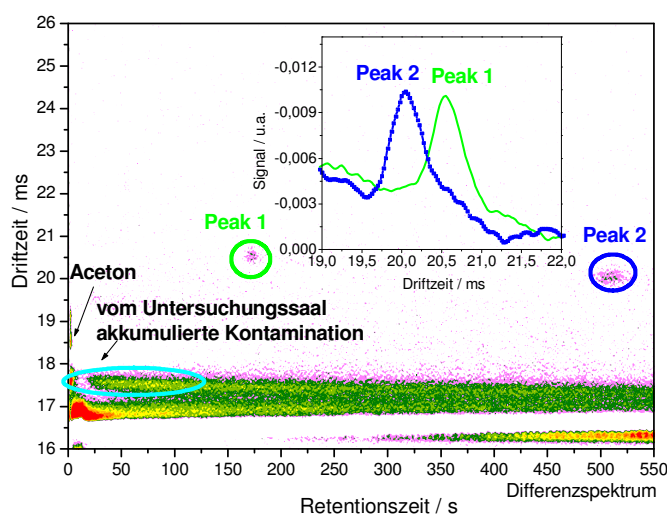


Abbildung 54: Kontaminationsmöglichkeiten der Atemluft bei gesunden Kandidaten

Der Peak 1 ($K_0 = 1,63 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 157 \text{ s}$) wurde häufig bei Probanden gefunden, die 2-3 Stunden vor der Analyse die Zähne geputzt hatten, so dass es sich dabei um einen Bestandteil der verwendeten Zahnpasta handeln könnte, welcher im Mund akkumuliert wurde. Peak 2 ($K_0 = 1,67 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 460 \text{ s}$) wurde nur bei einigen Rauchern gefunden. Das Vorkommen dieses Peaks steht vermutlich mit der

Zusammensetzung von einigen Zigarettenmarken in Zusammenhang, wobei zur genaueren Identifizierung massenspektrometrische Untersuchungen zukünftig durchgeführt werden sollen.

In der Atemluft eines Probanden wurde ein Peak mit einem relativ kleinen K_0 von $1,06 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ bei einer großen Retentionszeit von 256 s detektiert (Abb. 55), dessen Werte auf eine größere Verbindung hinweisen. Dadurch, dass dieser Peak unabhängig vom Zeitpunkt der Probenahme während mehrerer Tage immer in seiner Ausatemluft nachgewiesen wurde, wurde eine von Nahrungsmitteln resultierende Kontamination ausgeschlossen. Nach mehreren Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass die Zahnsperre des Kandidaten die gleiche Substanz emittiert, welche massenspektrometrisch als eine Cyclopentasiloxan-Verbindung identifiziert wurde. Siloxane werden häufig als Stabilisator bei kosmetischen und pharmazeutischen Produkten verwendet, da diese über ähnliche Eigenschaften wie die rein organischen Kunststoffe verfügen, beständig gegen Säuren und nicht gesundheitsschädlich sind.

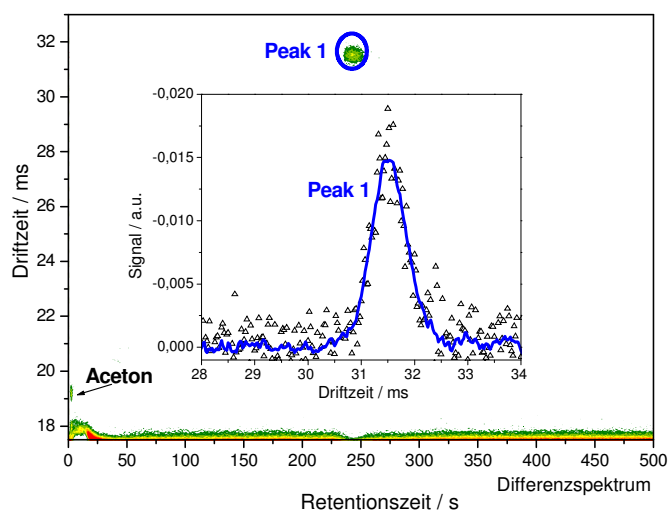


Abbildung 55: Emissionen einer Zahnsperre in der Ausatemluft

Die Zahnsperre wurde nur nachts getragen, während dieser Zeit könnte die Substanz im Mund akkumuliert werden und war noch nach mehreren Tagen in der Atemluft nachweisbar.

4.3.2 Patienten mit infektiösen Lungenkrankheiten

In Kooperation mit der Lungenklinik Hemer wurde die Atemluftanalyse bei Patienten mit infektiösen Lungenkrankheiten in-situ eingesetzt.

Wie es im Kapitel 3.5 beschrieben wurde, wurde die Atemluftanalyse hauptsächlich bei zwei diagnostischen Szenarien verwendet. Zum Einen bei stationären Patienten außerhalb der Intensivstation, bei denen die Atemluftanalyse eine schnelle, nichtinvasive, tägliche Kontrollmöglichkeit des Ablaufs einer Infektion bedeuten könnte; zum Anderen bei Patienten auf der Intensivstation, bei denen sie zusätzlich zur angewendeten invasiven Untersuchung Informationen über eine beginnende, unter Therapie persistierende oder erneute bakterielle Besiedlung des Bronchialsystems liefern soll.

In Rahmen dieser Arbeit konnte die Atemluft von insgesamt 30 infektiösen Patienten analysiert werden. Dies ist für eine statistische Analyse zwar noch nicht ausreichend, kann aber die Anwendbarkeit der entwickelten Methode bei unterschiedlichen Infektionskrankheiten anhand der einzelnen Fälle aufzeigen.

Analog den vorgestellten Bakterienkulturen wurden auch die unterschiedlichen Krankheiten mit Abkürzungen versehen. Wenn der in der Atemluft von Patienten detektierte Peak mit einem oder mehreren Peaks, die über den unterschiedlichen Bakterienkulturen bestimmt worden waren, eine Übereinstimmung von mindestens $\pm 0,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ bei der Mobilität und größer 95% bei Retentionswerten aufweist, wird die für das Bakterium verwendete Bezeichnung ebenfalls angegeben.

4.3.2.1 Stationäre Patienten außerhalb der Intensivstation

Wegen der Gefahr der im Abschnitt 4.3.1.1 beschriebenen erhöhten Luftemission in den einzelnen Untersuchungsräumen der Klinik, wurde die Raumluft in mehreren Räumen analysiert. Für die Atemluftmessungen wurde ein Aufenthaltsraum ausgewählt, in dem die Belastung der Raumluft als am niedrigsten gefunden wurde. Die Raumluft wurde vor jeder Atemluftanalyse vermessen und die gemessenen Werte wurden von den Atemluftspektren subtrahiert. Die Patienten hatten zwei Stunden vor der Analyse außer Wasser nichts zu sich genommen und nicht geraucht, um eventuelle Kontaminationen zu vermeiden.

Die Probenahme wurde jeweils nach vorheriger ärztlicher Aufklärung mit Einverständnis des Patienten (informed consent) durchgeführt. Die personenbezogenen Daten wurden anonymisiert.

Akute Exazerbation (Ausbruch) bei chronisch obstruktiver Bronchitis (COPD)-Patienten

Abbildung 56 zeigt das Atemluftmuster eines Probanden mit akuter Exazerbation einer COPD. Im Auswurf (Sputum) des Patienten wurde mit mikrobiologischen Methoden *Staphylococcus aureus* im Hygieneinstitut Iserlohn nachgewiesen.

Das IMS-Chromatogramm weist zwei Peaks auf, die bei der Kontrollgruppe nicht nachweisbar sind. Die Beweglichkeit und die Retentionszeit des ersten P-Co01-01 Peaks stimmen mit dem in der Emission der *Staphylococcus aureus*-Kultur detektierten B-Sa-01 Peak überein (siehe Tabelle 11).

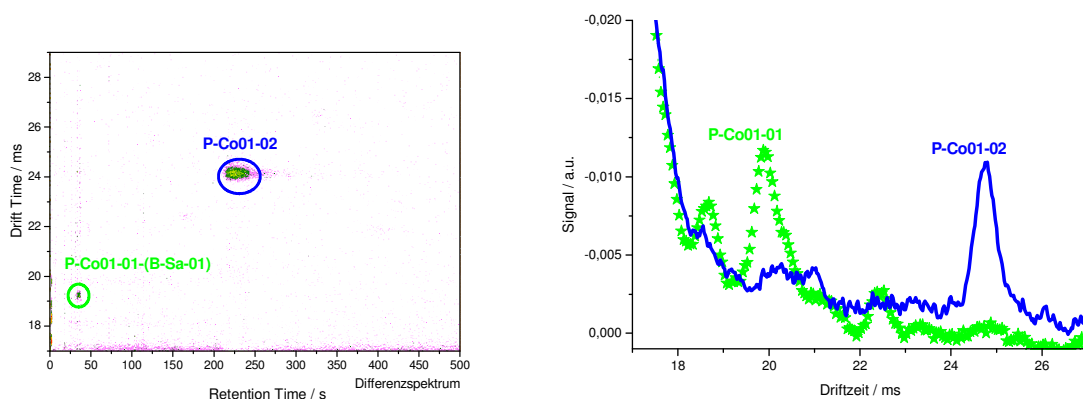


Abbildung 56: Ausatemluft eines COPD-Patienten mit *Staphylococcus aureus* Infektion

Der zweite P-Co01-02 Peak, welcher aufgrund seiner Mobilitäts- und Retentionswerte für das Vorliegen einer höhermolekularen Verbindung spricht, war in den Emissionen der ausgewählten Bakterienspezies nicht nachweisbar. Da mit der mikrobiologischen Untersuchung außer *Staphylococcus aureus* keine anderen Bakterienspezies festgestellt wurden, könnte es in diesem Fall um eine durch den erkrankten Organismus produzierte spezifische Verbindung oder um einen Metaboliten eines noch nicht untersuchten Bakteriums handeln. Die reduzierten Mobilitäten und Retentionszeiten der in der Ausatemluft dieses Patienten detektierten

Komponente und der übereinstimmenden Peaks von der gemessenen Bakteriumskultur sind in Tabelle 11 angegeben.

Tabelle 11: In der Atemluft detektierten Peaks bei einem COPD-Patient mit *Staphylococcus aureus* Infektion

COPD-Patient 1						
Bakteriologisch nachgewiesener Keim: <i>Staphylococcus aureus</i>						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmender Peak von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Co01-01	1,86	33	B-Sa01	1,86	33	<i>Staphylococcus aureus</i>
P-Co01-02	1,36	240				

Das Atemluftmuster eines weiteren COPD-Patienten ist in Abbildung 57 dargestellt. Diese Spektrenserie weist den Peak P-Co02-03 ($K_0 = 1,39 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 233 \text{ s}$) auf, welcher mit dem oben erwähnten P-Co01-02 eine gute Übereinstimmung jeweils bei den Retentionszeiten und bei den Mobilitäten zeigt (siehe Tabelle 12). Dies bestätigt die Vermutung, dass diese detektierte Komponente mit hoher Wahrscheinlichkeit im Zusammenhang mit der Grunderkrankung COPD steht.

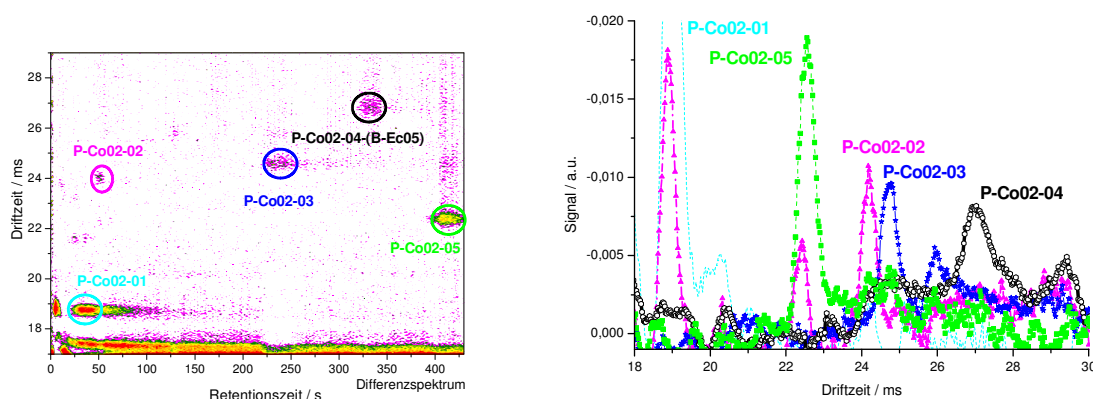


Abbildung 57: Ausatemluftmuster eines weiteren COPD-Patienten mit Infektion

Das IMS-Chromatogramm in Abbildung 57 zeigt mehrere unterschiedliche Peaks im Vergleich zum ersten COPD-Patienten. Dies lässt sich dadurch erklären, dass bei der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung unterschiedliche bakterielle Infektionen vorliegen können. Beim zweiten Patient ließ sich allerdings mikrobiologisch – wie es in der Praxis häufig vorkommt – kein Keim nachweisen.

Der P-Co02-04 Peak stimmt mit dem B-Ec-05 Peak von *Escherichia coli* gut überein (Tabelle 12). *Escherichia coli* ist ein bei gesunden Personen im Darm lebendes Bakterium. In der Lunge und im Respirationstrakt kommt es nur als pathogener Keim vor. Erstaunlicherweise wurden einer oder mehrere der in der *E. coli*- Kultur detektierten Metaboliten bei ca. 70% der analysierten Atemluftproben von Patienten mit Infektionen detektiert. Das Vorkommen dieser Verbindungen in der Ausatemluft könnte bedingt sein durch eine im Rahmen einer Infektion auftretende Störung der Barrierefunktion der Darm- bzw. Magenschleimhaut (Schrankenstörung), mit Folge eines vermehrten Übertritts bakterieller Metabolite aus dem Darmlumen in die Blutbahn und sekundär in die Ausatemluft und/oder einer vermehrten Translokation von Bakterien selbst.

Darüber hinaus könnte sich durch die Infektion das Gleichgewicht der den Darm besiedelten Bakterien verändern und die Anzahl von *Escherichia coli* ansteigen. Die folglich in größerer Konzentration produzierten Metaboliten könnten entweder bei der Probenahme über den Magen in die Atemluft gelangen, oder die flüchtigen Komponenten könnten durch die Darm- bzw. Magenschleimhaut resorbiert werden, so in die Blutbahn gelangen und damit über die Lunge die Atemluft erreichen, wo sie nun in überschwelliger messbarer Konzentration nachweisbar sind.

Der erste P-Co02-01 Peak wurde bei mehreren Probanden mit unterschiedlichen Erkrankungen detektiert. Gemeinsam war diesen Patienten, dass sie schon eine Antibiotika - oder Medikamentenbehandlung begonnen hatten. Daher könnte dieser Peak auch einem Abbauprodukt eines Antibiotikums oder Medikaments entsprechen. Bei den Personen, die vor dem Beginn der medikamentösen Therapie ihre Atemluftprobe abgegeben haben, wurde dieser Peak nicht gefunden. Der Effekt der Antibiotika und eines häufig im Rahmen der Therapie des COPD eingesetzten Medikaments wird später im Kapitel 4.3.3 diskutiert. Am Ende der Spektrenserie ist noch ein Peak (P-Co02-05) mit größerer Intensität zu finden, welcher nur bei einem Patienten mit infektiöser Bronchiektasenerkrankung gefunden wurde.

Tabelle 12: Die in der Atemluft detektierten Peaks bei dem zweiten COPD-Patienten

COPD-Patient 2						
Bakteriologisch nachgewiesener Keim: kein Ergebnis erhalten						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmender Peak von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Co02-01	1,83	20				
P-Co02-02	1,43	35				
P-Co02-03	1,39	233				
P-Co02-04	1,28	332	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>
P-Co02-05	1,53	410				

Bronchiectasenerkrankung

Bei dieser Krankheit spielen – ähnlich wie bei COPD - wegen der irreversiblen Veränderung der Atemwege mit Neigung zur Sekretretention die bakteriellen Infektionen eine besonders wichtige Rolle. Häufig liegt eine chronische bakterielle Besiedlung des Atemwegtraktes vor.

Die in Abbildung 58 dargestellte IMS-Chromatogramm eines Probanden mit Bronchiectasen zeigt eine Ähnlichkeit zum Muster des zuletzt vorgestellten COPD-Patienten.

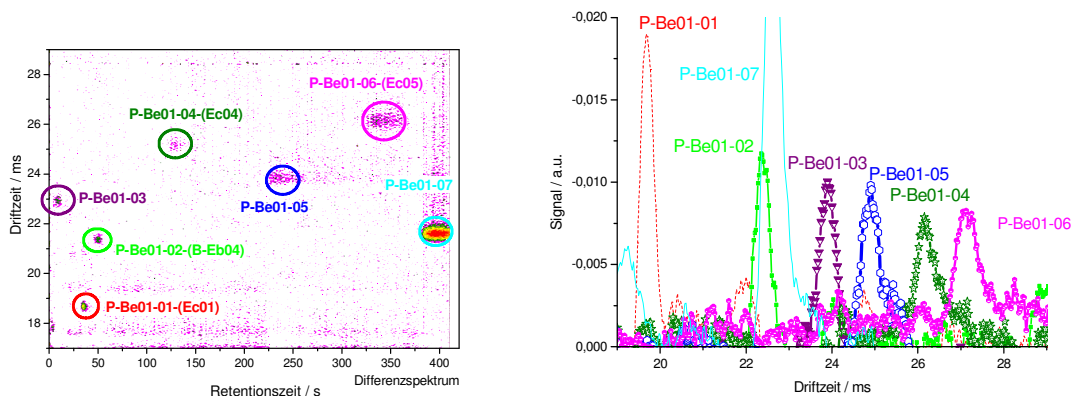


Abbildung 58: Atemluft eines Patienten mit infektiösen Bronchiectasen (P-Be01)

Die drei letzten durch die Peakhöhendigramme beider Erkrankten dargestellten Peaks zeigen eine Übereinstimmung: so stimmt P-Co02-03 mit P-Be01-05, P-Co02-04 mit P-Be01-06 (und dementsprechend mit dem bei *Escherichia coli* detektierten B-Ec05) und P-Co02-05 mit P-Be01-07 überein (siehe Tabelle 12 und 13).

Bei diesem Patienten kommen zusätzlich drei Peaks (P-Be01-01, P-Be01-04, P-Be01-05) vor, die auch in der Emission der gezüchteten Kultur von *Escherichia coli* detektiert wurden (Tabelle 13). Die verschiedene Anzahl der in der Atemluft auftretenden Peaks, die auch bei *Escherichia coli* ebenfalls zu finden sind, könnte einerseits im Zusammenhang mit den unterschiedlichen *Escherichia coli*- Stämmen mit unterschiedlichen metabolischen Fähigkeiten stehen; andererseits auch einfach nur mit unterschiedlichen Mengen dieses Bakteriums im Körper und damit einhergehenden unterschiedlichen Konzentrationen freigesetzter Metaboliten.

In der bakteriologischen Untersuchung des Sputums wurde bei diesem Patienten *Enterobacter cloaca* nachgewiesen. In der Spektrenserie ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen dem P-Be01-02 Peak und dem in der *Enterobacter aerogenes*- Kultur detektierten B-Eb04 Peak. Diese zwei Bakterienspezies gehören zur gleichen Gattung, womit das Vorkommen eines gemeinsamen Peaks erklärt werden kann.

Der P-Be01-03 Peak wurde auch bei zwei anderen Probanden mit eitrigem Auswurf gefunden, kommt aber als Peak bei den untersuchten Bakterien nicht vor. Es könnte also entweder ein Zusammenhang mit der Zusammensetzung des eitrigem Bronchialsekrets bestehen oder der Peak eines anderen Bakteriums sein. Tabelle 13 enthält die K_0 - und Retentionszeitwerte der in der Ausatemluft dieses Patienten vorgekommenen Peaks und der übereinstimmenden Peaks der Bakterienemissionen.

Tabelle 13: Zusammenfassung der in der Atemluft detektierten Peaks bei einem Patienten mit infektiösen Bronchiektasenerkrankung

Patient mit Bronchiektasenerkrankung Bakteriologisch nachgewiesener Keim: <i>Enterobacter cloaca</i>						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmende Peaks von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Be01-01	1,74	35	B-Ec01	1,76	35	<i>Escherichia coli</i>
P-Be01-02	1,53	51	B-Eb04	1,54	51	<i>Enterobacter aerogenes</i>
P-Be01-03	1,44	9				
P-Be01-04	1,32	129	B-Ec04	1,33	129	<i>Escherichia coli</i>
P-Be01-05	1,39	235				
P-Be01-06	1,27	336	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>
P-Be01-07	1,53	397				

Lungenemphysem

Die in der Abbildung 59 dargestellte Atemluftprobe stammt von einem Probanden, bei dem sich ein zugrunde liegendes Lungenemphysem durch eine akute Entzündung mit pneumonischem Infiltrat (Entzündung) verschlimmert hat.

Die oft bei den anderen Patienten mit Atemwegsinfektionen gefundenen Peaks, die auch bei *Escherichia coli* zu finden sind, waren hier auch nachweisbar (in diesem Fall P-Em01-03 und P-Em01-05) und stimmen mit den B-Ec04 und B-Ec05 gut überein (s. Tabelle 14).

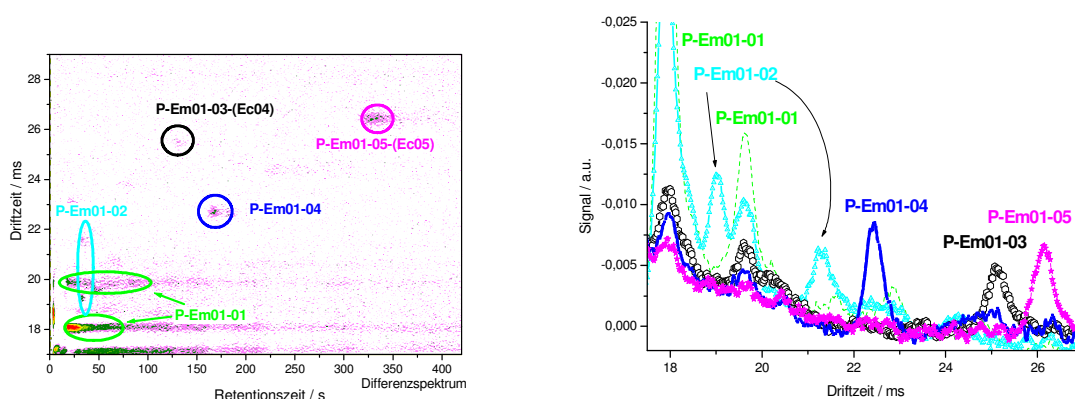


Abbildung 59: Atemluft eines Patienten mit Lungenemphysem und pneumoniae (P-Em01)

Der P-Em01-04 Peak, welcher aufgrund seiner Retentionszeit und Mobilität – ähnlich wie die zwei durch *E. coli* produzierten Komponenten – eine größere Verbindung repräsentiert ($K_0 = 1,52 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 167 \text{ s}$), wurde sowohl bei einem Patienten mit akuter Bronchitis, als auch bei einem Patienten mit COPD gefunden. Daher wird vermutet, dass es sich um einen Metaboliten von einer nicht untersuchten Bakteriumsspezies handelt.

Die Anfang des Peakhöhendigramms weist die P-Em01-01 Komponente auf, welche über 2 Peaks ($K_{01} = 1,90 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 21 \text{ s}$ $K_{02} = 1,74 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 19 \text{ s}$) verfügt und außer bei Patienten mit Lungenemphysem auch bei Probanden mit Bronchitis detektiert wurde. Tabelle 14 fasst die Mobilitäten und Retentionszeiten der in der Atemluft vorgekommenen Peaks bei diesem Patienten zusammen.

Tabelle 14: Zusammenfassung der K_0 - und Retentionswerten der in der Ausatemluft detektierten Peaks bei einem Patient mit infektiösen Lungenemphysem und Pneumonie

Patient mit Lungenemphysem Bakteriologisch nachgewiesener Keim: keine Untersuchung						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmende Peaks von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Em01-01	1,90 1,74	21 19				
P-Em01-02	1,79 1,60	33 33				
P-Em01-03	1,35	131	B-Ec04	1,33	129	<i>Escherichia coli</i>
P-Em01-04	1,52	167				
P-Em01-05	1,30	327	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>

Bronchitis

Der topographische Plot eines Bronchitis-Patienten ist in Abbildung 60 dargestellt. Die Mobilitäten und Retentionszeiten der detektierten Peaks sind in Tabelle 15 angegeben. Bei diesem Probanden wurde eine akute Bronchitis, d.h. eine akute Entzündung des Bronchialbaums, diagnostiziert. Im Vergleich zu den bisher vorgestellten Ausatemluftsspektren von chronisch Erkrankten sind die bei einer Entzündung oft detektierten Peaks (B-Ec-03, B-Ec05 und B-ec06) in diesem Fall P-Br01-03, P-Br01-05 und P-Br01-06 mit größerer Intensität gefunden worden. Der P-Br01-01 Peak ($K_{01} = 1,89 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 19 \text{ s}$ $K_{02} = 1,74 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 20 \text{ s}$) wurde bei dem oben vorgestellten Lungenemphysem-Patienten ebenfalls detektiert (P-Em01-01). Die Mobilitäten und Retentionszeiten sowohl des Monomer- als auch des Dimerpeaks von P-Em01-01 und P-Br01-01 zeigen eine gute Übereinstimmung. Beim Lungenemphysem besteht meist auch eine chronische Entzündung der Atemwege, die durch eine bakterielle Superinfektion akut exazerbieren kann. Demzufolge können sich im Fall einer ähnlichen Keimbesiedlung auch ähnliche Atemluftmuster ergeben.

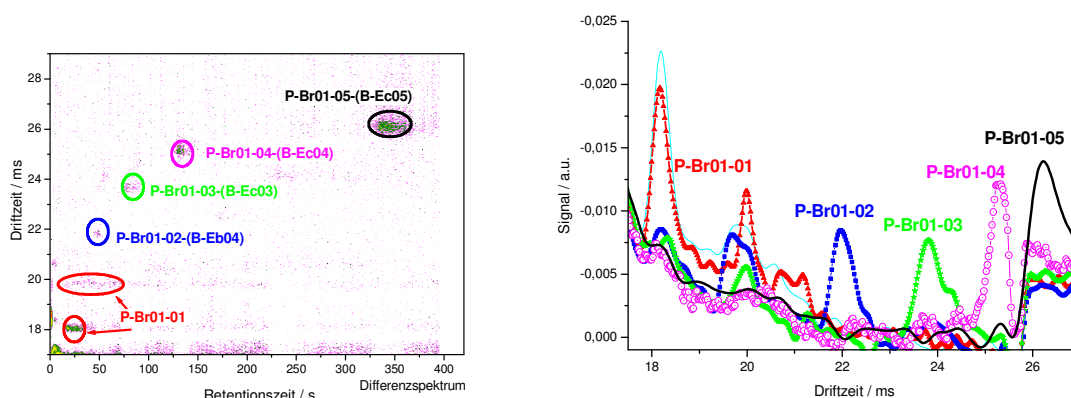


Abbildung 60: Atemluftmuster eines Patienten mit Bronchitis

Der Peak P-Br01-02 wurde auch bei der *Enterobacter aerogenes*- Kultur detektiert (B-Eb04). Die Koordinaten der zu vergleichenden Peaks (sowohl bezüglich der K_0 -Werte als auch der Retentionszeiten) zeigen eine gute Übereinstimmung.

Tabelle 15: Mobilitäten und Retentionszeiten der in der Ausatemluft vorgekommenen Peaks bei einem Patienten mit akuter Bronchitis

Patient mit Bronchitis Bakteriologisch nachgewiesener Keim:						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmende Peaks von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Br01-01	1,89 1,72	20				
P-Br01-02	1,55	51	B-Eb04	1,54	53	<i>Enterobacter aerogenes</i>
P-Br01-03	1,42	81	B-Ec03	1,41	80	<i>Escherichia coli</i>
P-Br01-04	1,34	131	B-Ec04	1,33	129	<i>Escherichia coli</i>
P-Br01-05	1,29	335	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>

Akute Mandelentzündung (Tonsillitis)

Die Abbildung 61 zeigt die Atemluftspektren eines Probanden mit einer akuten Tonsillitis, der vor Beginn der Antibiotikabehandlung untersucht wurde.

Die wieder detektierbaren B-Ec04 und B-Ec05 Peaks bestätigen das Vorliegen einer Entzündung. Der P-To01-02 Peak zeigt eine Übereinstimmung mit dem in der *Staphylococcus aureus*- Kultur detektierten B-Sa01 Peak (siehe Tabelle 16).

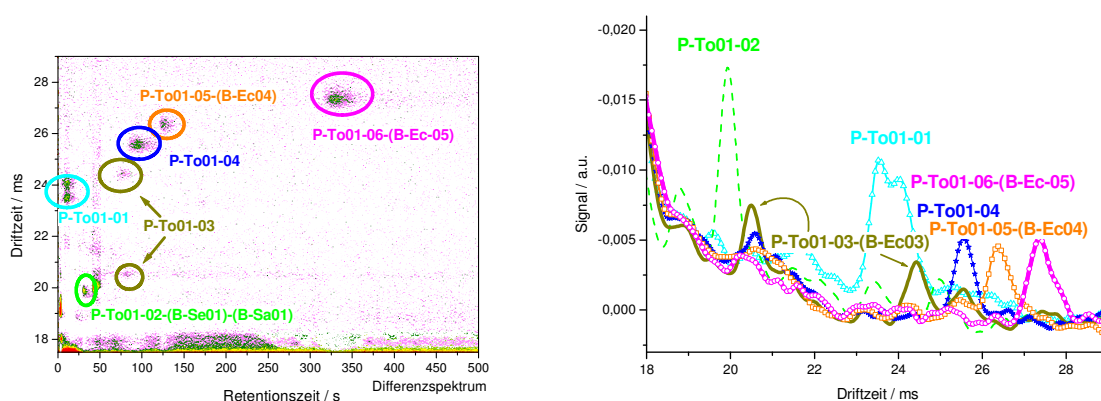


Abbildung 61: Atemluftspektren im Fall von Tonsilitis - Erkrankung

Mehrere klinische Studien haben gezeigt, dass *Staphylococcus aureus* häufig die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes auch gesunder Klinikmitarbeiter besiedelt, so dass hier nicht ohne weiteres ein ursächlicher Zusammenhang mit der akuten Tonsilitis hergestellt werden kann.

Die anderen drei, bei diesen Personen detektierten Peaks wurden bei keinem Patienten der Klinik gefunden. Die K_0 - und Retentionswerte der gefundenen Peaks sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: Zusammenfassung der K_0 - und Retentionswerte der gefundenen Peaks bei einem Patient mit Mandelentzündung

Patient mit Tonsilitis						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmende Peaks der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-To01-01	1,46	13				
	1,42	13				
P-To01-02	1,87	32	B-Se01	1,85	34	<i>Staph. epidermalis</i>
			B-Sa01	1,86	33	<i>Staph. aureus</i>
P-To01-03	1,67	76				
	1,40	76				
P-To01-04	1,35	91				
P-To01-05	1,31	128	B-Ec04	1,33	129	<i>Escherichia coli</i>
P-To01-05	1,29	329	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>

4.3.2.2 Beatmungspatienten der Intensivstation

Die Atemluft wurde unter den im Kapitel 3.5.2 angegebenen Bedingungen direkt aus den Atemwegen entnommen und analysiert. Da diese Probenahme mit einer bronchioskopischen Untersuchung verbunden war, konnte sie nur in beschränkter Anzahl durchgeführt werden.

Am Beispiel eines Patienten mit einer schweren *Candida albicans*- Infektion wird die Möglichkeit des Einsatzes der Atemluftanalyse als Methode zur täglichen Verlaufskontrolle aufgezeigt. Der topographische Plot der vermessenen Atemluftprobe ist in Abbildung 62 dargestellt.

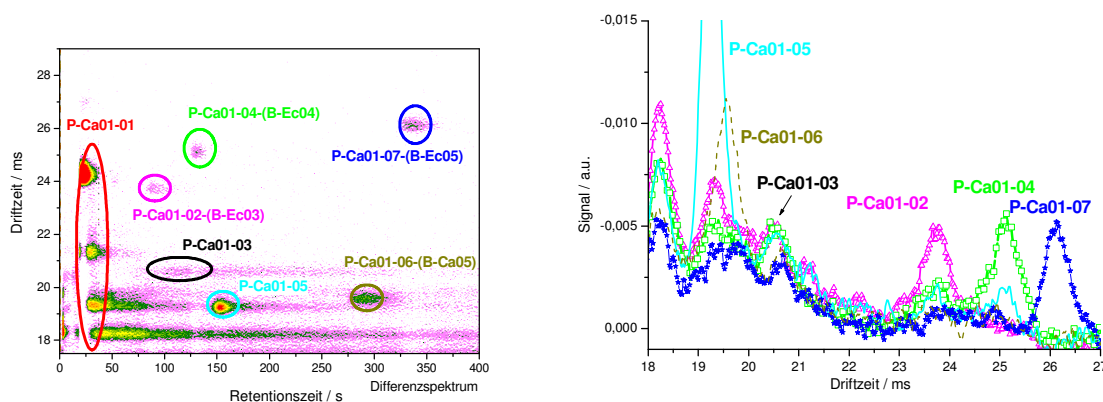


Abbildung 62: Atemluftspektren eines Intensiv-Patienten mit Candida-Infektion direkt in den zentralen Atemwegen gemessen

Die auf einer Intensivstation liegenden Patienten haben ein geschwächtes Immunsystem, so dass die Gefahr groß ist, eine oder mehrere Infektionen im Lauf der Behandlung zu erwerben (sog. nosokominale Infektionen). Aus diesem Grund müssen die bei der Untersuchung benutzten Instrumente, so u.a. das Bronchioskop desinfiziert werden. Das angewendete Desinfektionsmittel kann natürlich in der Probe nachgewiesen werden, wie es am Anfang der Spektrenserie auch zu sehen ist. Die 4 Peaks von der Komponente P-Ca01-01 weisen auf eine große Konzentration des benutzten Desinfektionsmittels hin. Abbildung 63 zeigt den Ablauf der Analyse bei dieser Verbindung. Man sieht zuerst das Entstehen der kleinen Addukte innerhalb von 2 Sekunden. In den darauf folgenden 10 Sekunden werden nur die größeren Produkte gebildet (da keine Reaktionsionen mehr vorhanden sind), danach entstehen mit der Reduktion der Analytkonzentration wieder die kleineren

Addukte. Der P-Ca01-05 Peak wurde ebenso nur bei den auf der Intensivstation durchgeführten Atemluftanalysen detektiert, was in diesem Fall auch auf eine bei dieser Art der Untersuchung angewendete Substanz hindeutet.

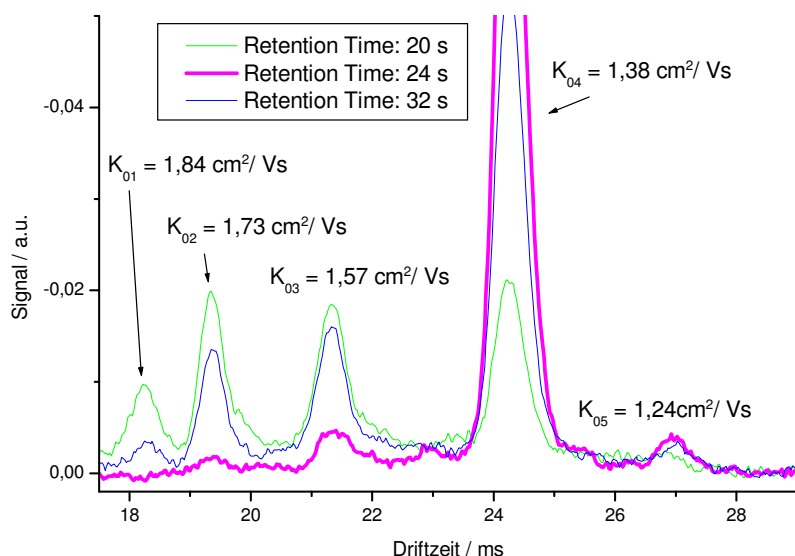


Abbildung 63: Ionenmobilitätspektren der angewendeten Desinfektionsmittel

Das IMS-Chromatogramm (Abb. 62) weist auch die bisher bei einer Atemwegsentzündung in der Emission von *E. coli* häufig vorgekommenen Peaks, P-Ca01-02-(B-Ec03), P-Ca01-04-(B-Ec04) und P-Ca01-07-(B-Ec05) auf. Da bei dieser Probenahme die Analyten direkt aus den zentralen Atemwegen entnommen werden und da bei den beatmeten Patienten die Luftröhre durch einen Ballon (Tubuscuff) gegenüber dem Verdauungstrakt völlig abgedichtet wird, ist die Möglichkeit ausgeschlossen, dass die Metaboliten von *Escherichia coli* mit der aus dem Magen stammenden Luft in die Atemluftprobe gelangen. Somit ist es wahrscheinlicher, dass die bereits weiter oben erwähnten Mechanismen – gestörte intestinale Mucosabarriere und/oder gestörte Darmflora – für das Auftreten der *E. coli*- Peaks verantwortlich sind.

Der P-Ca01-06 Peak entspricht sowohl nach der Mobilität als auch der Retentionszeit dem in der Emission der *Candida albicans*- Kultur nachgewiesenen B-Ca05 Peak, was mit dem Ergebnis mikrobiologischer Untersuchungen übereinstimmt. Der verbleibende P-Ca01-03 Peak zeigt eine Übereinstimmung mit dem bei *Pseudomonas aeruginosa* detektierten B-Pa04 Peak ($K_0 = 1,65 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 108 \text{ s}$),

wobei anhand der unterschiedlichen Elutionsprofile der Peaks zu vermuten ist, dass es sich in diesem Fall um verschiedene Komponenten handelt. Die Tabelle 17 zeigt die bei diesem Patienten detektierten Peaks.

Tabelle17: Übersicht der in der Ausatemluft detektierten Peaks eines Patienten auf der Intensivstation

Patient mit <i>Candida albicans</i> - Infektion Bakteriologisch nachgewiesener Keim:						
Von der Atemluft detektierte Peaks			Übereinstimmende Peaks von der Bakterienemission			
Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Bezeichnung des Peaks	$K_0 \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}} \right]$	$t_{\text{ret}}[\text{s}]$	Name des Bakteriums
P-Ca01-01	1,84 1,73 1,57 1,38	35 33 32 22				
P-Ca01-02	1,41	84	B-Ec03	1,41	80	<i>Escherichia coli</i>
P-Ca01-03	1,63	110				
P-Ca01-04	1,33	130	B-Ec04	1,33	129	<i>Escherichia coli</i>
P-Ca01-05	1,74	154				
P-Ca01-06	1,71	289	B-Ca05	1,73	293	<i>Candida albicans</i>
P-Ca01-07	1,28	335	B-Ec05	1,28	327	<i>Escherichia coli</i>

Bei dieser Art der Probenahme kann die Luft durch das Bronchioskop unmittelbar aus dem Entzündungsgeneral abgesaugt werden, was eine größere Analytkonzentration gewährleistet. Dementsprechend ermöglicht die Analyse einen besseren Nachweis der durch die Bakterien gebildeten Metabolite und damit eine noch genauere Diagnose.

4.3.3 Einfluss von Medikamenten

4.3.3.1 Theophyllin

Die zur Behandlung der Patienten verwendeten Medikamente können durch deren Abbau im Körper auch die Emission flüchtiger Verbindungen verursachen, die in der Atemluft nachgewiesen werden können. Aus diesem Grund wurde der Einfluss von Theophyllin, einem häufig in der Therapie der COPD eingesetzten Medikament, untersucht. Von vier Patienten wurde die Atemluft vor bzw. nach 30, 150 und 270 Minuten der nach Medikamenteneinnahme analysiert. Bei allen Probanden wurde eine Komponente in der letzten oder den letzten zwei Messungen gefunden, die vor der Medikamenteneinnahme und auch bei der ersten Analyse in deren Atemluftmuster

nicht nachweisbar war. Mit dieser detektierbaren Verbindung wird die Annahme bestätigt, dass flüchtige Metaboliten im Körper mit dem Blutkreislauf die Lunge erreichen und dann in die Atemluft abgegeben werden können. Abbildung 64 zeigt das Atemluftmuster bei der dritten Messung nach der Einnahme des Medikaments bei einem Patienten.

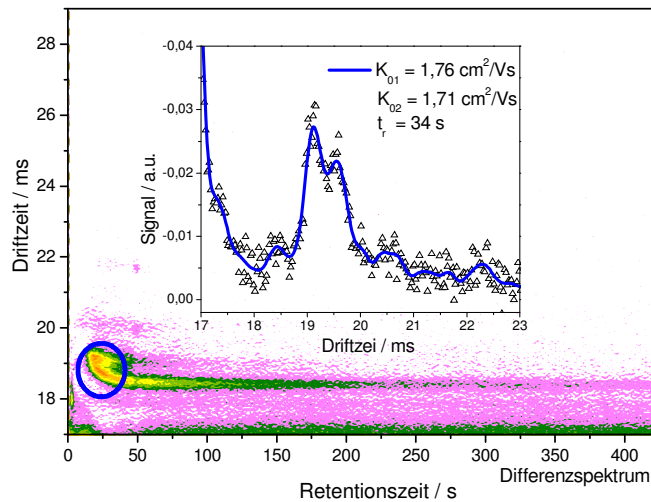


Abbildung 64: Verändertes Ausatemluftmuster 270 Minuten nach der Medikamenteneinnahme

Das Freisetzungprofil dieses Medikaments durch seine in der Atemluft detektierten Metaboliten ist in Abbildung 65 dargestellt.

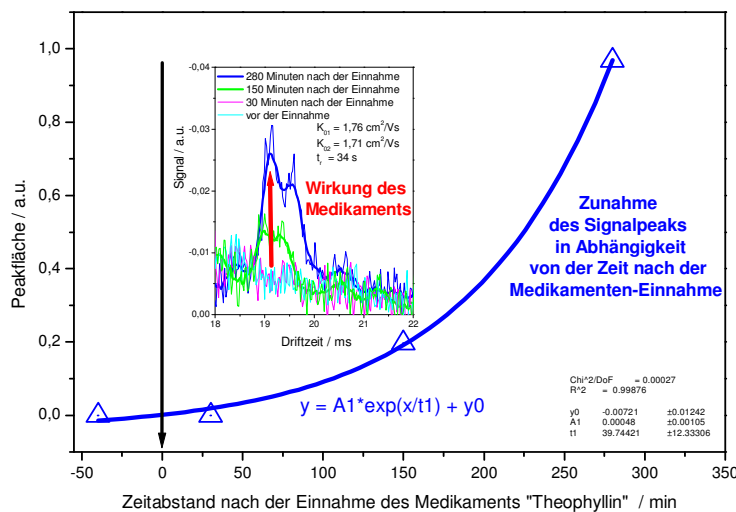


Abbildung 65: Freisetzungprofil des Medikaments Theophyllin

Dabei lässt sich zeigen, dass die Peakfläche des nach der Einnahme vorgekommenen Peaks mit der Zeit exponentiell zunimmt. Abbildung 66 zeigt den Ablauf bei allen vier Patienten. Dabei weisen drei ein ähnliches Profil auf. Nur bei dem ersten Patienten, dessen Kurve auch in Abb. 65 dargestellt ist, lässt sich eine starke Zunahme erkennen. Dies kann mit der Nahrungsaufnahme zusammenhängen.

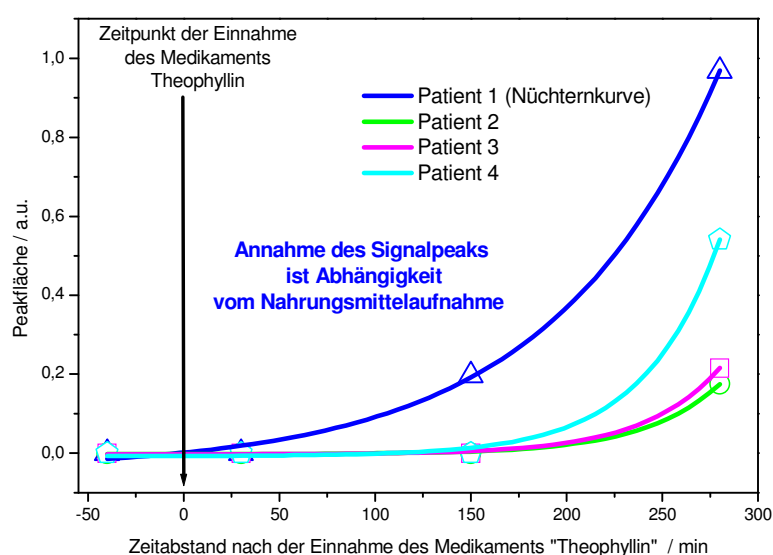


Abbildung 66: Einfluss Nahrungsmittelaufnahme auf die Freisetzung des Metaboliten von Theophyllin

Dieser Proband war vor der Medikamenteneinnahme nüchtern, die anderen drei hatten morgens gefrühstückt. Dadurch wurden offenbar die Resorptionsbedingungen des Medikaments im Magen/Darm-Trakt verändert.

4.3.3.2 Antibiotika

Bei bakteriellen Infektionen werden Antibiotika eingesetzt, die die Krankheitserreger vernichten. Hierdurch sollen erwartungsgemäß ebenfalls die durch die Bakterien produzierten Metaboliten in der Atemluft reduziert werden.

Dieser Verlauf wurde bei einem Patienten mit einer Seitenstrangenzündung durch Atemluftanalyse beobachtet. Die Atemluftproben wurden ab Beginn der Antibiotikatherapie an drei aneinanderfolgenden Tagen gewonnen und analysiert. Abbildung 67 zeigt die Atemluftspektren vor der Antibiotikaeinnahme.

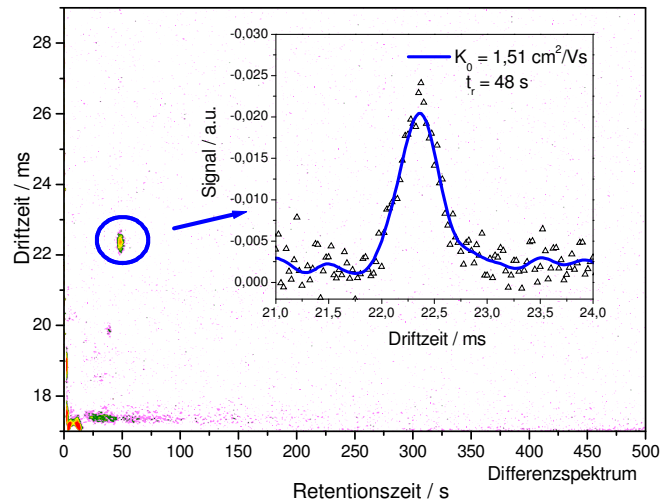


Abbildung 67: Detektierte Metaboliten aus der Atemluft bei einer Seitenstrangentzündung

Der in der Spektrenserie markierte Peak ($K_0 = 1,51 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 48 \text{ s}$) zeigt eine Übereinstimmung mit dem in *Enterobacter aerogenes*- Kultur detektierten B-Eb04 Peak ($K_0 = 1,54 \text{ cm}^2/\text{Vs}$, $t_r = 51 \text{ s}$). Die Veränderung des Signals bei diesem Peak wurde an den nachfolgenden Tagen beachtet. Abbildung 68 zeigt die exponentielle Reduktion der Peakflächen in Abhängigkeit der Zeit nach Beginn der Antibiotikumstherapie.

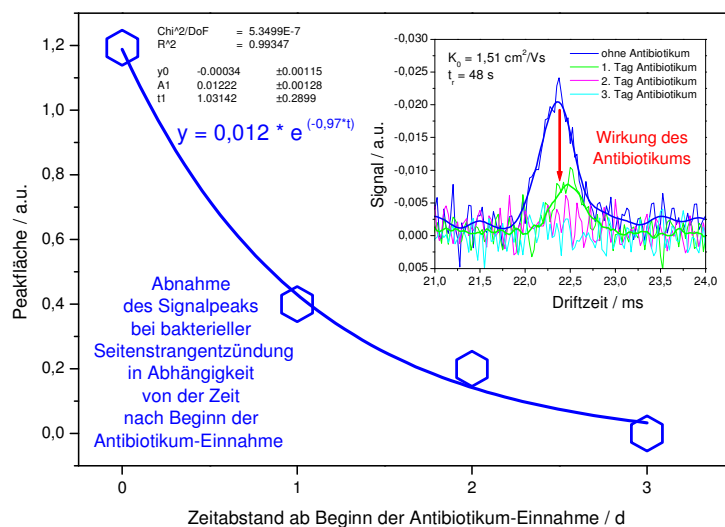


Abbildung 68: Wirkungswprofil eines Antibiotikums bei Seitenstrangentzündung

Der Nachweis sowohl von Markern des Medikamentenmetabolismus als auch der Medikamentenwirkung in der Ausatemluft bietet eine schnelle und einfache Methode zur Therapie- und Verlaufskontrolle für verschiedene Krankheiten. Mit einer solchen in der Arztpraxis angewendeten Untersuchung könnte frühzeitig festgestellt werden, ob mit dem eingesetzten Medikament die gewünschte Wirkung erreicht wurde, seine Dosis verändert werden muss oder die Umstellung auf eine andere Arznei oder Behandlung nötig ist.

4.4 Mustererkennung

Eine statistische Analyse war aufgrund der geringen untersuchten Zahl an Probanden pro Krankheitsbild nicht möglich. Anhand des analytischen Befunds der entwickelten Methode lässt sich jedoch ein Muster erstellen. Bei der Erstellung des Musters werden nur die Peaks betrachtet, die bei mehreren Personen detektiert wurden, also eine bestimmte Mindesthäufigkeit aufweisen.

In Tabelle 18 sind die Peaks, die jeweils bei mindestens drei Personen an unterschiedlichen Tagen detektiert wurden, dargestellt. Hier handelt es sich um insgesamt 12 Peaks. Die Koordinaten der Peaks in den Peakhöhendigrammen (reduzierte Mobilität in cm^2/Vs ; Retentionszeit in s) sind in der Tabelle in kursiver Schrift angegeben.

Tabelle 18/ a: Vorkommen der relevanten Peaks bei den untersuchten Atemwegskrankheiten

Krankheit / (Anzahl der Patienten)	Peak 1 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,86;33)</i>	Peak 2 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,88;23)</i>	Peak 3 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,76;34)</i>	Peak 4 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,73;290)</i>	Peak 5 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,55;51)</i>	Peak 6 <i>($K_0; t_r$)</i> <i>(1,42;10)</i>
COPD (7)	2	1	1	1	2	1
Bronchiektasen (6)	1	2	2		4	2
Emphysem (2)			1			
Bronchitis (5)	1	2			2	
Tonsillitis (1)	1		1			1
Tuberkulose (2)		1	2			
Pneumonie (1)			1			
Candidainf. (2)	1			2		
Unbekannt (4)		1	1	2	1	
Σ Vorkommen der einzelnen Peaks	6	7	9	5	9	3

Tabelle 18/ b: Vorkommen der relevanten Peaks bei den untersuchten Atemwegskrankheiten

Krankheit / (Anzahl der Patienten)	Peak 7 ($K_0; t_r$) (1,42;81)	Peak 8 ($K_0; t_r$) (1,38;23)	Peak 9 ($K_0; t_r$) (1,36;235)	Peak 10 ($K_0; t_r$) (1,38;84)	Peak 11 ($K_0; t_r$) (1,33;130)	Peak 12 ($K_0; t_r$) (1,28;334)	Σ Peaks bei einzelner Krankheit
COPD (7)	3		2	2	3	1	19
Bronchiek- tasen (6)	2	1	3		4	3	24
Emphysem (2)					2	2	5
Bronchitis (5)	2		1		3	2	13
Tonsillitis (1)	1			1	1	1	7
Tuberkolose (2)	1				1	1	6
Pneumonie (1)							1
Candidainf. (2)	1	2		1	1	1	9
Unbekannt (4)	1				2		8
Σ Vorkommen der einzelnen Peaks	11	3	6	4	17	11	88

In der Tabelle wird gezeigt, bei wie vielen Patienten der einzelnen Krankheiten diese relevanten Peaks vorgekommen sind. Daneben ist auch zusammengefasst, wie oft diese Peaks bei einer einzelnen Krankheit auftraten (horizontale Summe). Die vertikale Summe zeigt, wie oft der jeweilige Peak für alle Krankheiten insgesamt vorkam.

In den untersuchten Patientengruppen waren COPD, Bronchiektasen- und Bronchitispatienten mit 7, 6 und 5 Personen die größte Anzahl. Diese sind in der Tabelle mit blauer Schrift markiert. Die Zahl der zu den anderen Krankheiten gehörenden Patienten war für eine Interpretation zu gering.

Im Hinblick auf die Gesamtanzahl der in den Atemluftspektren der einzelnen Krankheiten auftretenden Peaks kann festgestellt werden, dass die meisten Peaks ebenso bei Patienten mit COPD und Bronchiektasen detektiert wurden. Dies kann einerseits mit der größten Personenanzahl in Zusammenhang stehen, andererseits damit, dass im Fall dieser Patienten neben der chronischen Krankheit häufig akute Infektionen mit einem ähnlichen Keimspektrum vorkommen.

Die grau hinterlegten Spalten in der Tabelle 18 kennzeichnen die Peaks, die eine gute Übereinstimmung mit den in den Emissionsspektren der vermessenen Bakterien gefundenen Peaks zeigen. Peak 1 kann den Bakterien B-Sa01 (bei *Staphylococcus aureus*) (siehe auch Tabelle 10), B-Se01 (bei *Staphylococcus epidermalis*) und B-

Hi03 (bei *Haemophilus influenzae*), Peak 4 B-Ca05 (bei *Candida albicans*), Peak 5 B-Eb04 (bei *Enterobacter aerogenes*) Peak 3, Peak 7, Peak 11 und Peak 12 B-Ec01, B-Ec03, B-EC04 und B-Ec05 (bei *Escherichia coli*) zugeordnet werden. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass hauptsächlich diejenigen Peaks, die auch in den Emissionen der Bakterienkulturen nachweisbar waren, in größerer Anzahl in den Atemluftspektren detektiert wurden. Dies bestärkt die Vermutung, dass bei den untersuchten Atemwegsinfektionen hauptsächlich die von den Bakterien freigesetzten Metaboliten in der Atemluft nachzuweisen sind.

Somit wäre eine keimspezifische Diagnose der Infektionskrankheiten anhand der Metaboliten der einzelnen Bakterienspezies in der Zukunft denkbar.

Von den genannten Peaks wurden Peak 5 (in *Enterobacter aerogenes*- Kulturen) sowie die vier zuletzt erwähnten in *E. coli*- Kulturen detektierten Peaks am häufigsten analysiert. Candida-Infektionen wurden nur bei zwei Patienten diagnostiziert, was für eine Aussage zu wenig ist, jedoch wurde bei beiden Atemluftproben Peak 4 detektiert, der bei *Candida albicans*- Kulturen auch nachgewiesen wurde. Daneben wurde Peak 4 bei drei beatmeten Patienten gefunden, bei denen eine Candida-Besiedlung der Schleimhäute sehr häufig vorkommt.

Im Fall der restlichen Peaks kann es sich um Metaboliten noch nicht untersuchter Bakterienspezies oder auch durch den Körper produzierte Komponenten handeln. Abbauprodukte von häufig in der Klinik eingesetzten Medikamenten können ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Anhand dieser Peaks ist zu erkennen, dass Peak 9 hauptsächlich nur bei den zwei obstruktiven Lungenkrankheiten COPD und Bronchiektasen nachgewiesen wurde. Besonders bei diesen Krankheiten würde neben einem schnellen, keimspezifischen Nachweis auch die Detektion von krankheitsspezifischen Komponenten eine wichtige Rolle spielen. Weiterhin wurde Peak 6 bei Patienten mit eitrigem Auswurf detektiert, was auf eine akute Infektion hinweist, die häufig auf dem Boden einer chronischen Krankheit entsteht, wie es die Tabelle 18 zeigt. Eine frühzeitige Detektion einer akuten Infektion wäre beispielsweise bei Komapatienten in der Intensivstation besonders wichtig.

Eine Darstellung der detektierten Peaks von jedem vermessenen Patienten und die in der Tabelle 18 angegebenen relevanten Peaks – also die Häufigkeitspunkte, die

mit unterschiedlich gefärbten Vierecken markiert sind – sind in Abbildung 69 dargestellt.

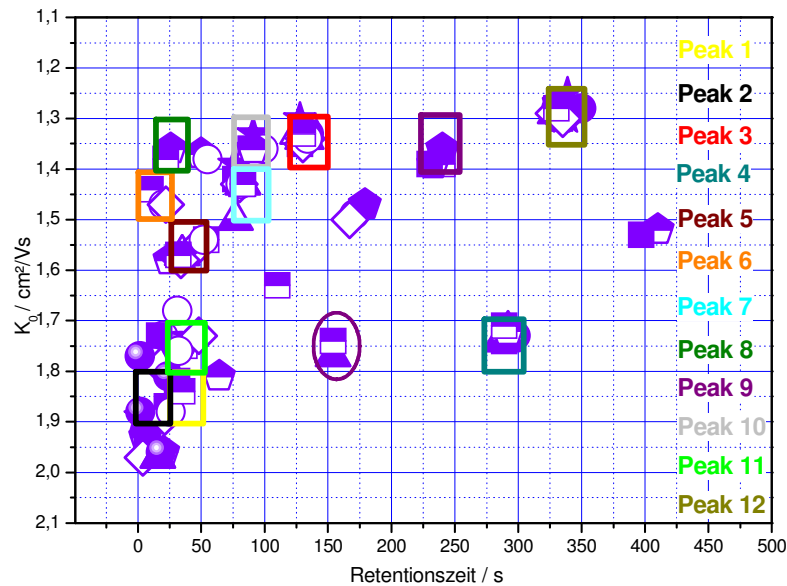


Abbildung 69: Ausschließlich bei infektiösen Patienten vorgekommene Peaks

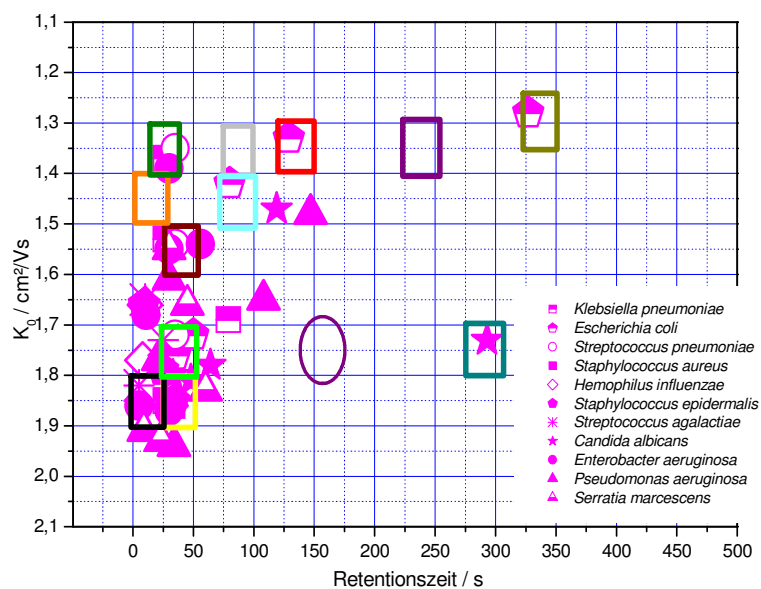


Abbildung 70: Emissionen ausgewählter Bakterien- und Pilzkulturen (Peaklage)

Ebenso in Abbildung 70 sind Peaks von den ausgewählten Bakterienkulturen gezeigt. Zum besseren Vergleich enthält diese Abbildung ebenfalls die bei den Patienten festgestellten häufigen Peaks mit der gleichen Markierung. Dabei ergibt

sich eine visuelle Illustration der zusammengehörenden Peaks von Atemluft und Bakterienemissionsmessungen.

Abbildung 69 zeigt, dass mit den ausgewählten Häufigkeitspunkten die vorgekommenen Peaks zum großen Teil abgedeckt sind. Es gibt aber auch Peaks, die außerhalb des ausgewählten Musters liegen. Mit einer höheren Anzahl untersuchter Patienten könnte die Zusammenhörigkeit dieser Peaks zum Muster bestätigt werden.

Bei einem solchen Vergleich wird auch erkannt, warum das Atemluftmuster von Patienten, die ähnlich behandelt wurden, über gleiche Peaks verfügt: Es zeigt sich zum Beispiel bei den beatmeten Patienten (mit lila Kreis markiert), wobei das Auftreten des Peaks vermutlich mit der während der Untersuchung verwendeten Desinfektionsmittel zusammenhängt.

Um die hier entwickelte Analysenmethode als ein diagnostisches Verfahren zu etablieren, müssen die hier dargestellten Ergebnisse statistisch bestätigt und durch parallel durchgeführte Vergleichsmessungen (z.B. mittels GC-MS) unterstützt werden.

Mit einem zur on-line Atemluftanalyse entwickelten Messprogramm, welches sich nur auf bestimmte Häufigkeitspunkte als Sektoren – wie es in Abbildung 69 dargestellt ist – konzentriert, könnte das Ergebnis der Analyse schnell erfasst werden. Das Vorkommen eines Peaks in einem Sektor oder die Kombination von Befunden in mehreren Sektoren könnte eine schnelle Krankheitsdiagnose erlauben. Bei der Kontrolle bestimmter Infektionen wäre zum Beispiel nur die Überwachung bestimmter Häufigkeitspunkten ausreichend, wobei das Ergebnis auf einen positiven oder negativen Befund reduziert werden könnte. Dies könnte durch das medizinische Personal einer Klinik durchgeführt werden und würde eine häufige Kontrolle der Patienten erlauben.

5 Zusammenfassung

Die Analyse der Ausatemluft als nichtinvasive diagnostische Methode konnte bisher noch nicht in der klinischen Diagnostik zur Routineuntersuchung eingesetzt werden. Gründe hierfür sind einerseits methodische Probleme und andererseits die hohen Kosten der angewendeten Analysegeräte. Ziel dieser Arbeit war es daher, eine auf der Ionenmobilitätsspektrometrie basierende Methode zur on-line, in-situ Atemluftanalyse zu entwickeln.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein am ISAS - Institute for Analytical Sciences entwickeltes IMS für die Atemluftanalyse modifiziert, sowie die Anwendbarkeit der entwickelten Methode in der klinischen Diagnostik an ausgewählten Patientengruppen gezeigt.

Zunächst wurde eine für die Atemluftanalyse geeignete Ionisationsquelle ausgewählt. Dazu wurden Testgase der aus der Literatur bekannten, in der Atemluft vorkommenden flüchtigen organischen Verbindungen hergestellt und die Nachweisgrenze eines ^{63}Ni - und UV-IMS für diese Verbindungen bestimmt. Da die Nachweisgrenzen der ausgewählten Substanzen mittels des ^{63}Ni -IMS im Allgemeinen 2-3 Größenordnungen unter den mit dem UV-IMS ermittelten lagen (ppt_v- Bereich), wurde für die weiteren Untersuchungen ein IMS mit ^{63}Ni -Ionisationsquelle verwendet.

Aufgrund der hohen relativen Feuchte der Atemluft (nahe 100%) wurde der Einfluss der Feuchte auf das IMS-Signal untersucht. Mit Hilfe von befeuchteten Testgasproben von Aceton konnte gezeigt werden, dass die Feuchte die Bildung sowohl der Reaktionsionen als auch der Analytionen negativ beeinflusst: Es entstehen größere Addukte, wodurch die Interpretation der Komponenten erschwert wird. Daneben erhöht die hohe Feuchte die Nachweisgrenzen. Daraufhin wurde der Probeneinlass des IMS optimiert. Zunächst wurde ein Membraneinlasssystem eingesetzt, das eine Abtrennung des Wassers gewährleistet, jedoch die Nachweisgrenzen des Systems stark erhöht. Außerdem genügte die Auftrennung der Komponenten nicht den Ansprüchen an eine erfolgreiche Analyse.

Durch die Kopplung des IMS mit einer Multikapillarsäule (MCC) gelang die on-line Abtrennung der Feuchte am Anfang der Analyse. Außerdem erlaubte diese Konstruktion eine schnelle Trennung komplexer Gemische vieler Verbindungen

selbst bei isothermer Anwendung der MCC in einem größeren Molekularbereich. Eine isotherme Separation eines Testgasgemischs von 3-Pentanon, 2-Hexanon, 2-Heptanon und 2-Octanon war z.B. nach 100 s abgeschlossen. Die geringen Peakverbreiterungen auch bei Substanzen mit hohen Retentionszeiten resultierten in größeren Peakintensitäten und dabei wurde eine Analyse von Spurenkomponenten möglich. So wurde eine on-line Probenahme und Analyse der Atemluftproben ohne zusätzliche Probenvorbereitungsschritte ermöglicht. Darüber hinaus erlaubte der isotherme Betrieb der MCC die Miniaturisierung des Gerätes.

Die on-line Probenahme erfolgte so, dass die Atemluftprobe beim Ausatmen direkt eine selbst konstruierte Probenahmeschleife eines 6-Wege-Ventils durchströmt. Durch Umschalten des Ventils wurden die Proben dann von der Probenschleife direkt auf die Multikapillarsäule gegeben. Während der zeitlichen Auftrennung der Komponenten erfolgte die Detektion mittels IMS.

Zur Bestimmung des Atemluftmusters einer Kontrollgruppe wurden 72 gesunde Mitarbeiter des ISAS und der Lungenklinik Hemer untersucht. In der Atemluft der nicht erkrankten Personen wurden Aceton und Ethanol aufgrund ihrer Mobilitäten und Retentionszeiten identifiziert. Daneben wurde festgestellt, dass die Kontamination der Raumluft sowie der Konsum von Lebensmitteln und Zigaretten großen Einfluss auf die Zusammensetzung der Atemluft hat, der jedoch ca. 2 Stunden nach dem Essen, Trinken oder Rauchen abgeklungen ist.

Die Reproduzierbarkeit der Atemluftanalysen wurde anhand der Peakfläche und der aus der Peaklage berechneten reduzierten Mobilität der in der Atemluft detektierten Acetonpeaks qualitativ und quantitativ bestimmt. Die Standardabweichung der Peakfläche bei Wiederholungsmessungen innerhalb von 30 Minuten (innerhalb dieses Zeitraumes kann die vom Körper produzierte Acetonmenge als konstant angenommen werden) betrug 12,2%. Dies stimmte gut mit den Wiederholungsmessungen überein, die mit befeuchtetem Testgas mit Aceton durchgeführt wurden. Die reduzierte Mobilität des Acetonpeaks in Atemluft der Kontrollgruppe wurde $1,81 \pm 0,02 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ bestimmt, was ebenfalls den bei Testgasproben von Aceton ermittelten Werten entspricht.

Das hier entwickelte Verfahren wurde in einer Kooperation mit der Lungenklinik in Hemer zur Untersuchung von Patienten mit infektiösen Lungenkrankheiten in-situ

eingesetzt. Die Optimierung der Probenahme und teils der Analyse wurde in der Lungenklinik durchgeführt und den verschiedenen diagnostischen Einsätzen angepasst: Zum Einem wurden ambulante Patienten untersucht, zum Anderen Patienten aus der Intensivstation, bei denen die Luft direkt von der Lunge genommen wurde. In beiden Fällen erfolgte eine on-line Probenahme und Analyse, die komplette Atemluftanalyse war nach weniger als 10 Minuten abgeschlossen.

Insgesamt 30 Patienten mit verschiedenen Lungenkrankheiten und den häufigsten Infektionserkrankungen der Atemwege wie chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD), akuter und chronischer Bronchitis, Bronchiektasen, Lungenemphysem und Pneumonien konnten in der Lungenklinik Hemer untersucht werden. Anhand der Atemluftanalyse konnte ein charakteristisches Muster der nur bei diesen Patienten vorgekommenen Peaks ermittelt werden.

Um ein IMS in der Diagnostik einsetzen zu können, ist es notwendig, unterscheiden zu können, ob die in einer Spektrenserie vorhandenen Peaks den vom Körper eines Patienten produzierten Verbindungen zuzuordnen sind oder ob es sich um Metaboliten von Bakterien handelt, die bei einer Infektion im Respirationstrakt auftreten. Dazu wurden die Emissionen der bei Atemwegsinfektionen am häufigsten auftretenden Bakterienspezies in reinen Kulturen im Hygieneinstitut in Iserlohn mittels IMS gemessen (z.B. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermalis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus B*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* sowie ein Pilz, *Candida albicans*). Es wurde festgestellt, dass die verschiedenen Bakterienspezies unterschiedliche, typische Emissionsmuster zeigen. Bakterienarten, die aufgrund ihrer morphologischen Eigenschaften und ähnlichen Stoffwechselprozesse der gleichen Gattung angehören, können allerdings auch über gemeinsame Komponenten im Emissionsmuster verfügen.

Mehrere Komponenten der Emissionsspektren der Bakterienspezies wurden auch in den Atemluftspektren bestimmter Patienten wiedergefunden. So gab es Übereinstimmungen der Atemluftspektren der meisten infektiösen Patienten mit den Emissionsspektren von *Escherichia coli*- Kultur. Es wird vermutet, dass ein verstärktes Auftreten der Metaboliten der *Escherichia coli* durch eine bei Infektionen häufig auftretende Störung der Darm- bzw. Magenschleimhaut zurückzuführen ist. Bestätigt sich dies, kann diese Komponente als Marker einer Infektion betrachtet

werden und erlaubt eine frühzeitige Diagnose einer Infektion auch bei Patienten in der Intensivstation, was die Heilungschancen deutlich verbessern würde.

Weitere Übereinstimmungen der Atemluftmuster mehrerer Patienten zeigten sich mit den Emissionsspektren von *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Candida albicans*, *Enterobacter aerogenes*. Dieser Befund wurde in mehreren Fällen mittels bakteriologischer Untersuchung bestätigt.

Außerdem wurde eine Komponente hauptsächlich bei den bei zwei obstruktiven Lungenerkrankungen gehörenden Patienten gefunden, so dass dabei eine krankheitsspezifische Verbindung vermutet werden kann.

Die Möglichkeit, die Atemluftanalyse mittels IMS zur Verfolgung des Abbaus von Medikamenten oder zur Überwachung der Wirkung eines Antibiotikums anzuwenden, konnte an Hand von Beispielen demonstriert werden.

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das entwickelte Verfahren der Kopplung von Ionenmobilitätsspektrometern mit Multikapillarsäulen eine schnelle online und in-situ Atemluftanalyse erlaubt. Die Methode kann z.B. zur Routinekontrolle von Infektionskrankheiten des Respirationstraktes verwendet werden. Damit steht ein neues, wichtiges Instrument für die klinische Diagnostik bereit.

6 Ausblick

Eine erfolgreiche, reproduzierbare Atemluftanalyse ist nur dann gewährleistet, wenn alveolare Atemluft als Probe vermessen wird. In der Zukunft könnte die Probenahme anhand der Atemlufttemperatur während eines Atemzyklus kontrolliert werden: Die Temperatur der tief aus der Lunge kommenden Luft (Restluft oder alveolare Luft) ist höher. Außerdem könnten durch die Automatisierung von Start der Probenahme und Beginn der Datenaufnahme die Abweichungen der Retentionszeiten verringert werden.

Vorteilhaft wäre auch das Beheizen der Probenahmeschleife, um Adsorptionen der Analyten an der Wand und Kondensationsprozesse zu vermeiden. Außerdem würde dies den Ausspülvorgang beschleunigen, wodurch das Gerät schneller für die nächste Messung bereit wäre.

Die Detektion der Bakteriemissionen in der Atemluftspektren infektiöser Patienten ermöglicht eine keimspezifische Diagnostik der verschiedenen Infektionskrankheiten. Der frühzeitige Nachweis einiger infektiöser Bakterien - die bei bestimmten Patientengruppen ein hohes Risiko darstellen (z. B. Serratiainfektionen) - bei Lungentransplantationspatienten oder Candidainfektionen, bei Patienten in der Intensivstation mit schwachem Immunsystem, wäre ein wichtiger Fortschritt. Dies gilt insbesondere auch für Patienten mit sog. Beatmungspneumonie, die bei mehr als der Hälfte der Patienten bei mehr als 14-tägiger Beatmung auftritt - bei einer Letalität von 50%^{135,136}. Durch die Intubation werden Abwehrmechanismen des oberen Respirationstraktes ausgeschaltet, wodurch das Risiko einer Infektion erhöht wird. Gerade hier wären eine frühzeitige Diagnostik und Behandlungsbeginn sehr hilfreich.

Mittels eines miniaturisierten vollautomatischen Analysegerätes könnte eine Selbstkontrollüberwachung der Patienten zu Hause erfolgen, was den Krankenhausaufenthalt verkürzen würde und damit Kosten einspart. Über Datenfernübertragung könnten die gemessenen Daten zum behandelnden Arzt gesendet werden, der dann die Entwicklung der Krankheit verfolgen kann. Für Lungenkrebspatienten nach Chemo- und radiologischer Therapie wäre dies besonders wichtig, da bei ihnen wegen des künstlich geschwächten Immunsystems ein erhöhtes Infektionsrisiko besteht.

Durch geeignete Früherkennung können Infektionen vor dem eigentlichen Ausbruch behandelt werden. Nach dem Ausbruch der Infektion kann dann die Wirkung des eingesetzten Antibiotikums, also in Form der Reduktion der Krankheitssymptome anhand der Atemluftanalyse, von zu Hause überwacht werden.

Darüber hinaus könnte die Verweildauer von Medikamenten in der Lunge oder anderen Organen aufgrund der in der Atemluft auftretenden Abbauprodukte verfolgt werden. Dies würde bei der Dosierung von Medikamenten eine große Rolle spielen.

In Zukunft könnte die Atemluftanalyse noch für weitere diagnostische Gebiete eingesetzt werden. So wäre z.B. eine nichtinvasive Kontrolle für Diabetiker über die Messung der Acetonkonzentration in der Atemluft möglich.

In diesen und vielen weiteren Bereichen der klinischen Diagnostik könnten Untersuchungen mittels IMS und zusätzlicher analytischer Vergleichsmethoden (z.B. Massenspektrometrie, IR-Spektroskopie) durchgeführt werden. Die erhaltenen Ergebnisse könnten dann in einer Metaboliten-Bibliothek gespeichert werden, die eine schnelle Atemluftspektreninterpretation erlaubt.

7 Abkürzungsverzeichnis

α	Korrekturfaktor
ν	Frequenz
η	Photoionisationseffizienz
δ	Phasenverhältnis
$\Omega_d(T)$	temperaturabhängiger Stoßquerschnitt
ΔH	Lösungsenthalpie
[AB*]	Konzentration der angeregten Analytmoleküle AB*
[AB]	Konzentration der Analytmoleküle AB
[C]	Konzentration der Trägergasmoleküle C
a	Konstante der Magnus-Formel
A	Konstante der Magnus-Formel
A_D	Term der van Deemter-Gleichung
AF	absolute Feuchte
A_M	Analyt in der mobilen Phase
A_S	Analyt in der stationären Phase
b	Konstante der Magnus-Formel
$b_{0,5}$	Peakbreite in halber Höhe
B_D	Term der van Deemter-Gleichung
c	Konzentration
c_0	Konzentration zum Zeitpunkt 0
C_1	Konzentration des Gases an der Eintrittsseite der Membran
C_2	Konzentration des Gases an der Ausgangsseite der Membran
C_D	Term der van Deemter-Gleichung
C_M	Analytenkonzentration in der mobilen Phase
COPD	chronische obstruktive Lungenerkrankung
CPS ID2	Typ eines der verwendeten Mediums
C_S	Analytenkonzentration in der stationären Phase
D	Diffusionskoeffizient
d_c	Innendurchmesser der Kapillare
d_f	Filmdicke der stationären Phase
E	Energie
e^-	Elektron
E_a	Aktivierungsenergie
ECD	Elektroneneinfangdetektor
E_d :	elektrische Feldstärke
e_w	Sättigungsdampfdruck
f	Flussrate der Trägergases
f_1	Faktor für Normierung der Messergebnisse bei unterschiedlichen Flussraten
f_2	Faktor für Normierung der Messergebnisse bei unterschiedlichen Temperaturen
F	spezifische Faraday-Konstante
FID	Flammenionisationsdetektor
FTIR	Fourier- Transform- Infrarot Spektrometer
h	Plancksches Wirkungsquantum
HETP	Trennstufenhöhe

H_T	Trennstufenhöhe
i	an der Faraday-Platte erzeugter Strom
I^*	Anteil der adsorbierten Photonen pro Sekunde
I_0	Anteil der immittierten Photonen pro Sekunde
IMS	Ionenmobilitätspektrometer
IR	Infrarot
J	diffusiver Stofftransport
K	Mobilität der Ionen
k	Reaktionskonstant
K_0	Reduzierte Mobilität der Ionen
k_B	Boltzmann-Konstante
K_c	Verteilungskoeffizient des Analyten zwischen der Gasphase und der stationären Phase
L	Länge des Ionisationsraumes
l_d	der Länge der Driftstrecke
l_s	Säulenlänge
m	Ionenmasse
MCC	Multikapillarsäule
M_m	Masse der neutralen Gasmoleküle
MS	Massenspektrometer
MXT	Typ der Kapillarsäule
m_w	Molekulargewicht der Wasserdampfes
N	Anzahl der theoretischen Böden
N_0	Avogadro-Zahl
N_g	Spezifische Molekülzahl des Driftgases
p	Druck
P	Permeabilitätskoeffizient
p_0	Standarddruck, 101,3 kPa
p_{01}	Partialdruck an der Eintrittsseite der Membran
p_{02}	Partialdruck an der Austrittsseite der Membran
PDMS	Polydimethylsiloxan
PID	Photoionisationsdetektoren
q	Ladung des Ions
r	Reaktionsgeschwindigkeit
R	allgemeine Gaskonstante
RF	relative Feuchte
s	Absorptionsquerschnitt
S	Löslichkeit des Gasmoleküls in der Membran
SAW	Surface Acoustic Wave Sensor
SIFT	Selected Ion Flow Tube
β^-	Radioaktives Teilchen
β'^-	Radioaktives Teilchen mit reduzierter Energie
T	Temperatur
t	Zeit
T_0	Standardtemperatur, 273 K
t_d	Driftzeit der Ionen
t_r	Retentionszeit
u	Geschwindigkeit der mobilen Phase
UV	Ultraviolett
v_d	mittlere Geschwindigkeit

V_F	Volumen der Flasche
V_G	Volumen der Gasphase
VOC	Flüchtige organische Verbindung
V_S	Volumen der stationären Phase
X	Membrandicke
μ	reduzierte Ionenmasse

8 Literatur

- 1 J. D. Pleil and A. B. Lindstrom: Exhaled human breath measurement method for assessing exposure to halogenated volatile organic compounds, *Clin.Chem.*, 43:5, 723-730,(1997)
- 2 A. Bittner: Untersuchungen zum Einsatz IR-spektrometrischer Blutsubstratanalytik für die medizinische Diagnostik, Dissertation, Universität Essen, Deutschland, (1997)
- 3 P. Prazeller: Quantifizierung organischer Spurenkomponenten in der menschlichen Atemluft, Dissertation, Universität Innsbruck, Österreich, (2003)
- 4 F. Kneepkens, G. Lepage, C. C. Roy: The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation, *Free Radical Biology & Medicine*,17:2, 127-160, (1994)
- 5 M. Phillips: Breath tests in medicine. *Sci. Am.* (July), 74-79 (1992)
- 6 E. Aghdassi, J. P. Allard: Breath alkanes as a marker of oxidative stress in different clinical conditions, *Free Radical Biology & Medicine*, 26:6, 880-886, (2000)
- 7 M. Phillips, J. Herrera, S. Krishnan: M. Zain, J. Greenberg, R. N. Cataneo, Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans, *J. Chromatogr. B*, 729, 75-88, (1999)
- 8 D. Kohlmüller, W. Kochen: Die Analyse der menschlichen Ausatemluft: Eine Herausforderung für Medizin und Umwelttoxikologie, Chemie in Labor und Biotechnik, 45. Jahrgang, Heft 1, 17-20 (1994)
- 9 S. M. Gordon, J. P. Szidon, B. K. Krotoszynski, RD Gibbons, HJ O'Neill: Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer, *Clin. Chem.*, 31, 1278-1282, (1985)
- 10 G. Preti, J. N. Labows, J. G. Kostelc, S. Aldinger, and R. Daniele: Detection of Lung Cancer With Volatile Markers in the Breath, *J Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 432, 1-11, (1988)
- 11 R. Bischoff, T. Moenke-Wedler, G. Bischoff: On-Line Detection of Volatile Compounds in Human Breath, 4th European Congress of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck surgery, Berlin, Germany, 13-18, (2000)
- 12 J. D. Pleil, A. B. Lindstrom: Measurement of volatile organic compounds in exhaled breath as collected in evacuated electropolished canisters, *J. Chromatogr. B*, 665, 271-279, (1995)
- 13 D. Karla, P. Thrall, Design and Evaluation of a Breath-Analysis System for Biochemical Monitoring of Volatile Compounds, *Am. Ind. HAJ.*, 6228-6235 (2001)
- 14 P. Magyar, I. Hutás, E. Vastag, Pulmonologia, Medicina, ISBN: 963-242-133-7, Győr, 279-344 (1998)
- 15 M. Matthys, W. Seeger, Klinische Pneumologie, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, ISBN: 3-540-16306-9, 310-363, (2002)
- 16 G. Becher, K. Winsel, E. Beck, Das Atemkondensat als Methode zur nicht-invasiven Erfassung von Entzündungsmediatoren aus den unteren Atemwegen, *Pneumologie* 51, 456-459 (1997)
- 17 T. Mitsui, T. Kondo, Assessing nitrate metabolism in the intestinal tract by measuring breath nitric oxide and nitrous oxide, and its clinical significance, *Clin. Chim. Acta*, 319, 57-62, (2002)
- 18 A. Artlich, B. Jonsson, M. Bhiladvala, P. A. Lonnqvist, L. E. Gustafsson, Single breath analysis of endogenous nitric oxide in the newborn, *Biol Neonate*, 79:21-26, (2001)
- 19 A.S. Kharitonov, P.J. Barnes, Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath, *Biomarkers*, 7:1, 1-32, (2002)
- 20 H. Ekroos, J. Tuominen: Exhaled nitric oxide and its long-term variation in healthy non-smoking subjects, *Clin. Phys.*, 20: 6, 434-439, (2000)

- 21 E. Gabbay, A.J. Fischer, T. Small: Exhaled single-breath oxide measurements are reproducible, repeatable and reflect levels of nitric oxide found in the lower airways, *Eur. Respir. J.*, 11, 467-472, (1998)
- 22 K. N. Jeejeebhoy: *In vivo* breath alkane as an index of lipid peroxidation, *Free Radic. Biol. Med.* 10, 191-193, (1991)
- 23 W. M. Foster, L. Jiang, P. T. Stetkiewicz, T. H. Risby: Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone. *J. Appl. Physiol.* 80, 706-710, (1996)
- 24 L. Scheideler, H. Manke, U. Schwulera: Detection of Nonvolatile Macromolecules in Breath, a Possible Diagnostic Tool? *Am. Rev. Respir. Dis.* 148, 778-784, (1993)
- 25 P. Montuschi, P.J. Barnes: Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation, *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 23:5, (2002)
- 26 H. Brandis, H. J. Otte: Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 240-381, (1984)
- 27 D. A. M. MacKay: Measuring and deodorizing breath odor, *Drug and Cosmetic Industry* 86, 46, (1960)
- 28 D.A.M. MacKay, Measuring and deodorizing breath odor, *Drug and Cosmetic Industry* 86, 166, (1960)
- 29 M. F. Mason and K. M. Dubowski, Breath-alcohol analysis: uses, methods, and some forensic problems--review and opinion. *J. Forensic Sci.* , 21, 9-41, (1976)
- 30 S. Mendis, P. A. Sobotka, and D. E. Euler: Pentane and Isoprene in Expired Air from Humans: Gas- Chromatographic Analysis of Single Breath, *Clin Chem.*, 40/8, 1485-1488, (1994)
- 31 A. W. Jones, V. Lagesson, C. Tagesson: Determination of isoprene in human breath by thermal desorption gas chromatography with ultraviolet detection, *Journal of Chromatography B*, 672, 1-6, (1995)
- 32 A. Cailleux and P. Allain: Is pentan a normal constituent of human breath?, *Free. Rad. Res. Comms.*, 18:6, 323-327, (1993)
- 33 J. G. Zeidler and H. K. Lichtenthaler: Two Simple Methods for Measuring Isoprene Emission of Leaves by UV-Spectroscopy and GC-MS, *Z. Naturforsch.* 53c, 1087-1089, (1998)
- 34 B. O. Janson and B. T. Larsson: Analysis of organic compounds in human breath by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Lab. Clin. Med.*, 74:6, 961-966, (1969)
- 35 S. M. Gordon, J. P. Szidon, RD Gibbons and HJ O'Neill: Volatile Organic Compounds in Exhaled Air from Patients with Lung Cancer, *Clin. Chem.* 31:8, 1278-1282, (1985)
- 36 D. Smith, P. Spanel: The novel selected ion flow tube approach to trace gas analysis of air and breath, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 10, 1183-1198, (1996)
- 37 A. M. Diskin, P. Spanel, D. Smith: Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a qualitative SIFT-MS study over 30 days, *Physiol. Meas.* 24, 107-119, (2003)
- 38 A. M. Diskin, P. Spanel, D. Smith: Increase of acetone and ammonia in urine headspace and breath during ovulation quantified using selected ion flow tube mass spectrometry, *Physiol. Meas.* 24, 191-199, (2003)
- 39 S. A. Kharitonov, D. H. Yates, P. J. Barnes: Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153:454-457, (1996)
- 40 S. A. Kharitonov, K. F. Chung, D. Evans, B. J. O'Connor: Increased exhaled nitric oxide in asthma is mainly derived from the lower respiratory tract, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 153, 1773-1780, (1996)

- 41 J. Vreman, L. M. Baxter, R. T. Stone: Evaluation of fully automated end-tidal carbon monoxide instrument for breath analysis. *Clin. Chem.* 42, 50-56, (1996)
- 42 W. A. Groves, E. T. Zellers: Prototype instrument employing a microsensor array for the analysis of organic vapours in exhaled breath. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 57, 1103-1108, (1996)
- 43 S. K. Kundu, J. A. Bruzek, R. Nair, A. M. Judilla: Breath acetone analyser: Diagnostic tool to monitor dietary fat loss. *Clin. Chem.*, 39, 87-92, (1996)
- 44 S. Skrabakova, E. Matisova, M. Onderova, I. Novak, D. Berek: The testing of carbon sorbent for preconcentration of volatile organic compounds, *Chem. Papers* 48, 149-174, (1994)
- 45 R. Dannecker, E.G. Shaskan and M. Phillips: A new highly sensitive assay for breath acetaldehyde: Detection of endogenous levels in humans, *Anal. Biochem.*, 114, 1-7, (1981)
- 46 M. Phillips, J. Greenberg: Ion trap detection of volatile organic compounds in alveolar breath, *Clin. Chem*, 38:1, 60-66, (1992)
- 47 M. Phillips: Method for the Collection and Assay of Volatile Organic Compounds in Breath, *Anal. Biochem.*, 247, 272-278, (1997)
- 48 H. K. Wilson, A. C. Monster: New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring, *Occup. Environ. Med.* 56, 753-757, (1999)
- 49 H. K. Wilson, Breath analysis: physiological basis and sampling techniques, *Scand. J. Work Environ. Health*, 12, 174-192, (1986)
- 50 M. J. Cohen, F. W. Karasek: Plasma chromatography – a new dimension for gas chromatography and mass spectrometry, *J. Chromatogr. Sci.*, 8, 330-337, (1970)
- 51 G. A. Eiceman, Z. Karpas: Ion Mobility Spectrometry, CRC Press Inc., Boca Raton – Ann Arbor, London, Tokyo, 2-114, (1994)
- 52 G. E. Spangler, M. J. Cohen: Instrument design and description, in *Plasma chromatography*, W.T. Carr (Hrsg.), Plenum Press, New York, (1984)
- 53 J. M. Preston, F. W. Karasek, S. H. Kim: Plasma chromatography of phorosus esters, *Anal. Chem.*, 49, 1746-1750, (1977)
- 54 M. J. Cohen, R. F. Wernlund, R. M. Stimac: The ion mobility spectrometer for high explosive vapour detection, *Nucl. Mater. Manage.*, XIII, 220-240, (1984)
- 55 F. W. Karasek, D. W. Denney: Detection of 2,4,6-trinitrotoluene vapours in air using plasma chromatography, *J. Chromatogr.*, 93, 141-147, (1974)
- 56 F. Keenan, M. Cooke: Detection of low levels of nicotine in air using a portable ion mobility spectrometer, *Anal. Proc.*, 31, 27-29, (1994)
- 57 F. W. Karasek, D. W. Denney, E.H. Decker: Plasma chromatography of normal alkanes and its relationship to chemical ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 46, 970-973, (1974)
- 58 F. W. Karasek, D. M. Kane: Plasma chromatography of the n-alkyl alcohols, *J. Chromatogr. Sci.*, 10, 673-677, (1972)
- 59 Z. Karpas, Y.-F. Wang, G. A. Eiceman: Qualitative and quantitative response characteristics of capillary gas chromatograph/ion mobility spectrometer to halogenated compounds, *Anal. Chim. Acta*, 282, 19-31, (1993)
- 60 F. W. Karasek, O. S. Tatone, D. M. Kane: Study of electron capture behavior of substituted aromatics by plasma chromatography, *Anal. Chem.*, 45, 1210-1214, (1973)
- 61 F. W. Karasek, D. W. Denney: Detection of aliphatic n-nitrosamine compounds by plasma chromatography, *Anal. Chem.*, 46, 1312-1314, (1974)

- 62 G. E. Spangler, P. A. Lawless: Ionization of nitrotoluene compounds in negative ion plasma chromatography, *Anal. Chem.*, 50, 884-892, (1978)
- 63 A. R. M. Przybylko, C. L. P. Thomas, P. J. Anstice, P. R. Fielden, J. Brokenshire, F. Irons: The determination of aqueous ammonia by ion mobility spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 311, 77-83, (1995)
- 64 M. Simpson, D. R. Anderson, C. W. McLeod, M. Cooke: Polymer characterization using laser desorption ion mobility spectrometry, *Analyst*, 118, 449-451, (1993)
- 65 N. J. C. Strachan, F. J. Nicholson, I. D. Ogden: An automated sampling system using ion mobility spectrometry for the rapid detection of bacteria, *Anal. Chim. Acta*, 313, 63-67, (1995)
- 66 S. H. Kim, G. E. Spangler: Plasma chromatography of heroin and cocaine with mass identified mobility spectra, *J. Chromatogr.*, 117, 327-336, (1976)
- 67 F.W. Karasek, D.E. Karasek, S.H. Kim: Detection of lysergic acid diethylamide, delta-9-tetrahydrocannabinol and related compounds by plasma chromatography, *J. Chromatogr.*, 105, 345-352, (1975)
- 68 P. Pilzecker, J. I. Baumbach: On-Site Investigations of Gas Insulated Substations Using Ion Mobility Spectrometry for Remote Sensing of SF₆-Decomposition, Proc. of the IEEE International Symposium on Electrical Insulation, Anaheim, CA, USA, (2000)
- 69 H. Schmidt, J. I. Baumbach, P. Pilzecker, D. Klockow: Detection of chlorinated and fluorinated substances using partial discharge ion mobility spectrometry, *Int. J. Ion Mobility Spectrom.* 3:1,8-14, (2000)
- 70 S. Sielemann, Z. Xie, H. Schmidt, J.I. Baumbach: Determination of MTBE next to Benzene, Toluene and Xylene within 90s using GC/IMS with Multi-Capillary Column *Int. J. Ion Mobility Spectrom.* 4:1, 77-83, (2001)
- 71 S. Sielemann, J.I. Baumbach, P. Pilzecker, G. Walendzik: Quantitative Analysis of Benzene, Toluene, and m-Xylene with the Use of a UV-Ion Mobility Spectrometer, *Field Analytical Chemistry and Technology* 4:4,157-169, (2000)
- 72 H. H. Hill, W. F. Siems: Ion mobility spectrometry, *Anal. Chem.*, 62, 1201A-1209A, (1990)
- 73 G. A. Eiceman: Advances in Ion Mobility Spectrometry:1980-1990, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 22, 17-36, (1991)
- 74 R. A. Goubran, A.H. Lawrence: Experimental signal analysis in ion mobility spectrometry, *Int. J. Mass Spectr. Ion Proc.* 104, 163-178, (1991)
- 75 H. E. Revercomb, E. A. Mason: Theory of plasma chromatography/gaseous electrophoresis – A Review, *Anal. Chem.* 47, 970-982, (1975)
- 76 F. W. Karasek, D. M. Kane: Plasma chromatography of isomeric halogenated nitrobenzenes, *Anal. Chem.* 46, 780-782, (1974)
- 77 S. Rokushika, H. Hatano, H.H. Hill: Ion mobility spectrometry in carbon dioxide, *Anal. Chem.* 58, 361-365, (1986)
- 78 D. C. Collins, M. L. Lee: Developments in ion mobility spectrometry-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 372, 66-73, (2002)
- 79 R. H. St. Louis, H. H. Hill: Ion mobility spectrometry in analytical chemistry, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 21, 321-355, (1990)
- 80 N. E. Bradbury, R. A. Nielsen: Absolute values of the electron mobility in hydrogen, *Phys. Rev.* 49, 388-393, (1936)
- 81 A. M. Tyndall: The mobility of positive ions in gases, University Press, Cambridge, England, (1938)

- 82 D. O. Soppart, J.I. Baumbach: Comparison of electric fields within drift tubes for ion mobility spectrometry, *Meas. Sci. Technol.* 11, 1473-1479, (2000)
- 83 J. Stach: Ionenmobilitätsspektrometrie - Grundlagen und Applikationen, *Analytiker Taschenbuch* 16, 119-154, (1997)
- 84 C. S. Leasure, M. E. Fleischer, G. K. Anderson, G. A. Eiceman: Photoionization in air with ion mobility spectrometry using a hydrogen discharge lamp, *Anal. Chem.* 58, 2142-2147, (1986)
- 85 G. A. Eiceman, V. J. Vandiver: Charge exchange in binary mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons using photoionisation - ion mobility spectrometry, *Anal. Chem.* 58, 2331-2335, (1986)
- 86 D. G. McMinn, J. A. Kinzer, C. B. Shumate, W. F. Siems, H. H. Hill: Ion mobility detection following liquid chromatographic separation, *J. Microcolumn Sep.* 2, 188-192, (1990)
- 87 R. W. Hallen, C. B. Shumate, W. F. Siems, T. Tsuda: Preliminary investigation of ion mobility spectrometry after capillary electrophoretic introduction, *J. Chromatogr.* 480, 233-245, (1989)
- 88 D. Wittmer, B. K. Luckenbill, H. H. Hill, Y. H. Chen: Electrospray ionization ion mobility spectrometry, *Anal. Chem.* 66, 2348-2355, (1994)
- 89 D. M. Lubman, M.N. Kronick: Discrimination of isomers of xylenes by resonance enhanced two-photon ionization, *Anal. Chem.* 54, 2289-2291, (1982)
- 90 L. Kolaitis, D. M. Lubman: Atmospheric pressure ionization mass spectrometry with laser-produced ions, *Anal. Chem.* 58, 1993-2001, (1986)
- 91 J. Gormally, J. Phillips: The performance of ion mobility spectrometry for use with laser ionization, *Int. J. Mass Spectr. Ion Proc.* 107, 441-451, (1991)
- 92 O. Soppart, J. I. Baumbach, M. Kurrat, S. M. Alberti Segundo, D. Klockow: Ion mobility spectrometry for the characterization of SF₆-decomposition products caused by partial discharges, *9th International Symposium on High Voltage Engineering, Graz*, 28. 8. - 1.9, (1995)
- 93 G. A. Eiceman, K. Kelly, E. G. Nazarov: Nitric oxide as a reagent gas in ion mobility spectrometry, *Int. J. Ion Mobility Spectrom.*, 5:1, 22-30, p.23, (2002)
- 94 A. Good, D. A. Durden, P. Kebarle: Ion-Molecule Reactions in Pure Nitrogen Containing Traces of Water at Total Pressures 0.5-4 torr. Kinetics of Clustering Reactions Forming H⁺(H₂O)_n, *J. Chem. Phys.*, 52, 212-221, (1970)
- 95 M. M. Shahin: Mass-Spectrometric Studies of Corona Discharges in Air at Atmospheric Pressures, *J. Chem. Phys.*, 45, 2600, (1965)
- 96 T. W. Carr: Comparison of the negative reaction ions formed in the plasma chromatograph by nitrogen, air, sulfur hexafluoride as the drift gas and air as the carrier gas, *Anal. Chem.*, 51, 705-711, (1979)
- 97 S. H. Kim, K. R. Betty, F.W. Karasek: Plasma chromatography of benzene with mass identified mobility spectra, *Anal. Chem.*, 50: 1784-1788, (1978)
- 98 K. Aflatooni, G. A. Gallup, P. D. Burrow: Dissociative Electron Attachment in Chloroalkanes and the Correlation with Vertical Attachment Energies, *Chem. Phys. Lett.*, 282, 398-402, (1998)
- 99 H. R. Pruppacher, J. D. Klett: *Microphysics of Clouds and Precipitation*, D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Niederlande (1980)
- 100 W. Vautz, S. Sielemann, J. I. Baumbach: Determination of terpenes in humid ambient air using ultraviolet ion mobility spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 513, 393-399, (2004)
- 101 G. E. Spangler, J. P. Carrico: Membrane inlet for ion mobility spectrometry (plasma chromatography), *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Phys.* 52, 267-287, (1983)

- ¹⁰² B. L. Karger, L. R. Snyder, Cs. Horvath: An introduction to separation science, A Wiley-Interscience Publication, New York, London, (1973)
- ¹⁰³ C. Macht: Herstellung ultradünner Polymerfilme und Untersuchung ihrer Gastrenneigenschaften, Dissertation, Berlin, (2000)
- ¹⁰⁴ P. Aptel, J. Neel: Pervaporation - Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications, D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Niederlande, (1986)
- ¹⁰⁵ K. Cammann, Instrumentelle Analytische Chemie: Heidelberg, Berlin, Spektrum Akad. Verl., ISBN: 3-827-0057-0, (2001)
- ¹⁰⁶ G. Schomburg: Gaschromatography, A practical Course, VHC Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, ISBN 3-527-27879-6, (1990)
- ¹⁰⁷ F. W. Karasek, R.A. Keller: Gas chromatograph/plasma chromatograph interface and its performance in the detection of musk ambrette, *J. Chromatogr. Sci.* 10, 626-628, (1972)
- ¹⁰⁸ M. A. Baim, H. H. Hill: Tunable selective detection for capillary gas chromatography by ion mobility monitoring, *Anal. Chem.*, 54:38, 38-43, (1982)
- ¹⁰⁹ J. P. Dworzanski, M. G. Kim, A. P. Snyder, N. S. Arnold, H. L. C. Meuzelaar: *Analytica Chimica Acta*, 213, 219-235, (1994)
- ¹¹⁰ A. Mercado, P. Mardson: Gas chromatography/ion mobility spectrometry as a hyphenated technique for improved explosives detection and analysis, Proceedings of the 3rd International Workshop of Ion Mobility Spectrometry, Galveston, Texas, 10, 16-19, (1994)
- ¹¹¹ H. Ertl, U. Breit: New Separation Device That Allows Fast Gas Chromatography of Large Samples, Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng. (Cargo Inspection Technology), 2276, 56-58, (1994)
- ¹¹² W. S. Cooke: Multikapillarsäule, Alltech-Applied Science Labs, (1996)
- ¹¹³ J. I. Baumbach, G. A. Eiceman, D. Klockow, S. Sielemann, A. von Irmer: Exploration of a multi capillary column for use in elevated speed chromatography, *Int. J. Env. Anal. Chem.* 66, 225-239, (1997)
- ¹¹⁴ J. I. Baumbach, S. Sielemann, O. Soppart, Detektion flüchtiger organischer Verbindungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie gekoppelt mit Multi-Kapillarsäulen, ISBN 3-00-003677-6
- ¹¹⁵ Bringing speed to gas chromatography, Alltech Today Bulletin 328, 1-3, (1996)
- ¹¹⁶ J. J. Ritter, N. K. Adams: Exponential Dilution as a Calibration Technique, *Anal. Chem.*, 48:3, 612-619, (1976)
- ¹¹⁷ J. D. Fenske and S. E. Paulson: Human Breath Emission of VOCs, *Journal of the Air and Waste Management Association*, 49:594-598, (1999)
- ¹¹⁸ O. Soppart: Einsatz der Ionenbeweglichkeitsspektrometrie zur Qualitätsbewertung von SF₆ in gasisolierten Schaltanlagen, Berichte aus der Energietechnik, Dissertation, Universität Dortmund, 1-112 (1998)
- ¹¹⁹ J. I. Baumbach, A. N. Davies, P. Lampen und H. Schmidt: JCAMP-DX. A Standard Format for the Exchange of Ion Mobility Spectrometry Data (IUPAC Recommendations 2001), *Pure Appl. Chem.*, 37:11, 1765-1782, (2001)
- ¹²⁰ I. Stephen, S. G. Farmer: Exacerbations and Progression of Disease in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Proc. Am. Thorac. Soc.* 1, 88-92, (2004)
- ¹²¹ V. Mysliwiec, J. S. Pina: Bronchiectasis: the „other“ obstructive lung disease, *Prostgraduate Medicine*, 106, 1, (1999)
- ¹²² H. Matthys, W. Seeger: Klinische Pneumologie, ISBN: 3-540-16306-9, 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York Kapitel 14, 220-330, (2002)

- 123 K. Fujimoto: Eosinophilic Inflammation in the Airway Is Related to Glucocorticoid Reversibility in Patients With Pulmonary Emphysema, *Chest*, 115:3, (1999)
- 124 Biologie der Bakterien: <http://www.samuelhahnnemannschule.de/biblioth/infekt8.htm>, (2004)
- 125 Infektionsdiagnostischer Kursus, Institut für Mikrobiologie Zentrum für Infektionsmedizin Tierärztliche Hochschule, Hannover, (2003), <http://www.tiho-hannover.de/einricht/immuno/lehre>
- 126 A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer: The Prokariotes, Volume II, Springer Verlag New York, Berlin, Heidelberg, 126-242, (1992)
- 127 Todar's Online Textbook of Bacteriology, <http://textbookofbacteriology.net>, (2004)
- 128 M. N. Guentzel, Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter and Proteus <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch026.htm>
- 129 NIST Chemistry WebBook: NIST Standard Reference Database Number 69 -July 2001 Release, <http://webbook.nist.gov/chemistry/>, (2002)
- 130 G. A. Eiceman: private Informationen
- 131 A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer: The Prokariotes: Volume II, The Genus Escherichia, Springer Verlag New York, Berlin, Heidelberg, Chapter 142, 2698-2736, (1992)
- 132 A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer: The Prokariotes: Volume II, The Genus Serratia, ISBN: 0-387-97258-7, Springer Verlag New York, Berlin, Heidelberg, Chapter 150, 2823-2848, (1992)
- 133 A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer: The Prokariotes: Volume II, Human- and Animal-Pathogenic Pseudomonads, ISBN: 0-387-97258-7, Springer Verlag New York, Berlin, Heidelberg, Chapter 161, 3086-3103, (1992)
- 134 Candida albicans, <http://www.sporiasis.org/sporiasis/candida.htm>, (2004)
- 135 T. R. Neubert: Mikrobielle Kontaminationskinetik von Beatmungssystemen bei künstlich beatmeten Patienten, Dissertation, Universität Marburg, (2002)
- 136 J. Lorenz: Nosokomiale Pneumonie: Prävention, Diagnostik und Therapie, *Pneumologie*, 57, 532-545, (2003)

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im ISAS - Institute for Analytical Sciences in Dortmund angefertigt. Herrn Professor Dr. Manz, Direktor des Instituts, danke ich herzlich für die Übernahme des Referates und die wertvolle Unterstützung.

Bei Herrn Dr. Baumbach möchte ich mich für die interessante Themenaufstellung, die wissenschaftliche Betreuung und Unterstützung bei den wissenschaftlichen und organisatorischen Fragen sowie für seine stets wertvolle Kritik ausdrücklich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Güssgen, Frau Seifert, Frau Li und Herrn Bandur für die Bereitstellung, Geduld und vielseitige praktische Unterstützung und das ausgesprochen gute Arbeitsklima.

Frau Dr. Sielemann, Herrn Dr. Vautz, Herrn Schmidt, Frau Dr. Zimmermann und Herrn Professor Dr. Eiceman danke ich für ihre Bereitschaft und ihr Interesse an wertvollen wissenschaftlichen Diskussionen.

Besonders möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Lungenklinik Hemer, speziell bei Herrn Dr. Freitag, für die Möglichkeit zu dortigen Atemluftmessungen, sowie bei Herrn Dr. Westhoff, Herrn Dr. Litterst und Frau Obertrifer für die Hilfe bei der Organisation der Atemluftmessungen, die wertvollen Diskussionen, Ratschläge und fachliche Unterstützung und die stets sehr gute Zusammenarbeit bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Patienten der Lungenklinik Hemer und allen Kollegen und Kolleginnen in ISAS-Institute for Analytical Sciences in Dortmund bedanken, die als Probanden bei den Atemluftmessungen teilgenommen haben.

Bei Herrn Dr. Kirchner und den Mitarbeitern des Hygieneinstituts Iserlohn möchte ich für die Züchtung der Bakterienkulturen, die Möglichkeit der vor-Ort Messungen und die wertvollen fachlichen Diskussionen bedanken.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des ISAS-Institute for Analytical Sciences, insbesondere den Mitarbeitern der feinmechanischen Werkstatt und der Elektronik. Mit deren schneller, ausgezeichneter und ideenreicher Arbeit konnten sie alle meine Vorstellungen realisieren.

Für die finanzielle Unterstützung möchte ich mich bei der Firma G.A.S. Gesellschaft für analytische Sensorsysteme mbH bedanken.

Ich danke meiner Familie, insbesondere meinem Mann Balázs, ohne deren persönliche Unterstützung, Geduld und Verständnis die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Name Veronika Ruzsányi

Geburtsdatum 18.07.1978

Geburtsort Budapest, Ungarn

Nationalität ungarisch

Familienstand verheiratet seit dem 28.12.2001 mit Balázs

Schulbildung

09.1992 - 06.1996 Gymnasium Óbudai, Budapest, Ungarn

06.1996 Abitur

Studium

09.1996 - 07. 2001 Technische Universität Budapest, Ungarn
Fakultät: Chemie- und Bioingenieurwesen

01.2001 – 07.2001 Diplomarbeit im ISAS (jetzt ISAS-Institute for Analytical Sciences) in Dortmund bei Herrn Dr. Baumbach

07.2001 Abschluss als Diplom-Bioingenieurin an der Technischen Universität Budapest, Ungarn

Dissertation

09.2001 - 10. 2004 ISAS - Institute for Analytical Sciences in Dortmund als Doktorandin