

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

# **Technischer Vergleich dreier elektronischer Nasen und ihre Anwendung in Diagnostik und Monitoring**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Kim-Dung Nguyen-Huu

aus Mannheim

2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Rudolf A. Jörres

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. Karl-Siegfried Boos  
Priv. Doz. Dr. Ingrid Boekhoff

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. nat. Rudolf Schierl

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, RCR

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.2014

In Liebe und Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Ziel der Arbeit</b> .....	<b>4</b>
<b>Teil A.1. Methodenvergleich von drei elektronischen Nasen</b> .....	<b>5</b>
A.1.1. Chemikalien und Materialien.....	5
A.1.2. Geräte.....	5
A.1.2.1. Ionenmobilitäts-Spektrometer (Sionex).....	5
A. 1.2.1.1. Parameter Sionex.....	7
A.1.2.2. SPME-Gaschromatographie/Massenspektrometrie (SPME-GC-MS).....	7
A.1.2.2.1. Solid Phase Microextraction; SPME.....	8
A.1.2.2.2. Verwendete SPME-Fasern.....	9
A.1.2.2.3. Parameter: Gaschromatograph/Massenspektrometer:.....	9
A.1.2.3. Polymersensor (Cyranose 320®).....	9
A.1.2.3.1. Parameter.....	10
<b>A.2. Methodenentwicklung</b> .....	<b>13</b>
A.2.1. Sionex-Ionenmobilitäts-Spektrometrie.....	13
A.2.1.1. Experimenteller Aufbau.....	13
A.2.1.2. Qualitative Bestimmung.....	13
A.2.1.3. Herstellung von Testgasen.....	14
A.2.1.4. Qualitative Bestimmung von Einzelstoffen und Gemischen.....	14
A.2.1.5. Kalibrierung der Einzelstoffe und Gemische.....	14
A.2.1.6. Präzision.....	14
A.2.1.7. Datenauswertung.....	15
A.2.2. SPME-Gaschromatographie–Massenspektrometrie (SPME-GC-MS).....	16
A.2.2.1. Identifizierung.....	16
A.2.2.2. Auswahl der Faser.....	16
A.2.2.3. Identifizierung der Einzelstoffe.....	17
A.2.2.4. Quantifizierung.....	17
A.2.2.4.1. Expositionszeit der SPME-Faser.....	17
A.2.2.4.2. Kalibrierung.....	17
A.2.2.4.3. Präzision.....	17
A.2.2.4.4. Nachweisgrenze.....	17
A.2.2.4.5. Nachweisgrenze von SPME-GC-MS und SIONEX in Parallelmessung.....	18
A.2.3. Polymersensor (Cyranose 320®).....	18
A.2.3.1. Experimenteller Aufbau.....	18
A.2.3.2. Herstellung von Testgasen.....	19
A.2.3.3. Probenentnahme-Dauer.....	19
A.2.3.4. Qualitative Bestimmung von Einzelstoffen und Gemischen.....	19
A.2.3.5. Kalibrierung der Einzelstoffe und Gemische.....	19
A.2.3.6. Präzision.....	19
A.2.3.7. Nachweisgrenze.....	19
A.2.3.8. Datenauswertung.....	20
<b>A.3. Ergebnisse</b> .....	<b>21</b>
A.3.1. Ionenmobilitäts-Spektrometer.....	21
A.3.1.1. Ergebnis der qualitativen Untersuchungen.....	21
A.3.1.1.1. Xylol.....	22
A.3.1.1.2. Heptan.....	23
A.3.1.1.3. Aceton.....	24
A.3.1.1.4. Ethanol und Decan.....	24
A.3.1.2. Qualitative Untersuchung eines Gemisches.....	25

A.3.1.3. Kalibrierung von Einzelstoffen .....	26
A.3.1.4. Kalibrierung von Gemischen.....	26
A.3.1.5. Präzision .....	28
A.3.2. SPME-GC-MS.....	28
A.3.2.1. Auswahl der Faser.....	28
A.3.2.2. Temperaturprogramm.....	29
A.3.2.3. Expositionszeit .....	29
A.3.2.4. Identifizierung der Einzelstoffe.....	30
A.3.2.5. Kalibrierung .....	31
A.3.2.6. Präzision .....	33
A.3.2.7. Detektionsgrenze von SPME-GC-MS und SIONEX in Parallelmessung .....	33
A.3.3. Cyranose 320®.....	34
A.3.3.1. Probenentnahme-Dauer .....	34
A.3.3.2. Identifizierung der Einzelstoffe.....	36
A.3.3.3. Identifizierung eines Gemisches .....	39
A.3.3.4. Kalibrierung von Einzelstoffen .....	40
A.3.3.5. Kalibrierung von Gemischen.....	40
A.3.3.6. Präzision .....	41
A.3.3.7. Ermittlung der Nachweisgrenze .....	41
<b>A.4. Diskussion .....</b>	<b>43</b>
A.4.1. Ionenmobilitäts-Spektrometrie.....	43
A.4.1.1. Identifizierung der Einzelstoffe und Gemische .....	43
A.4.1.2. Kalibrierung .....	43
A.4.1.3. Präzision .....	44
A.4.1.4. Detektionsgrenze.....	45
A.4.2. SPME-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (SPME-GC-MS).....	46
A.4.2.1. Auswahl der SPME-Fasern.....	46
A.4.2.2. Expositionszeit .....	46
A.4.2.3. Identifizierung der Analyten .....	47
A.4.2.4. Kalibrierung .....	48
A.4.2.5. Präzision .....	49
A.4.2.6. Detektionsgrenze.....	51
A.4.2.7. Vergleich SPME-GC-MS und Ionenmobilitäts-Spektrometrie.....	54
A.4.3. Cyranose 320®.....	55
A.4.3.1. Probenentnahmedauer und Identifizierung .....	55
A.4.3.2. Kalibrierung .....	56
A.4.3.3. Präzision Cyranose .....	57
A.4.3.4. Nachweisgrenze Cyranose.....	57
A.4.4. Fazit.....	59
<b>Teil B.5. Untersuchung der Atemluft nach dem Rauchen von E-Zigaretten und Shiao.....</b>	<b>62</b>
B.5.1. Einleitung und Hintergrund.....	62
B.5.2. Fragestellung .....	63
B.5.3. Material und Methodik.....	63
B.5.3.1. Cyranose 320®.....	63
B.5.3.2. Versuchsaufbau.....	63
B.5.3.3. Messablauf.....	64
B.5.3.4. Probandenkollektiv .....	65
B.5.3.5. Protokoll der Untersuchung .....	65
B.5.3.6. Datenverarbeitung.....	66
B.5.3.7. Statistische Auswertung .....	66
B.5.4. Ergebnisse.....	67
B.5.4.1. Innerhalb Gruppe I: Vorher vs. nachher mit E-Zigarette ohne nikotinhaltes Liquid.....	68

B.5.4.2. Innerhalb Gruppe 2: Vorher vs. nachher mit E-Zigarette mit nikotinhaltenen Liquid.....	69
B.5.4.3. Gruppe I und II: Vergleich der Signale nach dem Rauchen nikotinfreier vs. nikotinhaltiger Liquids:.....	70
B.5.4.3.1. Vergleich der Differenzen vor und nach dem Rauchen zwischen den Liquids .....	71
B.5.4.4. Gruppe III: Vergleich vor und nach dem Rauchen mit Shiazio mit nikotinfreiem Liquid: .....	71
B.5.4.5. Vergleich Gruppe I und III: Der Vergleich von E-Zigarette und Shiazio nach dem Rauchen von nikotinfreiem Liquid: .....	71
B.5.4.6. Identifizierung von Einzelstoffen in einem E-Zigaretten/Shiazio Liquid.....	71
B.5.5. Diskussion .....	74
<b>Teil C.6. Diagnostischer Einsatz bei Patienten mit kardialer Erkrankung .....</b>	<b>85</b>
C.6.1. Einführung und Hintergrund .....	85
C.6.2. Fragestellung .....	85
C.6.3. Material und Methodik.....	85
C.6.4. Patientenkollektiv .....	85
C.6.5. Messprotokoll.....	86
C.6.6. Datenauswertung.....	86
C.6.7. Statistische Auswertung .....	86
C.6.8. Ergebnisse.....	87
C.6.8.1. Beschreibung der Kollektive .....	87
C.6.8.2. Sensorsignale der Kontrollen und Patienten im Vergleich.....	88
C.6.8.2.1. Einfluss des Raucherstatus .....	92
C.6.8.2.2. Einfluss anthropometrischer Faktoren .....	92
C.6.8.2.3. Sensorsignale innerhalb der kranken Probanden .....	92
C.6.8.2.3.1. Status kompensiert/dekompensiert .....	92
C.6.8.2.3.2. Einfluss der Medikamenteneinnahme .....	93
C.6.8.3. Hauptkomponentenanalyse .....	93
C.6.8.3.1. Einfluss des Raucherstatus .....	95
C.6.8.3.2. Einfluss von anthropometrischer Faktoren .....	96
C.6.8.3.3. Sensorsignale innerhalb der kranken Probanden .....	96
C.6.8.3.3.1. Status kompensiert/dekompensiert.....	96
C.6.8.3.3.2. Einfluss „Raucher“ auf den Status kompensiert/dekompensiert .....	96
C.6.8.3.3.3. Status Kardiomyopathie kompensiert vs. Kardiomyopathie dekompensiert.....	97
C.6.8.3.3.4. Status Kardiomyopathie kompensiert vs. Myokardinfarkt (dekompensiert).....	97
C.6.8.3.3.5. Status Kardiomyopathie dekompensiert vs. Myokardinfarkt (dekompensiert).....	97
C.6.8.3.3.6. Einfluss der Medikamenteneinnahme .....	97
C.6.8.3.3.7. Faktorenanalyse und Analyse der einzelnen Sensoren im Vergleich .....	97
C.6.9. Diskussion .....	101
<b>Teil D.7. Zusammenfassung .....</b>	<b>104</b>
<b>Teil E.8. Verwendete Literatur .....</b>	<b>107</b>
<b>Teil F.9. Anhang .....</b>	<b>114</b>
<b>Teil G.10. Danksagung.....</b>	<b>122</b>
<b>Teil H.11. Lebenslauf.....</b>	<b>123</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Sionex-Geräts (analog Sionex Handbuch) .....	6
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Sionex-Detektionssystems .....	6
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer SPME-GC-MS-Messung .....	8
Abbildung 4: Schema der Sensorreaktion der Cyranose 320 <sup>®</sup> bei Exposition .....	10
Abbildung 5: Die Cyranose 320 <sup>®</sup> .....	11
Abbildung 6: Schematische Darstellung der Funktionsweise der Cyranose 320 <sup>®</sup> .....	12
Abbildung 7: Versuchsaufbau Sionex für die qualitative und quantitative Bestimmung .....	13
Abbildung 8: Liniendiagramm einer IMS-Auswertung .....	15
Abbildung 9: Der Cyranose Versuchsaufbau .....	18
Abbildung 10: Darstellung der Sensor-Widerstandsänderung während einer Messung .....	20
Abbildung 11: 10 µL Gasphase Xylol.....	22
Abbildung 12: 900 µL Gasphase Heptan .....	23
Abbildung 13: 25 µL Aceton Gasphase (links) und 50 µL Aceton Gasphase (rechts).....	24
Abbildung 14: 50 µL Ethanol Gasphase (links) und 2000 µL Decan Gasphase (rechts) .....	24
Abbildung 15: 250 µL Gasphase aus 1000 µL Decan; 1000 µL Heptan; 200 µL Ethanol; 10 µL Xylol; 2,5 µL Aceton .....	25
Abbildung 16: Kalibrierung von Aceton im Gemisch mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie.....	27
Abbildung 17: Kalibrierung von Decan im Gemisch mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie .....	27
Abbildung 18: Peakflächen der drei SPME-Fasern.....	28
Abbildung 19: Expositionszeit Ethanol.....	29
Abbildung 20: Expositionszeit Decan.....	29
Abbildung 21: Zeit bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts.....	30
Abbildung 22: Identifizierung der Einzelstoffe mittels SPME-GC-MS .....	31
Abbildung 23: Kalibrierung eines Gemischs mittels SPME-GC-MS .....	33
Abbildung 24: Probenahme mittels Cyranose über 30 s; Farben kodieren Sensoren S1-S32 .....	35
Abbildung 25: Probenahme mittels Cyranose über 60 s; Farben kodieren Sensoren S1-S32 .....	35
Abbildung 26: „Smellprints“ der fünf Analyten mittels Cyranose 320 .....	38
Abbildung 27: Strukturspezifische „smellprints“ .....	38
Abbildung 28: Gemisch aus 3 Analyten: Ethanol, Xylol und Heptan .....	39
Abbildung 29: Gemisch aus Ethanol, Heptan, Aceton, Xylol und Decan .....	39
Abbildung 30: Vergleich einer CAR-PDMS-Faser aus zwei Chargen. Mit der alten Faser ergab sich eine um den Faktor 200 höhere Peakfläche im Vergleich zur neuen Faser. ....	53
Abbildung 31: Detektionsgrenze Sionex und SPME-GCMS im Vergleich .....	54
Abbildung 32: Spektren der drei Verfahren für Aceton im Vergleich .....	60
Abbildung 33: Graphik des verwendeten Messaufbaus mittels Bag-in-Box-System (vgl. Dissertation Thome).....	63
Abbildung 34: Sammlung und Analyse der Atemproben. Auf dem linken Bild sind das Bag-in-Box-System sowie der Flussmesser zu sehen. Rechts ist das Ansaugen der Probenluft aus dem Beutel gezeigt. ....	65
Abbildung 35: Darstellung der smellprints vor und nach Exposition eines nikotinfreien Liquids.....	69
Abbildung 36: Darstellung der smellprints vor und nach Exposition eines nikotinhaltigen Liquids .....	70
Abbildung 37: Sensorprofile der Analyse von Propandiol und Nikotin mit und ohne Wasserdampfzusatz. ....	72
Abbildung 38: Darstellung eines smellprints nach Exposition von nikotinhaltigem Liquid .....	73
Abbildung 39: Zu erwartendes Profil der Sensorantworten bei Raumluft mit entweder 40 % [links] oder 100 % [rechts] relativer Feuchte.....	75
Abbildung 40: Für Propandiol ergaben sich im Vergleich zu Nikotin bei experimenteller Erhöhung der Feuchte auffallende Veränderungen (siehe B.5.4.6).....	76
Abbildung 41: Smellprints „vor-und-nach“ Rauchen jeweils unkorrigiert, sowie abzüglich des 100 % Feuchtesignals.....	77
Abbildung 42: Scatterplots der Differenzsignale der Ausatemluft gegen die Signale von Propandiol, entweder ohne oder mit Korrektur (Subtraktion) für 40 % Feuchte. ....	81
Abbildung 43: Scatterplots der Differenzsignale der Ausatemluft gegen die Signale von Propandiol, entweder ohne oder mit Korrektur (Subtraktion) für 40 % Feuchte ohne Ausreißer und mit Berechnung der Steigung .....	83

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die bisher wesentlichen Indikationen für die Anwendung elektronischer Nasen .....	3
Tabelle 2: Messzyklus Cyranose .....	12
Tabelle 3: Dampfdruck der fünf Analyten .....	16
Tabelle 4: Temperaturprogramm EAHDX .....	21
Tabelle 5: Identifizierung der Einzelstoffe mittels IMS .....	22
Tabelle 6: Identifizierung von Substanz-Peaks; .....	26
Tabelle 7: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie .....	26
Tabelle 8: Kalibrierung der Gemische mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie .....	27
Tabelle 9: Präzision Sionex .....	28
Tabelle 10: Retentionszeit und verwendete Massenfragmente .....	31
Tabelle 11: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels SPME-GC-MS .....	32
Tabelle 12: Kalibrierung eines Gemisches mittels SPME GC-MS .....	32
Tabelle 13: Präzision SPME-GC-MS .....	33
Tabelle 14: Detektionsgrenze SPME-GC-MS und Ionenmobilitäts-Spektrometrie im Vergleich .....	34
Tabelle 15: Temperaturprogramm Cyranose .....	36
Tabelle 16: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels Cyranose .....	40
Tabelle 17: Kalibrierung von Gemischen mittels Cyranose .....	40
Tabelle 18: Bestandteile des Gemischs zur Bestimmung der Präzision .....	41
Tabelle 19: Nachweisgrenze der fünf Analyten in einem Gemisch .....	42
Tabelle 20: Übersicht der Variationskoeffizienten in der Literatur mittels SPME-GC-MS .....	50
Tabelle 21: Detektionsgrenze der fünf Analyten mittels SPME-GC-MS .....	52
Tabelle 22: Detektionsgrenze SIONEX und SPME-GC-MS im Vergleich .....	54
Tabelle 23: Die drei Verfahren im Vergleich der Kosten, Messung Vor-Ort und Detektionsbereich .....	61
Tabelle 24: Vergleich nach Exposition von Liquids mit Angabe der signifikanten Sensoren: .....	68
Tabelle 25: Übersicht der unkorrigierten und korrigierten Sensorsignale 5 und 18 für Propandiol und Sensorsignale 28 und 29 für Nikotin .....	78
Tabelle 26: Charakterisierung der Probanden .....	87
Tabelle 27: Charakterisierung der Erkrankungen .....	88
Tabelle 28: Medikamenteneinnahme .....	88
Tabelle 29: Ergebnis des Rangtests: Kranke vs. Gesunde .....	89
Tabelle 30: Ergebnis des Rangtests: Nur Kranke .....	90
Tabelle 31: Ergebnis des Rangtests: Nur Gesunde .....	91
Tabelle 32: Hauptkomponentenanalyse .....	94
Tabelle 33: Ergebnis der Faktorenanalyse .....	95
Tabelle 34: Vergleich der Faktorenanalyse mit der Einzelsensorenanalyse bezüglich der Einnahme von ASS 100 .....	99
Tabelle 35: Vergleich der Faktorenanalyse mit den Einzelsensoren bezüglich Krank vs. Gesund mit Rauchern .....	100
Tabelle 36: Diagnostische Anwendungen der Cyranose 320 .....	101

# Abkürzungsverzeichnis:

°C: Grad Celcius .....	16
ASS: Acetylsalicylsäure .....	102
CAR-PDMS: Carboxen Polydimethylsiloxan .....	9
COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung .....	2
Elektronische Nase: EN .....	1
HbA1c: Glykohämoglobin .....	85
hPa: Hektopascal .....	16
HS: Headspace .....	16
IMS: Ionenmobilitäts-Spektrometrie .....	5
LGL: Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit .....	79
m: Meter .....	18
MBq: Megabecquerel .....	7
mCi: Millicurie .....	7
min: Minute .....	11
mL: Milliliter .....	9
Ni: Nickel .....	7
PDMS: Polydimethylsiloxan .....	9
PDMS-DVB: Polydimethylsiloxan Divinylbenzen .....	9
ppb: parts per billion .....	28
ppm: parts per million .....	40
ppt: parts per trillion .....	59
R <sub>0</sub> : Referenzspannung .....	11
R <sub>f</sub> : Retentionszeit .....	22
s: Sekunden .....	29
SIM: Selected Ion Monitoring .....	16
SPME: Solid Phase Microextraction .....	7
StabW: Standartabweichung .....	28
TIC: Total Ion Chromatogram .....	16
V <sub>c</sub> : Kompensationsspannung .....	22
VK: Variationskoeffizient .....	28
VOC: volatile organic compound .....	1
vs: versus .....	70
µL: Mikroliter .....	17

## 1. Einleitung

In den letzten 15 Jahren hat die detaillierte, über die Messung von Sauerstoff und Kohlendioxid hinausgehende Atemgasanalyse als mögliche nichtinvasive Methode der Diagnostik und des Monitorings von Erkrankungen enorm an Interesse gewonnen. Unter diesen Verfahren sind vor allem die sogenannten „elektronischen Nasen“ (EN) zu nennen. Diese Geräte detektieren mittels physikalischer und physikochemischer Methoden flüchtige organische Verbindungen (VOC) in der Ausatemluft. Derzeit werden verschiedene Typen von EN für wissenschaftliche Fragestellungen getestet; in der klinischen Routine sind diese Geräte derzeit noch nicht etabliert. Neben Massenspektrometern verschiedener Bauart werden Geräte eingesetzt, welche die Ionenmobilität messen, sowie Polymersensoren, die VOCs in Abhängigkeit von Größe, Polarität oder Struktur binden (Koczulla et al., 2011).

Angestoßen wurde die Entwicklung unter anderem durch die Feststellung, dass die Riechorgane mancher Lebewesen offenbar geeignet sind, klinisch relevante chemische Verbindungen zu detektieren. So werden beispielsweise Hunde nicht nur zum Aufspüren von Drogen eingesetzt, sondern sollen auch in der Lage sein, Menschen mit Tumorerkrankungen der Lunge zu erkennen ((Ehmann et al., 2012, McCulloch et al., 2006). Während bei den Hunden das Problem der Praktikabilität nicht von der Hand zu weisen ist, sind technische Lösungen möglicherweise besser realisierbar. Ein möglicher Vorteil der Atemgasanalyse im medizinischen Einsatz liegt auf der Hand: Als nichtinvasive Methode könnte sie eine rasche Aussage bei überschaubaren Kosten liefern. Allerdings müssen vorher sowohl die klinische Wertigkeit als auch die Praktikabilität gesichert werden.

Die menschliche Atemluft enthält eine Vielzahl flüchtiger organischer Verbindungen und über 200 verschiedene Komponenten lassen sich in einer Probe der menschlichen Ausatemluft identifizieren (Philipps, 1997). Diese stammen sowohl aus dem endogenen Metabolismus als auch aus der externen Exposition gegenüber Gasen und Dämpfen. Die Zusammensetzung der Komponenten in der Ausatemluft ist eine Funktion der im Blut bestehenden Konzentrationen und basiert auf dem Gasaustausch zwischen Luft und Blut, der an der Oberfläche der Alveolen entsprechend den jeweiligen Partitionskoeffizienten stattfindet.

Das Vorhandensein spezifischer VOCs in der Ausatemluft könnte daher mit VOCs aus dem Blut, welches in Kontakt mit funktionell verändertem Gewebe oder erkrankten Organen steht, in Verbindung gebracht werden. Denkbar ist ebenfalls die Detektion von Metaboliten bakterieller Infektionen in den Atemwegen (Pleil and Lindstrom, 1997).

Aus dieser Überlegung ergibt sich die Frage, ob die Ausatemluft neben lokalen Veränderungen in der Lunge beispielsweise auch Aussagen über Tumore anderer Organe liefern kann und inwieweit die elektronische Nase ein diagnostisches Instrument für systemische Erkrankungen darstellt. Weltweit arbeiten derzeit viele Forschergruppen an Verfahren mit elektronischen Nasen, teils zur Untersuchung des differentialdiagnostischen Potenzials in der Atemluft im Vergleich zu anderen Medien wie Urin und Blut, oder auch zur Detektion vorangegangener inhalativer Belastungen.

Elektronische Nasen wurden zum einen zur Detektion chemischer Kampfstoffe und Sprengstoffe entwickelt (Brudzewski et al., 2012, Gardner, 2004, Senesac and Thundat, 2008, Cook et al., 2010b). Zum anderen liegen die klassischen Anwendungsgebiete in der Lebensmittelindustrie zum Zweck der Qualitätskontrolle und Qualitätssicherung (Campagnoli et al., 2009, Li et al., 2007, Young et al., 1999, Vautz and Baumbach, 2008, Vautz et al., 2006b). Ferner wurden die Verfahren zur Detektion von Gefahrstoffen an Arbeitsplätzen und in der Umwelt eingesetzt (Vereb et al., 2011).

In den letzten Jahren haben elektronische Nasen ebenfalls Anwendung in der Medizin gefunden. Alle Verfahren befinden sich derzeit jedoch noch im experimentellen Stadium und haben bisher keinen Eingang in die klinische Routine gefunden. In einer Vielzahl von den in den letzten Jahren durchgeführten Studien war es bereits möglich, Unterschiede in der Ausatemluft bei Patienten mit Asthma, COPD und Gesunden mittels eines relativ einfach zu handhabenden Polymersensors zu finden (Dragonieri et al., 2007, Fens et al., 2009). Ähnliches gilt für die Detektion von Lungenkrebs in der Ausatemluft. Neben der Methode der Gaschromatographie konnten hier auch mittels der Ionenmobilität, sowie mit Hilfe des Polymersensors, Unterschiede in der Ausatemluft detektiert werden (Machado et al., 2005, Westhoff et al., 2009, Ligor et al., 2009). Der Vergleich gesunder Kontrollpersonen mit Diabetespatienten ergab ebenfalls mittels eines Polymersensors (Thome, 2013), sowie der Methode der Gaschromatographie (Greiter et al., 2010, Phillips et al., 2004), Unterschiede in der Ausatemluft in den Gruppen krank vs. gesund.

Tabelle 1 fasst die bisher untersuchten Hauptindikationen für den medizinischen Bereich zusammen. Insbesondere in der Diagnose von Tumorerkrankungen wurden die EN häufig eingesetzt. Neben der Möglichkeit, lokale Veränderungen in der Lunge zu detektieren, wie im Fall einer Lungenkrebserkrankung, ist es wahrscheinlich, dass auch Tumoren anderer Organe anhand von systemisch vorhandenen, alveolär abgeatmeten Metaboliten erfasst werden können. Patterson et al. (2011), sowie Peng et al. (2010) gelang es beispielsweise, Patienten mit Brustkrebs anhand der Atemluft von Gesunden zu unterscheiden. Weitere Studien differenzierten erfolgreich die Ausatemluft von Patienten mit Melanom oder Pleuramesotheliom. Analog dazu demonstrierten Hattesoehl et al. (2011), dass die Differenzierung von Patienten mit COPD mit versus ohne Alpha-1-Antitrypsin-Mangel möglich war. Ähnliches galt für Diabetes. So konnten Hofbauer (2010) (bzw. Thome (2013)) zeigen, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus in stabilem Zustand eine Korrelation der Atemluftsignale zum systemischen Marker HbA1c besteht.

Erkrankungen	Referenzen
Bakterien-Klassifikation/Infektion	(Bruins et al., 2009, Dutta et al., 2002, Dutta et al., 2005, Preti et al., 2009, Scott-Thomas et al., 2010, Shykhon et al., 2004, Ulanowska et al., 2011a)
Lungenkrebs	(Bajtarevic et al., 2009, Chen et al., 2007, Di Natale et al., 2003, Dragonieri et al., 2009, Machado et al., 2005, Peng et al., 2010, Poli et al., 2010, Rudnicka et al., 2011, Song et al., 2009, Westhoff et al., 2009)
Brustkrebs	(Patterson et al., 2011, Peng et al., 2010)
Melanom	(D'Amico et al., 2008)
Pleuramesotheliom	(Chapman et al., 2012, de Gennaro et al., 2010)
COPD/Asthma	(Dragonieri et al., 2007, Fens et al., 2011a, Fens et al., 2011b, Fens et al., 2009, Hattesoehl et al., 2011)
Diabetes	(Greiter et al., 2010, Guo et al., 2010, Ping et al., 1997, Yu et al., 2005b, Hofbauer, 2010)
Multiple Sklerose	(Ionescu et al., 2011)
Sarkoidose	(Bunkowski et al., 2009)
Herzversagen	(McGrath et al., 2001)
Aspergillose	(Chambers et al., 2011, Syhre et al., 2008)

**Tabelle 1: Die wesentlichen bislang untersuchten Indikationen für die Anwendung elektronischer Nasen**

## 2. Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist im Teil A ein Methodenvergleich von drei Verfahren, die als elektronische Nasen Einsatz finden und in den letzten Jahren vielfach in wissenschaftlichen Fragestellungen getestet wurden.

Ausgewählt wurden dabei:

- Gaschromatographie mit Massenspektrometrie in Kombination mit einer SPME-Faser (Solid Phase Microextraction) als Methode einer Voranreicherung
- Polymersensor Cyranose 320<sup>®</sup>
- Ionenmobilitäts-Spektrometer Sionex

Die Analyse beinhaltete die Identifizierung und quantitative Untersuchung von fünf organischen flüchtigen Verbindungen (VOCs) als Einzelstoffe und im Gemisch. Im direkten Vergleich wurden unter gleichen Bedingungen neben der Identifizierung die Kalibrierbarkeit, Präzision und Detektionsgrenze der drei Verfahren untersucht. Es folgte eine Einschätzung zur Anwendbarkeit für die Atemgasanalyse.

In den Teilen B und C folgen zwei praktische Anwendungen des am besten praktikablen und portablen Polymersensors Cyranose 320<sup>®</sup> an Probanden:

Im Teil B wurde eine inhalative Belastung anhand der Ausatemluft untersucht. Hierzu erfolgte die Analyse der Atemluft von Probanden nach intensiver Exposition gegenüber nikotinfreiem oder nikotinhaltigem Liquid mittels einer E-Zigarette oder Shizao. Die Analyse mittels der elektronischen Nase sollte prüfen, ob und inwieweit eine inhalative Belastung sich in der Ausatemluft widerspiegelt.

Im Teil C sollte geprüft werden, ob ein Polymersensor bei Patienten mit kardiologischen Erkrankungen spezifische Muster detektieren kann, die sowohl eine Abgrenzung zu Gesunden als auch eine Differenzierung zwischen kompensierter und dekomensierter Herzinsuffizienz ermöglichen.

## Teil A.1. Methodenvergleich von drei elektronischen Nasen

### A.1.1. Chemikalien und Materialien

#### Chemikalien

- Ethanol, >99,9 %, Merck
- Aceton, Merck
- n-Heptan, >99 %, Merck
- n-Decan, >99 %, Merck
- Xylol, >99,8 %, Merck
- Propandiol, >99 %, Sigma-Aldrich
- Nikotin-Hemisulfate, 60 % (m/v), Sigma-Aldrich

#### Materialien

- 10 µL/100 µL/1000 µL gasdichte Mikroliterspritzen; Hamilton Deutschland GmbH, Darmstadt)
- 1L-PFA-Flasche
- 1L-Rundkolben
- Teflon-Schläuche
- Parafilm
- 500 mL Erlenmeyerkolben

### A.1.2. Geräte

#### A.1.2.1. Ionenmobilitäts-Spektrometer (*Sionex*)

Die Ionenmobilitäts-Spektrometrie (IMS) wurde bereits im Jahre 1970 durch Cohen und Karasek unter dem Namen ‚Plasma-Chromatographie‘ eingeführt (Cohen and Karasek, 1970). Dennoch ist bis zum heutigen Tag die Präsenz der IMS in den Laboren eher gering. Vielmehr ist die IMS durch ihren Einsatz im militärischen und sicherheitstechnischen Bereich bekannt. Dazu zählt die Detektion von chemischen Kampfstoffen und Sprengstoffen (Preston, 1977, Cook et al., 2010a). Ferner wird die Ionenmobilitäts-Spektrometrie zur Detektion von Sprengstoffen bei der Gepäckkontrolle an Flughäfen, zum Aufspüren von Drogen (Miki, 1996) sowie im Bereich der Lebensmittelindustrie zur Detektion von Bakterien angewendet (Vautz et al., 2006b).

Die Ionenmobilitäts-Spektrometrie zeichnet sich durch eine niedrige Nachweisgrenze im ppb-ppt-Bereich aus (Vautz et al., 2009). Die mittels eines Trägergases ins System geführten Analyten werden durch eine geeignete Ionisationsquelle bei Umgebungsdruck ionisiert. Unterschiedliche Ionisationsquellen wie UV-Lampen oder radioaktive Strahlungsquellen werden hierzu angewendet. Die entstehenden Ionen werden durch ein elektrisches Feld aus zwei parallel angeordneten Platten geleitet. Das elektrische Feld umfasst ein asymmetrisch oszillierendes Feld (variierend von 500-1500 Volt) sowie ein überlagertes kompensatorisches Feld. Diese Anordnung ist im Effekt ein

programmierbarer Mobilitäts-Filter. Die kompensatorische Spannung kann eingestellt werden und leitet die ionisierten Analyten entlang beider Platten. Die Ionen bewegen sich dabei im Gegenstrom des sogenannten Driftgases. Aufgrund der unterschiedlichen Ladung, Masse, Struktur, Clusterbildung und Stöße mit den Driftgasmolekülen entwickeln die Analyten unterschiedliche Geschwindigkeiten und werden auf diese Weise im Idealfall aufgetrennt. Am Elektrometer erzeugen die auftreffenden Ionen ein elektrisches Signal, das die eigentliche Messgröße darstellt und zusammen mit der Retentionszeit und der zugehörigen Kompensationsspannung zum sogenannten Ionenmobilitätsspektrum führt (Sionex, 2005, Borsdorf, 2006, Ruzsanyi, 2005). Die Retentionszeit ergibt sich daraus, dass dem System eine chromatographische Säule vorgeschaltet ist, die in programmierbarer Weise ausgeheizt wird.

Wie in Abbildung 1 dargestellt, besteht das differenzielle Ionenmobilitäts-Spektrometer (DIMS) Sionex aus zwei Hauptkomponenten: In der Ersten werden die Analyten in der Trap angereichert und anschließend über eine thermische Desorption in ein GC-Auftrennungssystem geleitet. Das Sionex-Detektionssystem (microDMx) stellt die zweite Komponente dar.

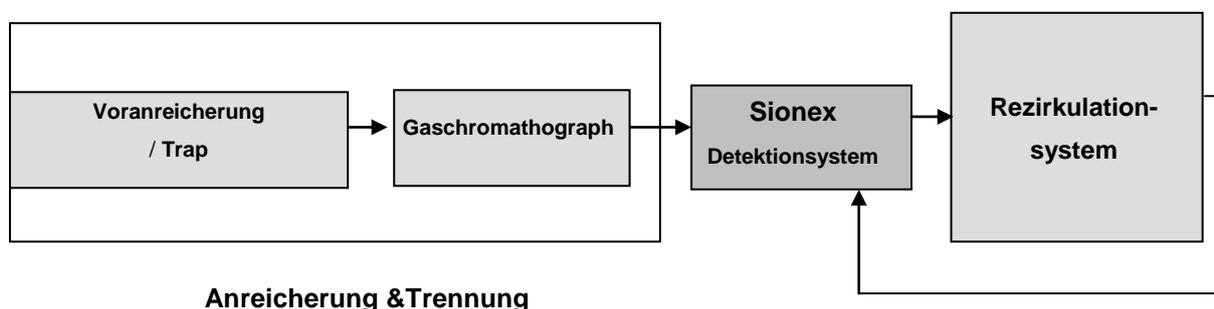


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Sionex-Geräts (analog Sionex Handbuch)

Die Analyten werden mit Hilfe vom Trägergas (gefilterte Raumluft) in den Ionisationsraum der IMS geleitet. Die durch eine radioaktive Quelle ( $^{63}\text{Ni}$ ) erzeugten Ionen werden durch ein elektrisches Feld geleitet. Am Elektrometer treffen die geladenen Teilchen auf und werden anschließend als elektrisches Signal erfasst (Abbildung 2).

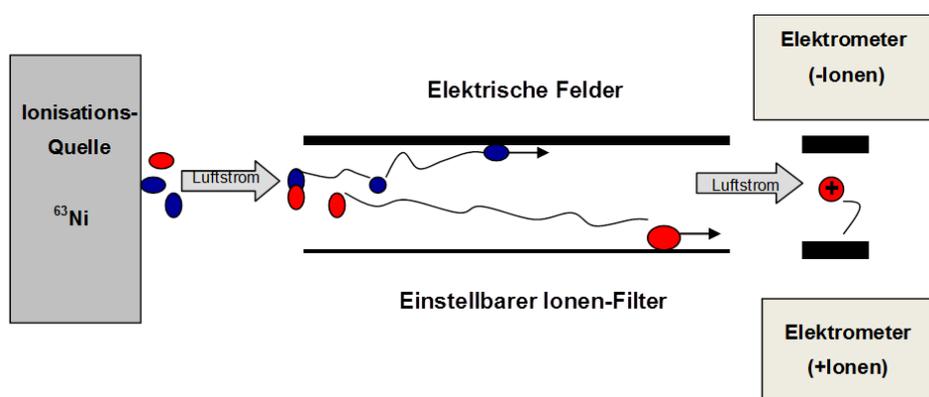


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Sionex-Detektionssystems

## Experimenteller Teil

---

Es entsteht dabei ein dreidimensionales Spektrum, welches durch Retentionszeit, Kompensationsspannung und Signalintensität (Farbskala) definiert wird (Abbildung 11).

### A. 1.2.1.1. Parameter Sionex

Ionenmobilitäts-Spektrometer	Sionex Corporation USA
Ionisationsquelle	$^{63}\text{Ni}$ 5 mCi/185 MBq
Druck	Umgebungsdruck
Driftgas	Gefilterte Raumluft
RF Spannung $V_{\text{RF}}$	0 V-1500 V
Kompensationsspannung $V_{\text{C}}$	-40 V-15 V
Probennahme-Flussrate	100 mL/min

### A.1.2.2. SPME-Gaschromatographie/Massenspektrometrie (SPME-GC-MS)

Eine im Bereich der Atemanalyse häufig angewendete Methode ist die Gaschromatographie gekoppelt mit einem Massenspektrometer (GC-MS).

Das Verfahren beruht auf der Messung von Ionen im Vakuum. Dazu wird die zu untersuchende Probesubstanz in Gasform überführt und auf die Trennsäule gebracht. Dort findet die Adsorption des gasförmigen Analyten auf der Oberfläche von festen Sorbentien, der stationären Phase, statt. Die mobile Phase bildet das Trägergas. Es treten Wechselwirkungen zwischen den Analyten und der stationären Phase auf. Bei unpolaren Substanzen treten dabei Dispersionskräfte auf (Van-der-Waals-Bindungen), während polare Analyten Wasserstoffbrückenbindungen eingehen können. Die Stärke dieser Wechselwirkung wird durch die Struktur und den funktionellen Gruppen der Probe bestimmt. Bei einer polaren Säule bilden sich beispielsweise nur geringe Wechselwirkungen mit unpolaren Analyten. Die Substanz verweilt folglich kürzer in der Gasphase und weist eine kurze Retentionszeit auf. Voraussetzung für die gaschromatographische Trennung ist, dass die zu bestimmenden Analyten in Gasform vorliegen oder sich durch Verdampfen unzerlegt in den gasförmigen Zustand überführen lassen (Gey, 1998, Rücker, 2008). Nach der gaschromatographischen Trennung erfolgt die Detektion mit einem Massenspektrometer (MS). Dabei werden Moleküle, die aus der Trennsäule austreten, im MS in Ionen überführt. Diese sind meist instabil und zerfallen in Fragmente, die dann in einem frequenzmodulierten elektrischen Feld (Quadrupol) nach ihrer Masse getrennt und in ein messbares Signal nach dem Verhältnis Masse zu Ladung überführt werden. Im Gaschromatogramm erhält man das Ergebnis in Form von „Peaks“. Das Integral der Peakfläche entspricht der eingesetzten Analytenmenge. Die Auswertung bzw. Integration erfolgt in der Regel mit einer entsprechenden Auswertungssoftware.

**A.1.2.2.1. Solid Phase Microextraction; SPME**

Häufig wird die GC-MS mit einer Voranreicherungstechnik kombiniert, um dadurch niedrigere Detektionsgrenzen zu erhalten. Häufig wird dazu die Festphasenmikroextraktion (Solid Phase Microextraction, SPME) (Bajtarevic et al., 2009) angewendet. Das Verfahren der Mikroextraktion wurde erstmals von Pawliszyn (1997b) beschrieben.

Dabei handelt es sich um eine schnell durchführbare und lösungsmittelfreie Anreicherungstechnik. Eine Edelstahlnadel, an welcher eine Quarzfaser befestigt ist, bildet das Kernstück der Extraktion. Die etwa 1 cm lange, beschichtete Faser ist an die Metallnadel gebunden, die zum Schutz der Beschichtung in eine Hohl­nadel zurückgezogen werden kann (Weber, 2003). Die Quarzfaser ist auf der Oberfläche mit einem Absorbens unterschiedlicher Polarität beschichtet, wie etwa Polydimethylsiloxane oder Polyacrylate. Der Aufbau einer Faser wird in Abbildung 3 dargestellt. Die Faserbeschichtung wird der Probe ausgesetzt, indem mit der Nadel das Septum des Probengefäßes durch­stochen und die Faser aus der schützenden Nadel ausgefahren wird. Die Faser kann dabei entweder direkt in die Probe eingetaucht oder im Dampfraum über der Probe platziert werden. Je nach Polarität absorbieren die Analyten an der Faser. Dabei stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht in der Gasphase und der Faseroberfläche ein. Nach entsprechender Expositionszeit wird die Faser in die Nadel zurückgezogen. Die Nadelform ermöglicht anschließend die einfache Einführung in den Injektor eines Gaschromatographen. Die Faser wird hierzu durch das Injektorseptum gestochen, anschließend wird sie erneut ausgefahren. Bei hoher Injektortemperatur erfolgt die Thermodesorption der Substanzen von der Faser. Im Anschluss wird die Faser abermals eingezogen und aus dem Injektor genommen (Weber, 2003, Pawliszyn, 1997a).

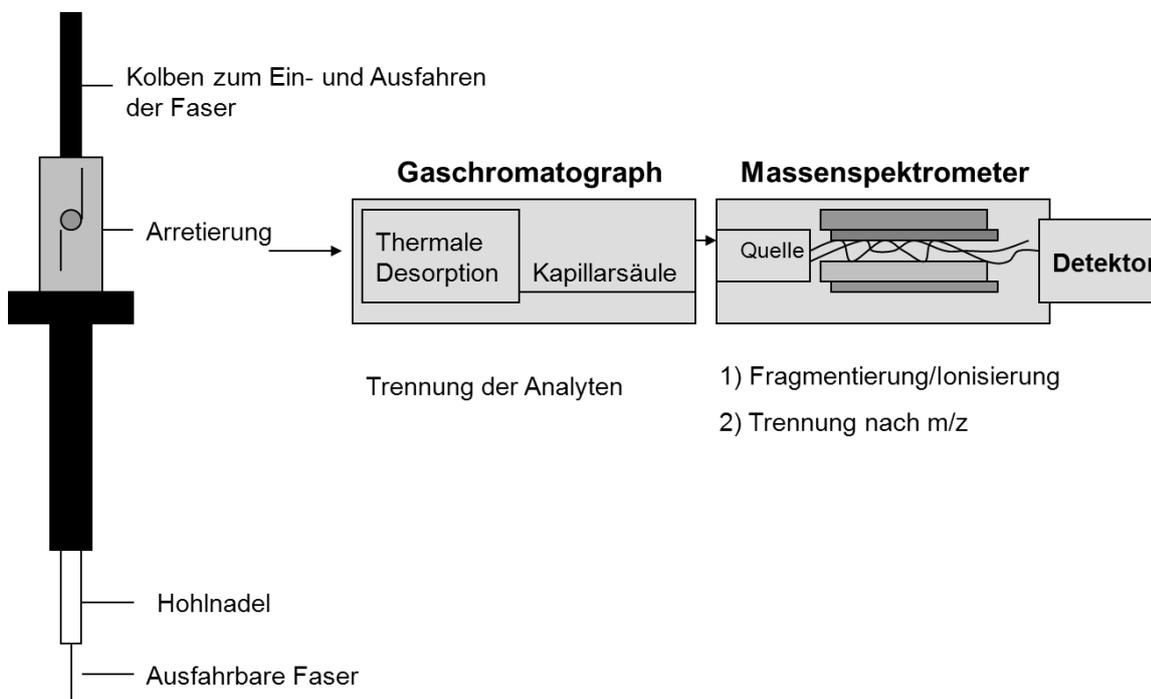


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer SPME-GC-MS-Messung

## A.1.2.2.2. Verwendete SPME-Fasern

• 75 µm	Carboxen-Polydimethylsiloxan (CAR-PDMS)	<b>schwarze Faser</b>
• 65 µm	Polydimethylsiloxan-Divinylbenzen (PDMS-DVB)	<b>blaue Faser</b>
• 100 µm	Polydimethylsiloxan (PDMS)	<b>rote Faser</b>

## A.1.2.2.3. Parameter: Gaschromatograph/Massenspektrometer:

Gaschromatograph:	GC 8000 series, (Fa. Fisons)
Kapillarsäule	Fused silica-Kapillarsäule Länge: 5 m bzw. 30 m Innerer Durchmesser: 0,25 mm Filmdicke: 0,25 µm
Vorsäule:	Material: basisch deaktivierte Guard Column ID 0,32 mm, Länge 5m
Trägergas	Helium, Fluß 0,8 mL/min
Massenspektrometrie	Massenspektrometer: Fisons Instruments MD 800 Ionisierungsart: Elektronenstoß 70eV, 0,5 Scan Ionenquellentemperatur: 200°C

## A.1.2.3. Polymersensor (Cyranoze 320<sup>®</sup>)

Die Cyranoze 320<sup>®</sup> ist ein klassischer Vertreter der Polymersensoren. Als weitere Typen von Sensoren, auch Multigas-Sensorsysteme genannt, sind die Metalloxidsensoren, Schwingharze oder kalorimetrische Sensoren zu nennen. Die Sensorantwort beruht darauf volatile organische Komponenten (VOCs) in Abhängigkeit der Struktur, Größe, Polarität und Protonenaffinität zu binden. Die Sensoren wandeln chemische in elektrische Signale um (Lewis, 2004). Durch unterschiedliche Dotierung der einzelnen Sensoren werden verschiedene Affinitäten zu den Analyten entwickelt weshalb in der Regel kombinierte Signale erzeugt werden. Im Gegensatz zu anderen Verfahren wie der Ionenmobilitäts-Spektrometrie oder Massenspektrometrie ist hier eine Identifizierung der Einzelkomponente in einem Gemisch in der Regel nicht oder nur unter sehr eingeschränkten Bedingungen möglich (Koczulla et al., 2011). Demzufolge hat diese Methode den Nachteil, dass eine Identifizierung von Einzelanalyten in einem komplexen Gemisch, wie es z.B. die Ausatemluft darstellt, in der Regel nicht möglich ist. Umgekehrt liefert sie ein Gesamtbild aller in der Atemluft befindlichen flüchtigen Verbindungen, also auch jener, die sich nicht ursprünglich im Fokus des Interesses befanden und ein bislang unerkannter Indikator für eine (System-)Erkrankung sein könnten.

Das Prinzip der Auswertung beruht auf einer Mustererkennung, so dass die Identifizierung der Einzelstoffe für klassifikatorische Anwendungen nicht notwendig wird.

Die Cyranose besteht aus 32 Dünnschicht-Kohlenstoff-Polymer-Chemiresistoren (NoseChip), wobei jedes Polymer anders zusammengesetzt bzw. dotiert ist. Der NoseChip wird auf konstanter Temperatur gehalten. Das Sensormaterial besteht aus einem dünnen Polymerfilm, an dem über zwei elektrischen Anschlussdrähten eine Spannung angelegt wird. Die Exposition gegenüber Gasen führt zu einem Schwellen der Polymerschicht, während der Analyt absorbiert wird (Abbildung 4). Jeder Sensor reagiert unterschiedlich auf einen Analyten; umgekehrt reagiert in der Regel kein Sensor auf nur einen einzigen Analyten. Die Höhe einer Sensorantwort ist abhängig von der Dotierung des Sensors sowie dem physikochemischen Charakter des Analyten. Für Einzelstoffe bzw. für ein Gemisch ergeben sich jeweils charakteristische Muster-smellprints, die aus 32 Einzelsignalen zusammengesetzt sind.

Die Messung basiert auf der Widerstandsänderung jedes Sensors bei Exposition gegenüber flüchtigen, organischen Gasen. Die während dieser Messung erhaltene, maximale Widerstandsänderung wird als  $\Delta R_{max}$  angegeben. Die Sensorantwort ergibt sich, wie in Abbildung 4 illustriert, aus der Differenz der Änderung des Widerstands durch  $(R_{max}-R_0)$  dividiert durch  $R_0$ .  $R_0$  charakterisiert das Signal bei Referenzgasen,  $R_{max}$  bezeichnet den maximalen Widerstand während der Exposition gegenüber einem Testgas.

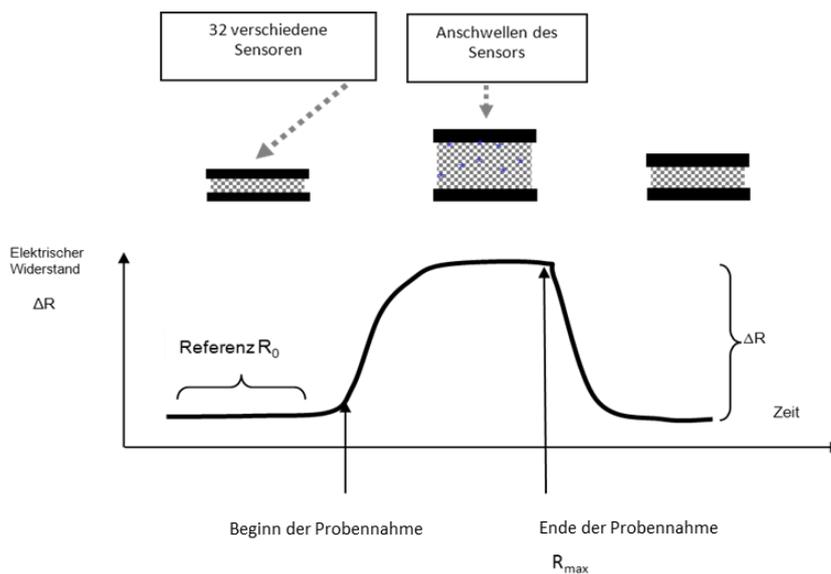


Abbildung 4: Schema der Sensorreaktion der Cyranose 320<sup>®</sup> bei Exposition

## A.1.2.3.1. Parameter

Smiths Detection;	Cyrano Sciences, Inc; Pasadena, California
Pump Speed	50/120/180 mL/min
Trärgas	gefilterte Raumluft

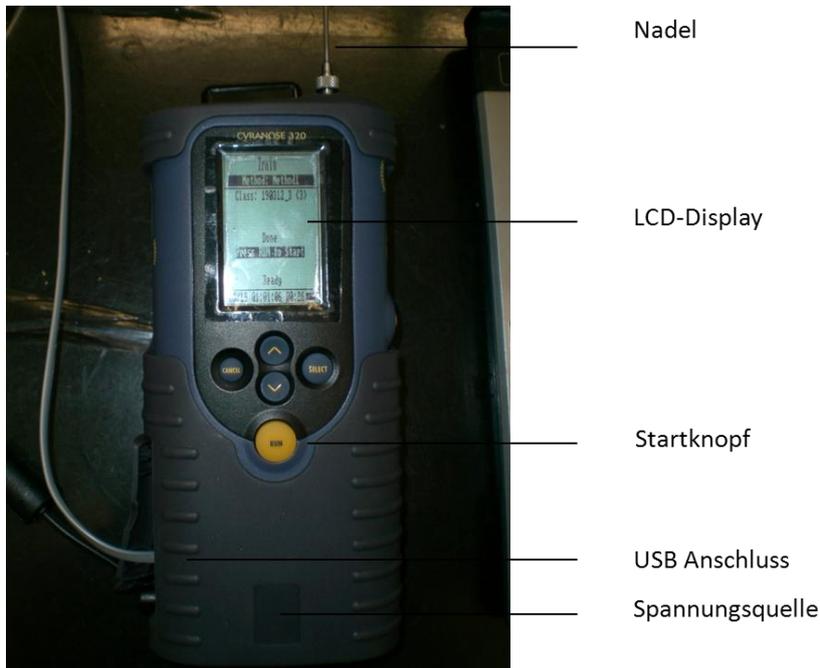


Abbildung 5: Die Cyrano 320®

Die Cyrano 320® (Abbildung 5) besitzt ein getrenntes Spül- sowie Probennahme-System. Wie in Abbildung 6 dargestellt, wird im „purging cycle“ die Umgebungsluft oder eine andere angebotene Referenzluft über den Purge-Inlet eingesaugt. Die Gase werden gefiltert und über das geöffnete Ventil zum Sensor gepumpt. Mit diesem Messzyklus wird  $R_{0,}$  der Widerstand während des Referenzgasflusses (Ausgangswert) gemessen. Dieser Spülvorgang wird nach jedem Messzyklus durchgeführt, um das Zurücksetzen der Sensoren zu ermöglichen. Die Luftprobe wird durch eine Edelstahl-Messnadel gezogen. Der Hersteller liefert jeweils zwei Messnadeln in verschiedenen Längen. Für alle Messungen wurde die lange Nadel verwendet.

Im sogenannten „sampling cycle“ werden die Testgase über den „sample inlet“ eingeblasen und zum Sensor geleitet (Tabelle 2).

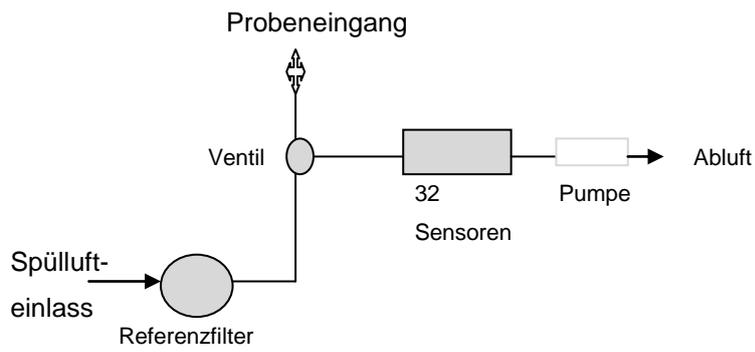


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Funktionsweise der Cyanose 320®

1. Messung des Hintergrundes (Referenz) über den PURGE-INLET ≈ Purge cycle:
2. Probenzug über den SAMPLE- INLET ≈ Sample cycle:
3. Spülen des PURGE-INLET ≈ Air intake purge ≈ Purge I
4. Spülen des SAMPLE-INLET ≈ Sample gas purge ≈ Purge II

Tabelle 2: Messzyklus Cyanose

## A.2. Methodenentwicklung

### A.2.1. Sionex-Ionenmobilitäts-Spektrometrie

#### A.2.1.1. Experimenteller Aufbau

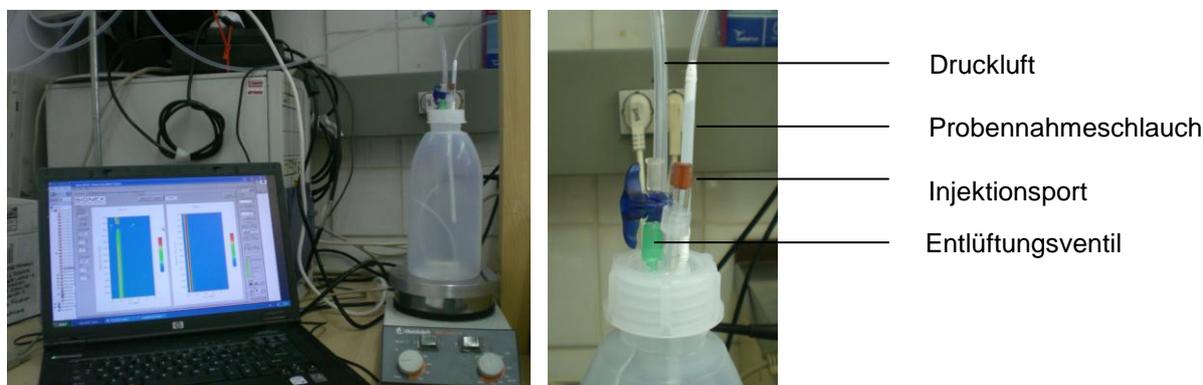


Abbildung 7: Versuchsaufbau Sionex für die qualitative und quantitative Bestimmung

Die Spülung der Flasche erfolgte durch Einleitung gefilterter Raumluft mit einem Fluss von 2 L/min über einen Teflonschlauch in die Flasche. Ein kurzes Verbindungsstück aus Polypropylen wurde an den Deckel angebracht und diente durch ein eingebautes Septum als Injektionsport. Über einen zweiten Teflonschlauch war das Ionenmobilitäts-Spektrometer mit der Flasche zur Probennahme verbunden. Das Entlüftungsventil wurde während der Probennahme geöffnet, um einen Druckausgleich zu gewährleisten. Der Probenschlauch wurde bei allen Messungen auf halber Höhe innerhalb der Testflasche angebracht. Während der Versuche wurde die Flasche auf einem Magnetrührer positioniert. Ein magnetisches Rührelement in der Flasche sicherte die Durchmischung der Gasphase in der Flasche. Dieser Versuchsaufbau (Abbildung 7) wurde sowohl für die qualitative als auch für die quantitative Bestimmung eingesetzt.

#### A.2.1.2. Qualitative Bestimmung

In diesem Teil der Arbeit wurde mittels des Ionenmobilitäts-Spektrometers die Reproduzierbarkeit der Peaklage von verschiedenen Einzelsubstanzen und Gemischen im resultierenden Chromatogramm untersucht. Dafür wurden entsprechende Testgase erzeugt, die über ein Trägergas in eine PFA-Flasche geleitet und über einen Probennahmeschlauch in das Gerät eingezogen wurden.

### **A.2.1.3. Herstellung von Testgasen**

1 mL der zu untersuchenden Substanzen wurde durch das Septum eines 20 mL-Headspace-Vials injiziert. Die Probe verdampfte, so dass durch das gleiche Septum eine gasförmige Probe mittels einer gasdichten Spritze entnommen werden konnte.

### **A.2.1.4. Qualitative Bestimmung von Einzelstoffen und Gemischen**

Für die qualitative Analyse wurden mittels einer gasdichten Spritze substanzabhängig zwischen 0,5-2000 µL entnommen. Es folgte die Injektion entsprechender Volumina in die PFA-Flasche und zwar über einen Trägerstrom aus reiner Druckluft. 20 Sekunden nach der Probeninjektion zog das Ionenmobilitäts-Spektrometer über den zweiten Teflonschlauch mit einer Flussrate von 100 mL/min für 20 Sekunden die Probe.

Im ersten Schritt der Qualifizierung wurden Detektierbarkeit und Reproduzierbarkeit der Peaklagen (Lokalisation im Chromatogramm) der fünf Einzelstoffe überprüft. Zu diesem Zweck wurden für jede Einzelsubstanz unterschiedliche, adaptierte Temperaturprogramme entwickelt und angewendet. Parameter waren hier die Identifizierbarkeit und Trennbarkeit der Einzelstoffe, sowie eine ausreichende Auflösung.

Im nächsten Schritt erfolgte die Erarbeitung eines Temperaturprogramms, mit dem alle fünf Stoffe reproduzierbare und trennbare Peaks ergaben. Damit konnten auch Gemische der Analyten in Hinsicht auf die Reproduzierbarkeit der Peaklage und veränderte Retentionszeiten und Kompensationsspannungen im Vergleich zu den Einzelstoffen untersucht werden.

### **A.2.1.5. Kalibrierung der Einzelstoffe und Gemische**

Die Generierung der Testgase erfolgte wie in A.2.1.3. beschrieben. Aus der gesättigten Gasphase wurden ansteigende Gasmengen eines Analyten mittels einer Spritze entnommen und quantitativ über den Injektionsport in die Testflasche überführt. Nach 40 Sekunden Durchmischung erfolgte die Probenentnahme über 20 Sekunden. Für die Untersuchung von Gemischen wurden von allen fünf Analyten entsprechende Gasvolumina in die Testflasche unmittelbar nacheinander eingebracht und anschließend gemeinsam für 40 Sekunden lang durchmischt. Alle Kalibrierungen erfolgten in einer Doppelbestimmung. Eine Kalibriergerade basierte auf mindestens drei Datenpunkten.

### **A.2.1.6. Präzision**

Die Präzision ist ein Maß für die Reproduzierbarkeit eines Analysenergebnisses. Sie wird bestimmt, indem eine Probe mehrere Male unter gleichen Bedingungen am selben Tag (Präzision in der Serie) oder an verschiedenen Tagen (Präzision von Tag zu Tag) analysiert wird. Die Präzision der Einzelstoffe wurde anhand der Analyse von Gemischen als Präzision in Serie ermittelt. Entsprechende Gaskonzentrationen wurden generiert und gemessen. An einem Analysentag wurden Gemische in einer Mindest-Fünffachbestimmung untersucht.

### A.2.1.7. Datenauswertung

Die qualitative Auswertung erfolgte rein visuell. Für die Bestimmung der Lage der Maxima wurden die dazugehörige Retentionszeit und Kompensationsspannung direkt am Spektrum abgelesen.

Für die quantitative Auswertung wurde der erhaltene Datensatz im ersten Schritt in ein Excelformat konvertiert. Im nächsten Schritt wurde der Background von diesen Werten abgezogen, der vorher in einer Leerprobe ermittelt worden war. Es folgte die Darstellung der Daten anhand eines Liniendiagramms, mit der Retentionszeit in Abzissen- und der Kompensationsspannung in Ordinateurichtung (Abbildung 8).

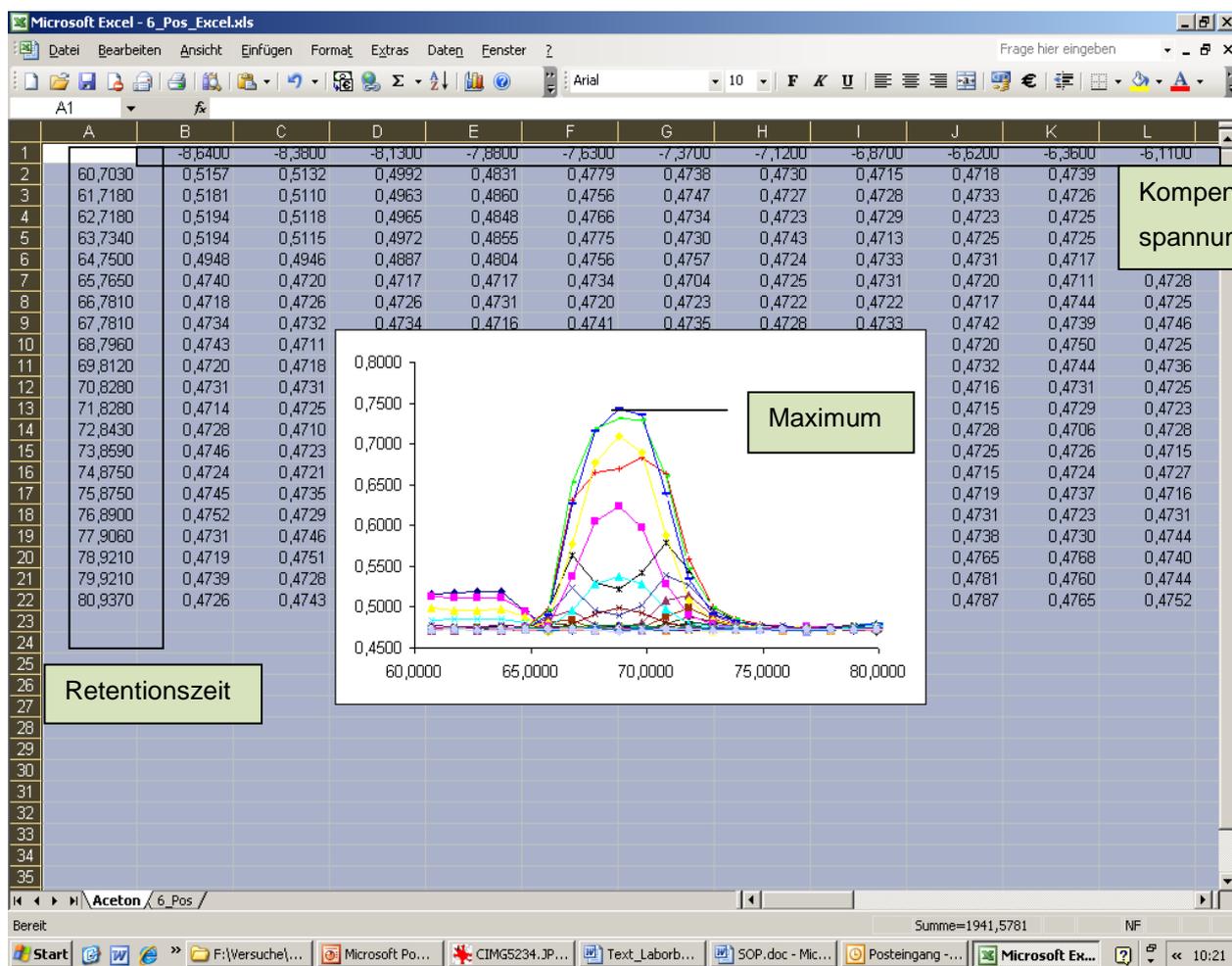


Abbildung 8: Liniendiagramm einer IMS-Auswertung

Das Maximum konnte direkt abgelesen werden (siehe Abbildung 8). Zur Kalibrierung wurde die Fläche unterhalb des Signalmaximums und der entsprechenden Kurvenpunkte (**Blaue**, oberste Kurve) integriert. Um eine höhere Genauigkeit zu erhalten, erfolgte auch eine Integration über die links und rechts vom Signalmaximum anliegenden Flächen (**grüne** und **gelbe** Kurve). Der Beginn und das Ende der Integration waren abhängig von der Standardabweichung des Untergrunds. Hierzu wurde die Standardabweichung des Backgrounds bis zum Beginn des zu messenden Signals ermittelt. Die

Integration begann, wenn sich der Wert der Standardabweichung im Vergleich zum vorangegangenen Wert verdoppelt hatte.

## **A.2.2. SPME-Gaschromatographie–Massenspektrometrie (SPME-GC-MS)**

### **A.2.2.1. Identifizierung**

Die Identifizierung der Analyten erfolgte im Full-Scan Modus. Mit dieser Einstellung wurden vollständige Massenspektren registriert. Die entstehenden Ionenströme wurden durch ein Total Ion Chromatogramm (TIC) dargestellt. Die Identifizierung der Analyten erfolgte mittels der erhaltenen Chromatogramme durch einen Vergleich mit der NIST-Datenbank. Überdies hinaus konnten die Stoffe anhand der charakteristischen Retentionszeiten zugeordnet werden.

Nach erfolgter Identifizierung wurden alle weiteren Untersuchungen im Selected-Ion-Monitoring (SIM) durchgeführt, um dadurch eine wesentlich höhere Empfindlichkeit zu erzielen. Hierbei handelte es sich um eine selektive Ionendetektion, bei der nur analytenspezifische Ionenmassen gemessen wurden. Die Auswahl der Ionenmassen für die nachfolgenden Untersuchungen erfolgte gemäß der NIOSH Datenbank.

Um vergleichbare Ergebnisse zu den Messungen des Ionenmobilitäts-Spektrometer zu erhalten, erfolgten die quantitativen, sowie die qualitativen Bestimmungen analog zu A.2.1.2. und A.2.1.4. Als einzige Abweichung wurde der Probennahmeschlauch der SIONEX durch ein kurzes Polypropylenstück ersetzt, welches mit Parafilm umwickelt wurde. Dieses Verbindungsstück diente zum Einführen und Exponieren der SPME-Faser.

### **A.2.2.2. Auswahl der Faser**

Im ersten Schritt der Qualifizierung wurde die Eignung der Fasern zur Identifizierung der fünf Analyten untersucht.

Analyt	Dampfdruck bei 20°C
Aceton	233 hPa
Heptan	47 hPa
Xylol	8,7 hPa
Decan	1 hPa
Ethanol	59 hPa

**Tabelle 3: Dampfdruck der fünf Analyten**

Wie in Tabelle 3 dargestellt, besitzt Aceton von allen fünf Stoffen den höchsten Dampfdruck mit 233 hPa/20°C, so dass dieser Analyt wegen der Flüchtigkeit schwer zu erfassen war (Deng et al., 2004). Aus diesem Grund wurde im ersten Schritt die Faser herangezogen, mit der Aceton die höchste Empfindlichkeit aufwies. In einem 20 mL HS-Vial lag Aceton in einer 1:10000 methanolischen Verdünnung vor. Nach 1 Minute wurde die SPME-Faser über das Septum eingestochen und für eine

Minute exponiert. Für jede Faser wurde jeweils ein neuer Ansatz hergestellt. Im Anschluss erfolgte ein Vergleich der erhaltenen Peakflächen.

### **A.2.2.3. Identifizierung der Einzelstoffe**

Von allen fünf Analyten wurde jeweils 1 mL in einem 20 mL-HS-Vial vorgelegt und mit einem Septum verschlossen. Durch das Septum erfolgten die Entnahme eines definierten Volumens anhand einer gasdichten Spritze aus der sich einstellenden gesättigten Gasphase und die anschließende Überführung in ein weiteres HS-Vial. Die Expositionszeit der SPME-Faser in diesem Vial wurde auf 1 Minute festgelegt.

### **A.2.2.4. Quantifizierung**

#### **A.2.2.4.1. Expositionszeit der SPME-Faser**

Zur Ermittlung der Zeit, die zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts benötigt wurde, wurden 10 µL des Analyten in einem 20 mL-HS-Vial vorgelegt. Davon wurden 50 µL Gasphase mittels einer gasdichten Spritze in ein weiteres 20 mL-HS-Vial überführt. Die SPME-Faser wurde über das Septum eingeführt und mit steigenden Expositionszeiten exponiert.

#### **A.2.2.4.2. Kalibrierung**

Von den zu bestimmenden Analyten wurde 1 mL in einem HS-Vial vorgelegt. Über eine gasdichte Spritze erfolgte die Entnahme steigender Volumina aus der gesättigten Gasphase und anschließend die Überführung in die 1L-PFA-Flasche. Nach Injektion der Gasprobe in die PFA-Flasche wurde der Analyt eine Minute gerührt, um eine homogene Verteilung zu gewährleisten. Eine Kalibrierungsgerade bestand aus mindestens drei Punkten. Die Peakintegration bzw. die Flächenberechnung erfolgte rechnergestützt mit der Gerätesoftware (X-Calibur 1.2). Alle Peak-Integrationen wurden nachträglich kontrolliert und gegebenenfalls manuell nachintegriert.

#### **A.2.2.4.3. Präzision**

Die Messungen erfolgten analog zu A.2.1.6. An einem Analysentag wurden Gemische in einer Mindest-Fünffachbestimmung untersucht.

#### **A.2.2.4.4. Nachweisgrenze**

Die Nachweisgrenze ist die niedrigste Menge, bei der ein Signal noch zuverlässig vom Grundrauschen unterschieden werden kann. Die Bestimmung der Nachweisgrenze erfolgte auf der Basis eines Signal-Rausch-Verhältnisses von 3:1. Dazu wurde das Grundrauschen einer Leerprobe ermittelt. Anschließend erfolgte die Injektion definierter Gasvolumina des Analyten mit absteigender Konzentration, bis das Signal unterhalb des oben genannten Signal-Rausch-Verhältnisses lag. Zwecks einer besseren Auftrennung der Analyten wurde die 15 m-Säule durch eine 30 m-Säule ausgetauscht.

## A.2.2.4.5. Nachweisgrenze von SPME-GC-MS und SIONEX in Parallelmessung

Zum direkten Vergleich beider Messmethoden wurde die Detektionsgrenze in einem Parallelversuch bestimmt. Der Versuchsaufbau, sowie die Herstellungsweise der Testgase, waren identisch mit den Messungen für die Qualifizierung bzw. Kalibrierung. In die 1 L PFA-Flasche wurden abnehmende Gasvolumina mittels einer gasdichten Spritze durch das Septum injiziert. Nach einminütiger Durchwirbelung durch das Rührelement erfolgte die Exposition der SPME-Faser über das gleiche Septum. Nach erfolgter Extraktion wurde über den Probenschlauch Gasvolumen durch das Ionenmobilitätsspektrometer eingezogen. Zwischen jeder Messung wurde die Flasche mit gefilterter Druckluft gespült.

## A.2.3. Polymersensor (Cyanose 320®)

### A.2.3.1. Experimenteller Aufbau

Die Analyten wurden in einem 1 L-Rundkolben vorgelegt, die Öffnung des Kolbens wurde anschließend mit Parafilm luftdicht verschlossen. Für die Messung wurde die lange Cyanose Probenahme-Nadel durch den Parafilm gestochen (Abbildung 9), wobei die gesamte Nadellänge in den Kolben eintauchte. Nach der Messung wurde die Nadel wieder entfernt. Der Testkolben wurde vor der ersten Messung und zwischen den Messungen mit reiner Luft gespült.

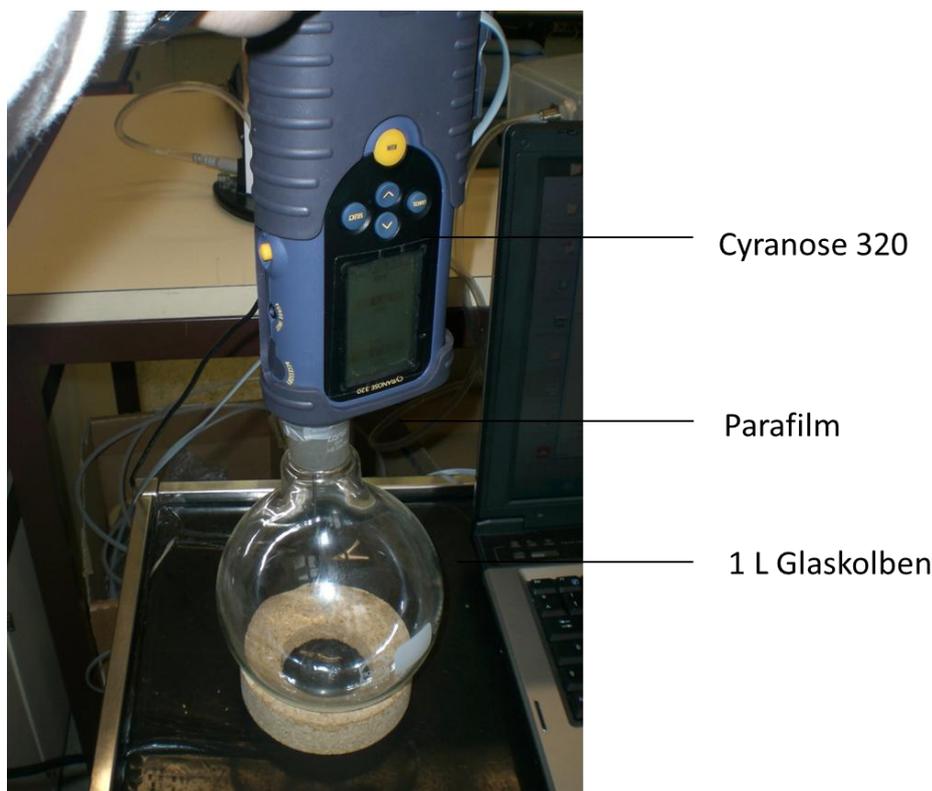


Abbildung 9: Der Cyanose Versuchsaufbau

## **A.2.3.2. Herstellung von Testgasen**

Die Testgase wurden hergestellt durch Pipettieren unterschiedlicher Volumina in einen Rundkolben. Es folgte das Verschließen des Kolbens mittels Parafilm. Die Flüssigkeit verdampfte vollständig. Zur Herstellung eines Gemisches wurden nacheinander die entsprechenden Flüssigkeitsvolumina im Kolben vorgelegt. Der Zeitraum zwischen Vorlegen der flüssigen Probe im Kolben bis zum Messbeginn betrug mindestens fünf Minuten. Visuell wurde nach verbleibenden, nicht sublimierten Tropfen geprüft. Bei Bedarf wurde die Wartezeit entsprechend verlängert.

## **A.2.3.3. Probenentnahme-Dauer**

Für die Untersuchung der notwendigen Probenentnahme-Dauer zum Erreichen der „steady-state“-Phasen der Sensoren wurden aufsteigende Messzeiten gewählt.

## **A.2.3.4. Qualitative Bestimmung von Einzelstoffen und Gemischen**

Nach Verdampfen der Testgase, wie in A.2.3.2. beschrieben, wurden zur Identifizierung der Einzelstoffe oder Gemische unterschiedliche Konzentrationen an mehreren Tagen hergestellt und gemessen. Es sollte untersucht werden, ob die sich ergebenden Signal-Muster (smellprints) reproduzierbar, sowie substanzspezifisch waren. Durch den Parafilm wurde anschließend die lange Cyanose-Nadel eingestochen und die Probenentnahme gestartet.

## **A.2.3.5. Kalibrierung der Einzelstoffe und Gemische**

Die Generierung der Testgase erfolgte wie in A.2.3.2. beschrieben. Zur Kalibrierung wurden aufsteigende Gasphasen generiert und gemessen. Für die Untersuchung von Gemischen wurde aus allen fünf Analyten ein entsprechendes Gasgemisch im Rundkolben generiert. Jede Kalibrierung erfolgte in Doppelbestimmung. Die Kalibrierungslinie beruhte auf mindestens vier Messpunkten.

## **A.2.3.6. Präzision**

Die Präzision für eine bestimmte Konzentration eines Gemischs wurde an einem Analysentag bestimmt. Entsprechende Gaskonzentrationen wurden im Rundkolben vorgelegt und gemessen. Die Messung erfolgte mindestens als Fünffachbestimmung.

## **A.2.3.7. Nachweisgrenze**

Der 2,5 L Glaskolben wurde nach Pipettieren der Analyten mit Parafilm verschlossen. Die Verwendung eines Kolbens mit größerem Volumen (2,5 L im Vergleich zu 1 L siehe A.2.3.1.) hatte eine bereits ausreichende Verdünnung zum Zweck, da das Pipettieren von kleineren Konzentrationen unter 1  $\mu\text{L}$  entsprechend  $< 1$  ppm nicht nötig war. Dies hätte die Detektionsgrenze des Polymersensors unterschritten. Das Grundrauschen einer Leerprobe wurde ermittelt, indem nach Spülen des Kolbens mit Druckluft der Probenzug erfolgte. Anschließend wurden definierte Gasvolumina der Analyten pipettiert. Nach vollständigem Verdampfen der Analyten wurde das Gemisch gemessen. Zwischen den Messungen wurde der Kolben mit Druckluft gespült. Nach den

Reinigungszyklen erfolgten Blank-Messungen, um verbleibende Gase im Kolben auszuschließen. Die Konzentration wurde schrittweise reduziert, bis das Signal unterhalb des Signal-Rausch-Verhältnisses von 3:1 lag.

#### A.2.3.8. Datenauswertung

Während einer Messung wurden die relativen Widerstandsänderungen gegen die Zeit aufgezeichnet. Die Sensor-Antwort ergibt sich aus der Gleichung  $R_{\max} - R_0 / R_0$ , wobei  $R_0$  der letzte gemessene Punkt bei der Background-Messung und  $R_{\max}$  der letzte registrierte Punkt bei der Probeentnahme darstellt.

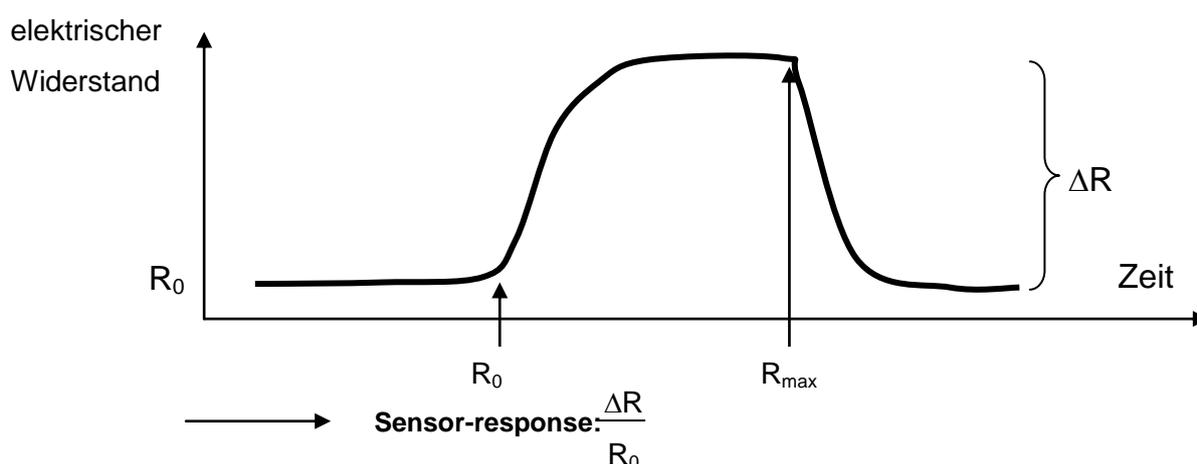


Abbildung 10: Darstellung der Sensor-Widerstandsänderung während einer Messung

Die Abbildung 10 zeigt den Anstieg der Widerstandsänderung. Zu beachten ist, dass die Zunahme der Widerstandsänderung in eine Plateauphase übergehen musste. Diese Plateauphase drückt die Sättigung der Polymerschicht mit dem Analyten aus und spiegelt so den stationären Zustand des steady-state des Sensors wider (SmithDetection, 2004). Das Erreichen der Sättigung war somit wesentlich für die Reproduzierbarkeit des Messsignals und unerlässlich für die qualitative und quantitative Untersuchung.

Es wurden die gleichen Geräteeinstellungen früherer Messungen am Institut verwendet (Thome, 2013). Nach jeder Messung wurden die Werte in ein Excel-Sheet überführt. Die Identifizierung sowie Kalibrierung der Stoffe erfolgten anhand der unnormierten Werte. Über eine Excel-Tabellendarstellung folgte die Charakterisierung der Einzelstoffe und Gemische durch den sogenannten smellprint. Die Auswertung der Kalibrierungen erfolgte durch Berechnung des unnormierten Mittelwerts aller 32 Sensoren für jede Konzentration. In Excel wurden die entsprechenden Geraden mit den zugehörigen Korrelationskoeffizienten erstellt.

## A.3. Ergebnisse

### A.3.1. Ionenmobilitäts-Spektrometer

#### A.3.1.1. Ergebnis der qualitativen Untersuchungen

Schon die ersten Untersuchungsergebnisse zeigten, dass die Peaklagen der Einzelstoffe, mit einer gewissen Schwankungsbreite hinsichtlich Kompensationsspannung und Retentionszeit reproduzierbar waren. Ebenso war zu erkennen, dass Peakbreite und -intensität mit zunehmendem Probenvolumen zunahm. Es wurde ersichtlich, dass die Detektierbarkeit der Stoffe stark schwankte, so dass für die qualitativen Bestimmungen, je nach Substanz, Gasphasen-Volumina von 0,5 µL bis 2000 µL injiziert wurden.

Die fünf Einzelstoffe Aceton, Ethanol, Heptan, Decan und Xylol wurden mit dem Temperaturprogramm EAHDX (Tabelle 4) untersucht.

#### Sequencer

	Zeit s
Valve on	0
Pump on	0
Case fan on	0
Pump off	20
Valve off	20
GC fan off	20
Column	20
Trap fan off	21
Trap fan on	211
End	340

#### Column

#### Trap

Zeit s	Temperatur (°C)	Zeit s	Temperatur (°C)
0	40	0	40
30	40	1	300
100	42	18	300
170	75		
300	140		
315	140		

Tabelle 4: Temperaturprogramm EAHDX

Je nach Substanz konnte man in den Spektren einen oder mehrere substanzspezifische Peaks erkennen, die ein charakteristisches „Bild“ ergaben.

Ebenso konnten die Einzelstoffe in einem Gemisch anhand ihrer **Retentionszeit  $R_f$**  und ihrer **Kompensationsspannung  $V_c$**  identifiziert werden. Die qualitative Auswertung erfolgte visuell. Retentionszeit und Kompensationsspannung wurden dazu anhand der zum Peakmaximum zugehörigen Datenwerte abgelesen; sie sind in Tabelle 5 dargestellt.

Substanz	Retentionszeit in s/ $V_{c1}$
Aceton	68,8/0,56
Ethanol	71,8/6,11
Heptan	107,2/2,07
	<b>Weitere Peaks:</b> 106,2/6,62 213/-1,8; 216/-1,5 Doppelpeak
Decan	263/0,2
Xylol	203/1,06

Tabelle 5: Identifizierung der Einzelstoffe mittels IMS

### A.3.1.1.1. Xylol

Für die qualitative Bestimmung von Xylol wurden jeweils an drei unterschiedlichen Tagen 0,5  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$  und 10  $\mu\text{L}$  Gasphase gemessen. Xylol konnte anhand eines eindeutigen, klaren Peaks mit der Retentionszeit von 203,4 s (Abbildung 11) identifiziert werden. Folgemessungen bestätigten diese Werte.

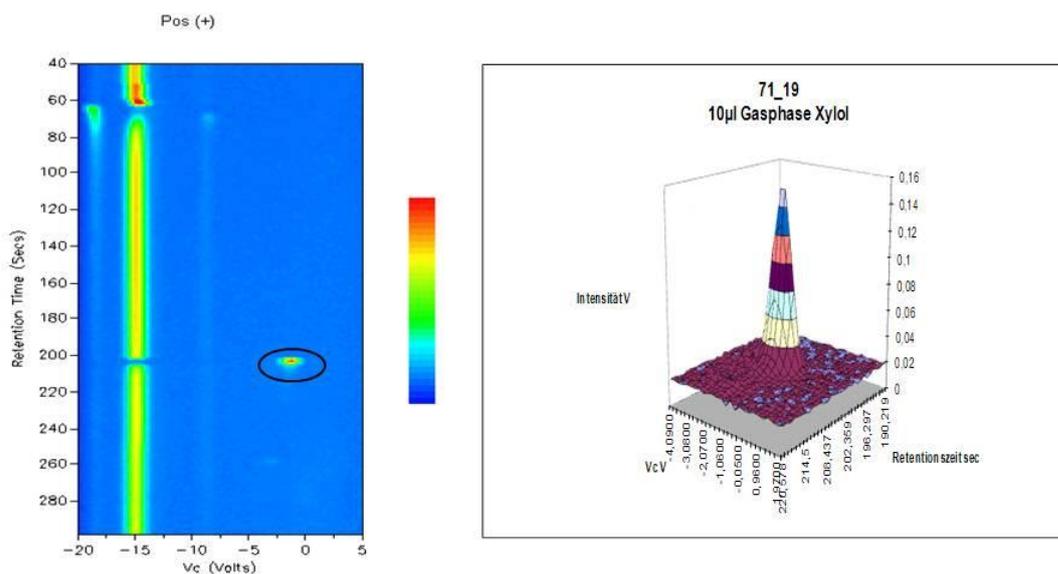


Abbildung 11: 10  $\mu\text{L}$  Gasphase Xylol

## A.3.1.1.2. Heptan

Für die qualitative Bestimmung von Heptan wurden an vier Versuchstagen 500 µL/900 µL Gasphase injiziert. Heptan wies ein charakteristisches „Bild“ mit vier verschiedenen Peaks bei einer Retentionszeit von etwa 106/107 s auf, sowie weitere charakteristische Peaks im unteren Spektrumbereich, die besonders bei höheren Konzentrationen sichtbar wurden und sich anreichern ließen. Abbildung 12 zeigt 900 µL Gasphase Heptan im Ionenmobilitäts-Spektrum und als Querschnitt.

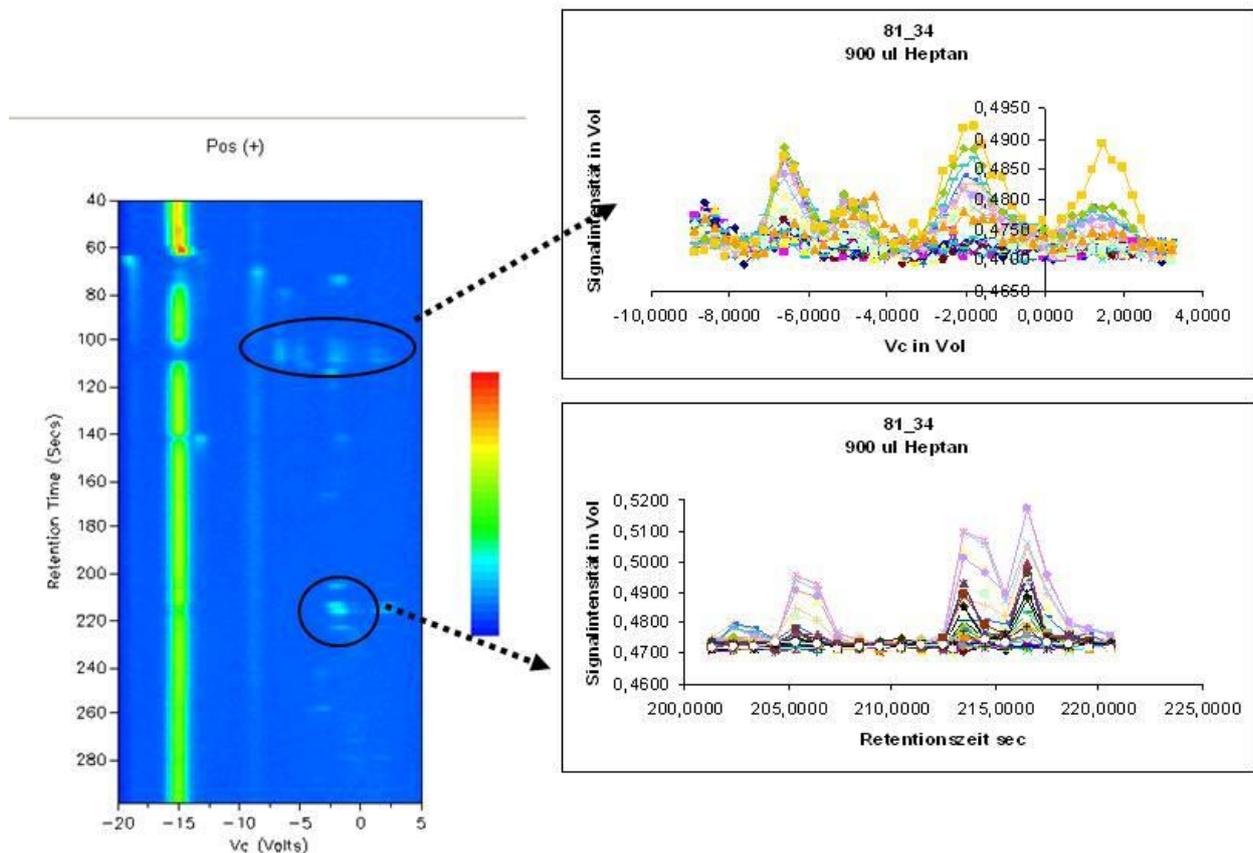


Abbildung 12: 900 µL Gasphase Heptan

### A.3.1.1.3. Aceton

Die qualitative Untersuchung von Aceton erfolgte durch Injektion von 25  $\mu\text{L}/50 \mu\text{L}$  Gasphase. Für die Identifizierung ergab sich ein eindeutiger Peak bei 68,8 s (Abbildung 13).

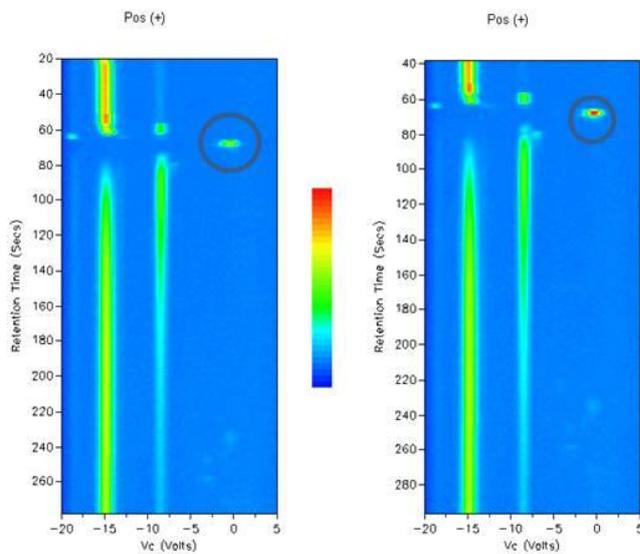


Abbildung 13: 25  $\mu\text{L}$  Aceton Gasphase (links) und 50  $\mu\text{L}$  Aceton Gasphase (rechts)

### A.3.1.1.4. Ethanol und Decan

Zur Analyse von Ethanol wurden an verschiedenen Untersuchungstagen 25  $\mu\text{L}/50 \mu\text{L}$  Gasphase, sowie für Decan 1000  $\mu\text{L}/2000 \mu\text{L}$  Gasphase ionenspektrometrisch untersucht.

Für Ethanol konnte ein Peak bei 71,8 s und für Decan ein Peak bei 263 s identifiziert werden (Abbildung 14).

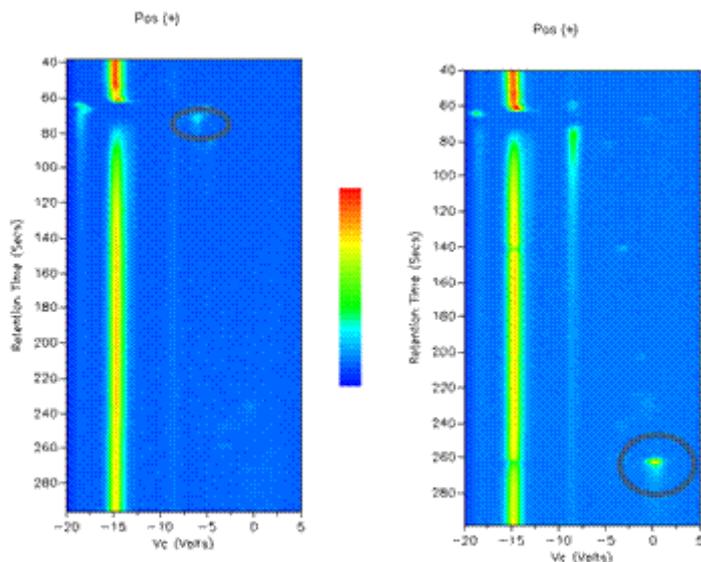


Abbildung 14: 50  $\mu\text{L}$  Ethanol Gasphase (links) und 2000  $\mu\text{L}$  Decan Gasphase (rechts)

### A.3.1.2. Qualitative Untersuchung eines Gemisches

Bei der Qualifizierung eines Gemisches sollte untersucht werden, ob sich die Retentionszeit und die Kompensationsspannung der einzelnen Stoffe in einem Gemisch verändern. Denkbar wäre, dass bei gleichzeitigem Vorhandensein mehrerer Stoffe unterschiedliche Cluster gebildet werden. Diese könnten andere Retentionszeiten und Kompensationsspannungen aufweisen und das Spektrum verändern. Wiederholte Messungen mit verschiedenen Gasvolumina der fünf Analyten bestätigten jedoch, wie in Abbildung 15 dargestellt, dass alle Einzelstoffe im Gemisch eindeutig mit nur geringsten Schwankungen hinsichtlich der Retentionszeit identifiziert werden konnten.

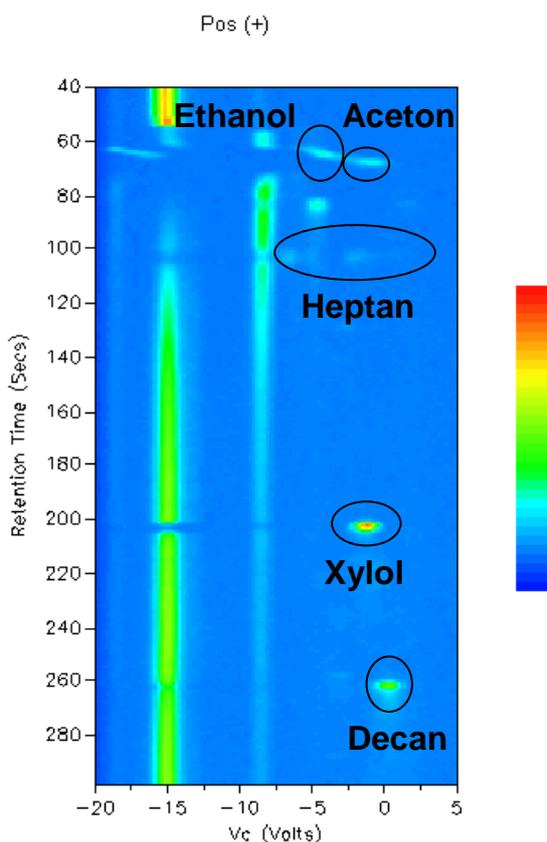


Abbildung 15: 250  $\mu\text{L}$  Gasphase aus 1000  $\mu\text{L}$  Decan; 1000  $\mu\text{L}$  Heptan; 200  $\mu\text{L}$  Ethanol; 10  $\mu\text{L}$  Xylol; 2,5  $\mu\text{L}$  Aceton

Zur Kalibrierung der Analyten wurde im ersten Schritt die Eignung der Peaks für eine qualitative Anreicherung untersucht. Bei Heptan stellte sich heraus, dass sich die meisten substanzspezifischen Peaks nicht für eine quantitative Untersuchung eigneten. Ein Doppelpeak mit einer Retentionszeit von 213 s und 216 s konnte schließlich für die Kalibrierung identifiziert werden. Bei den verbleibenden vier Analyten eignete sich auch der qualitative Peak zur Quantifizierung (Tabelle 6).

Substanz	Retentionszeit in s/Vc <sub>1</sub>
Aceton	<b><u>68,8/0,56</u></b>
Ethanol	<b><u>71,8/6,11</u></b>
Heptan	<u>107,2/2,07</u>  Weitere Peaks: <u>106,2/6,62</u> <b><u>213/-1,8; 216/-1,5</u></b> Doppelpeak
Decan	263/0,2
Xylol	203/1,06

Tabelle 6: Identifizierung von Substanz-Peaks; Quantifier: fett; Qualifier unterstrichen

### A.3.1.3. Kalibrierung von Einzelstoffen

Eine Kalibriergerade umfasste mindestens drei Punkte. Die Messungen erfolgten in Doppelbestimmung. Alle fünf Analyten konnten als Einzelstoff erfolgreich kalibriert werden. Dabei ergaben sich Korrelationskoeffizienten zwischen  $r=0,81$  und  $r=0,99$ . Xylol wies mit 3,4 die höchste Steigung auf, Heptan mit 0,002 die geringste Steigung (Tabelle 7).

Substanz	Korrelationskoeffizient (linear)	Kalibrierbereich in ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	Steigung (Volt/ppb)
Aceton	0,98	0- 53,25	0,08
Ethanol	0,96	0- 40,5	0,02
Heptan	0,81	0- 432	0,002
Xylol	0,89	0- 0,48	3,4
Decan	0,99	0-9	0,1

Tabelle 7: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie

### A.3.1.4. Kalibrierung von Gemischen

Eine Kalibriergerade eines Einzelstoffes im Gemisch beruhte auf mindestens vier Punkten. Auch hier wurden alle Messungen in Doppelbestimmung durchgeführt. Alle fünf Analyten konnten erfolgreich im Gemisch kalibriert werden. Die Kalibrierkurven waren, wie in den Abbildungen 16 und 17 ersichtlich, linear mit Korrelationskoeffizienten im Bereich von 0,96 bis 0,99 (Tabelle 8).

Substanz	Korrelationskoeffizient (linear)	Kalibrierbereich in ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	Steigung (Volt/ppb)
Aceton	0,99	0-42,6	0,08
Ethanol	0,98	0-216	0,003
Heptan	0,96	0-648	0,0003
Xylol	0,97	0-1,6	0,58
Decan	0,99	0-4,7	0,16

Tabelle 8: Kalibrierung der Gemische mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie

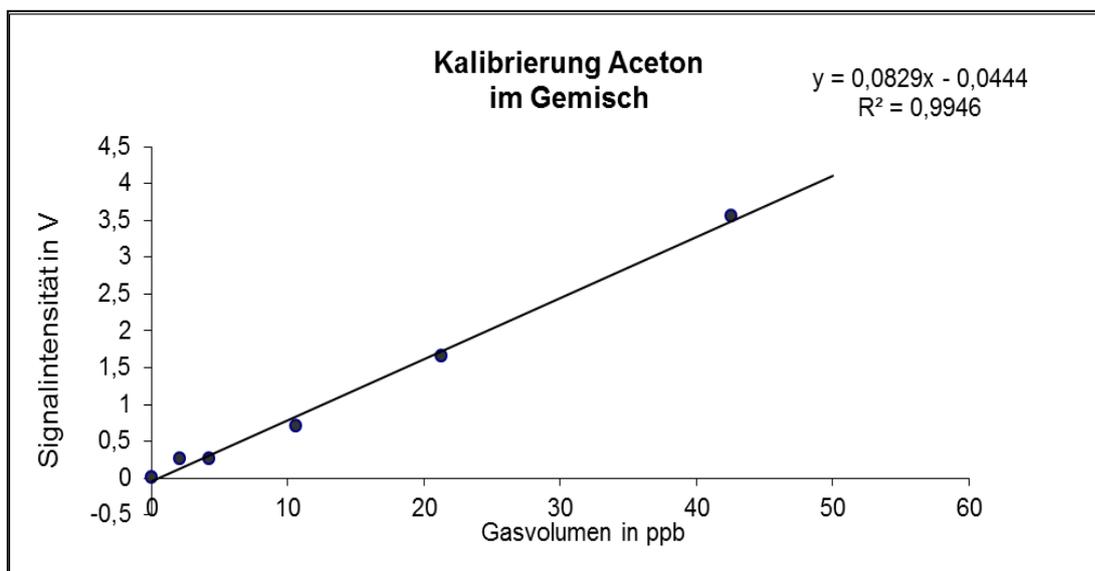


Abbildung 16: Kalibrierung von Aceton im Gemisch mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie

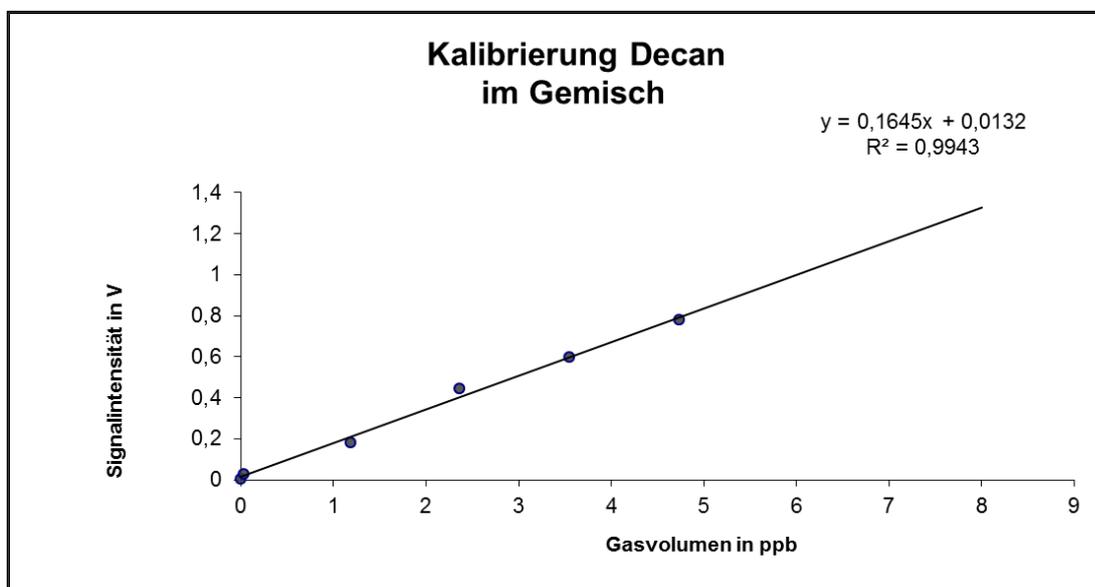


Abbildung 17: Kalibrierung von Decan im Gemisch mittels Ionenmobilitäts-Spektrometrie

### A.3.1.5. Präzision

Um die Übereinstimmung von Ergebnissen wiederholter Messungen zu bestimmen, wurde die Präzision der Messmethode untersucht. Innerhalb eines Tages wurden alle fünf Stoffe in einer Serie von mindestens fünf Messungen in einem Gemisch bestimmt. Es ergaben sich Variationskoeffizienten im Bereich von 11,16 % bis 20,83 %. Ausreißerwerte, die mit keinem offensichtlichen Fehler in Verbindung gebracht werden konnten, wurden in die Berechnung einbezogen (Tabelle 9).

Analyt	MW (Fläche)	Standardabweichung	VK (%)
Aceton 42,6 ppb	3,2425	0,3618	<b>11,16</b>
Ethanol 108 ppb	0,3394	0,0672	<b>19,81</b>
Xylol 0,4 ppb	0,3158	0,0658	<b>20,83</b>
Heptan 216 ppb	0,0952	0,0193	<b>20,25</b>
Decan 4,5 ppb	0,5076	0,0663	<b>13,06</b>

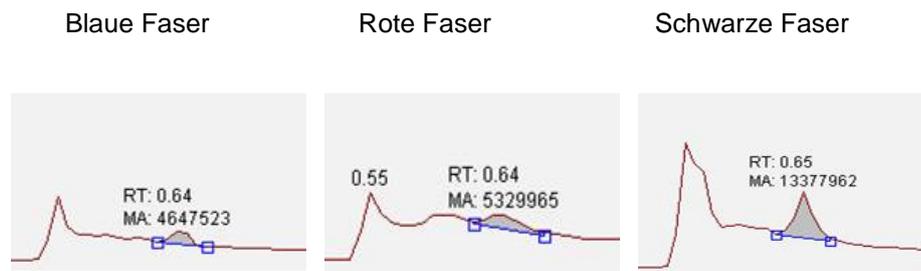
**Tabelle 9: Präzision Sionex**

Aceton wies mit einem Variationskoeffizienten von 11,16 % die beste Präzision auf, Xylol mit einem Wert von 20,83 % die schlechteste Übereinstimmung von Ergebnissen bei wiederholten Messungen.

### A.3.2. SPME-GC-MS

#### A.3.2.1. Auswahl der Faser

Aceton war unter den fünf Analyten aufgrund des hohen Dampfdrucks und der daraus resultierenden Flüchtigkeit am schwierigsten zu erfassen. Aus diesem Grund wurde die Identifizierung aller Stoffe mit jener Faser durchgeführt, die für Aceton die höchste Empfindlichkeit aufwies. Alle drei Fasern wurden in einer Verdünnung 1:10000 exponiert. Die resultierenden Peakflächen sind in Abbildung 18 dargestellt. Mit der schwarzen Faser wurde im Vergleich zu den anderen beiden Fasern eine fast doppelt so hohe Peakfläche gemessen. CAR-PDMS eignete sich demnach am besten für die Erfassung von Aceton, so dass weitere Untersuchungen zur Identifizierung der Einzelsubstanzen mit dieser Faser erfolgten.



**Abbildung 18: Peakflächen der drei SPME-Fasern**

## A.3.2.2. Temperaturprogramm

Anfangstemperatur: 40°C, 5 Minuten halten  
 1. Stufe: 30°C/min bis 220°C; 1 Minute halten

## A.3.2.3. Expositionszeit

Die Ermittlung der Zeit, die zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts notwendig war, erfolgte durch die Exposition der SPME-Faser mit steigender Dauer.

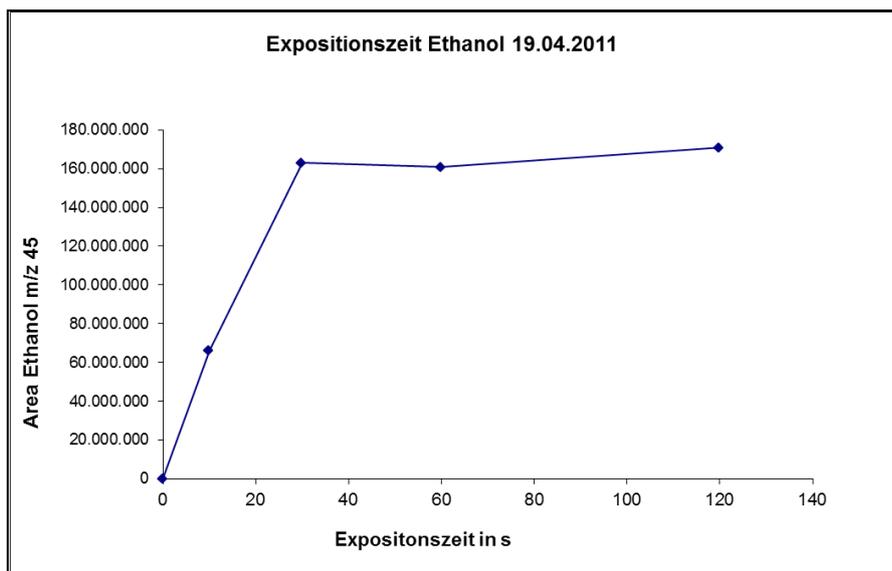


Abbildung 19: Expositionszeit Ethanol

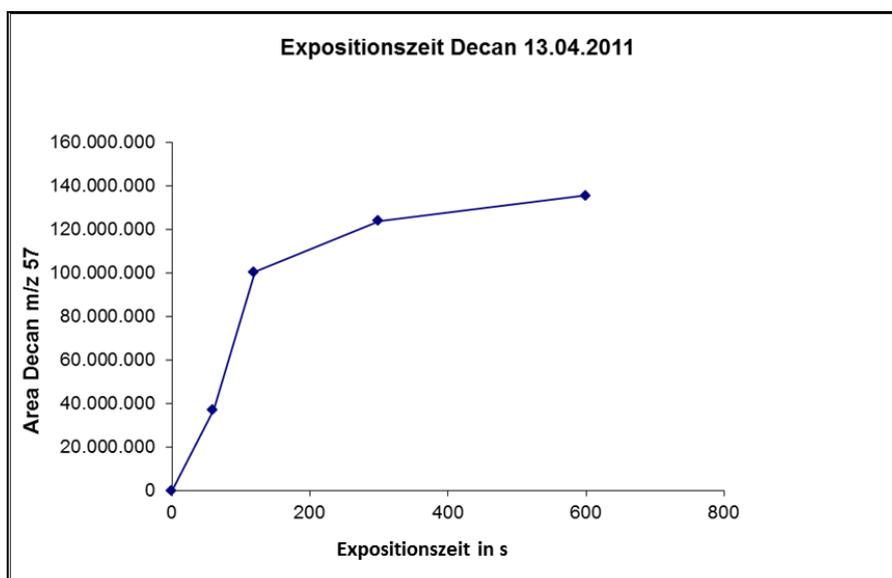


Abbildung 20: Expositionszeit Decan

Abbildung 19 zeigt wie bei Ethanol mit steigender Expositionszeit die Peakfläche kontinuierlich ansteigt. Ab 30 s Extraktion wurde das Verteilungsgleichgewicht erreicht und die Peakfläche blieb auch bei steigender Expositionszeit konstant.

Decan zeigte wie in Abbildung 20 dargestellt eine starke Zunahme der Peakfläche bei 120 s Expositionszeit. Danach wurde das Verteilungsgleichgewicht noch nicht erreicht. Die Kurve stieg weiter schwach an.

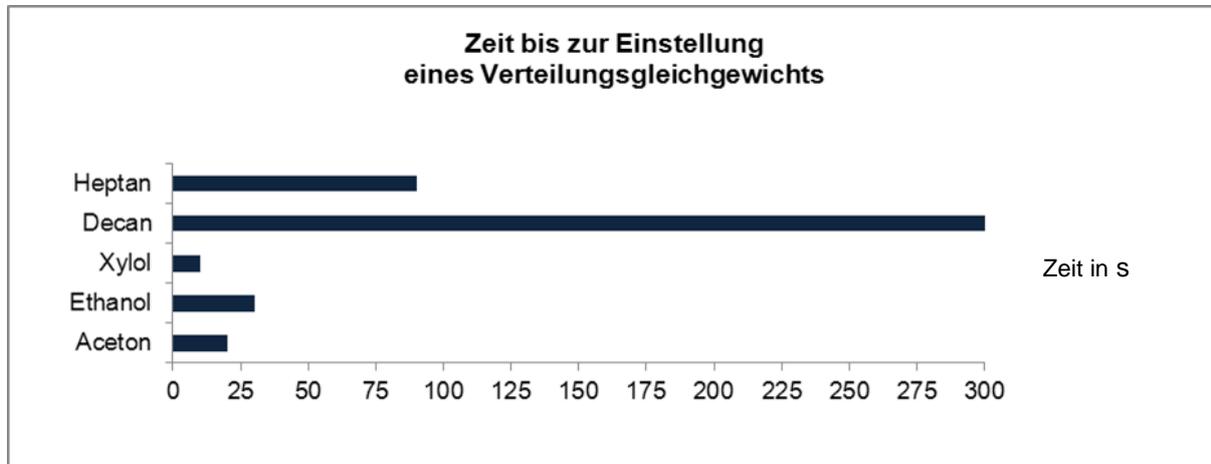


Abbildung 21: Zeit bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts

Abbildung 21 fasst die Zeit bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts für die fünf Analyten zusammen. Xylol wies mit 10 s die geringste Expositionszeit auf. Aceton und Ethanol benötigten eine Expositionszeit von 20 bzw. 30 s, Heptan 90 s. Die Peakfläche von Decan stieg nach 300 s nur noch schwach an.

Zur Detektion eines Gemisches war es wichtig, alle Substanzen quantitativ zu erfassen. Es wurde eine Extraktionszeit von 2 Minuten festgelegt. Nach dieser Expositionsdauer erreichten Aceton, Ethanol, Heptan und Xylol das Verteilungsgleichgewicht. Decan würde nach längerer Exposition noch an Peakfläche gewinnen. Die Höhe der integrierten Fläche nach 2 Minuten Exposition wies jedoch die benötigte Empfindlichkeit auf, um weitere Untersuchungen durchführen zu können.

#### A.3.2.4. Identifizierung der Einzelstoffe

Die Identifizierung der Einzelstoffe erfolgte mit dem Temperaturprogramm EHADX.

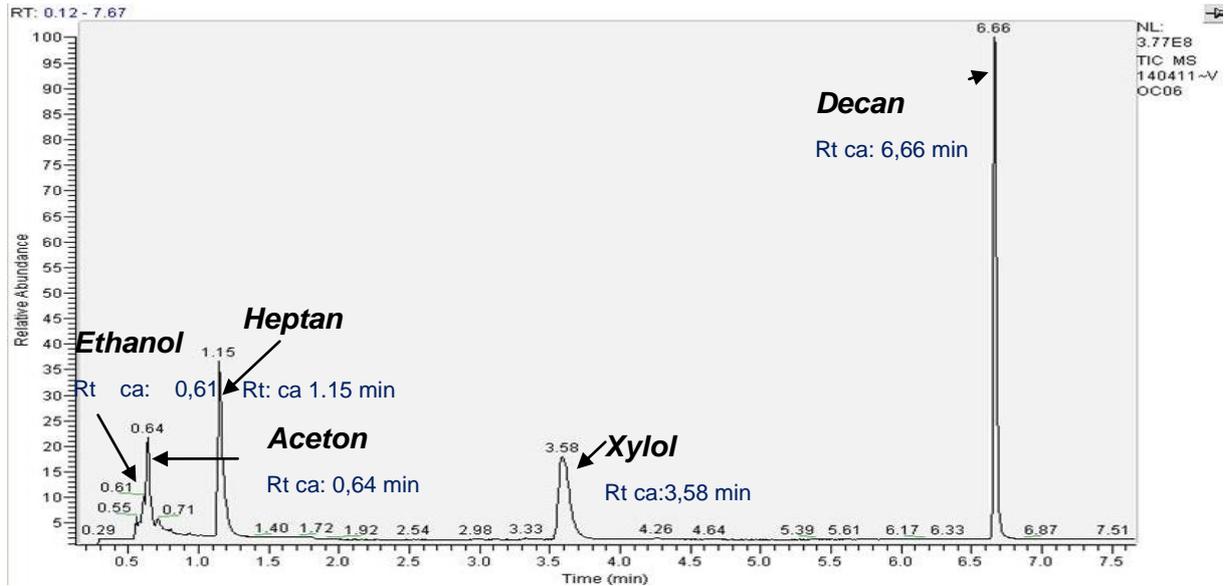


Abbildung 22: Identifizierung der Einzelstoffe mittels SPME-GC-MS

Ethanol konnte mit einer Retentionszeit von 0,61 Minuten, Aceton mit einer Retentionszeit von 0,64 Minuten, Heptan mit 1,15 Minuten, Xylol mit 3,58 Minuten und Decan mit 6,66 Minuten identifiziert werden (Abbildung 22).

Tabelle 10 fasst noch einmal die Retentionszeiten sowie die im SIM-Modus verwendeten Massenfragmente zusammen:

Analyt	Retentionszeit in Minuten	Detektierte Ionen Quantifier <b>fett</b> , Qualifier dünn
Aceton	0,86	<b>43</b> , 58
Ethanol	0,61	<b>45</b> , 46
Heptan	1,16	<b>43</b> , 57, 71
Decan	6,66	<b>57</b> , 43, 71
Xylol	3,58	<b>91</b> , 106

Tabelle 10: Retentionszeit und verwendete Massenfragmente

### A.3.2.5. Kalibrierung

Die Kalibrierung wurde für die Einzelstoffe einmal separat, sowie einmal in einem Gemisch durchgeführt. Eine Kalibriergerade bestand aus mindestens vier Punkten. Alle fünf Analyten konnten erfolgreich einzeln und im Gemisch kalibriert werden. Abbildung 23 demonstriert die Kalibrierkurven aller fünf Analyten in einem Gemisch. Dabei ergaben sich Korrelationskoeffizienten zwischen 0,93 und 0,99 (Tabelle 11 und 12). Die Steigungen der Analyten sanken bei allen Analyten bei der Analyse im Gemisch.

Substanz	Korrelationskoeffizient	Kalibrierbereich in ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	Steigung (Volt/ppb)
Aceton	0,99	0-532,5	1150
Ethanol	0,99	0-54	2716
Heptan	0,98	0-86,4	1155
Xylol	0,95	0-8	12896
Decan	0,98	0-3,6	16442

**Tabelle 11: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels SPME-GC-MS**

Substanz	Korrelationskoeffizient	Kalibrierbereich in ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	Steigung (Volt/ppb)
Aceton	0,99	0-213	408
Ethanol	0,93	0-54	2198
Heptan	0,98	0-345	699
Xylol	0,97	0-16	3457
Decan	0,98	0-7,2	4740

**Tabelle 12: Kalibrierung eines Gemisches mittels SPME-GC-MS**

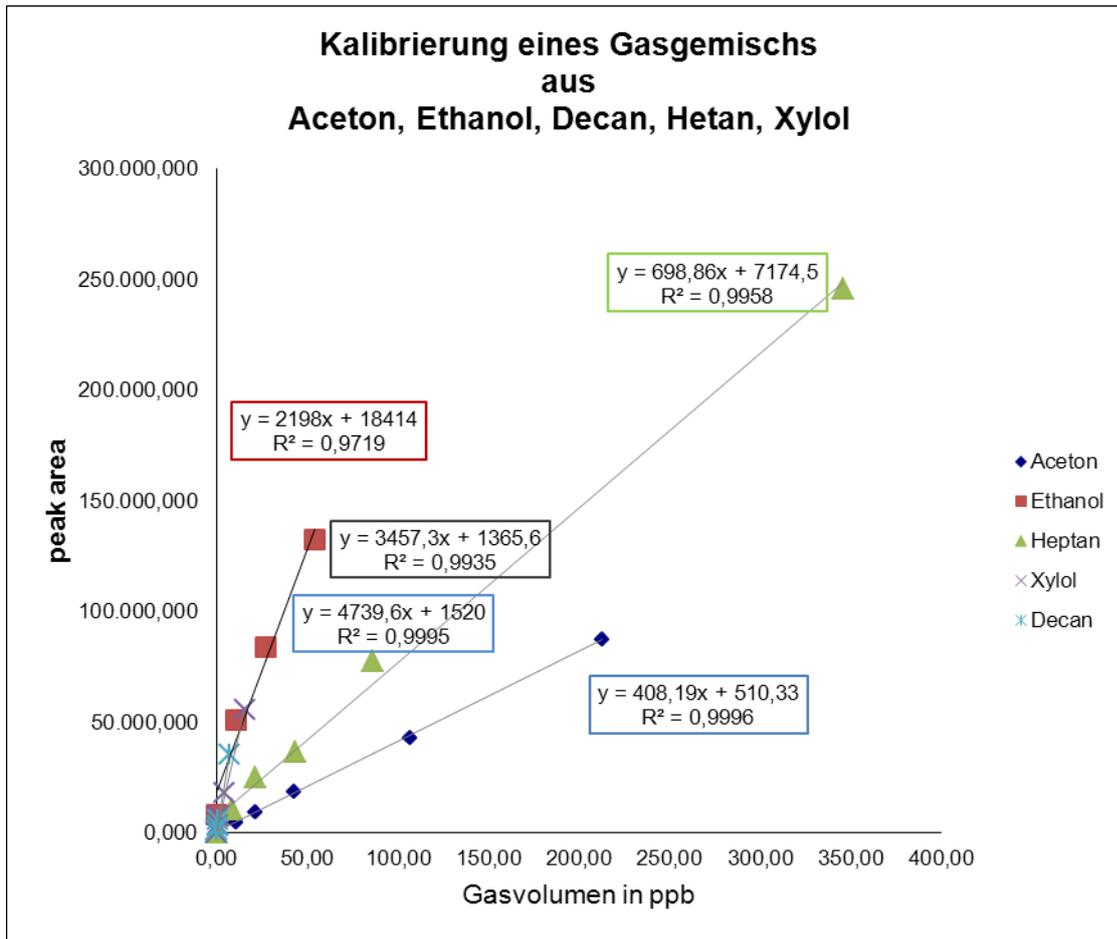


Abbildung 23: Kalibrierung eines Gemischs mittels SPME-GC-MS

**A.3.2.6. Präzision**

Tabelle 13 zeigte die zur Ermittlung der Präzision eingesetzte Gasmenge der jeweiligen Analyten. Alle fünf Stoffe wurden innerhalb einer Serie von mindestens 5 Messungen in einem Gemisch bestimmt. Daraus resultierten Variationskoeffizienten im Bereich von 5,42 bis 16,21 %.

Analyt	MW ( Fläche)	Standardabweichung	VK (%)
Aceton 213 ppb	98623656	15990722	<b>16,21</b>
Ethanol 54 ppb	108560960	11692265	<b>10,77</b>
Xylol 16 ppb	19423384	1789198	<b>9,21</b>
Heptan 86,4 ppb	74058966	4014465	<b>5,42</b>
Decan 1,8 ppb	532808	532808	<b>10,21</b>

Tabelle 13: Präzision SPME-GC-MS

**A.3.2.7. Detektionsgrenze von SPME-GC-MS und SIONEX in Parallelmessung**

In der ersten Messreihe erfolgte die Bestimmung der Detektionsgrenze von Heptan und Ethanol. Die Startvolumina betragen 300 µL ≈129,6 ppb Heptan bzw. 162 ppb Ethanol Gasvolumina. Diese wurden

schrittweise gesenkt, bis die erhaltenen Signale das Signal-Rausch-Verhältnis von 3:1 unterschritten. Die zweite Messreihe wurde mit Aceton, Decan und Xylol mit einer Startinjektion von 100 µL / 213 ppb Aceton, 1000 µL/9 ppb Decan und 1000 µL/80 ppb Xylol identisch durchgeführt. Die Messung von Heptan ergab für die Ionenmobilitäts-Spektrometrie, sowie für die Gaschromatographie, eine identische Detektionsgrenze von 43,2 ppm. Mit einer Grenze von 13,5 ppb im Vergleich zu 27 ppb zeigte sich bei Ethanol die Methode der SPME-GC-MS empfindlicher. Für die verbleibenden Analyten Aceton, Decan und Xylol wird aus Tabelle 14 ersichtlich, dass die Nachweisgrenzen für alle drei Stoffe bei Messung mit der Sionex um den Faktor 10-100 im Vergleich zur SPME-GC-MS niedriger lagen.

Substanz	Detektionsgrenze in ppb (µL/m <sup>3</sup> )	
	Sionex	SPME-GC-MS
Ethanol	27	13,5
Heptan	43,2	43,2
Aceton	2,13	42,6
Decan	0,09	7,2
Xylol	0,04	48

Tabelle 14: Detektionsgrenze SPME-GC-MS und Ionenmobilitäts-Spektrometrie im Vergleich

### A.3.3. Cyranose 320<sup>®</sup>

Zur Identifizierung der Einzelstoffe wurden verschiedene Gasvolumina generiert und gemessen. Die Auswertung erfolgte durch Excel-Diagramme.

#### A.3.3.1. Probenentnahme-Dauer

Die Sättigung der Polymerschicht der Sensoren ist essentiell für die qualitative und quantitative Untersuchung. Nur wenn der Zustand des steady-state erreicht wird, kann eine Reproduzierbarkeit der Sensoren gewährleistet werden. Wie bereits in Punkt A.2.3.8. erläutert, drückt sich dieser Zustand durch das Erreichen einer Plateau-Phase während der Messung aus. Der Widerstand stieg bei Exposition des Analyten an und pendelte sich anschließend bei einem konstanten Wert ein. Um die ideale Expositionsdauer zu ermitteln, wurden die Stoffe mit ansteigender Messzeit analysiert. Abbildung 24 zeigt die Untersuchung von 100 µL/1824 ppm Heptan. Nach Ermittlung der Baseline erfolgte der Probenzug für 30 s. Man erhielt für jeden der 32 Sensoren ein Messsignal. Deutlich war die Steigung der Signale zu erkennen. Nach Ablauf der Probenahme wurde sichtbar, dass einige Sensoren weiterhin ansteigen und die Plateauphase nicht erreicht hatten.

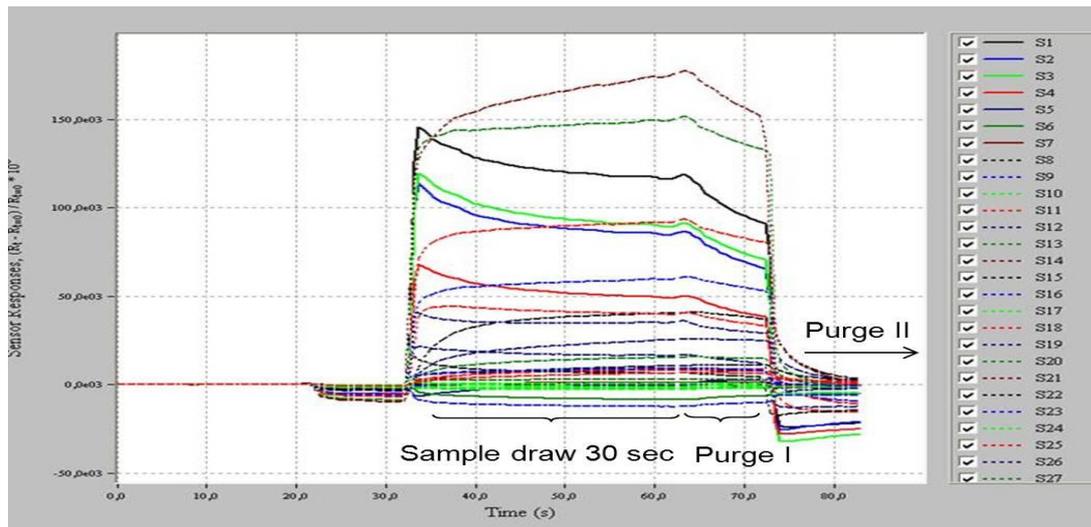


Abbildung 24: Probenahme mittels Cyanose über 30 s; Farben kodieren Sensoren S1-S32

Abbildung 25 dagegen zeigt eine Probenahmedauer von 60 s. Hier ist gut zu erkennen, dass alle bis auf einen Sensor, den Gleichgewichtszustand erreicht hatten. Weitere Messungen bestätigten, dass alle fünf Analyten nach 60 s den Gleichgewichtszustand erreichten.

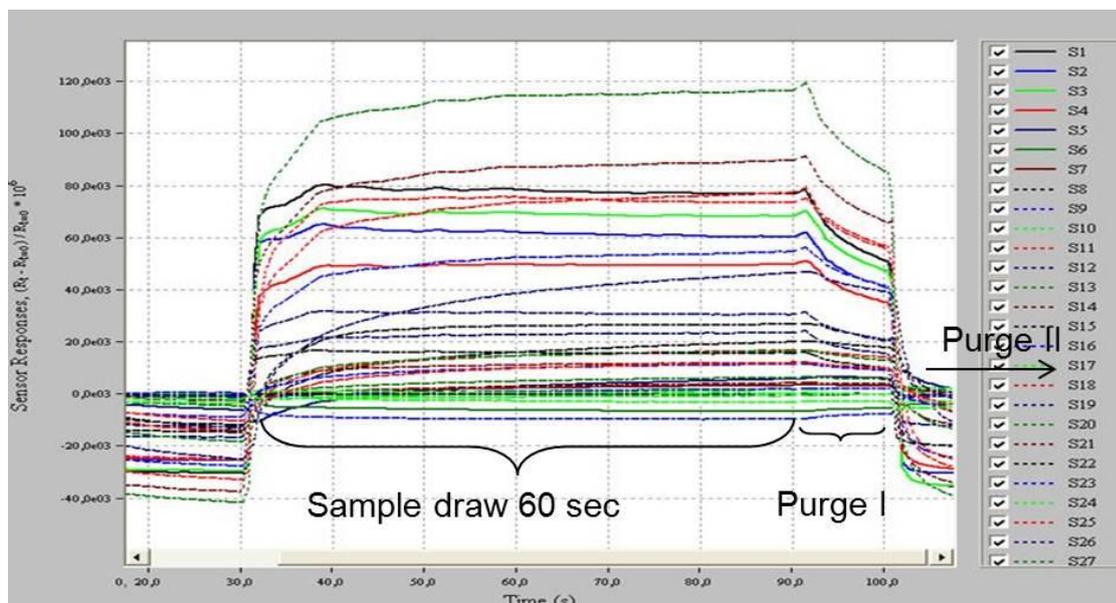


Abbildung 25: Probenahme mittels Cyanose über 60 s; Farben kodieren Sensoren S1-S32

Alle weiteren Messungen wurden mit einer Probezug-Dauer von 60 s mit anschließender Spülung des Probentrakts über 60 s durchgeführt.

### A.3.3.2. Identifizierung der Einzelstoffe

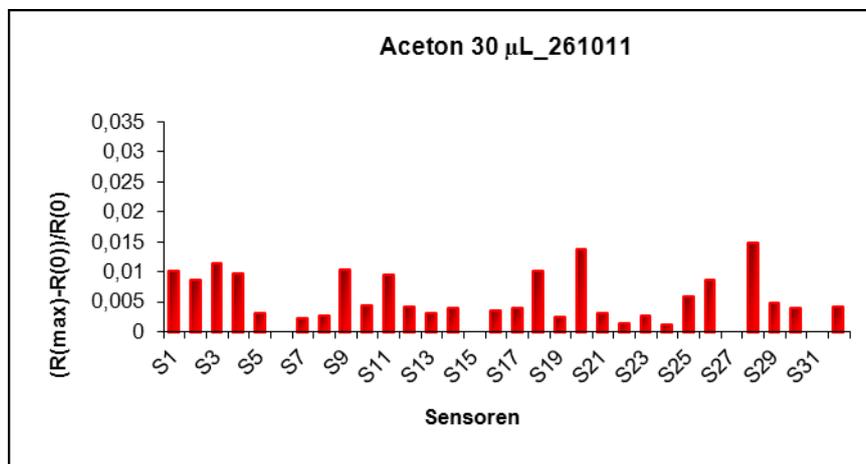
Die Identifizierung der Einzelstoffe, sowie der Gemische, erfolgte anhand des unten aufgelisteten Temperaturprogramms (Tabelle 15).

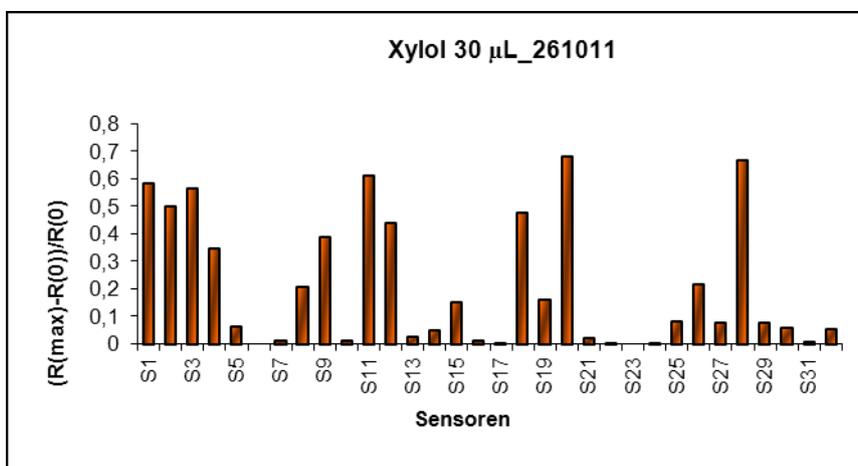
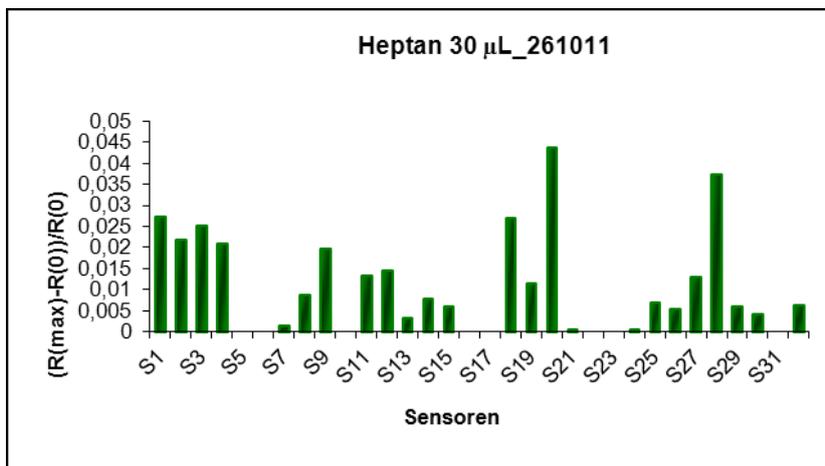
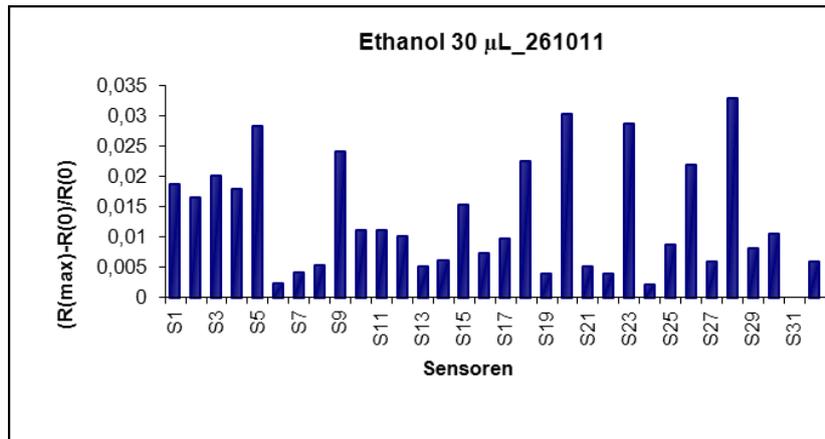
Setting	Time	Pump Speed
Baseline Purge	60	120 mL/min
Sample draw	60	120 mL/min
1st Air Intake Purge	10	180 mL/min
2nd Sample gas purge	60	180 mL/min

Tabelle 15: Temperaturprogramm Cyanose

Digital filtering: On  
 Substrate Heater. 42,0°C  
 Normalization: None

Alle fünf Analyten ergaben nach entsprechender Excel-Auswertung charakteristische und reproduzierbare „smellprints“ bei unterschiedlichen Konzentrationen. Die Abbildungen 26 geben die individuellen Signalmuster der jeweiligen Stoffe wieder.





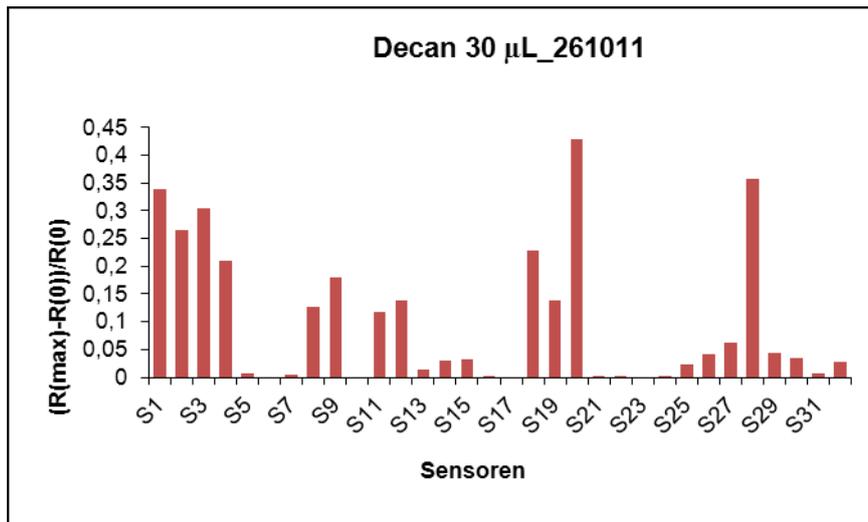


Abbildung 26: „Smellprints“ der fünf Analyten mittels Cyranose 320®

Die rein graphische Auswertung der Einzelstoffe ließ Ähnlichkeiten der „smellprint“-Muster in Zusammenhang mit der Analytenstruktur erkennen, denn Heptan, Decan und auch Xylol besitzen ein langkettiges und unpolares Kohlenwasserstoffgerüst. In Abbildung 27 sind die drei „smellprints“ nebeneinander gestellt, um die gemeinsamen, strukturspezifischen Muster zu illustrieren. Bei den kurz-polaren Analyten Ethanol und Aceton waren rein graphisch keine deutlichen Mustergruppen erkennbar (siehe Abbildung 26).

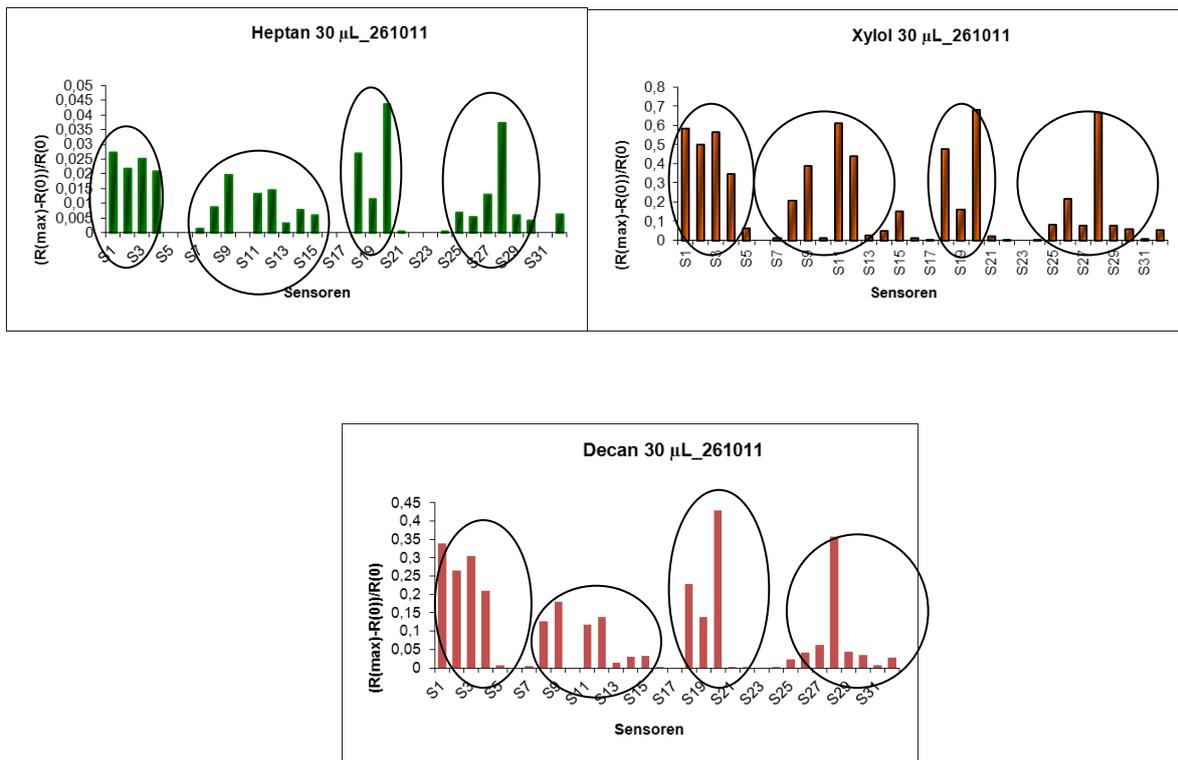


Abbildung 27: Strukturspezifische „smellprints“

### A.3.3.3. Identifizierung eines Gemisches

Für die Identifizierung eines Gemisches wurde ein Mix bestehend aus drei und anschließend fünf Analyten mit den Konzentrationen 90 µL/4140 ppm Ethanol, 90 µL/3291,3 ppm Aceton, 90 µL/1641,6 ppm Heptan, 30 µL/653,4 ppm Xylol und 15 µL/206,85 ppm Decan angesetzt. Abbildungen 28 und 29 illustrieren die gemessenen „smellprints“. Deutlich wurde sichtbar, dass die Empfindlichkeit der Sensoren mit Zunahme der Analytenzahl sank. Abbildung 28 zeigt, dass das Gemisch aus Ethanol, Xylol und Heptan, die Signalmaxima von 1,1 an den Sensoren 20 und 28 aufweisen. Abbildung 29 dagegen beinhaltet neben diesen Analyten auch noch Aceton und Xylol. Das Signalmaximum sinkt an Sensor 20 auf 0,39 und an Sensor 28 auf 0,34

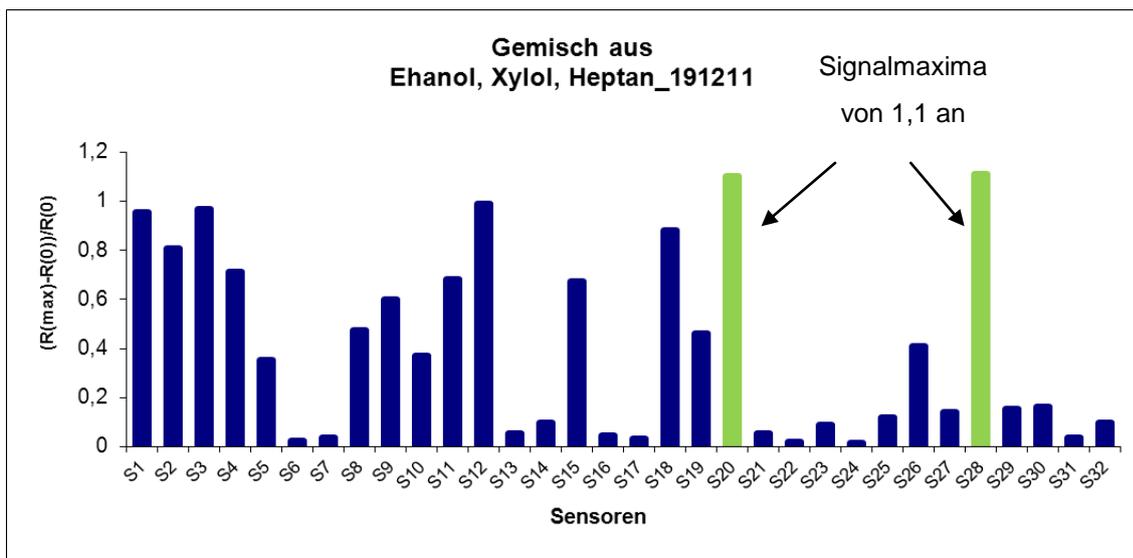


Abbildung 28: Gemisch aus 3 Analyten: Ethanol, Xylol und Heptan

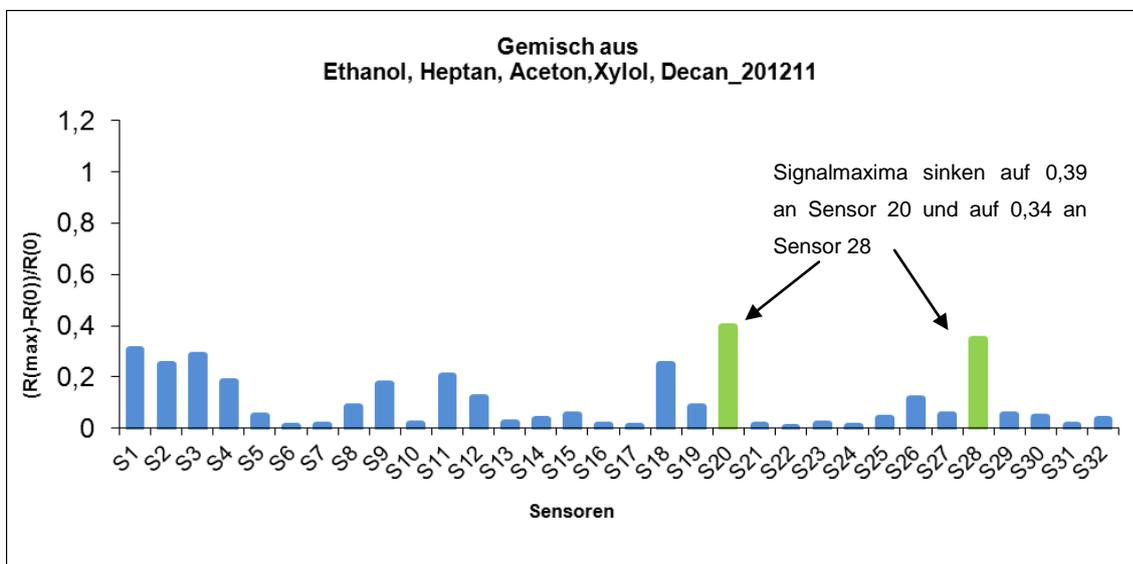


Abbildung 29: Gemisch aus Ethanol, Heptan, Aceton, Xylol und Decan

Obwohl die beiden Messungen unterschiedlich viele Analyten beinhalteten, ähnelten sich die „smellprints“ stark. Selbst die maximalen Ausschläge an Sensor 20 und 28 waren gleich, auch wenn sie in ihrer Intensität mit Zunahme der Analyten um den Faktor 3 sanken.

### A.3.3.4. Kalibrierung von Einzelstoffen

Eine Kalibriergerade umfasste mindestens fünf Datenpunkte. Die Messungen wurden in einer Doppelbestimmung durchgeführt. Alle fünf Analyten konnten als Einzelstoff erfolgreich kalibriert werden. Es ergab sich dabei ein Korrelationskoeffizient von 0,99 (Tabelle 16). Generell wiesen die Analyten geringe Werte für die Steigung auf. Decan wies dabei mit 0,0006 den höchsten Wert auf, Ethanol mit nur  $80^{-06}$  den geringsten Wert der Steigung.

Substanz	Korrelationskoeffizient	Kalibrierbereich in ppm [mL/m <sup>3</sup> ]	Steigung [ $\Delta R/ppm$ ]
Aceton	0,99	365 - 3656,8	$60^{-06}$
Ethanol	0,99	230,5 - 3457,5	$80^{-06}$
Heptan	0,99	91,2 - 912	$20^{-05}$
Xylol	0,99	54,4 - 544,5	0,0003
Decan	0,99	13,79 - 193,06	0,0006

Tabelle 16: Kalibrierung der Einzelstoffe mittels Cyanose

### A.3.3.5. Kalibrierung von Gemischen

Eine Kalibrierungsgerade eines Gemisches bestand aus vier Datenpunkten. Auch hier wurden alle Messungen erfolgreich in einer Doppelbestimmung durchgeführt. Die Kalibrierkurve wies einen Korrelationskoeffizienten von 0,93 auf (Tabelle 17).

Substanz	Korrelationskoeffizient des Gemisches	Kalibrierbereich in ppm	Steigung [ $\Delta R/ppm$ ]
Aceton	0,93	548,55 - 3291,3	$30^{-05}$
Ethanol		691,35 - 4148,1	
Heptan		273,6 - 1641,6	
Xylol		108,9 - 653,4	
Decan		34,475 - 206,85	

Tabelle 17: Kalibrierung von Gemischen mittels Cyanose

### A.3.3.6. Präzision

Die Präzision wurde an einem Analysentag in einem Gemisch (Tabelle 18) mittels einer Fünffach-Bestimmung untersucht.

Analyt	Konzentration im Gemisch in ppm [mL/m <sup>3</sup> ]
Aceton	439
Ethanol	553
Xylol	26,1
Heptan	219
Decan	165

**Tabelle 18. Bestandteile des Gemischs zur Bestimmung der Präzision**

Für jeden Sensor wurde der Mittelwert aus den Fünffach-Messungen ermittelt. Die Mehrheit aller ermittelten Werte bewegte sich zwischen dem Koeffizienten 2- 10 % mit einem maximalen Koeffizienten von 24,9 %.

In einem weiteren Auswertungsschritt erfolgte die Summierung aller unnormierten Sensorsignale pro Messung. Anschließend wurde der Variationskoeffizient für die Gesamtsignale bestimmt. Die Auswertung ergab einen Koeffizienten von 4,64 %.

### A.3.3.7. Ermittlung der Nachweisgrenze

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze wurde im ersten Schritt das Grundrauschen der Probe bestimmt. Ziel war es, durch eine schrittweise Reduzierung der Konzentrationen ein Signal-Rauschverhältnis von 3:1 zu erhalten.

Nach Ermittlung des Leerwerts wurde daraus ein Mittelwert aller 32 Signale gebildet. Die Messung wurde mit 10 µL für jeden Analyten begonnen, entsprechend einem Gesamtvolumen von 50 µL. Die Konzentrationen wurden schrittweise erst um die Hälfte, dann in 1µL-Schritten reduziert. Bei einem Volumen von 4 µL konnte man einen Kurvenverlauf graphisch noch relativ gut erkennen. Die Errechnung des Mittelwerts für alle Sensoren ergab ein Signal und Rauschverhältnis von 4,5/1. Bei einem Volumen von 3 µL war ein minimaler Kurvenanstieg zu erkennen, es ergab sich ein Signal-Rauschverhältnis von unter 3:1.

Die Messungen wiesen folglich eine Nachweisgrenze von 3  $\mu\text{L}$  je Analyt bzw. bei einem Gesamtvolumen von 15  $\mu\text{L}$  auf. Tabelle 19 fasst die entsprechenden Konzentrationen in ppm zusammen:

Substanz	Detektionsgrenze in ppm [ $\text{mL}/\text{m}^3$ ] Cyanose 320 <sup>®</sup>
Ethanol	55,3
Heptan	21,9
Aceton	43,9
Decan	16,5
Xylol	26,1

Tabelle 19: Nachweisgrenze der fünf Analyten in einem Gemisch

## A.4. Diskussion

### A.4.1. Ionenmobilitäts-Spektrometrie

#### A.4.1.1. Identifizierung der Einzelstoffe und Gemische

Wie bereits im Ergebnisteil erläutert, ergaben die Messungen mit einer gewissen Schwankung, reproduzierbare Peaklagen, sowohl für die Einzelstoffe, als auch für die Gemische. Dabei konnten bei Heptan und Ethanol mehrere stoffabhängige Peaks pro Analyt festgestellt werden. Frühere Studien berichteten ebenfalls über die mögliche Bildung mehrerer Substanzpeaks. So erhielten Tiebe et al. (2009) bei der Untersuchung von mikrobiellen VOCs zwei Heptanon-Peaks. Sie kommen zum Schluss, dass jede einzelne Komponente ein charakteristisches Spektrum ergibt. Eine weitere Studie (Pozzi et al., 2006) erhielt bei der Analyse analog zu dieser Studie Aceton als Monomer. Baumbach et al. (2003) beschrieben die Abhängigkeit der Peakanzahl mit der Analytenkonzentration. Je höher die Konzentration, desto mehr mögliche Peaks erscheinen im Spektrum. Diese Feststellung deckte sich auch mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Bei der Untersuchung von Heptan konnte ab einem höheren Konzentrationsbereich die Anreicherung von weiteren substanzspezifischen Peaks registriert werden. Es zeigte sich, dass sich nur diese beiden Peaks für eine quantitative Untersuchung eignen.

#### A.4.1.2. Kalibrierung

Sowohl die Einzelstoffe, als auch die Gemische, konnten erfolgreich kalibriert werden. Die Koeffizienten variierten von 0,81 für Heptan, bis 0,99 für Decan.

Auffällig war, dass Heptan im Vergleich zu den anderen Analyten, einen relativ geringen Korrelationskoeffizienten aufwies, obwohl hier gleichzeitig ein um den Faktor 10 höherer Kalibrierbereich bis 432 ppb vorlag. Ein Anhaltspunkt zur Erklärung des geringen Korrelationswertes bei Heptan war die Aufspaltung während der Analyse dieses Stoffs in viele Peaks. Diese Auftrennung in mehrere Bruchstücke, sowie die Tatsache, dass nicht alle Fragmente anreicherbar waren, könnten ein Grund für die erschwerte Kalibrierung, sowie für den hohen Konzentrationseinsatz sein.

Xylol wies mit 0,89 ebenfalls einen recht geringen Korrelationswert auf. Xylol erforderte nach jeder Analyse sehr viele Reinigungszyklen. Gerade in den höheren Konzentrationsbereichen konnte man auch nach fünf Zyklen eine Restanreicherung am Spektrum erkennen. Es ist anzunehmen, dass trotz zahlreicher Reinigungszyklen im Untergrund eine Xylol-Restanreicherung vorlag, die die Kalibrierung beeinflusste.

Auffällig war, dass bei der Kalibrierung von Gemischen bessere Korrelationskoeffizienten für alle Analyten erzielt werden konnten.

Der Kalibrierungsbereich für Heptan und Ethanol erhöhte sich. Die verbliebenen Analyten wiesen ähnliche Größenordnungen auf.

In der Literatur findet man ebenfalls Daten zur Kalibrierung mittels Ionenmobilität. Wie aus einer Grafik ersichtlich, erhielten Xie et al. (2002) bei der Kalibrierung von Aceton einen linearen Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,99. Vergleicht man jedoch die angewendeten Konzentrationsbereiche, so wurde deutlich, dass Xie et al. (2002), anders als in dieser Arbeit, im ppm-Bereich kalibrierten. Es war anzunehmen, dass eine Kalibrierung im ppm-Bereich ebenfalls bessere Koeffizienten erzielen würde. Eine weitere Studie demonstrierte die Kalibrierbarkeit der Einzelstoffe im unteren ppm-Bereich (Pozzi et al., 2006).

Abschließend ist hervorzuheben, dass in der vorliegenden Arbeit für die fünf Analyten in einem Gemisch insgesamt bessere Korrelationskoeffizienten erzielt werden konnten (Bereich 0,96-0,99, siehe Tabelle 8), verglichen mit den Daten bisheriger Studien mit Koeffizienten von 0,96 und 0,95 für die Kalibrierung von p-Xylol und Ethanol in einem Gemisch (Sielemann, 1995, Ulanowska et al., 2008).

Letztlich zeigen diese Ergebnisse, dass die Ionenmobilitäts-Spektrometrie die Darstellung von Kalibrierkurven im ppb-Bereich erlaubte. Die Annahme, dass bei Vorhandensein mehrerer Stoffe durch die Ionisierung andere Fragmente entstehen, die im Vergleich zum Einzelstoff nicht mehr proportional waren, hatte sich nicht bestätigt. Vielmehr konnten im Gemisch bessere Korrelationskoeffizienten als bei Einzelstoffen erzielt werden.

### **A.4.1.3. Präzision**

Die Präzisionsmessung ergab Variationskoeffizienten (VK%) von 11,16 für Aceton, bis 20,83 für Xylol (Tabelle 9). Aceton wies somit den niedrigsten Koeffizienten auf. Dies war überraschend, da aufgrund der hohen Flüchtigkeit dieses Stoffes am ehesten ein Pipettierfehler zu erwarten gewesen wäre. Wie bereits vermutet, waren die Werte für Heptan und Xylol hoch, da die Messung und Auswertung aufgrund der Fragmentierung erschwert wurde. Des Weiteren zeigte sich auch hier, dass Xylol trotz intensiver Reinigungsgänge nur sehr schlecht aus der Säule zu entfernen war. Generell lagen alle Werte über den geforderten Variationskoeffizienten von 10 für analytische Routineverfahren in der Medizin (Kromidas, 2011). Messungen könnten in höheren Gaskonzentrationen durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob sich die Präzision dadurch verbessert. Des Weiteren könnte man durch einen Säulenaustausch die Reinigung von Xylol von der Säule verbessern. Die erhaltenen Werte zeigten dennoch die Tendenz, dass die Analyten wie Aceton und Ethanol, die nur zu einem Substanzpeak führten, auch eine bessere Präzision aufwiesen. Es ist zu erwägen, für zukünftige Untersuchungen alle Molekülfragmente für die Auswertung zusammenzufassen. Diese würde jedoch den Rahmen einer manuellen Auswertungstechnik überschreiten.

Wie bereits im experimentellen Teil A.2.1.7. erläutert, erfolgte die Datenauswertung mit Microsoft Excel 2003. Die Lage der Peaks wurde visuell am Spektrum abgeschätzt. Es folgte die manuelle Bestimmung des Maximums und anschließend die Integration am Signalmaximum, mit den direkt anliegenden rechten und linken Flächen.

Tiebe et al. (2009) gaben ohne weitere Angabe die Draeger Safety Software als Auswertungswerkzeug an. Sielemann et al. (1995) dagegen beschrieben die Auswertungsschritte mittels des Programms Origin: Die Bestimmung des Peakmaximums erfolgte durch Unterlegung einer Gaußkurve. Bei Vorliegen einer Nicht-Gauß-Verteilung erfolgte auch hier die manuelle Bestimmung. Die Peakflächen wurden auch hier durch Integration bestimmt. Es wird angenommen, dass die komplette Fläche integriert wurde, da hier keine genaueren Informationen angegeben wurden. .

#### **A.4.1.4. Detektionsgrenze**

Die ermittelten Werte für die Detektionsgrenze reichten von 0,04 ppb für Xylol, bis zu 43,2 ppb für Heptan. Wie erwartet, wies Heptan aufgrund der Fragmentierung die höchste Detektionsgrenze auf. Hier waren höhere Konzentrationen erforderlich, um die einzelnen Fragmente detektieren zu können.

Die in der Literatur angegebenen Werte von 3 bzw. 5 ppb für die Detektionsgrenze von Aceton stimmten sehr gut mit dem in dieser Arbeit ermittelten Wert von 2,13 ppb überein (Tiebe et al., 2009, Vautz et al., 2006a). Weitere Arbeiten gaben für Xylol eine Detektionsgrenze von 1-50 ppb, bzw. für Ethanol von 2-1000 ppb an (Tiebe et al., 2009, Ulanowska et al., 2008, Vautz et al., 2006a, Chen et al., 2010). Tagesschwankungen, sowie die Methodik der Testgasherstellung, könnten in diesem geringen Konzentrationsbereich sehr großen Einfluss haben und die Variationsbreite erklären. Vautz et al. (2006) generierten die Testgase mittels einer Permeationszelle durch Verdünnung mit synthetischer Luft. Sie erhielten bei der Untersuchung von Ethanol einen Wert von 1000 ppb. Ulanowska et al. (2008) verwendeten wie auch in dieser Arbeit eine gasdichte Spritze zur Überführung eines Volumens aus einem gesättigten Gasraum. Sie ermittelten eine Detektionsgrenze von 2,1 ppb für Ethanol und 1,0 ppb für Xylol.

Generell lässt sich feststellen, dass die in der Literatur angegebenen Messwerte für die Xylol-Detektionsgrenze im Vergleich zu den Ergebnissen dieser Arbeit bis zum Faktor 1000 erhöht sind. Ulanowska et al. (2008) berichteten über den Zusammenhang einer geringeren Detektionsgrenze bei Ketonen, sowie höhere Detektionsgrenzen bei Alkoholen. Basierend auf diesen Ergebnissen vermuteten sie Zusammenhänge mit der Molekülstruktur. Die in dieser Arbeit gemessenen Werte zeigten ebenfalls die Tendenz, dass Aceton als Vertreter der Ketone mit 2,13 ppb eine geringere Detektionsgrenze besitzt als Ethanol mit 27 ppb. Auf der Grundlage der hier ermittelten Werte würden auch unpolare, langkettige Moleküle wie Xylol und Decan einen niedrigen Wert aufweisen. Auch bei Heptan, als Vertreter eines langkettigen unpolaren Moleküls, wäre ein besserer Wert zu erwarten gewesen. Jedoch erforderte anscheinend die hohe Fragmentierung eine höhere Konzentration.

Es ist vorstellbar, dass die Molekülstruktur Einfluss auf die Empfindlichkeit hat. Zur besseren Beurteilung dieser Annahme sollten Messungen in einem größeren Rahmen mit mehreren Vertretern jeder Molekülgruppe durchgeführt werden.

## **A.4.2. SPME-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (SPME-GC-MS)**

### **A.4.2.1. Auswahl der SPME-Fasern**

Drei verschiedene SPME- Fasern, die 75 µm Carboxen-Polydimethylsiloxan (CAR-PDMS ≈ schwarze Faser), die 65 µm Polydimethylsiloxan-Divinylbenzen (PDMS-DVB ≈ blaue Faser) und die 100 µm Polydimethylsiloxan (PDMS ≈ rote Faser) wurden auf ihre Eignung hin untersucht.

Die Auswahl erfolgte auf Basis der höchsten Empfindlichkeit für Aceton. Aceton besitzt unter den fünf Substanzen den höchsten Dampfdruck mit 233 hPa, im Vergleich zu Decan mit 1hPa, der den niedrigsten Dampfdruck unter den fünf Stoffen aufweist.

Eine bereits durchgeführte Studie berichtete ebenfalls von der Problematik Aceton aufgrund der hohen Flüchtigkeit zu erfassen (Deng, 2004). In dieser Studie wurde die Acetonbestimmung mittels einer Derivatisierung auf der SPME-Faser durchgeführt. Diese Arbeit demonstrierte, dass nach 1 minütiger Exposition der drei Fasern in einer methanolischen Acetonlösung, die resultierenden Peakflächen stark variierten. Es zeigte sich, dass die schwarze Faser (75 µm Carboxen-Polydimethylsiloxan,) die höchste Empfindlichkeit für Aceton aufwies. Dieses Ergebnis deckte sich mit den Empfehlungen der Hersteller der SPME-Faser (Supelco, 2009/2010). Diese schlagen zur Analyse von Gasen und niedrig molekularen Komponenten (MW 30-225) die 75 µm Carboxen-Polydimethylsiloxan-Faser vor. Alle fünf Analyten erfüllten ebenso das Gewichtskriterium mit einem Durchschnittsgewicht von MW 91,746.

### **A.4.2.2. Expositionszeit**

Die Menge des exponierten Analyten war abhängig von der Expositionszeit. Die Aufnahme war dann abgeschlossen, wenn sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Medium und Faserbeschichtung eingestellt hatte. Dies bedeutet, dass die aufgenommene Menge sich auch bei weiterer Probennahmedauer nicht veränderte (Emmel, 2010). Bei Erreichen des Gleichgewichts wurde die maximale Sensitivität erreicht und geringe Schwankungen der Expositionszeit hatten dann kaum noch Einfluss auf die Expositionsausbeute (Grote, 1999) .

Die Untersuchung der Expositionszeit zeigte, dass Xylol bereits nach 10 Sekunden, Aceton und Ethanol nach 20 bzw. 30 Sekunden das Gleichgewicht erreichten. Lediglich bei Decan war noch ein Anstieg zu konstatieren und somit kein Plateau erreicht.

Wie bereits erwähnt, war es erstrebenswert bis zur Gleichgewichtseinstellung zu exponieren, um eine maximale Sensitivität zu erreichen. In der Routineanalytik reichte allerdings häufig nicht die Zeit dazu, da teilweise Expositionszeiten von Stunden erforderlich waren (Larroque et al., 2006, Ezquerro et al., 2003, Tuduri et al., 2001).

Die aufgenommene Menge war proportional zu ihrer Konzentration in der Gasphase und zur Probenentnahmedauer (Emmel, 2010, Ai, 1997). Folglich war es möglich auch unter nicht-Gleichgewichtsbedingungen quantitative Untersuchungen durchzuführen, unter Inkaufnahme einer

geringeren Empfindlichkeit (Pawliszyn, 1997a). Aus der Proportionalität der aufgenommenen Stoffmenge zur Expositionszeit ergab sich weiterhin folgende Regel: je höher die Stoffkonzentration, umso mehr Analyten reicherten sich an und umso schneller wurde das Verteilungsgleichgewicht erreicht.

Für fortführende, zeitsparende Messungen wurde eine Expositionszeit von 2 Minuten festgelegt. Decan zeigte nach dieser Expositionsdauer zwar noch einen Anstieg der Peakflächen auf, jedoch wies die Höhe der integrierten Flächen die benötigte Empfindlichkeit auf, um auch noch quantitative Untersuchungen durchführen zu können.

In der Literatur sind Studien zu finden, in denen erfolgreich unter nicht-Equilibrium-Bedingungen Messungen durchgeführt wurden (Tumbiolo et al., 2005, Larroque et al., 2006). So erhielten Tumbiolo et al. (2005) unter Nicht-Gleichgewichtsbedingungen lineare Zusammenhänge bei Erhöhung der Xylolkonzentration und der Peakflächen, unter Einhaltung einer konstanten Probennahmedauer. Eine weitere Studie ermittelte die Zeit für die maximale Anreicherung von u.a. Aceton und Decan (Ezquerro et al., 2003, Wang and Lu, 2009). Wie aus der Grafik dort ersichtlich, erreichte Aceton das Verteilungsgleichgewicht nach etwa 10 Minuten. Bei steigender Expositionszeit sanken die Signale jedoch wieder. Bei Decan dagegen bestätigte sich auch das vorliegende Ergebnis. Decan stieg auch nach einer Expositionszeit von mehr als 90 Minuten weiter an. Ezquerro et al (2003) vermuteten, dass auch die Beschaffenheit der Komponenten Einfluss auf die Expositionszeit hat. Kleine, kurzkettenige Substanzen erreichten rasch den Höchstwert, danach sinken die Signale wieder. Mit zunehmender Anzahl an Kohlenstoffatomen dagegen, wie etwa bei Decan, nahm die Extraktionszeit über einen sehr großen Zeitraum zu.

In dieser Arbeit wurde nach Erreichen des Gleichgewichtszustands von Aceton, Ethanol, Heptan und Xylol die Messung nach 5 Minuten eingestellt, so dass keine weiteren Beobachtungen mit zunehmender Expositionszeit aufgezeichnet wurden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die hier durchgeführten Messungen mit einer Expositionszeit von 2 Minuten sehr gute Ergebnisse mit einer ausreichenden Empfindlichkeit aller 5 Analyten erzielten. Gegebenenfalls könnte die Erhöhung der Expositionszeit, sowie die sich daraus ergebenden Einflüsse auf die Empfindlichkeit oder Präzision, Gegenstand weiterer Untersuchungen werden.

### **A.4.2.3. Identifizierung der Analyten**

Die Identifizierung der Analyten erfolgte im Full-scan-Modus, in dem vollständige Massenspektren registriert wurden. Die Analyten konnten mittels der Retentionszeit identifiziert werden. Des Weiteren wurden die erhaltenen Massenspektren mit Datenbanken wie der NIST-Spektren-Bibliothek (National Institut of Standart and Technology) verglichen (Wang and Lu, 2009).

Die Messungen zeigten, dass Ethanol eine Retentionszeit von etwa 0,61 Minuten, Aceton 0,64 Minuten, Heptan 1,15 Minuten, Xylol 3,58 Minuten und Decan 6,66 Minuten haben.

Weitere Untersuchungen wurden im wesentlich sensitiveren SIM-Mode (Selected Ion Monitoring) durchgeführt. Larroque et al. (2006) verwendeten für die Untersuchung von VOCs in der Innenraumlufte im SIM-Modus für Aceton die Massenfragmente 43 und 58, für p-Xylol die Massen 91 und 106 und schließlich für n-Decan die Massen 57 und 43.

Dies zeigt eine absolute Übereinstimmung mit den in dieser Studie verwendeten Massenfragmenten.

#### **A.4.2.4. Kalibrierung**

Die Kalibrierexperimente wurden sowohl mit den Einzelverbindungen, als auch mit Gemischen durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten bei allen fünf Analyten, sowohl in der Einzelbestimmung, als auch im Gemisch einen linearen Zusammenhang mit Erhöhung der Analytkonzentration und den resultierenden Peakflächen bei konstanter Expositionsdauer von zwei Minuten.

So konnte auch bei Decan ein linearer Bereich festgestellt werden. Dies bestätigte die Annahme, dass bei nicht-Erreichen des Equilibrium-Zustands durchaus eine quantitative Analyse erfolgen kann.

Die erhaltenen linearen Bereiche befanden sich ausnahmslos im ppb –Bereich [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]. Den größten linearen Range wies Heptan mit 0-345 ppb auf, gefolgt von Aceton mit 0-213 ppb. Die geringste Bandbreite wurde für Decan mit einem Wertebereich von 0-7,2 ppb gemessen.

In der Literatur wurde eine Kalibrierung von Decan im ppm-Bereich beschrieben (Ezquerro et al., 2003). Die Studie wendete eine CAR-PDMS-Faser mittels der HS-SPME-GC-MS Methodik an. Die zu untersuchenden Substanzen wurden in Hexadecan gelöst und bei 100°C bei 5 Minuten inkubiert. Die Expositionsdauer betrug anschließend 60 Minuten. Die Untersuchung von Aceton ergab keinen linearen Bereich. Der in dieser Arbeit ermittelte Kalibrierbereich für Decan ist um einen Faktor 1.000.000 empfindlicher, trotz einer Expositionszeit von nur 2 Minuten bei Raumtemperatur. Eine Erklärung dafür könnte das Lösen der Analyten in Hexadecan sein. Das Lösemittel kann die Anlagerung des Analyten an die Faser kompetitiv inhibieren. Ebenfalls waren die Messbedingungen im Vergleich zu dieser Studie unterschiedlich. Ezquerro et al. (2003) inkubierten die Proben bei 100°C. Denkbar wäre die Kondensation des heißen Dampfes und die damit verminderte Anlagerung des Analyten an der Faser. Ein weiterer Erklärungsversuch könnte auch die Beschaffenheit der SPME-Faser sein. Bereits in der Literatur waren chargenspezifische Unterschiede beschrieben, die zu erheblichen Unterschieden in der Empfindlichkeit führen können (Weber, 2003).

In weiteren Studien wurden Kalibrierbereiche für die SPME-GC-MS Methodik und der entsprechenden Faser im ppm-Bereich angegeben (Tumbiolo et al., 2005, Wang and Lu, 2009). Ein direkter Vergleich war hier jedoch schwierig, da die Versuchsbedingungen sich von denen in dieser Arbeit erheblich unterschieden. So untersuchte beispielsweise Wang et al. (2009) Speichelproben. Zur Kalibrierung verwendete er Speichel als Blank und setzte den Analyten Aceton hinzu. Bei 80°C erfolgte dann eine 5-minütige Exposition der Faser. Die Unempfindlichkeit der Faser für Aceton mit 61,62- 6171,9 ppm im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen mit 0- 213 ppb könnte in diesem Fall auch auf den Speichelzusatz zurückzuführen sein. Die Empfindlichkeit stieg bei Exposition von reinen

Substanzgasphasen, da hier keine weiteren Stoffe um die Anlagerung konkurrierten. Bei Vorhandensein einer komplexen Matrix wie Speichel könnten die Speichelbestandteile um die Absorption an der Faser konkurrieren. Ebenso könnte die Feuchtigkeit im Speichel eine Rolle spielen und die Anlagerung der Teilchen an die Faser vermindern.

In einer kürzlich durchgeführten Studie (Ulanowska et al., 2011b) konnten für Aceton, Heptan und Xylol lineare Bereiche im ppb-Bereich ermittelt werden. Jedoch fehlte in dieser Arbeit die genaue Angabe der Konzentrationseinheiten, so dass die Werte nicht verglichen werden konnten.

Weitere Studien beschrieben die Kalibrierung von Aceton mit der CAR-PDMS-Faser und der Methode der Gaschromatographie gekoppelt mit einem FID-Detektor (Tuduri et al., 2002, Larroque et al., 2006). Die in den Messungen detektierte Linearität befand sich ebenfalls im ppb-Level. Larroque verglich die erhaltenen Ergebnisse der Acetonkalibrierung sowohl im Gleichgewichtszustand als auch im Nicht-Gleichgewichtszustand. Überraschenderweise erhielt er den größten linearen Bereich im Nicht-Equilibriumszustand. Diese Beobachtung könnte dadurch zu erklären sein, dass im Gleichgewichtszustand die Empfindlichkeit der Faser zwar am Höchsten war, bei zunehmender Konzentration die Faser jedoch überlädt und so ab einer gewissen Konzentration keine Proportionalität mehr vorlag. Bei einer Kalibrierung im Nicht-Equilibrium dagegen bestand die Gefahr einer Sättigung erst bei höheren Konzentrationen. Larroque bestätigte diese Annahme: So wies Aceton eine Linearität von nur 0-0,36 ppm im Gleichgewichtszustand auf. Dagegen erreichte er im Nicht-Gleichgewichtszustand eine Linearität von 0-1,12, also um den Faktor 4 höher.

Grote et al. (2006a) untersuchte in einer älteren Studie Aceton und Ethanol mittels GC-MS und einer PDMS-Faser. Die Proben wurden bei 100% Feuchte gemessen. Auch diese Methode erlaubte die Kalibrierung der beiden Substanzen im ppm- Bereich.

Abschließend ist hervorzuheben, dass mit allen fünf Analyten mittels der Methode der SPME Voranreicherung und der GC-MS für alle fünf Analyten Kalibrierungen im ppb-Bereich möglich waren. In der Literatur wurden - wie bereits oben erwähnt - ebenfalls Messungen in diesem Konzentrationsbereich erzielt. Die Mehrheit der Studien jedoch, gab entsprechende Messungen im ppm-Bereich an!

Die erzielten Korrelationskoeffizienten der Analyten in einem Gemisch werden in Tabelle 12 dargestellt. Ethanol wies hier den niedrigsten Wert von 0,93 auf, Aceton den höchsten mit 0,99. Mit Werten von 0,93-0,99 waren alle Kalibrierungsgeraden linear. In der Literatur wurden Werte von 0,98 bzw 0,99 für Aceton (Wang and Lu, 2009), sowie 0,99 für Decan und Xylol angegeben (Ezquerro et al., 2003, Tumbiolo et al., 2005). Diese Ergebnisse ließen sich in den vorliegenden Messungen sehr gut reproduzieren.

#### **A.4.2.5. Präzision**

Heptan wies mit 5,42 den niedrigsten VK auf, Aceton mit 16,21 den Höchsten. Wie eingangs beschrieben, besitzt Aceton unter den fünf Stoffen den höchsten Dampfdruck mit 233 hPa und war

aufgrund der Flüchtigkeit schwer zu erfassen (Deng et al., 2004). Für die Methodenentwicklung war folglich die Auswahl der Faser für die Aceton die höchste Empfindlichkeit aufwies, ein wichtiger Aspekt. Der im Vergleich zu den anderen Analyten erhöhte Variationskoeffizient gab den Hinweis, dass die CAR-PDMS-Faser für Aceton zwar am empfindlichsten war. Jedoch war anzunehmen, dass auch andere Faserbeschichtungen eine begünstigte Anlagerung von Aceton und damit einen besseren Variationskoeffizient erzielen könnten. Der Hersteller (Supelco, 2009/2010) schlug beispielsweise zur Erfassung von allgemein flüchtigen Substanzen bzw. von polaren Stoffen eine PDMS-Faser bzw eine Carbowax Faser vor.

Grote erreichte mittels einer Carbowax/DVB-Faser einen Variationskoeffizienten von 4,2 für Aceton sowie 8,3 für Ethanol. Diese vergleichsweise niedrigen Werte könnten ein Hinweis sein, dass eine Beschichtung aus Carbowax und DVB Aceton besser erfassen würde.

Die Parameter der anderen Studien mit der SPME-Methodik werden in Tabelle 21 dargestellt.

Analyt	Variationskoeffizient	Faser/Detektion	Quelle
Aceton	8,4	CAR-PDMS/SPME-GC-FID	(Tuduri et al., 2002)
Aceton	12,8	CAR-PDMS/HS-SPME-GC-MS	(Ezquerro et al., 2003)
Aceton	3,75	CAR-PDMS/SPME-GC-MS	(Ligor et al., 2008)
Aceton	4,72	CAR-PDMS/SPME-GC-MS	(Wang and Lu, 2009)
Decan	9,8	PDMS/SPME-GC-FID	(Yu et al., 2005a)
Decan	8 Equilibrium 12 Nicht-Equilibrium	CAR-PDMS/SPME-GC-TOF/MS	(Larroque et al., 2006)
o-Xylol	5,6	PDMS/HS-SPME-GC-MS	(Llompart et al., 1999)
p-Xylol	6,3	CAR-PDMS/SPME-GC-MS	(Tuduri et al., 2002)
Xylol	4,4/8,8/8,5	Carboxen-PDMS aus drei verschiedenen Chargen SPME-GC-MS	(Tumbiolo et al., 2005)
Ethanol	5,7	PDMS/SPME-GC-MS	(Grote, 1999)
Ethanol	6,7	Polyacrylat/HS-SPME-FC-FID	(De Martinis and Martin, 2002)

**Tabelle 20: Übersicht der Variationskoeffizienten in der Literatur mittels SPME-GC-MS**

Die in der Literatur gefundenen Variationskoeffizienten waren von der Größenordnung mit den Messwerten dieser Arbeit vergleichbar. Generell waren die Akzeptanzkriterien von der speziellen Fragestellung abhängig. Kromidas et al. (2011) stufte einen Variationskoeffizienten von unter 10 für analytische Verfahren in der Medizin als akzeptabel ein. Folglich befanden sich die in dieser Studie gemessenen Werte, mit Ausnahme von Aceton, innerhalb der geforderten Präzision.

Die bei Larroque et al. (2006) beschriebenen Ergebnisse zeigten, dass die Präzision unter Gleichgewichtsbedingungen im Vergleich zu Nicht-Vergleichsbedingungen besser war. So erhielten sie im ersten Fall einen Koeffizienten von 8 im Vergleich zu 12 bei der Messung von Decan (Tabelle 21). Diese Beobachtung war dadurch zu erklären, dass bei Sättigung der Faser ein Gleichgewicht zwischen Absorption und Desorption entstand und sich folglich keine Konzentrationsänderung mehr einstellte. Dagegen stieg die Fehleranfälligkeit bei der Arbeit unter Nicht-Gleichgewichtsbedingungen. Geringe Schwankungen bei der Durchführung, vor allem in der Anreicherungszeit, könnten die Höhe des Messsignals stark beeinflussen (Pawliszyn, 1997b).

Überdies zeigte sich auch hier, dass die Beschaffenheit der Faser starken Einfluss auf die Wiederholbarkeit von Messungen hatte. Tumbiolo untersuchte die Präzision von Xylol mit drei verschiedenen CAR-PDMS-Fasern aus jeweils drei unterschiedlichen Chargen. Er zeigte eine Variation der Koeffizienten um 4,4-8,8, also eine Erhöhung um jeweils das Doppelte. Jede Faser stellte so ein eigenes Analyseelement dar und konnte nicht einfach durch eine neue Charge ersetzt werden. Vielmehr sind vorherige Kalibrierungen und Präzisionsmessungen unabdingbar.

Generell sind die in dieser Studie erhaltenen Präzisionswerte verbesserungsfähig. Ein kritischer Punkt ist die Herstellung der Testgase. Wie bereits im Methodenteil A.2.2.4.2. beschrieben, wurde aus einer gesättigten Gasphase mittels einer gasdichten Spritze ein bestimmtes Volumen entnommen. Dieser Schritt erfolgte manuell. Dies bedeutete, dass die Geschwindigkeit, mit welcher der Kolben bewegt wurde, variierte. Eine 100% reproduzierbare Bewegung war auf diese Weise nicht möglich. Schwankungen des entnommenen Probevolumens waren so unabdingbar. Dies bewirkte wiederum eine Änderung des Mess-Signals und damit eine Verschlechterung der Reproduzierbarkeit. Sicherlich würde eine automatisierte Probenaufbereitung eine Verbesserung der Präzision bewirken.

#### **A.4.2.6. Detektionsgrenze**

Mit der Methode der Mikroextraktion ließen sich sehr gute Nachweisgrenzen erzielen, da die gesamte extrahierte Analytmenge im Injektor verdampfte und auf diese Weise vollständig auf die Säule gelangte (Grote, 1999). In der Literatur wurden Detektionsgrenzen im ppb-ppt (ggf. in äquivalenten Masse/ Volumen-Verhältnis) angegeben (Ezquerro et al., 2003, Tumbiolo et al., 2005, Larroque et al., 2006, Wang and Lu, 2009, Gaspar et al., 2009, Ulanowska et al., 2011b, Rudnicka et al., 2011, Grote, 1999). Basierend auf diesen Angaben, stimmten die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit damit überein. Betrachtete man die in Tabelle 21 dargestellten Werte zur Ermittlung der Detektionsgrenze für SPME-GC-MS, so fallen die hohen eingesetzten Gasmengen auf, im Vergleich zu den Gasmengen die zur Kalibrierung der Stoffe eingesetzt wurden.

Substanz	Detektionsgrenze ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	Kalibrierbereich ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]
Ethanol	13,5	0-54
Heptan	43,2	0-345
Aceton	42,6	0-213
Decan	7,2	0-7,2
Xylol	48	0-16

**Tabelle 21: Detektionsgrenze der fünf Analyten mittels SPME-GC-MS**

Teilweise konnten an den vorherigen Versuchstagen lineare Kalibrierbereiche erzielt werden, die sich schon im Bereich der Detektionsgrenze befanden. Ein Beispiel hierfür ist Decan. Wie in Tabelle 21 dargestellt, wies Decan einen Kalibrierbereich von 0-7,2 ppb auf. Die Messung der Nachweisgrenze ergab einen Wert von 7,2 ppb.

Bei weiteren Analyten bestätigte sich die drastische Verschlechterung der Empfindlichkeit ebenfalls: Für die Kalibrierung von Aceton konnte ein Gasvolumen von 0-213 ppb eingesetzt werden. Diese Menge unterschreitet sogar die gemessene Detektionsgrenze von 43,2 ppb.

Der Grund für die drastische Verschlechterung der Werte im Vergleich zu älteren Messungen war die Verwendung einer SPME-Faser aus einer neuen Charge. Eine SPME-Faser weist aufgrund verschiedener Einflüsse eine begrenzte Lebensdauer auf. Beispielsweise wurde durch den Wechsel zwischen Expositionsbedingungen und den hohen Temperaturen im Injektor, die Faserbestimmung thermisch beansprucht. Es ist wahrscheinlich, dass das Fasermaterial durch die Belastungen spröde wurde. Ebenso waren Einflüsse aus Probenbestandteile denkbar, die zu Verkrustungen und damit zu Eigenschaftsänderungen geführt haben könnten. Die Überlebensdauer einer Faser betrug etwa 100 Analysen (Weber, 2003). Auch in dieser Arbeit wurde nach etwa 120 Analysen eine abnehmende Signalintensität festgestellt. Die Untersuchungen zur Ermittlung der Nachweisgrenzen wurden aus diesem Grund mit einer CAR-PDMS-Faser aus einer neuen Charge durchgeführt. Bereits erste Messungen zeigten, dass die Empfindlichkeit der neuen Faser nicht mit der aus der alten Charge vergleichbar war. Ergänzend zu den Untersuchungen zur Nachweisgrenzen, wurde eine weitere Messung mit einem Gasgemisch aus jeweils 100  $\mu\text{L}$  analysiert und mit den bereits vorhandenen Werten verglichen.

Die Abbildung 30 veranschaulicht die Messung von 100  $\mu\text{L}$  Aceton in einem Gasgemisch. Die Retentionszeit des Analyten mit der neuen Faser war verändert, da zur verbesserten Auftrennung der Analyten die 15 m Säule durch eine 30 m Säule ersetzt wurde.

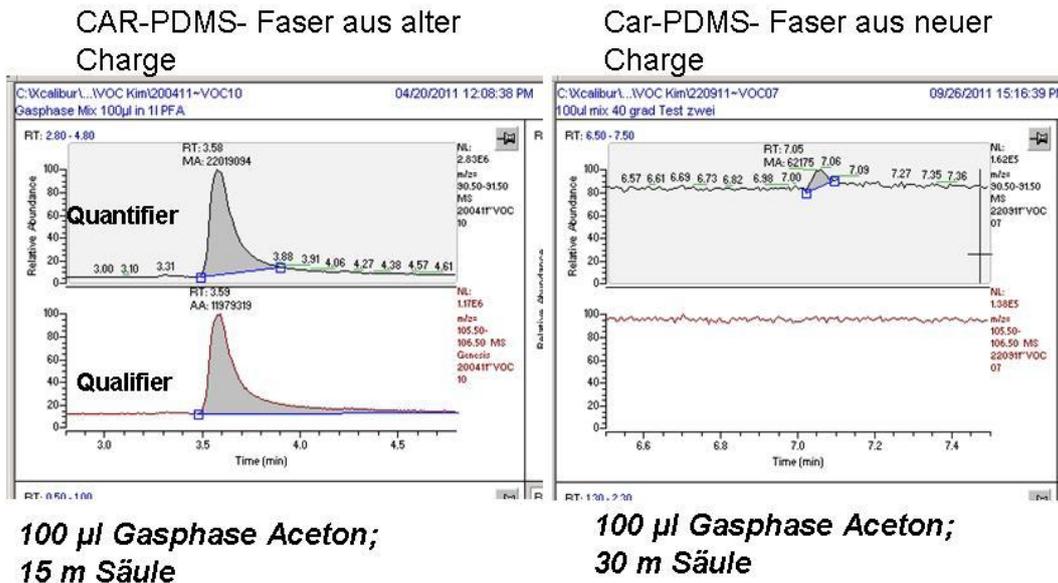


Abbildung 30: Vergleich einer CAR-PDMS-Faser aus zwei Chargen. Mit der alten Faser ergab sich eine um den Faktor 200 höhere Peakfläche im Vergleich zur neuen Faser.

Auch bei den anderen Analyten machte sich der Empfindlichkeitsverlust deutlich bemerkbar. Ein Gasvolumen aus 100 µL Decan, welches mit der alten Faser eine Peakfläche von einigen Millionen aufwies, konnte mit der neuen Faser gar nicht mehr detektiert werden. Hinweise für die bescheidene Reproduzierbarkeit von chargen-unterschiedlichen Fasern waren auch in der Literatur zu finden. Wie bereits im oberen Abschnitt beschrieben, registrierte Tumbiolo beim Vergleich von Fasern aus drei verschiedenen Chargen Verteilungskoeffizienten, die um den Faktor 2 variierten. Weber et al. (1999, 2012) stellten nach einer labortechnischen Unterbrechung einen Anstieg der Signalintensität bei Wiederaufnahme der Messungen fest. Er führte dies auf eine Erholung der Faserbeschichtung zurück. Aufgrund abnehmender Signalintensität wurde nach etwa 160 Extraktionen eine neue Faser eingesetzt. Die nach einem Wechsel resultierende, verschlechterte Anfangsintensität überraschte auch ihn. Weber führte die Abnahme der Signale auf Chargenunterschiede oder Unterschiede in der Lagerung zurück. Typische Werte zur Detektionsgrenze für die Methode der Mikroextraktion waren in der Literatur zu finden. Diese reichten vom unteren ppb-Bereich (Vautz et al., 2006a, Ezquerro et al., 2003, Wang and Lu, 2009, Gaspar et al., 2009, Rudnicka et al., 2011, Ulanowska et al., 2011b) bis in den ppt-Bereich (Tumbiolo et al., 2005, Larroque et al., 2006). Generell stimmten die in dieser Arbeit ermittelten Werte mit den Angaben aus der Literatur überein. Es ist jedoch sicherlich anzunehmen, dass mit einer empfindlicheren Faser weitaus bessere Werte erzielt werden könnten. Die Kalibrierbarkeit aller Analyten in den niedrigen Konzentrationsbereichen mit der zuerst verwendeten Faser war ein wichtiger Hinweis dafür.

**A.4.2.7. Vergleich SPME-GC-MS und Ionenmobilitäts-Spektrometrie**

Zum direkten Vergleich der zwei elektronischen Nasen erfolgte die Bestimmung der Detektionsgrenze im Rahmen eines Parallelversuchs. Mit beiden Methoden wurden Nachweisgrenzen im ppb-Bereich nachgewiesen. Die erzielten Werte werden in Tabelle 22 dargestellt:

Substanz	Detektionsgrenze in ppb [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ]	
	Sionex	SPME-GC-MS
Ethanol	27	13,5
Heptan	43,2	43,2
Aceton	2,13	42,6
Decan	0,09	7,2
Xylol	0,04	48

Tabelle 22: Detektionsgrenze SIONEX und SPME-GC-MS im Vergleich

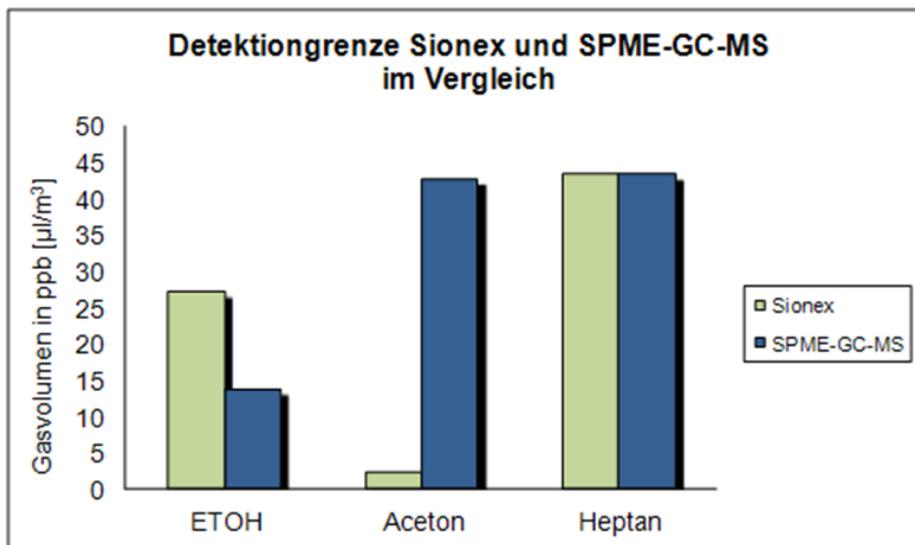


Abbildung 31: Detektionsgrenze Sionex und SPME-GCMS im Vergleich

Abbildung 31 verdeutlicht noch einmal die erhaltenen Ergebnisse. Bei Heptan war die Detektionsgrenze für beide Analysemethoden gleich. Bei Aceton zeigte die Sionex eine höhere Empfindlichkeit um den Faktor 20. Die Mikroextraktion dagegen, zeigte sich bei der Analyse von Ethanol überlegen. Die Untersuchung von Decan und Xylol führte vor Augen, dass die Ionenmobilitäts-Spektrometrie hier mit einem Faktor von 100 empfindlicher ist.

## **A.4.3. Cyranose 320<sup>®</sup>**

### **A.4.3.1. Probenentnahmedauer und Identifizierung**

Die optimale Probenentnahmedauer und damit das Eintreten eines „steady state“ Zustandes war essentiell, um reproduzierbare Ergebnisse zu erreichen. Dabei war es auch angesichts von anstehenden Patientenuntersuchungen, sowie dem Aspekt des zeiteffizienten Arbeitens im Labor wichtig, die Exposition der Analyten so kurz wie möglich zu halten. Die vorliegenden Untersuchungen ergaben eine Zeitdauer von 60 s Probezug, nachdem sich die Sensoren überwiegend im „steady state“ Status befanden.

Alle weiteren qualitativen und quantitativen Untersuchungen wurden mit dieser Probenentnahmezeit durchgeführt. In der Literatur wurden teilweise unterschiedliche Zeiten bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustands beschrieben. Xie et al. (2010) beschrieben die Einstellung der „Steadyline“ nach 100 Sekunden. Dies entsprach in etwa dem in dieser Arbeit ermittelten Wert. Weitere Studien gaben eine Zeitspanne von nur 30 Sekunden bis zu 7 Minuten bis zum Erreichen einer Plateauphase an (Xie et al., 2006, Kromidas, 2011). Die unterschiedlichen Expositionszeiten ließen vermuten, dass dieser Parameter sensorenabhängig ist. So verwendeten Xie et al. ebenfalls einen Polymersensor und erreichte einen mit dieser Arbeit vergleichbaren Wert von 60 Sekunden. Taurino et al. (2003) erreichte mit 30 Sekunden die rascheste Gleichgewichtseinstellung. Seine Untersuchungen wurden mit nur 6 Titanoxidsensoren durchgeführt, so dass ein direkter Vergleich zu den hier vorliegenden 32 Sensoren nicht möglich war. Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnte nach 30 Sekunden die Mehrzahl der Sensoren einen „steady state“ Status erreichen. Die Probenentnahmezeit musste jedoch verlängert werden, damit sich auch die verbleibenden, unempfindlicheren Sensoren ausreichend sensibilisierten. Würde man zur Auswertung nur die empfindlichsten Sensoren betrachten, so wäre eine Exposition von 30 Sekunden ausreichend. Szurek et al. (2009) untersuchte mit 15 Zinnoxidsensoren die Analyten Heptan und Xylol. Seine Sensoren zeigten die schlechteste Empfindlichkeit auf. Er erreichte erst nach 7 Minuten eine Steadyline.

Zusammenfassend betrachtet war die Expositionszeit von dem zu untersuchenden Analyt und der Sensorenbeschaffenheit abhängig. Die Vermutung liegt nahe, dass die Untersuchung weiterer Analyten andere Werte ergeben hätte.

Die Identifizierung der Stoffe und Gemische erfolgte über eine tabellarische Auswertung. Das Auftragen der Sensoren gegen den Wert der Widerstandsänderung ergab reproduzierbare, sowie substanzspezifische Muster (Xie et al., 2006, Kang et al., 2010, Taurino et al., 2003), die sogenannten „smellprints“. Für die langkettigen, unpolaren Analyten Heptan und Decan und dem unpolaren Analyten Xylol konnten rein visuell strukturspezifische Mustergruppen identifiziert werden.

## A.4.3.2. Kalibrierung

Die Kalibrierungsversuche wurden sowohl mit Einzelstoffen, als auch im Gemisch, jeweils in einer Doppelbestimmung durchgeführt. Eine Kalibriergerade bestand aus mindestens fünf Datenpunkten. Für alle Stoffe wurden Korrelationskoeffizienten von 0,99 erzielt. Die Kalibrierbereiche konzentrierten sich auf den unteren ppm-Bereich bei Decan, Xylol und Heptan. Für die kleinpolaren Stoffe Ethanol und Aceton erstreckte sich der lineare Bereich vom ppm-Bereich bis in den Promille-Bereich. Die Auswertung erfolgte bei Messung mit der Cyanose durch Summierung aller unnormierten Werte.

Für die Untersuchung des Gemisches erhielt man einen Korrelationskoeffizient von 0,97 im ppm-Bereich. Der untere lineare Bereich erhöhte sich bei allen Analyten, im Vergleich zu der Untersuchung als Einzelstoff. Auch der obere lineare Bereich erhöhte sich bei allen Analyten, mit Ausnahme von Aceton.

In der Literatur waren ebenfalls lineare Zusammenhänge zwischen der Analyten-Konzentration und der Sensorantwort aus Grafiken ersichtlich (Szcurek et al., 2009, Cho et al., 2011, Si et al., 2007, Kromidas, 2011, Xie et al., 2006, Luo et al., 2012). Bei keiner der Arbeiten wurden jedoch Werte für den Korrelationskoeffizienten angegeben. Die Kalibrierbereiche befanden sich auch hier im ppm-Bereich (Szcurek et al., 2009, Si et al., 2007, Luo et al., 2012). Kang et al. (2009) erreichte bei der Untersuchung von Aceton temperaturabhängig einen weiten linearen Bereich von 10-10000 ppm. Kim et al. (2011) beschrieb ebenfalls einen Zusammenhang der Linearität mit der Proben temperatur. Aus einer Grafik ersichtlich, trug Kim die Acetonkonzentration in Abhängigkeit der Änderung der Detektions-Spannung auf. Sie zeigte, dass der lineare Bereich bei einer Probenreservoir Temperatur von -20°C bei 7 ppm bis etwa 500 ppm lag. Erhöhte man die Temperatur auf 20°C so begann der lineare Bereich erst bei etwa 200 ppm und reichte bis etwa 10000 ppm.

Vergleicht man die Literaturwerte mit den hier gemessenen Ergebnissen, so erreichten sowohl Kang als auch Kim weitaus niedrigere Kalibriergrenzen bei etwa 10 ppm im Vergleich zu 365 ppm für Aceton in dieser Arbeit. Im Unterschied hierzu variierten sie die Temperatur des Proben-Behälters und erreichten mit sehr tiefen Temperaturen von nur -20°C niedrige Kalibriergrenzen.

Generell wurden für die Kalibrierung eines Gemischs geringe lineare Zusammenhänge zwischen den Sensorsignalen und den Analytkonzentrationen erwartet. Die Annahme war, dass durch das Vorhandensein mehrerer Stoffe die Anlagerung von unterschiedlichen Molekülen entweder verhindert oder derart begünstigt wird, so dass eine schlechtere Proportionalität erzeugt worden wäre. Durch die Anlagerung eines Analyten an den Sensor könnte beispielsweise die Anheftung eines weiteren Moleküls verhindert werden. Der Sensor wäre damit sozusagen „besetzt“. In diesem Fall wären die erhaltenen Werte ab einer bestimmten Konzentration zu niedrig und somit nicht mehr proportional zueinander. In einem anderen Fall wäre vorstellbar, dass durch die Anlagerung der Substanzen der Sensor anschwillt und so für die anderen Stoffe eine erhöhte Absorptionsfläche anbietet. Ab einer bestimmten Konzentration wären die Werte nicht mehr proportional zueinander und tendenziell zu hoch.

Die Messungen zeigten jedoch, dass auch das Gemisch aus den 5 Analyten eine gute Kalibrierbarkeit aufwies mit einem Korrelationskoeffizient von 0,93. Dieser war, wie erwartet war im Vergleich zum Einzelstoff mit 0,99 etwas kleiner. Das gleichzeitige Vorhandensein mehrerer Analyten führte zur Senkung der Sensorempfindlichkeit wie bereits unter A.3.3.3. erläutert, so dass dadurch der nötige Einsatz höherer Konzentrationen für die Kalibrierung des Gemischs erklärt werden konnte.

### **A.4.3.3. Präzision Cyranose**

Die Reproduzierbarkeit eines Analysenergebnisses wurde in einem Gemisch in einer Fünffach-Bestimmung ermittelt. Die Auswertung der Präzision erfolgte einmal durch die Errechnung der Variationskoeffizienten der unnormierten Signale pro Sensor. Dabei ergaben sich Variationskoeffizienten mit einer Schwankung von 2,26-24,9%. Die Mehrheit aller Sensoren bewegte sich jedoch im Bereich von 2,2-10%. Daneben wurde in einem weiteren Schritt nach jeder Messung das Gesamtsignal inklusive der Ausreißersensoren summiert. Anschließend folgte die Berechnung des Variationskoeffizienten für die summierten, ebenfalls unnormierten Signale. Diese Berechnung ergab für das Gesamtsignal der 32 Sensoren einen Variationskoeffizienten von 4,64.

In der Literatur waren keine Präzisionsmessungen bzw. Angaben zu Variationskoeffizienten mittels eines Sensor-Arrays zu finden. In zwei Studien wurde eine reproduzierbare Sensorantwort bei der Untersuchung von Xylol bzw. Ethanol beschrieben (Kumar et al., 2012, Kang et al., 2010). Genauere Angaben zur Reproduzierbarkeit der Sensorsignale wurden hier jedoch nicht angegeben.

Zusammenfassend betrachtet ließ sich feststellen, dass trotz teilweise stark schwankender Einzelsensoren, die Einzelsignale zu einem Gesamtsignal für eine Auswertung summiert werden konnten. Dieses Vorgehen erleichterte die Datenauswertung, da nach jeder Messung die Einzelsignale bequem aufsummiert werden konnten. Eine aufwändigere Möglichkeit zur Verbesserung der Präzision, wäre die Beschränkung der Datensätze auf Sensoren mit einem Variationskoeffizienten von kleiner 10. Dies würde jedoch bedeuten bei jeder Messung erst die VK der einzelnen Sensoren zu bestimmen. In dieser Arbeit wurde aus zeiteffizienten Gründen deshalb erfolgreich versucht ohne Vorselektion eine gute Präzision zu erzielen. Es bleibt offen, ob bei komplexeren Gemischen eine Vorselektion der Einzelsensoren nötig wäre. Dies könnte Gegenstand weiterer Messungen sein.

### **A.4.3.4. Nachweisgrenze Cyranose**

Wie erwartet wies der Polymersensor Cyranose 320<sup>®</sup> für alle fünf Analyten eine Detektionsgrenze im unteren ppm-Bereich auf (siehe A.3.3.7.) Aus diesem Grund wurde die Untersuchung zur Nachweisgrenze nicht in einem Parallelversuch mit der Gaschromatographie und der Ionenmobilitäts-Spektrometrie durchgeführt. Die beiden letzteren Methoden zeigten einen Untersuchungsbereich im ppb-Level. Aus diesem Grund würden Expositionen im ppm- Bereich hier zur Überladung der Säulen führen.

In der Literatur wurden für die Cyanose keine Messungen zur Ermittlung von Nachweisgrenze angegeben. Kang et al. (2009) gaben auf Basis einer Extrapolation eine Detektionsgrenze für VOCs im Bereich von 80 ppb bis 240 ppm an. Wie bereits beim Punkt Kalibrierung geschildert, erreichten Kim et al. (2011) bei Senkung der Probenreservoir-Temperatur auch noch mit 7 ppm einen proportionalen Zusammenhang mit höheren Konzentrationen. Auf Basis dieses Ergebnisses wurde angenommen, dass die Detektionsgrenze für Aceton kleiner als 7 ppm war.

Si et al. (2007) untersuchten unter anderem die Analyten Xylol, Ethanol und Aceton mittels eines Quarzsensors. Die Detektionsgrenze wurde dabei auf den unteren ppm-Bereich von 3,9-77,6 ppm geschätzt. Diese Werte stimmten gut mit den in dieser Arbeit ermittelten Detektionsgrenzen überein.

Zusammenfassend betrachtet, wiesen auch die in der Literatur angegebenen Nachweisgrenzen ähnliche Werte auf. Lediglich Kang et al. gibt eine Detektionsgrenze bis in den ppb-Bereich an. Diese Werte wurden jedoch nicht gemessen, sondern durch eine Extrapolation bestimmt.

**A.4.4 Fazit**

Der Methodenvergleich zeigte, dass mit allen drei elektronischen Nasen die Identifizierung und quantitative Analyse ausgewählter organischer flüchtiger Einzelkomponenten (VOCs) und Gemische mit sehr guten Ergebnissen möglich war. Der Vergleich führte allerdings auch die Unterschiede der drei Methoden vor Augen. Vor allem variierte der apparative und finanzielle Aufwand.

Die Massenspektrometrie in Kombination mit einem Gaschromatograph (GC-MS) ermöglichte anhand von Teilmassen die zweifelsfreie Identifikation von Einzelsubstanzen. Die GC-MS-Methode ist jedoch bekanntlich ein zeitaufwendiges und teures Verfahren. Hinzu kommt, dass zur Verbesserung der Empfindlichkeit Anreicherungstechniken wie eine SPME-Faser nötig sind. Diese hat eine begrenzte Lebensdauer und erhöht aufgrund des nötigen Wechsels die Kosten nach etwa 100 Analysen. Für die Atemgasanalyse hat die GC-MS ebenfalls den Nachteil gegenüber anderen Verfahren, dass sie schwerlich vor Ort am Patienten eingesetzt werden kann. Des Weiteren benötigt man für jede Analyse eine separate Faser, die nach jeder Analyse ausgeheizt werden muss. Theoretisch wäre zwar eine Vor-Ort-Messung am Patienten mittels SPME-Faser möglich, mit einem anschließenden Transport zum Gaschromatographen, dies wirft jedoch das Problem der Lagerung der Fasern bis zur Analyse auf. Speziell die Stabilität der Analyten an den Fasern, sowie die Einflüsse von Temperatur und Feuchtigkeit, müssten hierfür untersucht werden. Da die SPME-GC-MS die Identifizierung von Substanzen in der Atemluft nach Abgleich mit einer Datenbank ermöglicht, würde es sich ferner empfehlen, mit eigenen Messungen eine Substanz-Bibliothek speziell für die Ausatemluft sowie ein spezifisches Gerät und einen spezifischen Fasertyp zu erstellen, zumal die Retentionszeit der Stoffe stark apparateabhängig ist. Die Messungen dieser Arbeit ergaben für GC-MS/SPME einen guten Detektionsbereich, sowie eine Detektionsgrenze, im ppb-Bereich.

Einfacher in der Handhabung, sowie kostengünstiger, waren das Ionenmobilitäts-Spektrometer (Sionex) sowie der Polymersensor (Cyrano<sup>®</sup> 320). Beide Geräte sind portabel und ermöglichten eine direkte Messung vor Ort. Das Ionenmobilitäts-Spektrometer zeichnete sich vor allem durch eine sehr hohe Empfindlichkeit im ppb-ppt-Bereich aus. Dies führte in dieser Arbeit zu dem Problem, dass einzelne Stoffe im untersuchten Konzentrationsbereich nur schwer von der Säule zu entfernen waren. Hierfür waren viele Spülzyklen notwendig. Die Messungen zeigten, dass die Identifizierung von Einzelstoffen in einem Gemisch im Prinzip möglich war. Es stehen teilweise datenbankgestützte zweidimensionale Mustererkennungs-Verfahren bereit, um auch in einem komplexen Gemisch Analyten zu identifizieren, doch ist die Identifikation zweifelsohne schwieriger als in einem Verfahren, das auf Massen zurückgreifen kann.

Der Polymersensor Cyrano<sup>®</sup> 320 wies eine Detektionsgrenze im ppm-Bereich auf. Die einzelnen Analyten ergaben spezifische „smellprints“ im Sinne eines eindimensionalen Musters der Signale der 32 Sensoren. Aufgrund der Tatsache, daß die Sensoren nicht spezifisch sind, ergab das Verfahren bei der Analyse eines Gemisches jedoch eine Überlagerung dieser Muster, welche die Identifizierung von Substanzen schwierig gestaltet. Der entsprechende Teil dieser Arbeit konzentrierte sich auf die

Reproduzierbarkeit der Sensorsignale und die unterschiedlichen Profile der Einzelstoffe und Gemische. Im Folgenden sind die unterschiedlichen Spektren sowie ein Vergleich der drei Methoden dargestellt (Abbildung 32).

Für eine Anwendung zwecks Diagnostik und Monitoring anhand der Ausatemluft war in erster Linie die mögliche Messung vor Ort am Patienten sowie Handhabung und Auswertung zu beachten, sodann die unterschiedlichen Empfindlichkeitsbereiche der drei Methoden.

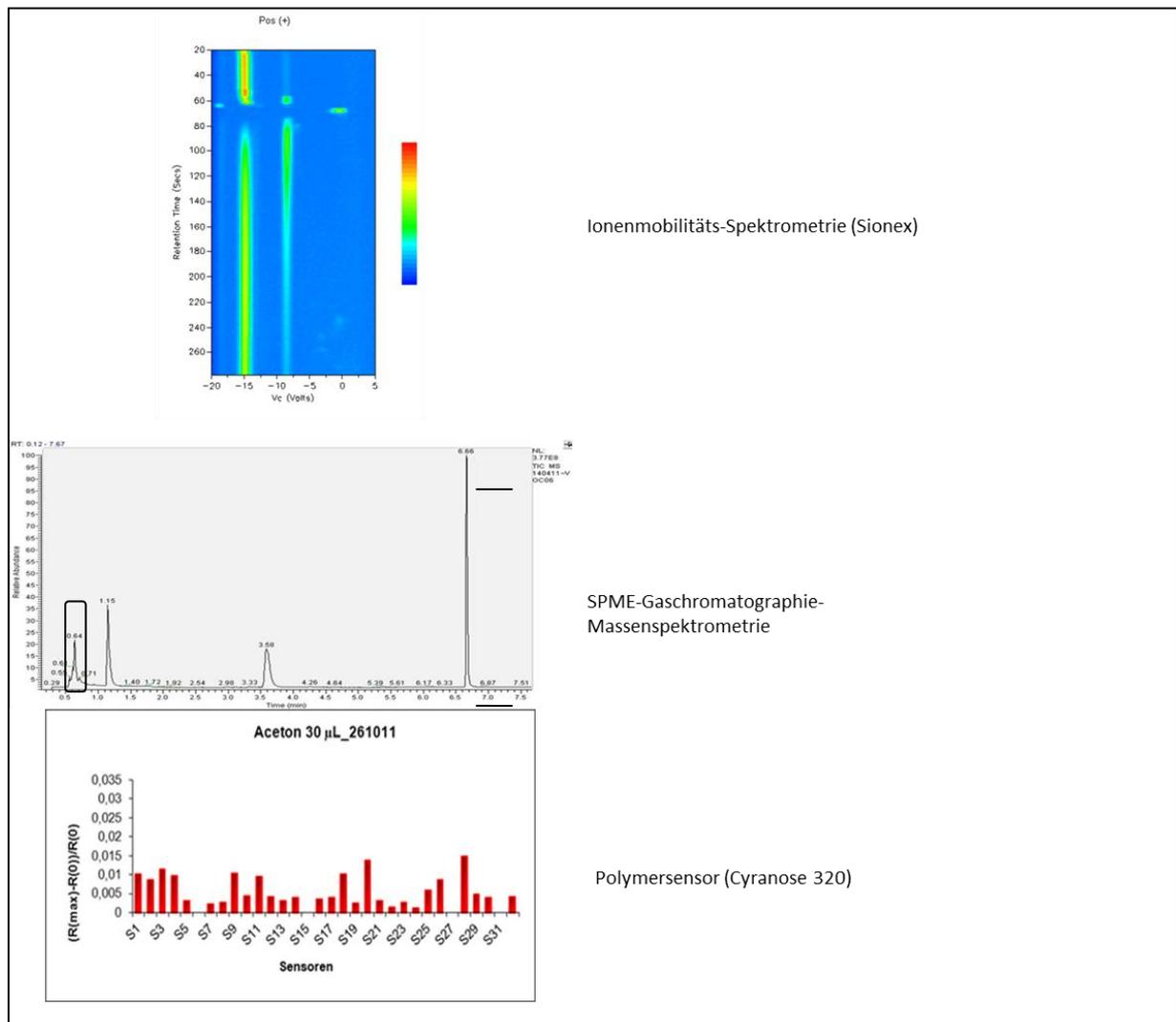


Abbildung 32: Spektren der drei Verfahren für Aceton im Vergleich

	Kosten	Messung Vor-Ort	Detektionsbereich
Ionenmobilitäts-Spektrometer (Sionex)	mittel	ja	ppb-ppt
SPME-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (SPME-GC-MS)	hoch	begrenzt (portabel nur, falls SPME-Faser verwendet wird)	ppb
Polymersensor (Cyrano 320 <sup>®</sup> )	niedrig	ja	ppm

**Tabelle 23: Die drei Verfahren im Vergleich von Kosten, Möglichkeit der Messung vor Ort und Detektionsbereich**

Die Wahl fiel auf den Polymersensor Cyrano 320<sup>®</sup>, der sich aufgrund der Portabilität und einfachen Handhabung sehr gut eignete (Tabelle 23). Die Detektion beschränkt sich zwar auf den ppm-Bereich, jedoch kann es als wahrscheinlich gelten, daß sich die Konzentration vieler systemischer flüchtiger Verbindungen in der Ausatemluft im ppm-Bereich bewegt. Ob sich allerdings die Cyrano 320<sup>®</sup> für die Diagnose einer systemischen Erkrankung, sowie eines Monitorings eignet, kann nur empirisch bestimmt werden und wurde daher in den zwei folgenden Studien eruiert.

## Teil B.5. Untersuchung der Atemluft nach dem Rauchen von E-Zigaretten und Shiazio

### *B.5.1. Einleitung und Hintergrund*

Elektronische Zigaretten erfreuen sich wachsender Beliebtheit, vor allem als Alternative zur konventionellen Zigarette oder zur Unterstützung der Tabakentwöhnung (Etter and Bullen, 2011, Goniewicz and Zielinska-Danch, 2012, Polosa et al., 2011, Siegel et al., 2011). Anders als bei herkömmlichen Zigaretten werden hier nicht Verbrennungsprodukte und Rauch eingeatmet, sondern verdampfte Flüssigkeiten, sogenannte „Liquids“ inhaliert.

Eine E-Zigarette besteht aus einem Akku, einem Verdampfer und einer Heizspirale sowie einer austauschbaren Kartusche für das Liquid. Per Tastendruck oder Auslösung über den Atemzug werden die Liquids verdampft und so ein Aerosol aus feinen Tröpfchen generiert. Die im Handel erhältlichen Liquids, wahlweise mit oder ohne Nikotin, enthalten Aromastoffe (Nahrungsmittelzusatzstoffe) mit verschiedenen Geschmacksrichtungen wie Apfel, Cubana oder Vanille. Als Trägerstoff dient Propandiol (Propylenglykol, E1520), sowie geringe Mengen an Glycerin und Wasser. Im Gegensatz zu herkömmlichen Zigaretten, die den Tabak permanent verbrennen, ist das elektronische Pendant nur bei Bedarf aktiv.

Das Prinzip einer elektrischen Wasserpfeife wie der Shiazio ist ebenfalls die Verdampfung eines Liquids. Anders als bei einer E-Zigarette bedient man sich hier mit dem Liquid getränkter, poröser Steine. Die Flüssigkeit wird durch Beheizung der Steine mit Hilfe eines elektrischen Heizkörpers in die Gasphase gebracht. Auch in dieser Anwendung entstehen keine Verbrennungsprodukte, sondern ausschließlich inhalierbare (aus der Dampfphase rekondensierte) Aerosole.

Anders als herkömmliche Zigaretten produzieren E-Zigaretten geringere Emissionen an VOCs wie Aldehyden, Acrolein, sowie feinen Partikeln (McAuley et al., 2012, Pellegrino et al., 2012, Schripp et al., 2013). Vor allem sind keine tabakspezifischen Nitrosamine nachweisbar.

Der Gebrauch einer E-Zigarette zeigt physiologische Effekte wie das Ansteigen der respiratorischen Widerstände, sowie den Abfall der Menge an exhalieren NO (Messung mittels Impulsoszillometrie nach fünfminütiger Inhalation) (Vardavas et al., 2012). Dies wurde als abträglicher Effekt interpretiert. Eine andere Studie fand hingegen keine Effekte nach aktiver oder passiver Inhalation mittels E-Zigarette im Sinne unveränderter Zahlen an Blutleukozyten (Flouris et al., 2012). Gemäß der Einschätzung des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) ist nicht auszuschließen, dass die Inhalation der Liquids die Gesundheit aufgrund von Nikotin, Propylenglycol, Glycerin, Zusatzstoffen oder Verunreinigungen schädigt. Gesundheitliche Bedenken sind nicht nur auf nikotinhaltige Liquids beschränkt. Der Trägerstoff Propylenglycol (der auch für „Theaternebel“ verwendet wird) gilt zwar bei einer kurzfristigen Exposition als unbedenklich, die Folgen einer langfristigen Aufnahme sind jedoch unbekannt.

## B.5.2. Fragestellung

Die Ausatemluft kann nach Inhalation mittels E-Zigarette Veränderungen aufweisen, die im Prinzip auf zwei Quellen zurückzuführen sind: erstens das Abatmen von Substanzen (Vereb et al., 2011) und zweitens eine Veränderung durch eine Reaktion des Körpers. Die vorliegende Studie untersuchte die Ausatemluft nach intensiver Exposition von Liquids mittels einer E-Zigarette im Gegensatz zur Exposition mit Shitao. Die zugrunde liegende Annahme war, dass eine inhalative Belastung möglicherweise in der Ausatemluft widergespiegelt wird und mittels elektronischer Nase detektiert werden kann (Vereb et al).

Ferner stellte sich die Frage, ob eine intensive Inhalation von Liquids messbare physiologische bzw. biochemische Reaktionen hervorruft oder ob allein die eingeatmeten Komponenten in der Ausatemluft auftreten. Daran knüpfte die Fragestellung an, ob die ausgeatmeten Substanzen ein Muster ergeben, welches mit Einzelstoffen der Liquids identifiziert werden kann.

## B.5.3. Material und Methodik

### B.5.3.1. Cyranose 320®

Alle Messungen erfolgten mit dem Polymersensor Cyranose 320®. Die elektronische Nase, sowie das Messprogramm, wurden bereits ausführlich im Kapitel A.2.3. beschrieben. Die Analysen wurden mit der kurzen Probenadel durchgeführt.

### B.5.3.2. Versuchsaufbau

Die Messungen wurden mit einem sogenannten Bag-in-Box-System (Abbildung 33) durchgeführt, um die Ausatmung kontrollieren zu können. Gleichzeitig ließ sich so verhindern, die Messgeräte in den Ausatemstrom einzubringen, die durch Absorption zu einer Veränderung der Zusammensetzung führen könnten.

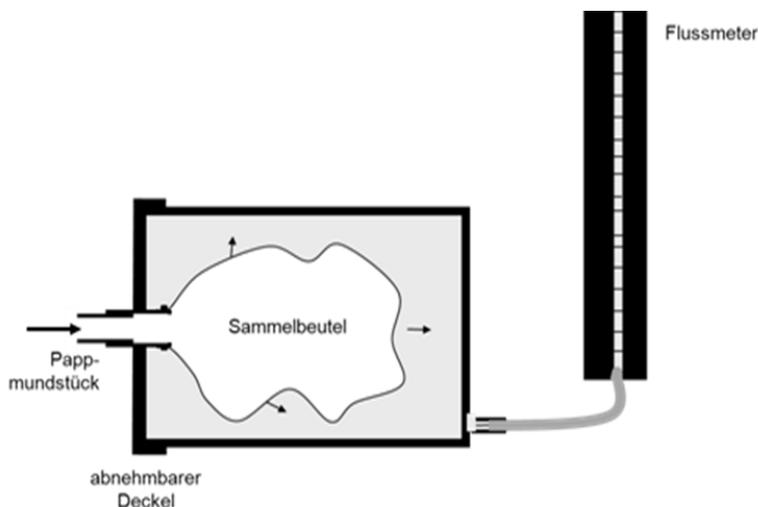


Abbildung 33: Graphik des verwendeten Messaufbaus mittels Bag-in-Box-System (vgl. Dissertation Thome)

Das Bag-in-Box System bestand aus einer 4-Liter-Hartplastikbox (Lockn'lock). Im Deckel wurde ein rundes Hartplastikrohr angebracht. Von außen konnten Einmal-Pappmundstücke für die Probanden aufgesteckt werden. Der Probennahmebeutel im Inneren der Box wurde mittels eines Gummibandes luftdicht auf der Innenseite des Hartplastikrohrs befestigt. Als Sammelbeutel erwies sich ein handelsüblicher Beutel aus Polyethylen (Rossmann Rubin, 10 Liter) als gut geeignet. Eine mögliche Absorption oder Diffusion von Verbindungen durch die Beutelwand wurde im hier relevanten ppm-Bereich und bei Messung unmittelbarer Messung nach der Probenentnahme als unerheblich angesehen.

Der Proband atmete - nach maximaler Inspiration von Raumluft - durch das Mundstück im Deckel in den Plastikbeutel aus (Abbildung 34). Der sich ausdehnende Plastikbeutel verdrängte die Luft in der Box, die sich um den Beutel herum befand. Im Boden der Hartplastikbox war eine luftdichte Schottverschraubung angebracht, an die ein befestigter Gummischlauch zu einem Flussmeter (Rotameter) führte. Die aus der Box entweichende Luft gelangte auf diese Weise über den Schlauch zum Flussmeter. Das verdrängte Volumen konnte vom Probanden während der Messung an einer Skala (L/min) abgelesen werden und diente zur ständigen Kontrolle der während Ausatmung konstant zu haltenden Flussgeschwindigkeit.

Im Vorfeld waren verschiedene Ausatemlängen und Flussgeschwindigkeiten getestet worden. Es zeigte sich, dass eine Ausatemgeschwindigkeit von 10 L/min leicht zu bewältigen war, sowie ein ausreichendes Volumen erbrachte. Unmittelbar nach jeder Messung wurde der Beutel aus der Box entfernt, über die Probennahmeprobe der Cyranose 320<sup>®</sup> gestülpt und mit der Hand abgedichtet. Die Ausatemluft diente als Probe, die vorher gemessene eingeatmete Raumluft als Referenz.

Vor und nach jeder Sequenz von Messungen wurden täglich Raumtemperatur und Luftfeuchte mittels eines amtlich geeichten Testo-445-Messsystems dokumentiert.

### **B.5.3.3. Messablauf**

Die Atemgasanalyse erfolgte in folgenden Schritten:

1. Maximale Inspiration von Raumluft
2. 10 Sekunden Ausatmung durch das Pappmundstück in den Sammelbeutel bei einer konstanten Expirationsrate von 10 L/min. Die Expirationsrate konnte vom Probanden am Flussmeter direkt abgelesen werden. Die Versuchsleiterin teilte das Ende der Ausatmungszeit von 10 Sekunden mit.
3. Abnahme des Pappmundstücks. Verschluss des Hartplastikmundstücks mit einem Glasstopfen. Abnahme des Deckels und Ablösung des Sammelbeutels.
4. Zügiges Einstülpen der kurzen Probenadel in den Sammelbeutel. Beginn der Cyranose-Messung: 60 Sekunden Spülung mit umgebender Raumluft (Referenz). Anschließend 60 Sekunden Probenanalyse. Der Messablauf erfolgte bei jedem Patienten bzw. Probanden mindestens

zweimal. Zur Analyse wurden Mittelwerte akzeptabler Messungen verwendet. Ob eine Messung akzeptabel war, wurde danach entschieden, ob ausreichend hohe Plateaus stabil erreicht worden waren; in einzelnen Fällen war dies nicht der Fall, was zu einer wiederholten Messung führte.

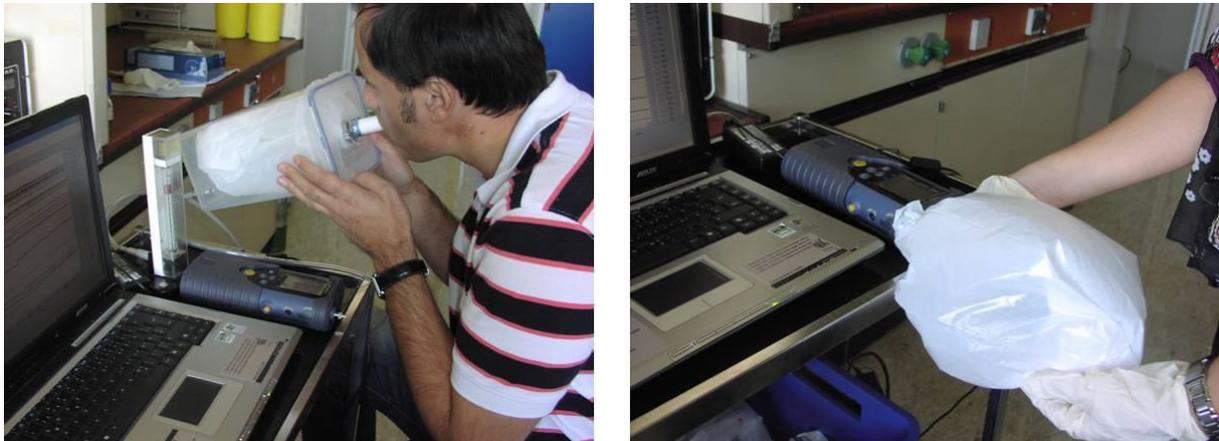


Abbildung 34: Sammlung und Analyse der Atemproben. Auf dem linken Bild sind das Bag-in-Box-System sowie der Flussmesser zu sehen. Rechts ist das Ansaugen der Probenluft aus dem Beutel gezeigt.

#### **B.5.3.4. Probandenkollektiv**

Die Rekrutierung erfolgte über Aushänge im Klinikum und Institut für Arbeitsmedizin. An der Studie nahmen insgesamt 11 Probanden teil. Alle Teilnehmer waren Gelegenheitsraucher, männlich und laut Selbstauskunft gesund. Das Alter der Teilnehmer lag zwischen 20 und 30 Jahre, Komorbiditäten wurden nicht explizit abgefragt. Alle Probanden wurden vor der Messung über den Ablauf der Messung unterrichtet.

#### **B.5.3.5. Protokoll der Untersuchung**

Die Studie erfolgte in der Zusammenarbeit mit dem Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL). Die Durchführung der Messungen wurde durch die zuständige Ethikkommission genehmigt. Alle Teilnehmer erklärten ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. Die Messungen wurden zwischen dem 24. Juli und 3. August 2012 am LGL, Standort Pfarrstraße München, durchgeführt.

Die letzte Mahlzeit aller Teilnehmer vor Exposition lag etwa zwei Stunden zurück. Zwecks Exposition befanden sich die Probanden in einem separaten Raum. Es folgte das Rauchen mittels E-Zigarette oder Shiasco für mindestens zwei Stunden. Dazu wurden die Teilnehmer vorher in drei Expositionsgruppen eingeteilt, zu denen zum Teil dieselben Probanden gehörten.

Gruppe I: Nikotinfreies Liquid mit E-Zigarette: 9 Probanden (Liquid: Maxx Blend, Americano, Cubana)

Gruppe II: Nikotinhaltiges Liquid mit E-Zigarette: 9 Probanden (Liquid: Maxx Blend, Americano, Cubana)

Gruppe III: Nikotinfreies Liquid mit Shiasco: 9 Probanden (Liquid: Blueberry, Peach, Green apple)

Es wurden jeweils 6 verschiedene Liquids mit und ohne Nikotin geraucht. Jeweils drei Probanden aus jeder Gruppe erhielten ein gleiches Liquid und rauchten nikotinfrei, sowie nikotinhaltig mit dem gleichen Liquid. Die Atemgasanalyse in Doppelbestimmung erfolgte sowohl vor, als auch unmittelbar nach Exposition in einem separaten Raum.

### **B.5.3.6. Identifizierung von Einzelstoffen in einem E-Zigaretten/ Shiazoo Liquid**

In diesem Teil der Arbeit wurde überprüft, ob Einzelstoffe nach intensiver Exposition eines Liquids mittels einer E-Zigarette oder Shiazoo aus dem Muster der Ausatemluft identifizierbar waren. Im Gegensatz zu Teil A der Arbeit, in der smellprints von endogen produzierten Stoffen untersucht wurden (z.B. von Aceton und Heptan), wurden hier exogen zugeführte Substanzen untersucht. Hierzu wurden die Trägersubstanzen Propylenglykol und Nikotin ausgewählt und die entsprechenden smellprints gemessen.

Vor der ersten Messung sowie zwischen den Messungen erfolgten hierfür mehrere Spülzyklen der Cyranose 320<sup>®</sup>. In einem 1 L-Erlenmeyerkolben mit Schliff wurden 20 µL Substanz pipettiert. Dies entsprach 6099 ppm Propandiol und 424 ppm Nikotin-Hemisulfat. Der Kolben wurde mit Parafilm verschlossen und auf einen Magnetrührer gestellt. Es folgte die Beheizung auf 100°C. Nachdem der Analyt vollständig in die Gasphase überführt worden war, wurde die lange Probenahmenadel der Cyranose durch den Parafilm gestochen und die Messung gestartet. Für jede Substanz wurde noch eine weitere Messung nach Zusatz von 20 µL Wasser durchgeführt. Die Analysen erfolgten in Doppelbestimmung, die Auswertung mit dem normierten Mittelwert beider Messungen. Zwischen den Analysen wurde der Kolben mit Druckluft gespült und anschließend der Blankwert bestimmt um eine Anreicherung der Analyten im Kolben auszuschließen.

Aus den erhaltenen Werten der Einzelmessung wurden smellprints erstellt und mit Mustern der Ausatemluft nach Exposition verglichen.

### **B.5.3.6. Datenverarbeitung**

Nach jedem Messzyklus wurden die Werte für die relativen Änderungen ausgelesen und in eine Exceltabelle (Excel 2010) eingetragen. Es folgte die Normierung auf die Gesamtsumme 1. Für weitere statistische Auswertungen wurden die Mittelwerte aller akzeptablen Messungen verwendet.

### **B.5.3.7. Statistische Auswertung**

Es erfolgten statistische Vergleiche vor vs. nach Rauchen in den drei Gruppen, ferner Vergleiche nikotinfrei vs. nikotinhaltig. Hierfür wurde der Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test verwendet, da die Daten zum Teil nicht normalverteilt waren und der Stichprobenumfang mit jeweils n=9 gering war. Ein Vergleich galt als statistisch signifikant, wenn der p-Wert < 0,05 betrug. Eine Korrektur für multiple Testung erfolgte in dieser explorativen Studie nicht.

Der Vergleich der Sensorsignale der Ausatemluft mit denen der Einzelkomponente Propandiol, erfolgte mittels einer konventionellen linearen Regressionsanalyse. Die so errechnete Steigung wurde

verwendet, um die Konzentration von Propandiol in der Ausatemluft nach Gebrauch der elektronischen Zigaretten abzuschätzen.

## ***B.5.4. Ergebnisse***

Die Raumfeuchtigkeit schwankte vor dem Beginn der Messungen zwischen 44,4%-55,9% und nach den Messungen zwischen 43,4%-58,8%. Die Unterschiede „vor-nach“ waren zu klein, um einen Effekt auf die Messung zu haben.

Die Atemluft wurde vor und nach Exposition gegenüber nikotinfreien bzw. nikotinhaltenen Liquid gemessen. Ebenfalls erfolgte ein Vergleich der Werte, die nach dem Rauchen der beiden Liquids gemessen worden waren. Dieser Vergleich war möglich, da die Ausgangswerte (Werte vor dem Rauchen) für beide Liquids vergleichbar waren. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 dargestellt.

Sensor #	E-Zigarette nikotinfrei vorher vs. nachher	E-Zigarette nikotinhaltig vorher vs. nachher	E-Zigarette nikotinfrei vs. nikotinhaltig im Vergleich	Shiavo nikotinfrei vorher vs. nachher
1			X	
2			X	
3			X	
4			X	
5	X	X	X	
6		X	(X)	(X)
7			X	
8			X	
9		X	X	
10				
11	X	(X)		(X)
12			X	
13			X	
14			X	
15			(X)	
16				
17			X	
18	X	X	X	X
19			X	
20	<b>X</b>	<b>X</b>		X
21			X	
22			X	
23	<b>X</b>			
24				
25			X	
26	X	X		
27	X		X	X
28	X	<b>X</b>		X
29	X			
30			X	
31	X	<b>X</b>	(X)	X
32				

**Tabelle 24: Vergleich nach Exposition von Liquids mit Angabe der signifikanten Sensoren:**  
 X = signifikant ( $p < 0,05$ ), **X** = hochsignifikant ( $p < 0,01$ ), (X) = Tendenz zur Signifikanz ( $p < 0,10$ )

### **B.5.4.1. Innerhalb Gruppe I: Vorher vs. nachher mit E-Zigarette ohne nikotinhaltiges Liquid**

9 Probanden rauchten nikotinfreies Liquid. Es wurde analysiert, ob sich die Atemluft nach dem Rauchen dieses nikotinfreien Liquids veränderte. Die Analyse ergab 10 signifikante Sensoren (# 5, 11, 18, **20**, **23**, 26, 27, 28, 29, 31; siehe Tabelle 24). Abbildung 35 illustriert die jeweiligen „smellprints“ vor und nach dem Rauchen der nikotinfreien Liquids. Bei Betrachtung der erhaltenen Diagramme fällt auf den ersten Blick kein signifikanter Unterschied auf.

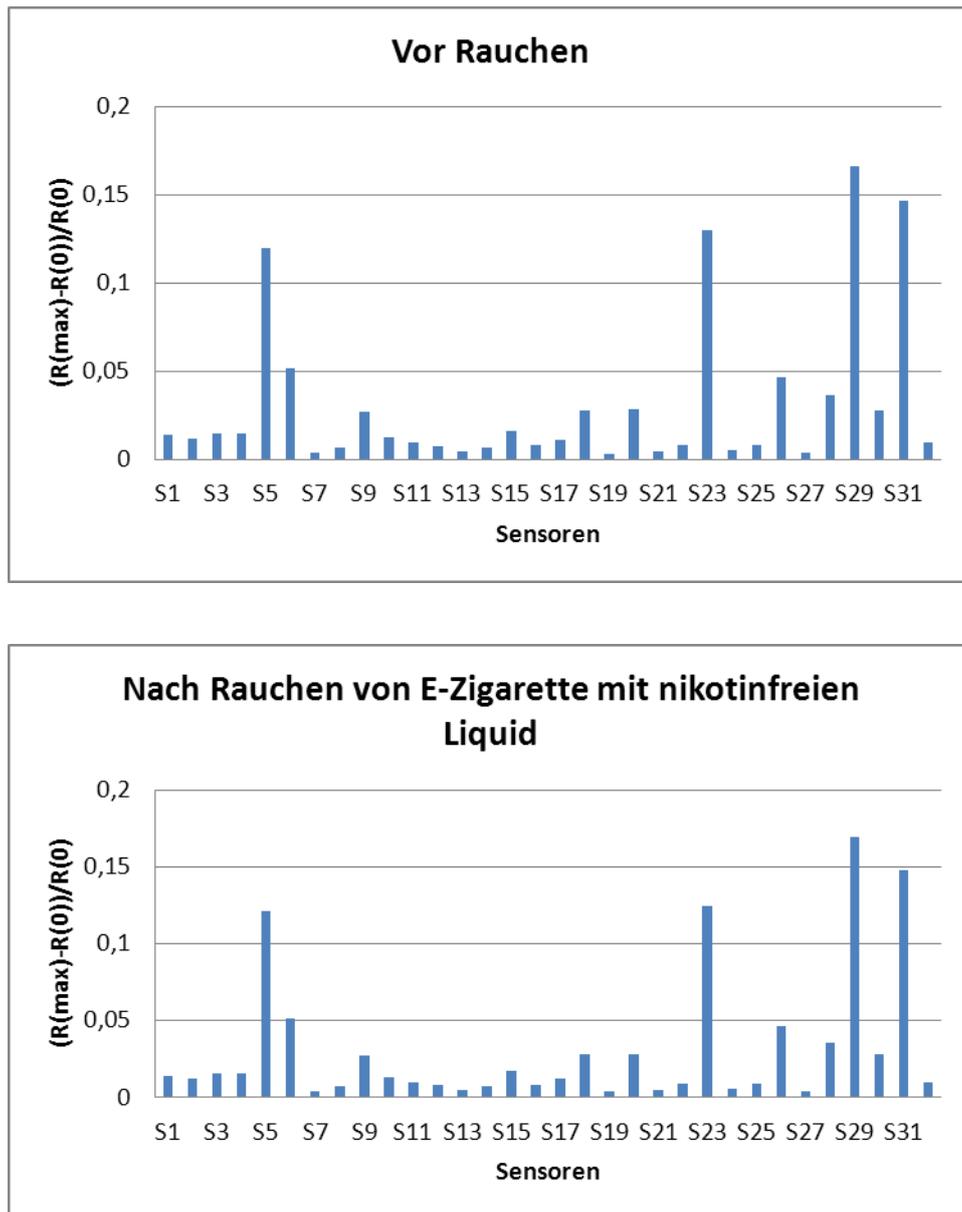


Abbildung 35: Darstellung der smellprints vor und nach Exposition eines nikotinfreien Liquids

**B.5.4.2. Innerhalb Gruppe 2: Vorher vs. nachher mit E-Zigarette mit nikotinhaltenen Liquid**

Bei den 9 Probanden, die nikotinhaltenes Liquid rauchten wurde ebenfalls die Atemluft auf Veränderungen untersucht. Die Analyse ergab 8 signifikante Sensoren und 1 Sensor mit Tendenz zur Signifikanz innerhalb der 32 Sensoren (# 5, 6, 9, (11), 18, **20**, 26, **28**, **31**). Abbildung 36 illustriert die beiden, sich visuell kaum unterscheidenden smellprints.

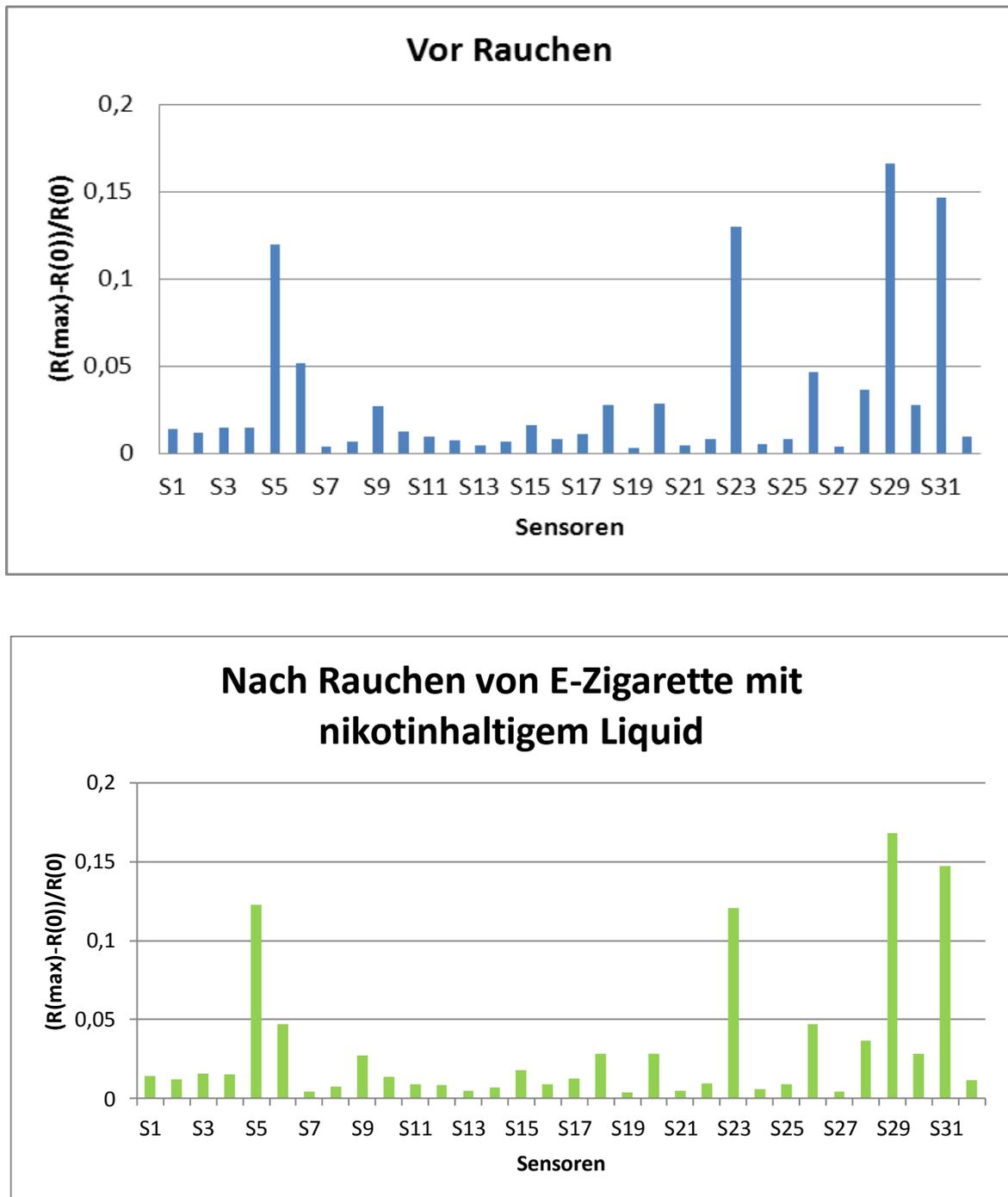


Abbildung 36: Darstellung der smellprints vor und nach Exposition eines nikotinhaltigen Liquids

**B.5.4.3. Gruppe I und II: Vergleich der Signale nach dem Rauchen nikotinfreier vs. nikotinhaltiger Liquids:**

Dieser Vergleich war möglich, da die Ausgangswerte (also die Werte vor dem Rauchen) unter beiden Bedingungen vergleichbar waren. Folglich wurde analysiert, ob die Atemluft nach dem Rauchen eines

nikotinfreien, im Vergleich zu einem nikotinhaltigen Liquid verändert war. Die Analyse ergab 18 signifikante Sensoren und 4 Sensoren mit Tendenz zur Signifikanz (# 1, 2, 3, 4, 5, (6), 7, (8), 9, 12, 13, 14, (15), 17, 18, 19, 21, 22, 25, 27, 30, (31)).

#### ***B.5.4.3.1. Vergleich der Differenzen vor und nach dem Rauchen zwischen den Liquids***

Für einen zusätzlichen Vergleich der Wirkungen beider Liquids wurde die Differenz „nach-minus-vor“ zwischen den jeweiligen Signalen gebildet und in Beziehung zueinander gesetzt. Der Vergleich der Differenzen erfolgte mittels des t-Tests für abhängige Stichproben. Er ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede, lediglich Sensor # 23 zeigte mit  $p=0,055$  eine Tendenz. Dieses negative Ergebnis war vermutlich auf die erhöhte Streuung aufgrund der Differenzbildung zurückzuführen (Addition der Varianzen bei Differenzbildung). Es ergab sich somit, dass die beiden Liquids nur durch einen direkten Vergleich der nach Exposition gemessenen Werte sinnvoll zu vergleichen waren. Die Voraussetzung vergleichbarer Ausgangswerte war erfüllt (s.o.).

#### ***B.5.4.4. Gruppe III: Vergleich vor und nach dem Rauchen mit Shiazio mit nikotinfreiem Liquid:***

9 Probanden rauchten nikotinfreies Liquid mit Shiazio. Es wurde analysiert, ob die Atemluft sich nach dem Rauchen eines nikotinfreien Liquids mit Shiazio veränderte. Die Analyse ergab 5 signifikante Sensoren und 2 Sensoren mit Tendenz zur Signifikanz (# (6), (11), 18, 20, 27, 28, 31). Generell rief Shiazio-Rauchen im Vergleich zur E-Zigarette mit liquidfreiem Liquid geringere Effekte hervor. Wie in Tabelle 24 dargestellt, zeigte die E-Zigarette 10 signifikante Sensoren, davon 2 hochsignifikante Sensoren, im Vergleich zu Shiazio mit nur 5 signifikanten Sensoren und 2 mit einer Tendenz zur Signifikanz.

#### ***B.5.4.5. Vergleich Gruppe I und III: Der Vergleich von E-Zigarette und Shiazio nach dem Rauchen von nikotinfreiem Liquid:***

Der Vergleich der Werte nach Rauchen mit nikotinfreiem Liquid mit Shiazio und nach E-Zigarette war nicht sinnvoll, da sich die Ausgangswerte (Werte vor Rauchen) statistisch signifikant voneinander unterscheiden.

#### ***B.5.4.6. Identifizierung von Einzelstoffen in einem E-Zigaretten/Shiazio Liquid***

Die Identifizierung ergab für die beiden Analyten Propandiol (6099 ppm, 20  $\mu$ L in 2 L) und Nikotin-Hemisulfat (424 ppm, 20  $\mu$ L in 2 L) charakteristische smellprints, die anhand von Balkendiagrammen veranschaulicht werden können (Abbildung 37).

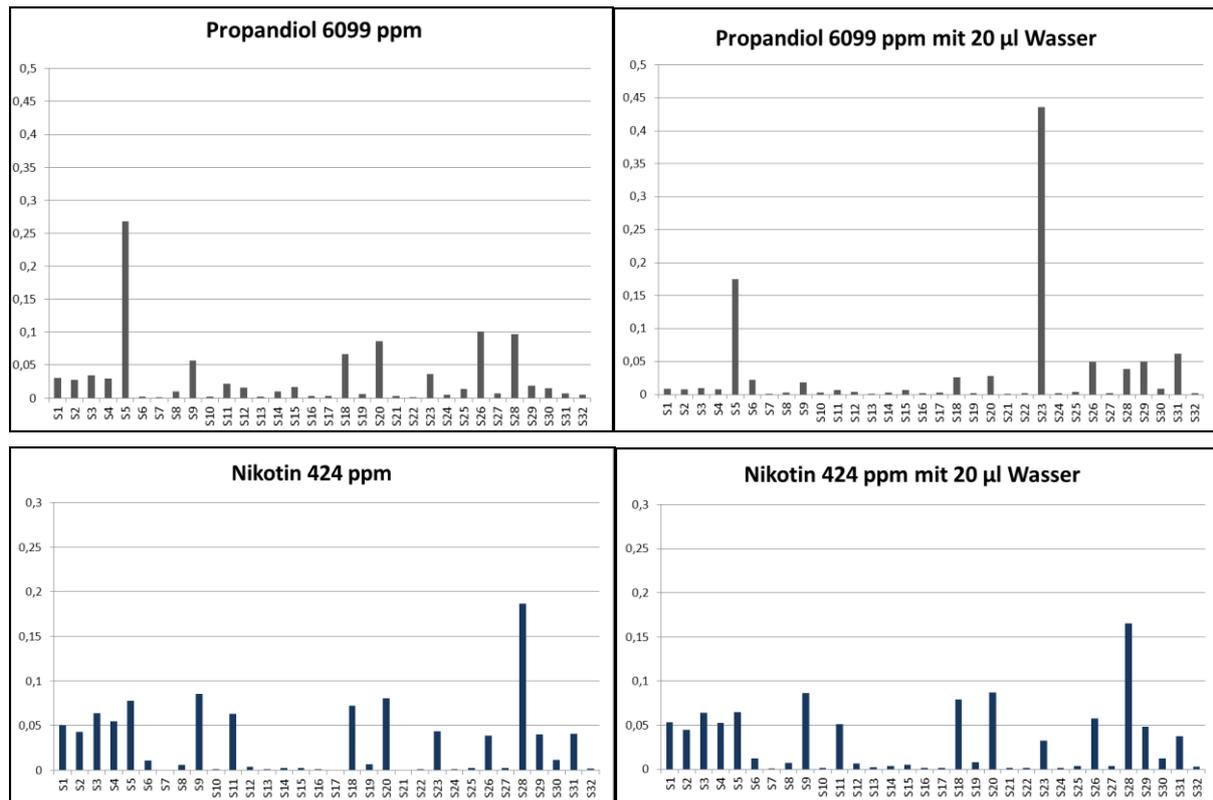


Abbildung 37: Sensorprofile der Analyse von Propandiol und Nikotin mit und ohne Wasserdampfzusatz.

Die relativen Sensorsignale  $(R(\max)-R(0))/R(0)$  der 32 Sensoren wurden gegen die Nummer des Sensors aufgetragen.

Die beiden Profile unterschieden sich deutlich. Propandiol wies eine hohe relative Änderung von Sensor 5 auf. Nach Zusatz von Wasserdampf verlor das Signal an Intensität, wohingegen die Sensorantwort am Sensor 23 stark zunahm. Die Analyse von Nikotin dagegen zeigte, dass auch nach Zugabe von Wasserdampf die erhaltenen smellprints nahezu unverändert blieben.

Abbildung 38 veranschaulicht den smellprint einer Atemgasanalyse eines Probanden nach einer inhalativen Belastung mit einem nikotinhaltigen Liquid mittels E-Zigarette (Mittelwert aus zwei Messungen).

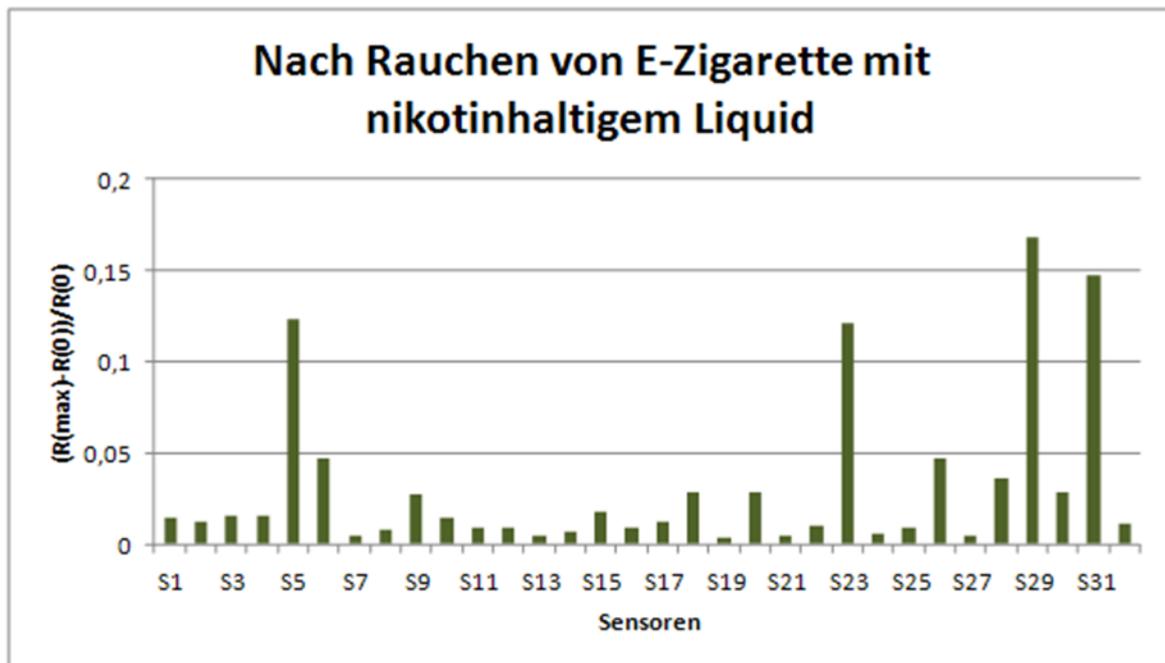


Abbildung 38: Darstellung eines smellprints nach Exposition von nikotinhaltem Liquid

Auffällig sind die hohen Antworten an den Sensoren 5 und 23, wie bereits bei Propandiol beobachtet. Allerdings waren diese Signale auch vor dem Rauchen hoch (siehe B.1.4.2). Ferner sind Anstiege an Sensor 29 und 31 sichtbar.

## **B.5.5. Diskussion**

Die Studie zur Untersuchung der Atemluft nach Rauchen mittels E-Zigarette und Shizao konnte erfolgreich abgeschlossen werden. Die statistischen Analysen ergaben beim Vergleich der Atemluft vor und nach intensiver Exposition gegenüber Liquids deutliche Unterschiede. So führte das Rauchen von nikotinfreien Liquids mit E-Zigaretten zu signifikanten Effekten gegenüber der Referenzluft in 10 Sensoren, im Vergleich zur nikotinhaltigen Variante, die mit signifikanten Änderungen in 8 Sensoren einherging. Die Präsenz von Nikotin schien somit die Empfindlichkeit der Sensoren zu verringern, soweit dies bei der kleinen Fallzahl und der Variabilität der Messungen zu folgern ist. Jedenfalls waren fast alle nach Exposition gegenüber nikotinhaltigem Liquid statistisch signifikanten Sensoren auch nach Inhalation von nikotinfreiem Liquid statistisch signifikant. Eine Ausnahme stellt Sensor 6 dar, der nur nach Exposition gegenüber nikotinhaltigem Liquid einen Unterschied aufwies. Dies könnte ein Hinweis für die besondere Empfindlichkeit des Sensors 6 für Nikotin sein. Folglich ist zu prüfen, ob man diesen Sensor zur Erkennung von Nikotin in der Ausatemluft nach Einatmung entsprechender Liquids heranziehen kann.

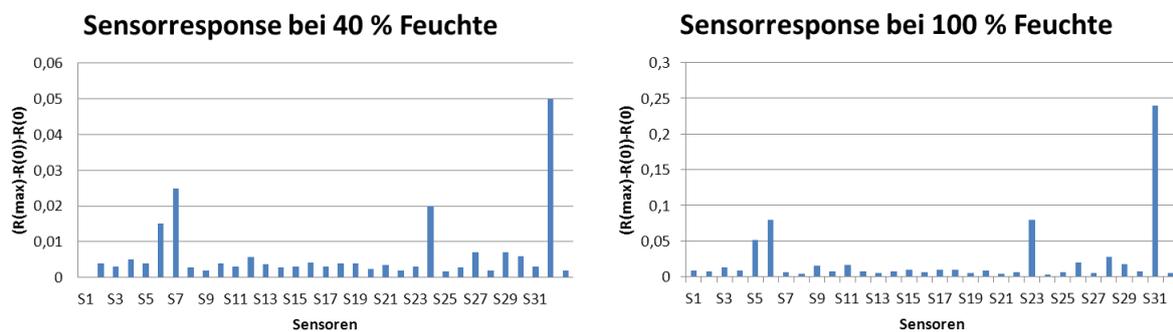
Die Betrachtung der als Balkendiagramm (Abbildung 35 und 36) dargestellten smellprints der Ausatemluft für den Vergleich „vorher vs. nachher“ Rauchen von E-Zigaretten ließ keine ins Auge fallenden Unterschiede erkennen. Die statistisch nachweisbaren Unterschiede waren zu klein um sie unmittelbar in einer Grafik zu erkennen. Dies ist am ehesten so zu erklären, dass die in der Ausatemluft normalerweise befindlichen Komponenten gegenüber möglicherweise abgeatmeten Komponenten der Liquids dominierten. Insbesondere waren Signale spezifischer Sensoren, wie sie bei der separaten Analyse der Liquidbestandteile Propandiol und Nikotin in den smellprints zu sehen waren (siehe B.5.4.6) nicht unmittelbar zu erkennen.

Der wesentliche Unterschied zu den in B.5.4.6. beschriebenen Untersuchungen war die Beschaffenheit der Proben. Die Atemluft weist eine Feuchtigkeit von fast 100% auf. Ebenso kann sie eine Vielzahl weiterer flüchtiger organischer Verbindungen enthalten. Der erhaltene smellprint stellte somit ein Gesamtbild aller in der Atemluft befindlichen, flüchtigen organischen Verbindungen dar. Die in B.5.4.6. beschriebenen smellprints hingegen bezogen sich auf Nikotin und Propandiol als Einzelstoffe. Eine Interferenz mit anderen flüchtigen Verbindungen, die die Empfindlichkeit der Sensoren bzw. das Muster verändert hätte, war auszuschließen. Allerdings waren die zur Detektion substanzspezifischer Muster eingesetzten Konzentrationen sehr hoch (6099 ppm Propandiol, 424 ppm Nikotin) und ohne Frage lagen die Konzentrationsbereiche der Analyten in der Atemluft sehr viel niedriger.

Die Analyse der Ausatemluft erfolgte mit Raumluft als Referenz im Vergleich zur Atemluft mit einer Feuchte nahe 100%. Die Sensoren reagierten deutlich auf Wasserdampf. Zugunsten der Praktikabilität wurde darauf verzichtet, die Referenzluft ebenfalls auf 100% Feuchte zu bringen. Dies geschah auch deshalb, weil es Hinweise gab, dass eine stete Exposition gegenüber sehr hohen Feuchtwerten den Sensoren schaden könnte. Die Analyse der separaten Komponenten beinhaltete ebenfalls Raumluft als Referenz. Als Probegas diente die sublimierte Gasphase, ebenfalls bei

Umgebungsfeuchte und nicht bei 100% Feuchtigkeit. Zur Abschätzung des in der Atemluft vorliegenden Konzentrationsbereichs, bzw. zur Bewertung der Signale, war es daher sinnvoll, die Empfindlichkeit der Sensoren gegenüber Wasserdampf quantitativ zu ermitteln. Dies erfolgte mit Hilfe bekannter Kennlinien gegenüber Wasserdampf in Raumluft (Thome 2013, Anhang A9). In dieser Arbeit waren systematisch die relative Feuchtigkeit verändert und die entsprechenden relativen Änderungen der Sensoren gemessen worden. Es ergab sich für jeden Sensor eine Kennlinie durch Auftragung der relativen Feuchte auf der X-Achse und der relativen Änderung auf der Y-Achse.

Zur Quantifizierung des Einflusses der Feuchte auf die vorliegenden Messungen wurden anhand der Kennlinien (Thome 2013) die relativen Änderungen der Sensoren bei 40 % Feuchte für die Analyse der Einzelkomponenten, sowie bei 100 % für die Analyse der Ausatemluft abgelesen. Abbildungen 39 illustrieren die relativen Ausschläge der Sensoren bei 40 %, sowie 100 % relativer Feuchte.



**Abbildung 39:** Zu erwartendes Profil der Sensorantworten bei Raumluft mit entweder 40 % [links] oder 100 % [rechts] relativer Feuchte.

Diese Profile wurden anhand der bei Thome angegebenen Kurven errechnet (Thome 2013). Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung; sie wurde gewählt, um für jede der beiden Bedingungen eine Vergleichbarkeit der Sensoren untereinander zu ermöglichen.

Diese Diagramme verdeutlichen, dass die Sensoren unterschiedliche absolute Empfindlichkeiten gegenüber Wasserdampf aufwiesen. Vor allem die Sensoren 5, 6, 23 und 31 zeigten eine hohe Empfindlichkeit. Die Sensoren 8 bis 22 dagegen waren unempfindlich, was die absoluten Signale anging. Die Signale nahmen bei Erhöhung der Feuchte von 40 % auf 100 % größenordnungsmäßig um den Faktor 10 zu.

Um zu einem besseren Verständnis und möglicherweise einer quantitativen Abschätzung für die Ausatemluft zu gelangen, wurden als alternativer Ansatz zur beschriebenen experimentellen Erhöhung der Feuchte, die für 40 % Feuchte errechneten Sensorprofile von den bei Raumfeuchte gemessenen Signalen subtrahiert.

Wie in B.5.4.6 dargestellt, unterschieden sich bei der gewählten hohen Konzentration die smellprints von Nikotin „mit vs. ohne“ Zugabe von Wasserdampf kaum voneinander und die meisten Sensoren wiesen ähnliche Amplituden auf. Nach der beschriebenen Subtraktion (Abbildung 40) lagen einige

Sensorsignale geringfügig im Minusbereich, was vermutlich durch die Streuung der Signale hervorgerufen wurde.

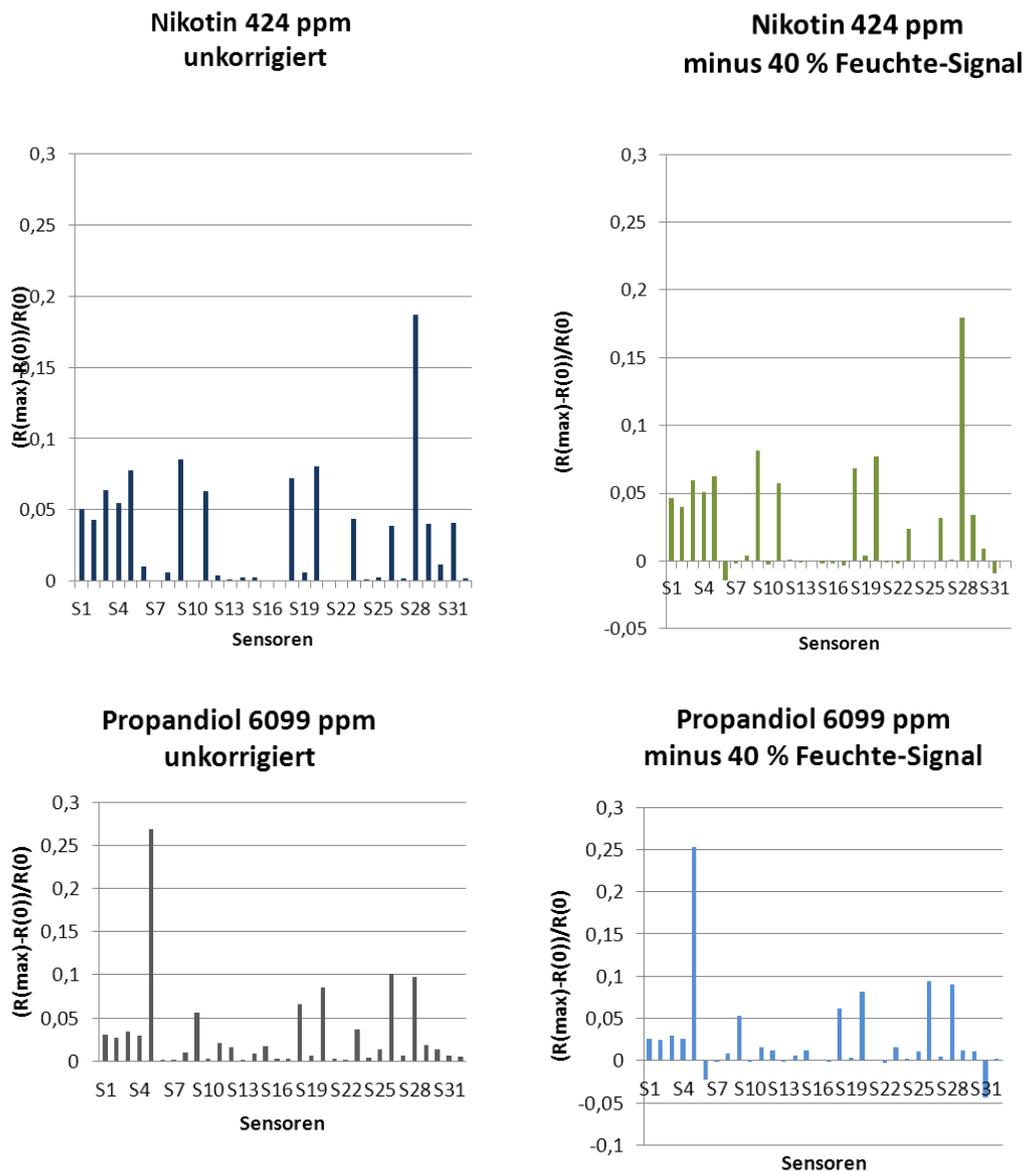
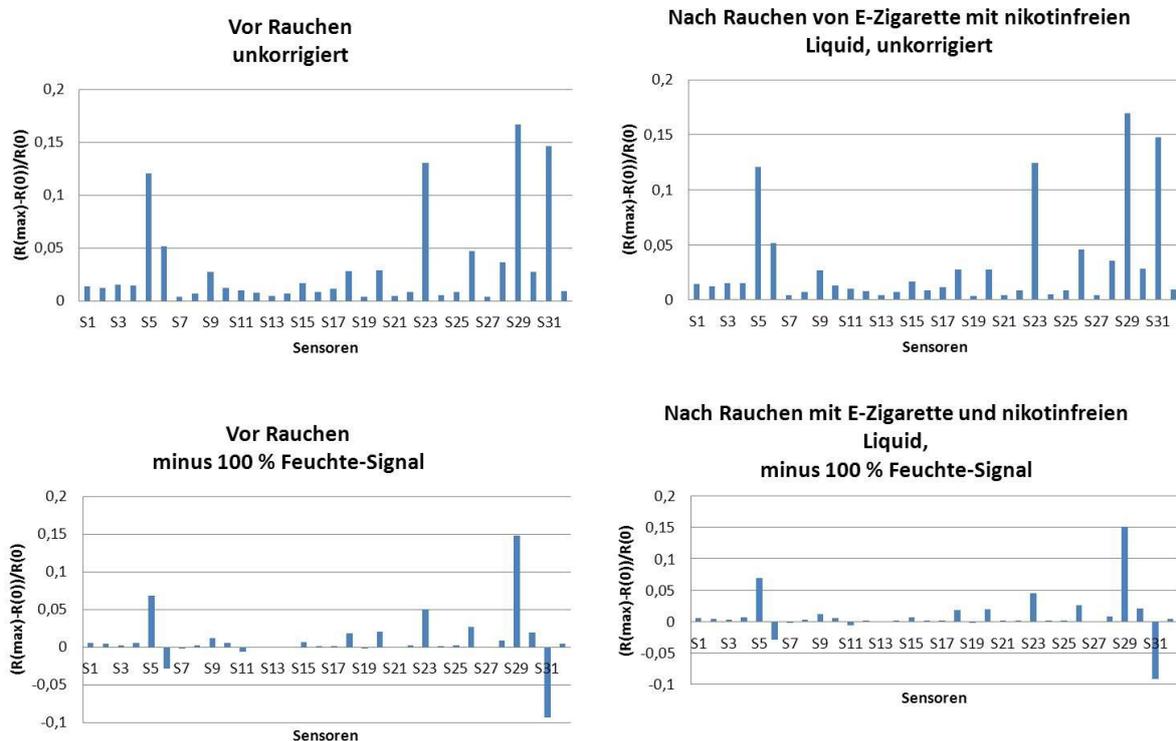


Abbildung 40: Für Propandiol ergaben sich im Vergleich zu Nikotin bei experimenteller Erhöhung der Feuchte auffallende Veränderungen (siehe B.5.4.6).

In jedem Fall ergaben die genannten Analysen eine Diskrepanz im Verhalten zwischen Propandiol und Nikotin, insofern als die Effekte von zugegebenem Wasserdampf bei Propandiol auffälliger waren, obwohl die eingesetzte Konzentration viel höher war. Dies betraf besonders die Sensoren 5 und 23, die daher bei den folgenden Analysen mit gewisser Vorsicht zu betrachten sind.

Analog zu den Signalen für Propandiol und Nikotin wurde die Ausatemluft analysiert; sie ist im Gegensatz zur Raumluft allerdings zu 100 % feucht. Daher wurden die errechneten Werte der

Sensorresponse für 100 % Feuchte von den Werten (Mittelwerte von 9 Probanden) der Atemgasanalyse subtrahiert. Die Abbildungen 41 zeigen die erhaltenen smellprints.



**Abbildung 41: Smellprints „vor-und-nach“ Rauchen jeweils unkorrigiert, sowie abzüglich des 100 % Feuchtesignals**

Anhand beider Abbildungen wird deutlich, dass nach Abzug der Sensorresponse für 100 % Feuchte die Signalstärken der Sensoren teils markant abnahmen. Einige Werte sanken in den negativen Bereich, andere Sensoren dagegen (Sensor 5, 23 und 29) wiesen nach wie vor hohe Werte auf. Die negativen Werte wären bei additiver Überlagerung der Signale einzelner Komponenten nicht zu erwarten, da die Ausatemluft zu 100 % befeuchtet ist und die Korrektur daher nicht unter Null führen kann; sie deuten auf nichtlineare Interaktionen an den Sensoren hin, und zwar gerade an solchen mit hohem Ausschlag. Auch ist zu berücksichtigen ist, dass zwei verschiedene Geräte des gleichen Bautyps verwendet wurden.

Zur näheren Charakterisierung der Messungen von Propandiol und Nikotin mit Korrektur für 40 % Feuchte wurden jeweils zwei als geeignet betrachtete Sensoren gewählt. Hierbei stand die Analyse von Propandiol im Vordergrund, da für Nikotin von Vornherein niedrigere Signale zu erwarten waren. Diese Analysen dienten zur Abschätzung des Effekts der Feuchte relativ zu den gesuchten Signalen und zur Ermittlung der Konzentration, die idealerweise noch detektierbar wäre. Derartige Informationen sind von Bedeutung, um absehen zu können, ob die beim Rauchen eingeatmeten Komponenten überhaupt in der Ausatemluft mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit detektierbar sein könnten. Die Sensoren waren daher so ausgewählt, dass sie erstens für Propandiol ein starkes Signal

ergaben, zweitens dieses Signal nicht sehr stark von der Feuchte abhing, drittens das Signal in der Ausatemluft nicht sehr schwach war und viertens dieses Signal sich bei Korrektur um 100 % Feuchte nicht stark änderte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 gelistet.

<b>6099 ppm Propandiol</b>	<b>Sensor 5 Sensorsignal</b>	<b>Sensor 18 Sensorsignal</b>
Unkorrigiert bei 40 % Feuchte	0,26	0,066
Korrigiert (Wert von 40 % Feuchte subtrahiert)	0,25	0,062
Feuchte von 40 % (siehe Thome 2013, Anhang A9)	0,015	0,004
<b>424 ppm Nikotin</b>	<b>Sensor 28 Relative Änderung</b>	<b>Sensor 29 Relative Änderung</b>
Unkorrigiert bei 40 % Feuchte	0,18	0,04
Korrigiert (Wert von 40 % Feuchte subtrahiert)	0,18	0,034
Feuchte von 40 % (siehe Thome 2013, Anhang A9)	0,007	0,006

**Tabelle 25: Übersicht der unkorrigierten und korrigierten Sensorsignale 5 und 18 für Propandiol und Sensorsignale 28 und 29 für Nikotin.**

Das Sensorsignal 5 für Propandiol betrug 0,26 bei 40 % Feuchte. Setzte man diesen Wert in Relation zu dem von Thome (2013) für eine relative Feuchte von 40 % gemessenen Wert von 0,015, so ergab sich ein Faktor von 17,3. Der Feuchtwert war also um den Faktor 17,3 kleiner anzusetzen als das Sensorsignal für 6099 ppm Propandiol als Einzelstoff. Demzufolge wäre Propandiol bei einer um den Faktor 17,3 geringeren Konzentration noch detektierbar in dem Sinne, dass Störsignal (Wasserdampf) und Nutzsignal (Propandiol) gleich groß wären. Dies entspräche einer Konzentration von 352 ppm. Ebenso ergab sich für das Sensorsignal 18 ein Faktor von 16,5. Dies entspräche einer Konzentration von 370 ppm.

Für Sensor 28 und bei Applikation von 424 ppm Nikotin und 40 % relativer Feuchte betrug das Signal 0,18. Thome (2013) erhielt bei 40 % Feuchte ein Signal von 0,007 für diesen Sensor. Dieser Wert ist um den Faktor 26 kleiner. Analog der Argumentation für Propandiol kann somit angenommen werden,

dass eine Konzentration von 16,3 ppm an Sensor 28 noch für eine qualitative Analyse herangezogen werden kann. Die Betrachtung des Sensors 29 ergab analog eine Konzentration von 63 ppm.

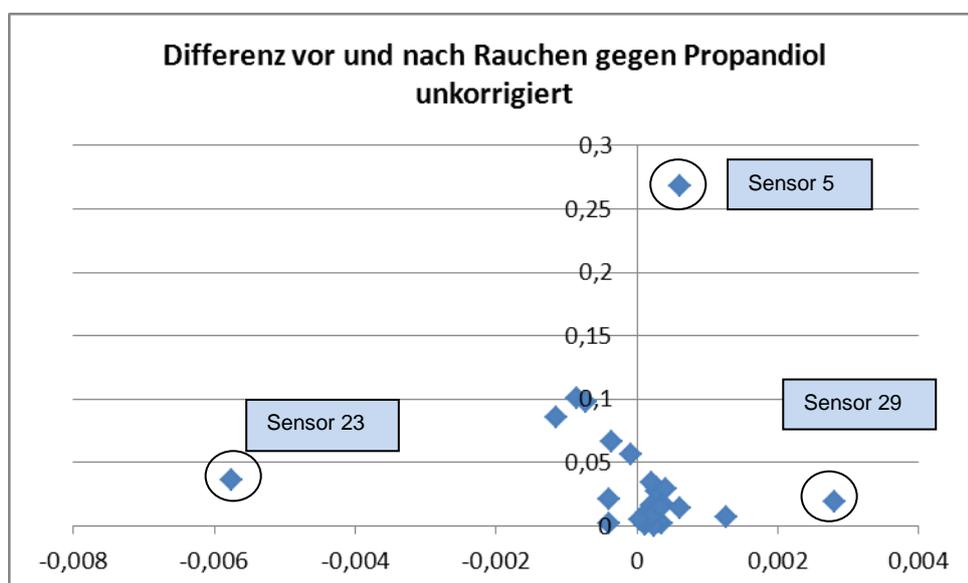
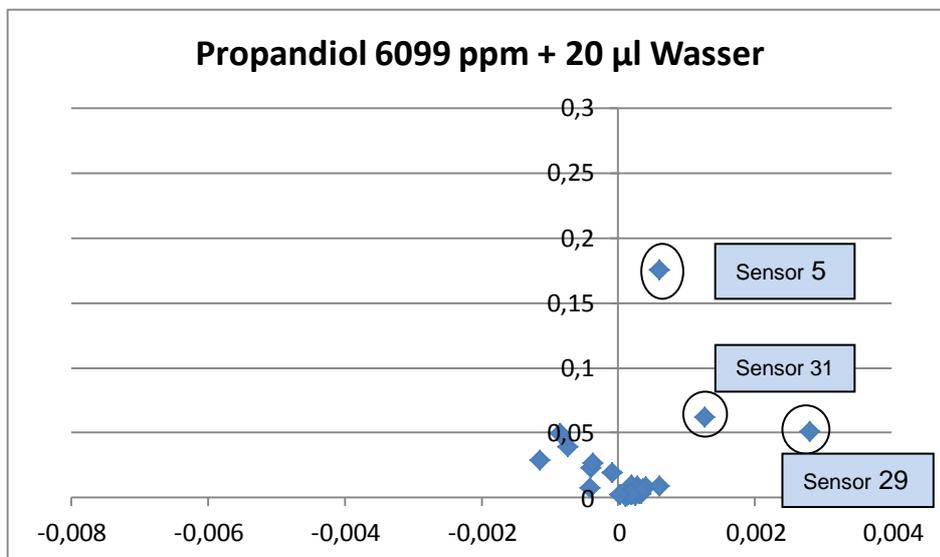
Selbst wenn man diese Abschätzungen unter optimistischen Annahmen um den Faktor 5 oder 10 nach unten verändert, legen sie nahe, dass die Konzentrationen in der Ausatemluft im Bereich von 5-10 ppm liegen müssten. Diese Konzentration wäre essentiell um von den Einflüssen der vielen anderen Komponenten getrennt werden zu können, die ebenfalls in der Ausatemluft zu erwarten sind und auf welche die Sensoren aufgrund ihrer Unspezifität ebenfalls reagieren.

Auf der Basis dieser Erkenntnisse stellte sich die Frage, ob die nach intensiver Exposition gegenüber E-Zigarette in der Ausatemluft zu ermittelnden Substanzen eine ausreichende Konzentration aufwiesen, um eine Detektion mittels Cyanose zu ermöglichen. Daher wurde als nächstes die mögliche Detektion von Einzelstoffen in der Ausatemluft näher geprüft. Hier bestand die stärkste Erwartung für Propandiol, aufgrund der hohen eingeatmeten Mengen. Ein Vergleich des smellprints für Propandiol mit dem einer Atemgasprobe (Tabelle 37 und 38) ließ allerdings visuell keine charakteristischen Sensoren für eine Identifizierung erkennen. Um die maximal zu erwartenden Signale beurteilen zu können, erschien daher eine zusätzliche Abschätzung der zu erwartenden Konzentration auf Basis der eingeatmeten Mengen sinnvoll.

Die durchschnittliche Ruheatmung eines Erwachsenen beträgt etwa 7,5 L/min, so dass ein Volumen von etwa 900 L in den 2 Stunden eingeatmet wurde. In dieser Zeit wurde vermutlich etwa 0,5-1 mL Liquid inhaliert. Betrachtet man die Angaben des Herstellers, so beinhalten 1 mL nikotinhaltiges Liquid, 60% Propylenglykol entsprechend 0,3-0,6 ml Propylenglykol und 9-18 mg Nikotin. Wenn man von der Annahme ausging, dass das inhalierte Liquid während der Exposition komplett wieder abgeatmet wurde, ergab sich eine Konzentration von 170-340 ppm Propylenglykol, sowie 1,38-2,76 ppm Nikotin in der Ausatemluft, bezogen auf die 900 L der Ruheatmung.

Diese Abschätzung zeigt zum Einen, dass die Detektion von Nikotin aufgrund der niedrigen Konzentration auch nach intensiver zweistündiger Exposition eher unwahrscheinlich war, wohingegen der Trägerstoff Propandiol mit errechneten maximal 340 ppm eher in der Ausatemluft detektiert werden könnte. Zum anderen war es wahrscheinlich, dass ein Teil des Propandiols vom Körper aufgenommen und zeitverzögert wieder abgegeben wurde. Das LGL Bayern (Nitschke et al., 2010) gibt bei oraler Aufnahme von Propylenglykol eine Eliminationshalbwertszeit von vier Stunden an. Ein analoges Verhalten für eingeatmetes Propandiol würde die in der Atemluft zu erwartenden Konzentrationen erniedrigen. Es ist jedoch sehr schwer, eine Abschätzung zur Kinetik der Ausatemkonzentration bei möglicher Verteilung im Gesamtorganismus anzugeben. Man könnte in einer ersten Näherung annehmen, dass sich zum Zeitpunkt der Messung (innerhalb von 30 Minuten nach Exposition) etwa ein Zehntel bis Zwanzigstel der berechneten Maximalwerte, also 8,5-34 ppm Propandiol in der Ausatemluft erwarten ließe. Dies war der Orientierungspunkt für die folgenden Analysen.

Um Propandiol in der Atemluft möglicherweise zu identifizieren, wurden Differenzen aus den Mittelwerten der Ausatemluftsignale vor-minus-nach Exposition mit nikotinfreien Liquid gebildet. Hierbei spielte eine Korrektur der Feuchte von 100 % insofern keine Rolle, da diese Korrektur bei der Differenzbildung vor-minus-nach wieder herausfiel. Für Propandiol wurden die Werte jeweils mit oder ohne Berücksichtigung der Feuchte von 40 % herangezogen; um die beiden unterschiedlichen Bedingungen zu berücksichtigen, vor allem in Anbetracht der Tatsache, dass bei experimenteller Erhöhung der Feuchte das Propandiol-signal auf diese reagierte (Abbildung 37). Um die smellprints miteinander zu vergleichen, wurden die Differenzwerte der Ausatemluft gegen die Werte des spezifischen Propandiol-smellprints (siehe B.5.4.6.) in Form von Scatterplots (Abbildung 42) aufgetragen. Eine lineare Beziehung würde die Identifizierbarkeit von Propandiol in der Atemluft nahelegen.



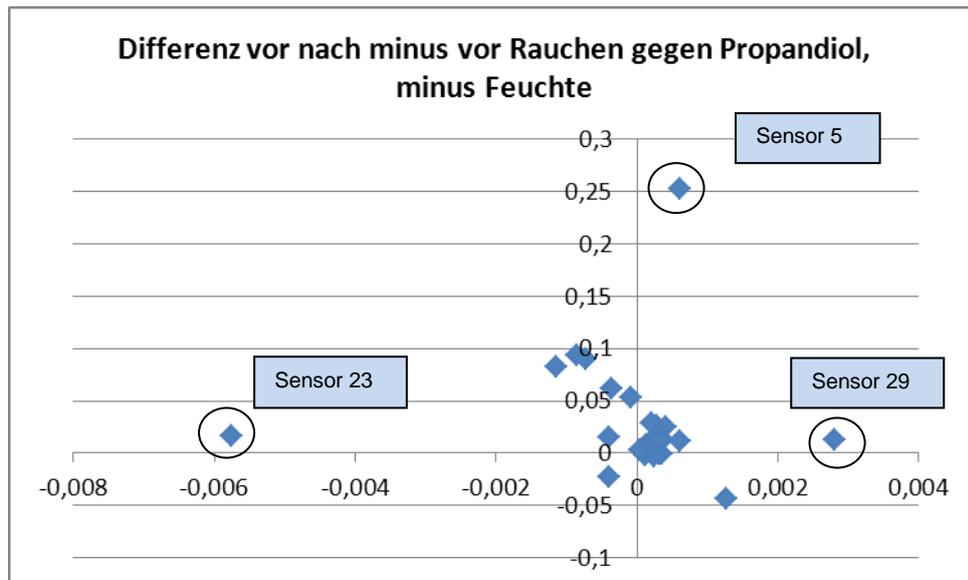
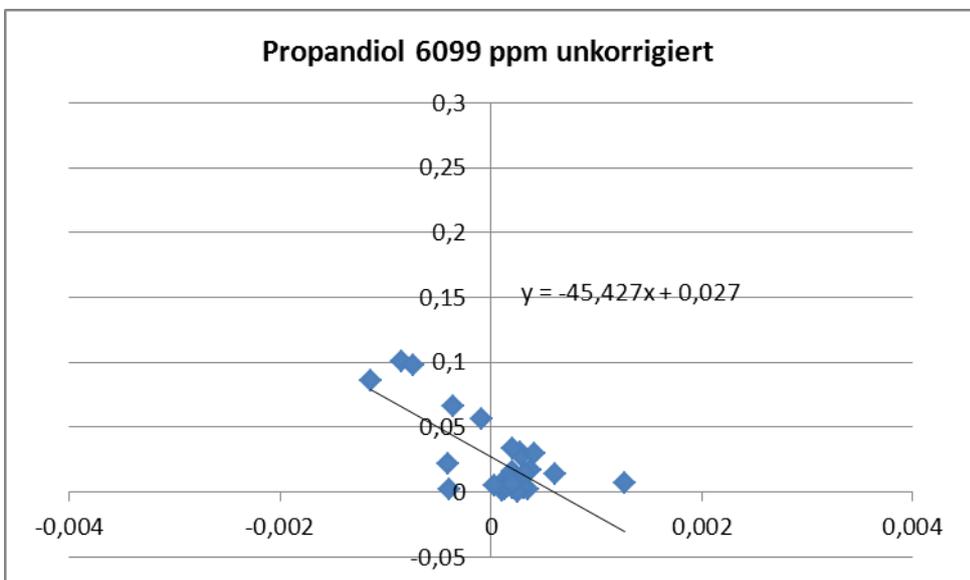
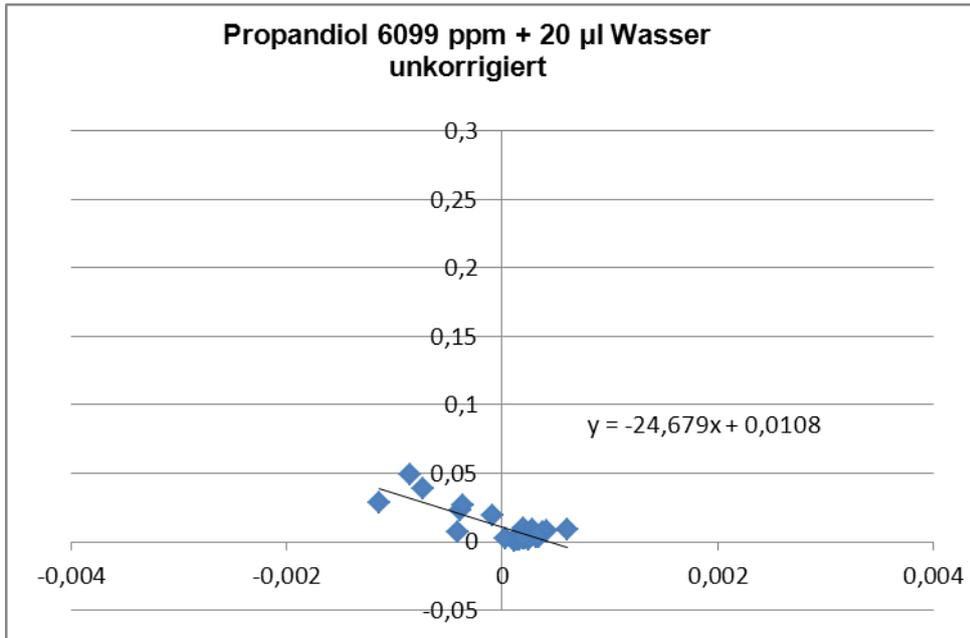


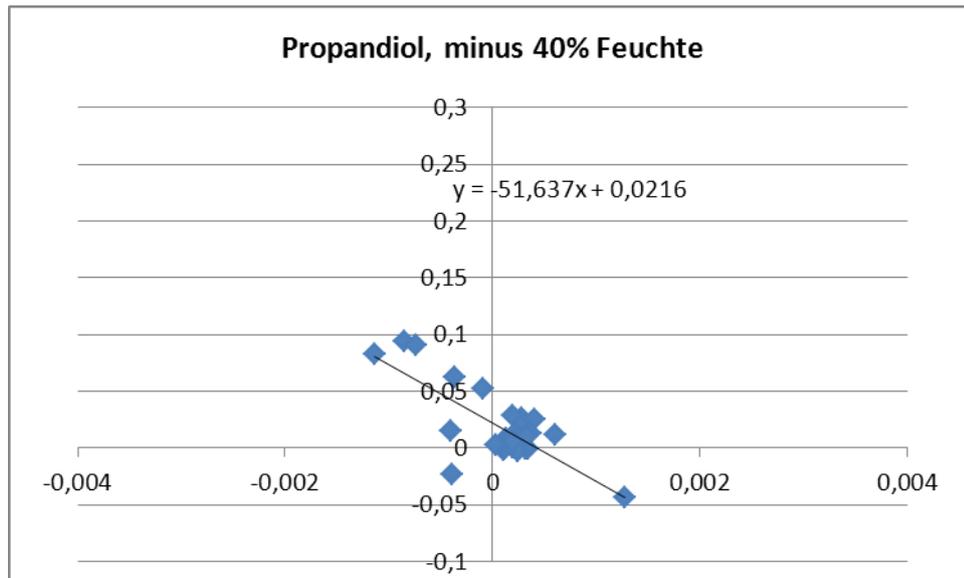
Abbildung 42: Scatterplots der Differenzsignale der Ausatemluft gegen die Signale von Propandiol, entweder ohne oder mit Korrektur (Subtraktion) für 40 % Feuchte.

Zusätzlich ist im oberen Graphen das Signal für Propandiol verwendet, das bei Zusatz von Feuchte (siehe Abbildung 38) sich ergab. Es deutet sich für die Mehrzahl der Sensoren eine lineare Beziehung an. Markiert sind die Signale derjenigen Sensoren, welche sich als Ausreißer darstellen.

Die Betrachtung der Scatterplots zeigt für die Mehrzahl der Sensoren einen überraschend guten linearen Zusammenhang zwischen der Atemluft und den Einzelsignalen von Propandiol. Allerdings fielen die Sensoren 5, 23 und 29 auf und wiesen keine Korrelation zwischen dem Atemgas-Muster und den Propandiolsignalen auf. Es ist bemerkenswert, dass sich vor allem die Sensoren 5 und 23, aber auch 29 ebenfalls bei Zugabe von Wasserdampf zu Propandiol als besonders empfindlich herausstellten (Abbildung 37). Vor allem das Signal von Sensor 23 stieg bei Anwesenheit von Wasser überproportional an. Die Abweichung der Sensoren 5, 23 und 29 könnte also auf einen komplexen, nicht unbedingt linearen Feuchteinfluss zurückzuführen sein. Vor allem waren diese Sensoren offenbar nicht reproduzierbar, was Propandiol angeht. Von den Werten von Propandiol wurden zur Korrektur optional die 40 %-Feuchtesignale laut Thome (2013) abgezogen. Diese Signale dienen als Anhaltspunkt dafür, wie die entsprechenden Sensoren auf Wasser reagieren; allerdings wurden sie mit einem anderen Gerät des gleichen Bautyps gemessen.

Die Berechnung der Steigung bei Weglassen der genannten drei Sensoren ergab für Propandiol, unkorrigiert für Wasserdampf einen Faktor 45, sowie für Propandiol korrigiert einen Faktor von 52 (Abbildung 43). Der bei experimenteller Wasserdampfgabe gemessene Wert der Steigung betrug 25 und deutete somit auf eine geringere Empfindlichkeit für Propandiol hin.





**Abbildung 43: Scatterplots der Differenzsignale der Ausatemluft gegen die Signale von Propandiol, entweder ohne oder mit Korrektur (Subtraktion) für 40 % Feuchte ohne Ausreißer und mit Berechnung der Steigung**

Bezieht man nun den erhaltenen Faktor (Steigung) von etwa 50 auf die im obigen Abschnitt als Maximalwert abgeschätzten 340 ppm Propandiol in der Ausatemluft, so ergibt sich für die Ausatemluft ein gemessener Wert von 6,8 ppm Propandiol. Dieser Wert passt sehr gut zu den weiter oben alleine aufgrund der Expositionshöhe abgeschätzten Werten. Die bei Zugabe von Wasserdampf ermittelte Steigung war etwa um die Hälfte geringer und würde somit ungefähr doppelt so hohe Werte in der Ausatemluft nahelegen.

Diese Analysen geben den Hinweis, dass der Trägerstoff Propandiol nach intensiver Exposition in der Ausatemluft detektierbar war, in Konzentrationen, die sowohl von der Empfindlichkeit des Gerätes als auch aufgrund der seitens der Exposition zu erwarteten Werte her plausibel sind. Da Nikotin selbst unter der unrealistischen Annahme, vollständig und sofort wieder abgeatmet zu werden, eine zu geringe zu erwartende Konzentration aufwies, war eine analoge Analyse nicht möglich. Die vorstehenden Analysen belegen, dass selbst nach einer intensiven inhalativen Belastung die zu erwartenden Atemgaskonzentrationen gering sind und sich im unteren ppm-Bereich befinden. Vor allem aber illustrieren die Ergebnisse die Konsistenz verschiedener Messergebnisse und -ansätze ungeachtet der Tatsache, dass das verwendete Messgerät wenig empfindlich und spezifisch ist im Vergleich zu anderen, sehr viel aufwändigeren Verfahren wie GC-MS.

Auch zeigen sie, dass sich die Analyse der Daten nicht unbedingt auf die Sensoren mit den stärksten Signalen stützen muss, da gerade diese stark variieren und auf Gemische komplex reagieren können. Die Detektion von Propandiol in der Ausatemluft in einem realistischen Konzentrationsbereich ist insofern einmalig, da die Cyranose 320<sup>®</sup> normalerweise nur zur Mustererkennung, nicht aber zur Identifikation von Substanzen eingesetzt wird. Allerdings war dieser Erfolg an die Voraussetzung

geknüpft, mittels E-Zigarette eine spezifische Komponente in hoher Konzentration dem Bronchialsystem zugeführt zu haben.

### **Teil C.6. Diagnostischer Einsatz bei Patienten mit kardialer Erkrankung**

#### **C.6.1. Einführung und Hintergrund**

Zu den Verfahren der diagnostischen Atemgasanalyse, die in den letzten Jahren stark an Interesse gefunden haben, gehören die elektronischen Nasen. Das Prinzip besteht darin, Muster chemischer Verbindungen in der Ausatemluft zu identifizieren und auf diese Weise Erkrankungen zu erkennen oder zwischen ihnen zu differenzieren.

Einige Arbeitsgruppen haben bereits die Atemluft bei pulmonalen Erkrankungen mittels elektronischer Nasen untersucht (Hattesoehl et al., 2011, Koczulla et al., 2011). Ferner wurde gezeigt, dass Patienten mit systemischen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, eine Korrelation des HbA1c mit den Signalen der Elektronischen Nase aufweisen (Thome, 2013). Diese Erkenntnis motivierte uns, weitere, nicht-respiratorische Erkrankungen auf der Basis möglicher systemischer, alveolär abgeatmeter Komponenten zu untersuchen. Interessanterweise wurde 2012 eine Studie einer Jenaer Arbeitsgruppe publiziert (Voss et al., 2012), in der die Möglichkeit der Diagnose und Differenzierung einer Herzinsuffizienz mittels elektronischer Nase anhand von Hautluftproben gezeigt wurde.

#### **C.6.2. Fragestellung**

Diese Studie sollte primär auf methodologischer Ebene prüfen, ob eine elektronische Nase bei Patienten mit kardiologischen Erkrankungen spezifische Muster zeigen kann, die unabhängig von anthropometrischen Kenngrößen, Medikamenteneinnahme und weiteren Einflussfaktoren eine Abgrenzung zu Gesunden sowie eine Differenzierung zwischen kompensiertem und dekompenziertem Krankheitsbild ermöglichen.

#### **C.6.3. Material und Methodik**

Der Versuchsaufbau, sowie die verwendeten Materialien, wurden bereits ausführlich im Punkt B.5.3. erläutert.

#### **C.6.4. Patientenkollektiv**

Das Patientengut beinhaltete 56 Patientinnen und Patienten, die sich im Zeitraum von März 2012 bis Oktober 2012 aufgrund einer kardialen Erkrankung entweder in ambulanter oder in stationärer Behandlung an der Ludwig-Maximilians-Universität einfanden.

Die Diagnose, sowie die Auswahl der geeigneten Patienten, erfolgten ausschließlich durch einen Arzt. Die Studie umfasste ambulante oder stationäre Patienten mit einem akuten kardialen Ereignis, die nicht beatmet wurden, in der Lage waren, selbständig einen kräftigen Atemzug zu machen, und keine schwerwiegenden Komorbiditäten aufwiesen. Kardiologische Erkrankungen wurden in ischämische oder dilatative Kardiomyopathien, hypertensive Herzerkrankungen oder akute Myokardinfarkte eingeteilt.

Die ambulant behandelten Patienten waren in der Regel medikamentös eingestellt und wurden in der Studie als kompensiert eingestuft. Stationär behandelte Patienten mit akuten Krankheitsverläufen hingegen wurden als dekompenziert eingestuft. Erkrankungsrelevante Daten wie Komorbiditäten und Medikamenteneinnahme wurden mittels Fragebogen erhoben und diagnosesichernde Befunde aus den Patientenakten extrahiert. Anamnestisch lagen bei keinem Patienten Hinweise auf eine Lungenerkrankung vor. Die einzelnen Patienten wurden vor jeder Untersuchung auf den Raucherstatus befragt.

Das Kontrollkollektiv stellten 43 anamnestisch gesunde Probanden dar. Die Studie war durch die Ethikkommission der Ludwigs-Maximilians-Universität genehmigt.

### **C.6.5. Messprotokoll**

Nach Rücksprache mit dem medizinischen Personal fand die Atemgasanalyse zwischen den klinischen Routine- Untersuchungen im Laufe eines jeweiligen Vormittag zwischen 9.00 Uhr und 12.00 Uhr statt.

Zu diesem Zweck wurde der Messaufbau in einem geschlossenen Behandlungszimmer aufgebaut. Vor jeder Messung erfolgten 3 Spülgänge der elektronischen Nase. Bei allen Messungen wurden die Feuchtigkeit der Umgebungsluft und die Raumtemperatur dokumentiert. Die gemessene Umgebungstemperatur lag im Bereich von 22,5 -25°C, die Raumfeuchtigkeit im Bereich von 25,5-34,1%.

Der Patient wurde detailliert über den Ablauf der Messung informiert; eventuelle Fragen wurden geklärt. Die Messung erfolgte nur bei schriftlichem Einverständnis zur Teilnahme in einer Dreifach-Bestimmung. Zwischen den Messungen erfolgte kein Spülvorgang.

Die Untersuchung stationärer Patienten erfolgte direkt am Krankenbett. Dazu wurde im Laufe des Vormittags der Messaufbau auf einem fahrbaren Gestell platziert. Der Patient wurde gebeten, sich im Bett aufzusetzen. Analog zum obigen Ablauf erfolgten vor jeder Messung drei Spülgänge. Der Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme lag bei allen Patienten mindestens 2,5 Stunden zurück. Nach Aufklärung des Patienten, sowie schriftlicher Einwilligung erfolgte die Atemluftanalyse.

### **C.6.6. Datenauswertung**

Siehe B.5.3.7.

### **C.6.7. Statistische Auswertung**

Es erfolgten statistische Vergleiche Krank vs. Gesund in den drei Gruppen, sowie in den Untergruppen je nach Diagnose und Medikation. Hierfür wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet, da die Daten zum Teil nicht normalverteilt waren und der Stichprobenumfang zum Teil gering war. Ein

Vergleich wurde als statistisch signifikant gewertet, wenn der p-Wert < 0,05 betrug. Eine Korrektur für multiple Tests wurde in dieser explorativen Studie nicht angewendet.

Zum Zweck der Datenreduktion wurde eine Hauptkomponentenanalyse mit nachfolgender Faktorenanalyse durchgeführt. Für die Hauptkomponentenanalyse wurde die Korrelationsmatrix der Sensorsignale aller Patienten und Probanden verwendet. Diese Analyse lieferte eine bestimmte Zahl von Hauptkomponenten, die ausreichten, um die 32 Sensorsignale statistisch hinreichend genau zu beschreiben. Die nachfolgende Faktorenanalyse erfolgte mittels einer standardisierten Varimax-Rotation. Deren Ziel ist, die Hauptkomponenten (unabhängige, orthogonale Faktoren) so im Parameterraum zu drehen, dass die Ladungen der Sensoren, d.h. ihre Korrelationen mit den Faktoren, jeweils möglichst groß für einen Faktor und möglichst klein für alle anderen Faktoren sind. Auf diese Weise wird im Idealfall die Menge der Sensoren in Teilmengen von Sensoren zerlegt bzw. partitioniert, die innerhalb einer Teilmenge gut, aber mit den Sensoren der anderen Teilmengen nur gering korrelieren. Die für jede Messung erhaltenen Faktorwerte stellen gewissermaßen mehrere Sensoren zusammenfassende Hypersensorsignale dar und können genauso wie die Sensorsignale selbst statistisch analysiert werden. Entsprechend erfolgten statistische Vergleiche zwischen den Gruppen und ihren Untergruppen wieder mittels des Mann-Whitney-U-Tests.

### **C.6.8. Ergebnisse**

#### **C.6.8.1. Beschreibung der Kollektive**

Im Rahmen dieser Studie nahmen 56 Patienten (9 Frauen, 47 Männer) im Alter zwischen 37 und 81 Jahren mit einer kardiologischen Erkrankung teil; davon wurden 39 Patienten als kompensiert und 17 als dekompenziert eingestuft. Wie in Tabelle 26 und 27 dargestellt, unterschied sich die Patientengruppe von der Kontrollgruppe besonders in Hinsicht auf Alter ( $60,3 \pm 11,2$  und  $45,4 \pm 8,9$  Jahre), auf den BMI ( $26,05 \pm 3,9$  und  $23,5 \pm 3,6$  kg/m<sup>2</sup>) und Gewicht ( $81,2 \pm 15,6$  und  $70,1 \pm 13,6$  kg).

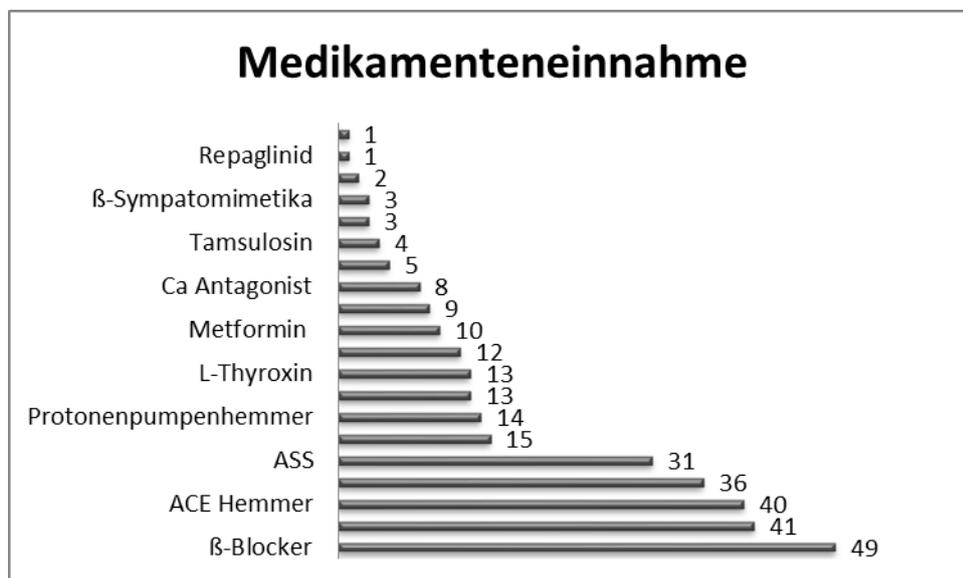
Variable	Patienten n=56	Kontrollen n=43	p-Wert
Frauen	9 (16%)	30 (69,8%)	<0,0001
Alter (Jahre)	$60,3 \pm 11,2$	$45,4 \pm 8,9$	<0,0001
Gewicht (kg)	$81,2 \pm 15,6$	$70,1 \pm 13,6$	0,0002
Körpergröße (m)	$1,76 \pm 0,07$	$1,72 \pm 0,09$	0,0517
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$26,05 \pm 3,9$	$23,5 \pm 3,6$	0,0006
Aktuelle Raucher	8	3	0.1976

Tabelle 26: Charakterisierung der Probanden (Vergleiche mittels Mann-Whitney-U-Test sowie Fisher's exaktemTest)

Erkrankung n <sub>Gesamt</sub> =56	Status	
	kompensiert	dekompensiert
Ischämische Kardiomyopathie	12	4
Dilatative Kardiomyopathie	22	3
Hypertensive Herzerkrankung	4	0
Myokardinfarkt	0	9
Lungenembolie	0	1
Postpartale Kardiomyopathie	1	0

**Tabelle 27: Charakterisierung der Erkrankungen**

Die Therapie der 56 Patienten basierte auf der Einnahme eines Medikamentenregimes; dies beinhaltete die gleichzeitige Einnahme mehrerer Arzneistoffklassen. Insgesamt konnten 20 verschiedene Arzneistoffklassen dokumentiert werden. Tabelle 28 illustriert die Anzahl der eingenommenen Medikamente über alle Patienten.



**Tabelle 28: Medikamenteneinnahme**

### C.6.8.2. Sensorsignale der Kontrollen und Patienten im Vergleich

Der Vergleich beider Gruppen erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Analog dazu wurden verschiedene Bedingungen innerhalb der Gruppen, sowie ausgewählte Untergruppen miteinander verglichen.

Die Tabellen 29-31 fassen die Ergebnisse der durchgeführten Rangtests für jeden der 32 Sensoren zusammen.

Sensoren	Kranke vs Gesunde					
	Krank vs. Gesund mit Raucher	Krank vs Gesund ohne Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw. 35-65 mit Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw.40-60 mit Raucher	Krank vs Gesund; ohne Clopidogrel	Kompensiert Kranke vs Gesunde
1						
2						
3				X		XX
4	X	X			X	XX
5	XX	XX	X	X	XX	XX
6	XX	XX	XX	XX	XX	XX
7						
8						
9	XX	XX	X	X	XX	XX
10						
11	XX	XX	XX	XX	XX	XX
12						
13				X		
14						
15						
16						
17	XX	XX	XX	X	XX	XX
18						
19	X					XX
20						
21						
22						
23	XX	XX	X	X	XX	XX
24	XX	XX	XX	XX	XX	XX
25						
26						
27	X					XX
28						
29	XX	XX	XX	XX	XX	XX
30						
31	XX	XX	XX	XX	XX	XX
32	XX	XX	XX	XX	XX	XX

Tabelle 29: Ergebnis des Rangtests: Kranke vs. Gesunde; Symbole: x: p<0,05; xx: p<0,01; xxx:p<0,05

Sensoren	Nur Kranke										
	Komp vs dekomp. (mit Raucher)	Komp. vs Dekomp. (ohne Raucher)	Median Gewicht 79 kg	Median BMI 24,82	Raucher vs. Nichtraucher	Herzglykoside	Diuretikum	ASS 100	Clopidogrel	Insulin	Protonenpumpenhemmer
1			X	X							
2			XX	XX		XX					
3	XX	XX									
4				X							
5	XXX	XXX		X	X				XX		
6	X				XX				X		
7	XX	XX								X	
8	X	X									
9								XX			
10			X	XX				XX			
11								X			X
12			XX	XX				XX			
13			X	X				X			
14	XX		X	XX							
15								XX			
16	X		X	X				XX			
17	X			X				X			
18								XX			
19						X	X				
20							X	X			
21	X							X			
22	X		X	X				X			
23	X				XX			X			
24	XXX	XX					X				
25							X	X			
26								X			
27			X	X							
28							X	X			
29					XX	X			X		
30	XXX	XXX							XX		
31				X							
32	XX	X					XX				

Tabelle 30: Ergebnis des Rangtests: Nur Kranke; Symbole: x: p<0,05; xx: p<0,01; xxx:p<0,05

Sensoren	Gesund		
	Median Alter 46	Median Gewicht 68 kg	Median BMI 23,15
1	X		XX
2			
3			X
4			XX
5			
6			
7			
8			
9	XX		
10			
11			
12	XX		
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			X
28	XX		
29			
30			
31			
32			

Tabelle 31: Ergebnis des Rangtests: Nur Gesunde; Symbole: x:  $p < 0,05$ , xx:  $p < 0,01$ ,

Der Rangtest ergab eine Vielzahl statistisch signifikanter Unterschiede der 32 Sensorsignale zwischen dem Status Krank/Gesund. Im Folgenden werden Auswertestrategie und Ergebnisse für verschiedene Vergleiche kurz erläutert.

### ***C.6.8.2.1. Einfluss des Raucherstatus***

Das Patientenkollektiv beinhaltete 8 Raucher, das Kontrollkollektiv 3 Raucher. Daher wurde geprüft, ob die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen vom Raucherstatus abhingen. Die signifikanten Unterschiede in den Sensorsignalen blieben auch nach Ausschluss der Raucher bestehen.

### ***C.6.8.2.2. Einfluss anthropometrischer Faktoren***

Um den Einfluss von Alter, Gewicht und BMI zu prüfen, wurden die Gruppen gemäß den Medianwerten dieser Größen in zwei Untergruppen aufgeteilt. Diese Gruppen wurden anschließend miteinander verglichen. Hierbei fand sich, dass innerhalb der Gruppen der Kranken ein Einfluss des BMI und Gewichts, sowie innerhalb der Gruppe der Gesunden ein Einfluss des BMI und des Alters auf einzelne Sensoren bestand. Daher stellte sich die Frage, ob die Unterschiede zwischen Kranken und Gesunden durch derartige Unterschiede mitbedingt waren. Aus diesem Grund wurde im nächsten Schritt geprüft, in welchem Maße die anthropometrischen Kenngrößen einen Einfluss hatten; die beiden Kollektive unterschieden sich nämlich im Alter und BMI (Tabelle 26).

Das mediane Alter in der Gruppe der Erkrankten betrug 62 Jahre. Der Mann-Whitney-U-Test ergab innerhalb dieser Gruppe keinen Einfluss des Alters auf die einzelnen Sensoren, so dass dieser Parameter nicht in Tabelle 30 aufgelistet wurde. Innerhalb der Gruppe der Kontrollen betrug das mediane Alter 46 Jahre und wies, wie in der obigen Tabelle dargestellt, einen Einfluss auf mehrere Sensoren auf. Durch Einschränkung des Altersbereichs und des BMI wurden vergleichbare Unterkollektive gebildet, die sich in den anthropometrischen Größen nicht mehr signifikant unterschieden. Der Altersbereich wurde im ersten Schritt auf 35-65 Jahre und im zweiten Schritt auf 40-60 Jahre eingegrenzt. Wie in Tabelle 29 ersichtlich, blieben nach der Auswahl vergleichbarer Bereiche von Alter, signifikante Unterschiede zwischen dem Status krank/gesund bestehen. Der mediane Wert für den BMI betrug innerhalb der Erkranktengruppe 24,82 und in der Kontrollgruppe 23,15. Der Mann-Whitney-U-Test ergab auch nach Stratifizierung signifikant unterschiedliche Sensoren. Da die Werte des BMI in beiden Gruppen recht ähnlich waren, erschien ein Einfluss dieses Parameters eher unwahrscheinlich. Der Mann-Whitney-U-Test ergab innerhalb des Status Krank/Gesund keinen Einfluss des Geschlechts. Folglich konnte ein Unterschied der Gruppen Kranke vs. Gesunde aufgrund von Geschlechtsunterschieden ausgeschlossen werden.

### ***C.6.8.2.3. Sensorsignale innerhalb der kranken Probanden***

#### ***C.6.8.2.3.1. Status kompensiert/dekompensiert***

Innerhalb der Gruppe der 56 Erkrankten befanden sich 17 Patienten in einem dekompenzierten Zustand. Der Vergleich „kompensiert vs. dekompenziert mit Raucher“ ergab in 14 Sensoren signifikante Unterschiede. Um zu prüfen, ob der Unterschied zwischen Kranken und Gesunden alleine durch die dekompenzierten Patienten zustande kam, wurden die kompensierten Patienten ebenfalls mit den Gesunden verglichen. Nach wie vor fanden sich in 14 Sensoren signifikante Unterschiede.

### **C.6.8.2.3.2. Einfluss der Medikamenteneinnahme**

Innerhalb der Gruppe der Kranken fanden sich für die Einnahme von Herzglykosiden, Diuretika, Clopidogrel, ASS, Insulin und Protonenpumpenhemmer signifikante Unterschiede in den Sensorsignalen. Die anderen Medikationen ergaben keine statistisch signifikanten Unterschiede.

### **C.6.8.3. Hauptkomponentenanalyse**

Die 32 Sensoren waren hoch miteinander korreliert, wenn die Daten der beiden Gruppen zusammen ausgewertet wurden. Dies äußerte sich auch in der starken Überlappung der Sensorprofile für die jeweils miteinander verglichenen Untergruppen (Tabellen 29-31). Daher war es sinnvoll, die Information der Sensoren zusammenzufassen. Zu diesem Zweck wurde mittels einer Hauptkomponentenanalyse mit nachfolgender Faktorenanalyse die Dimension der Daten von 32 auf eine möglichst geringe Anzahl unabhängiger Komponenten reduziert. Jeder dieser Komponenten (Faktoren) repräsentiert eine lineare Kombination von Sensoren im Sinne eines „Hypersensors“ derart, dass möglichst viel der Gesamtvarianz durch die Komponenten erklärt wird. Es ergaben sich anhand des Eigenwert-Kriteriums (Eigenwert mindestens 1) insgesamt 5 Faktoren, die knapp 90 Prozent der Gesamtvarianz erklären konnten. Die Faktorladungen, d.h. Korrelationskoeffizienten dieser Faktoren mit den Sensorsignalen sind in Tabelle 32 dargestellt. Ladungen  $>0,7$  sind fett markiert, da solche als wesentlich gelten. Es ist ersichtlich, dass gemessen an diesem Kriterium die Mehrzahl der Sensoren auf genau einen, d.h. mindestens einen und höchstens einen, Faktor lädt und somit die gewünschte Partitionierung der Menge der Sensorsignale in separate Teilmengen erzielt wurde, die in sich, jedoch nicht miteinander korrelieren.

## Diagnostischer Einsatz bei Patienten mit kardialer Erkrankung

Sensor	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5
1	<b>0,870005</b>	-0,012805	0,250582	0,323930	-0,017266
2	<b>0,806611</b>	-0,031279	-0,037213	0,507848	-0,031812
3	<b>0,717343</b>	0,017104	0,177417	0,351613	0,444676
4	0,070051	0,065636	-0,392297	<b>0,900665</b>	0,117672
5	0,186463	-0,006883	-0,110579	0,090750	<b>0,732136</b>
6	0,646180	-0,047176	-0,296342	-0,431489	-0,324923
7	0,025022	<b>0,998181</b>	0,000045	0,009618	0,012641
8	-0,072158	-0,012772	-0,269400	0,029047	0,403325
9	0,645665	-0,029942	0,573910	-0,172461	0,331740
10	<b>0,945773</b>	-0,011740	-0,021741	0,010380	0,176098
11	-0,059624	<b>0,991834</b>	0,011967	-0,095819	-0,047922
12	<b>0,849865</b>	-0,054058	0,229933	0,102115	-0,294118
13	0,029164	<b>0,997571</b>	0,006821	-0,007736	-0,047219
14	0,361178	0,057025	-0,151513	<b>0,869996</b>	0,134084
15	-0,024431	<b>0,993938</b>	0,036312	-0,089750	-0,031264
16	<b>0,844103</b>	0,021520	-0,181346	0,315746	0,325075
17	-0,020885	<b>0,998875</b>	0,003260	-0,023516	-0,024996
18	0,206712	-0,043923	<b>0,864297</b>	-0,357380	-0,085951
19	-0,048960	<b>0,984884</b>	-0,066924	0,145086	0,010257
20	-0,111457	-0,014717	<b>0,905172</b>	-0,207722	-0,032860
21	0,123791	<b>0,970567</b>	0,017003	0,167321	0,089507
22	-0,039769	0,060251	-0,405037	<b>0,900303</b>	0,101891
23	-0,018349	-0,075781	-0,177466	-0,670759	-0,530438
24	0,285047	0,082988	0,112483	0,642423	0,570628
25	-0,028913	<b>0,990615</b>	-0,053029	0,119485	0,001429
26	-0,115487	-0,018556	<b>0,914198</b>	-0,298327	0,071947
27	-0,047603	<b>0,985779</b>	-0,080999	0,137375	-0,012486
28	-0,153343	0,068280	-0,203789	<b>0,942966</b>	0,086154
29	-0,471476	0,005078	0,266005	-0,691803	0,224041
30	0,118440	-0,089447	0,258273	0,115815	<b>0,763699</b>
31	-0,435289	-0,025815	0,173531	<b>-0,845745</b>	-0,010484
32	<b>0,837338</b>	0,046046	-0,282137	-0,122628	0,309400
Erklärte Varianz	6,590135	8,876065	3,775404	6,534483	2,750640
Anteil gesamt %	20,5942	27,7377	11,7981	20,4203	8,5957

Tabelle 32: Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der 32 Sensorsignale. Dargestellt sind die Faktorladungen der Sensoren.

Allerdings fanden sich auch Sensoren, für die keine der Ladungen sehr hoch war und die eher einen gemischten Einfluss mehrerer Faktoren repräsentierten. Wenn man das schwächere Kriterium einer Faktorladung von 0,6 zugrundelegte, fand sich, dass bis auf den Sensor 8 alle Sensoren primär einem Faktor zuzuordnen waren.

Auf Basis der 5 gefundenen Faktoren erfolgte ein weiterer statistischer Vergleich Krank versus Gesund. Zu diesem Zweck wurden die individuellen Faktorwerte der Patienten ebenfalls nichtparametrisch miteinander verglichen, analog zu den Sensorsignalen selbst. Tabelle 33 fasst die Ergebnisse des Vergleichs der individuellen Faktorwerte zusammen.

Faktoren	Kranke und Gesunde									Nur Kranke								
	Krank vs Gesund mit Raucher	Krank vs Gesund ohne Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw. 35-65 mit Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw. 40-60 mit Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw. 40-55 mit Raucher	Krank vs Gesund; Alter zw. 45-55 mit Raucher	Krank vs Gesund BMI: 22-27	Krank vs Gesund ohne Clopidogrel	Kompensiert Kranke vs Gesunde	Raucher vs Nichtraucher	kompensiert vs dekomensiert mit Raucher	kompensiert vs dekomensiert ohne Raucher	ASS 100	Diuretikum	Clopidogrel	Median Alter 62	Median Gewicht 79 kg	BMI 24,82 krank
1													X					
2													XX					
3	XX	XX	XX	X	XX	X	X	XX	XX							X		X
4													X	X				
5	XX	XX	XX	XX	XX	X	XX	XX	XX	XX	XX	XX			XX			

Tabelle 33: Ergebnis des Vergleichs der Faktorwerte zwischen den Gruppen. Symbole x: p<0,05, xx: p<0,01

Die Faktorenanalyse ergab somit ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede zwischen dem Status Krank/Gesund, sowie innerhalb der Gruppen Krank und Gesund.

### C.6.8.3.1. Einfluss des Raucherstatus

Das Patientenkollektiv beinhaltet 8 Raucher, das Kontrollkollektiv 3 Raucher. Daher wurde analog der Analyse der einzelnen Sensorsignale geprüft, ob die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen vom Rauchen abhängen. Der Vergleich des Status Krank vs. Gesund sowohl mit Rauchern als auch nach Ausschluss der Rauchergruppe ergab persistierende, hochsignifikante Unterschiede in den Faktoren 3 und 5. Es konnte auf diese Weise ausgeschlossen werden, dass Unterschiede des Raucherstatus den Unterschied der beiden Gruppen Krank/Gesund bewirkten.

### **C.6.8.3.2. Einfluss von anthropometrischer Faktoren**

Wie bereits im Punkt C.6.8.2.2. erläutert, wurde der Einfluss von Alter, Gewicht und BMI überprüft, indem die Gruppen gemäß den Medianwerten dieser Größen in zwei Untergruppen aufgeteilt und diese Gruppen miteinander verglichen wurden. Hierbei fand sich, dass innerhalb der Gruppen der Kranken ein Einfluss des medianen BMI von  $24,82 \text{ kg/m}^2$  und medianen Alters von 62 Jahren bestand, die beide durch den Faktor 3 differenziert wurden. Ein Einfluss des Gewichts bestand in keinem Faktor; Deswegen wurde diese Größe nicht in der Tabelle dargestellt. Innerhalb der Gruppe der Gesunden zeigte die Faktorenanalyse alleine eine Differenzierung durch das mediane Alter von 46 Jahren.

Im Folgenden stellte sich auch hier die Frage, ob die Unterschiede zwischen dem Status Krank/Gesund durch derartige Unterschiede mitbedingt war. Es wurde so im nächsten Schritt geprüft, in welchem Maße die anthropometrischen Kenngrößen einen Einfluss hatten. Die beiden Kollektive unterschieden sich wie bereits festgestellt in Alter und BMI (Tabelle 26).

Analog zu Punkt C.6.8.2.2. wurden auch hier durch Einschränkung des Altersbereichs und des BMI vergleichbare Unterkollektive gebildet, die sich in den anthropometrischen Größen nicht mehr signifikant unterschieden. Der Altersbereich von 35-65 Jahren wurde in mehreren Schritten auf 45-55 Jahre eingegrenzt. Wie in Tabelle 33 ersichtlich, blieben nach Eingrenzung des Altersbereichs die signifikanten Unterschiede in den Faktoren 3 und 5 bestehen. Der mediane Wert für den BMI betrug innerhalb der Erkranktengruppe  $24,82$  und in der Kontrollgruppe  $23,15 \text{ kg/m}^2$ . Auch nach Einschränkung dieses Bereichs auf  $22-27 \text{ kg/m}^2$  blieben die signifikanten Unterschiede in den Faktoren 3 und 5 bestehen.

### **C.6.8.3.3. Sensorsignale innerhalb der kranken Probanden**

#### **C.6.8.3.3.1. Status kompensiert/dekompensiert**

Innerhalb der Gruppe der Erkrankten befanden sich 17 Patienten in einem dekompenzierten und 39 in einem kompensierten Zustand. Interessant war es herauszufinden, ob auch innerhalb des Status „Krank“ weitere Differenzierungen möglich waren. Die Gruppe der Erkrankten wurde deshalb in die zwei Untergruppen „kompensiert“ und „dekompenziert“ eingeteilt. Es zeigte sich, dass eine Differenzierung zwischen den beiden Gruppen durch den Faktor 5 möglich war.

#### **C.6.8.3.3.2. Einfluss „Raucher“ auf den Status kompensiert/dekompensiert**

Der Status kompensiert/dekompensiert wurde durch den Faktor 5 angezeigt. Nach Ausschluss der 8 Raucher ergab die Analyse eine persistierende Differenzierung der beiden Gruppen in Faktor 5. Ein dominierender Einfluss des Raucherstatus auf die Differenzierung des Status kompensiert/dekompensiert konnte dadurch ausgeschlossen werden.

### **C.6.8.3.3.3. Status Kardiomyopathie kompensiert vs. Kardiomyopathie dekompenziert**

Eine weitere Differenzierung war die Differenzierung zwischen den 37 kompensierten sowie 7 dekompenzierten Patienten innerhalb einer Erkrankung. Die Analyse der an Kardiomyopathie Erkrankten zeigte eine mögliche Differenzierung durch die Faktoren 1 und 5.

### **C.6.8.3.3.4. Status Kardiomyopathie kompensiert vs. Myokardinfarkt (dekompenziert)**

Im Folgenden wurde untersucht, ob ein kompensierter, gut eingestellter Kardiomyopathie-Patient von einem Patienten mit akutem Myokardinfarkt zu unterscheiden war. Der Vergleich des Status Kardiomyopathie der 35 kompensierten Patienten, im Vergleich zu den 9 Patienten mit einem Myokardinfarkt, führte ebenfalls zu einem Unterschied in den Faktoren 3 und 5.

### **C.6.8.3.3.5. Status Kardiomyopathie dekompenziert vs. Myokardinfarkt (dekompenziert)**

Auch innerhalb der Gruppe mit dekompenzierten Kardiomyopathie-Patienten zeigte die Faktorenanalyse eine mögliche Abgrenzung von einem akuten Herzinfarkt. Allerdings erfolgte die Unterscheidung der beiden Gruppen aufgrund der geringen Gruppengröße nur tendenziell. Aufgrund zu geringer Fallzahlen konnten weitere Differenzierungen der Erkrankungen nicht sinnvoll durchgeführt werden.

### **C.6.8.3.3.6. Einfluss der Medikamenteneinnahme**

Wie bereits in Tabelle 30 dargestellt, könnte auch die Medikation für die Unterschiede zwischen den Gruppen verantwortlich sein. Aus diesem Grund wurde der Einfluss unterschiedlicher Medikamente in der Erkranktengruppe untersucht. Es zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der Einnahme von ASS 100, Clopidogrel und Diuretika. Die Einnahme von Diuretika führte zum diskriminierenden Faktor 4, die Einnahme von Clopidogrel zum diskriminierenden Faktor 5. Die Einnahme von ASS 100 ergab ein spezifisches Muster der Faktoren 1, 2 und 4. Weitere Analysen zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede für die restliche Medikation.

### **C.6.8.3.3.7. Faktorenanalyse und Analyse der einzelnen Sensoren im Vergleich**

Die vorangegangenen Tests zeigten, dass der Mann-Whitney-U-Test sowohl der einzelnen Sensoren als auch der Faktoren der Faktorenanalyse, die Diskriminierung des Status Krank/Gesund, sowie weitere Differenzierungen ermöglichten.

Betrachtete man beispielsweise die Einnahme von ASS 100, so ergab die Faktorenanalyse die mögliche Differenzierung durch die 3 Faktoren 1, 2 und 4. Analyzierte man die dazugehörigen Faktorladungen  $>0,7$  (Tabelle 32), so entsprachen diesen Faktoren folgende Sensoren:

Faktor 1: 7(9) zugehörige Sensoren (1, 2, 3, 10, 12, 16, 32 mit Faktorladung  $> 0,7$ , sowie die Sensoren 6 und 9 mit Faktorladung  $>0,6$ )

Faktor 2: 9 zugehörige Sensoren (7, 11, 13,15, 17, 19, 21, 25, 27 mit Faktorladung  $> 0,7$ )

Faktor 4: 5(8) zugehörige Sensoren (4,14, 22, 28, 31 mit Faktorladung  $>0,7$  sowie 23, 24, 25 mit Faktorladung  $> 0,6$ )

Interessant war der Vergleich der Ergebnisse der zugeordneten Sensoren mit denjenigen der Faktoren auf der Basis der Ergebnisse der Mann-Whitney-U-Tests (Tabelle 30 versus Tabelle 33, mit entsprechenden Faktorladungen aus Tabelle 32). Dies ist am Beispiel von ASS nachfolgend illustriert (Tabelle 34). Die Tabelle zeigt eine Übereinstimmung (angezeigt durch „OX“) der Sensor- und der Faktorenanalyse in 13 Sensoren (11 Sensoren mit Faktorladung  $>0,7$  und 2 Sensoren mit einer Faktorladung  $>0,6$ ).

Sensor	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5
1	O				
2	O				
3	O				
4				O	
5					O
6	O				
7		O			
8					
9	OX	X		X	
10	OX	X		X	
11	X	OX		X	
12	OX	X		X	
13	X	OX		X	
14				O	
15	X	OX		X	
16	OX	X		X	
17	X	OX		X	
18	X	X	O	X	
19		O			
20	X	X	O	X	
21	X	OX		X	
22	X	X		OX	
23	X	X		OX	
24				O	
25	X	OX		X	
26	X	X	O	X	
27		O			
28	X	X		OX	
29				O	
30					O
31				O	
32	O				
Erklärte Varianz	6,590135	8,876065	3,775404	6,534483	2,750640
Anteil gesamt %	20,5942	27,7377	11,7981	20,4203	8,5957

Tabelle 34: Vergleich der Ergebnisse der Faktorenanalyse mit derjenigen der Einzelsensoranalyse bezüglich der Einnahme von ASS 100. Die grünen Spalten symbolisieren die Unterschiede in den Faktoren 1, 2 und 4, die grünen Zeilen Unterschied in den entsprechenden Sensoren. Eine dunkelgrüne Markierung markiert eine Übereinstimmung der Faktorenanalyse mit den Einzelsensoren.

Symbole: O : Faktorladung > 0,7, ○: Faktorladung >0,6,

X: signifikanter Einzelsensor  $p > 0,05$  (Mann-Whitney-U-Test)

Betrachtete man andererseits die Differenzierung Krank versus Gesund unter Einschluss der Raucher, so ergab die Faktorenanalyse eine Unterscheidung durch die zwei Faktoren 3 und 5 (Tabelle 33). Eine Faktorladung  $>0,7$  bestand gemäß Tabelle 32 für den Faktor 3 bei Sensor 18, 20, 26, für den Faktor 5 bei Sensor 5, 30. Verglich man die so zugeordneten Einzelsensoren mit den Faktoren in Hinsicht auf einen signifikanten Unterschied (dargestellt in Tabelle 35), so ergab sich nur eine Übereinstimmung in Sensor 5 (Tabelle 29 versus Tabelle 33, mit entsprechenden Faktorladungen aus Tabelle 32).

Sensor	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5
1	O				
2	O				
3	O				
4			X	O	X
5			X		OX
6	O		X		X
7		O			
8					
9	O		X		X
10	O				
11		O	X		X
12	O				
13		O			
14				O	
15		O			
16	O				
17		O	X		X
18			O		
19		O	X		X
20			O		
21		O			
22				O	
23			X	O	X
24			X	O	X
25		O			
26			O		
27		O	X		X
28				O	
29			X	O	X
30					O
31			X	O	X
32	O		X		X
Erklärte Varianz	6,590135	8,876065	3,775404	6,534483	2,750640
Anteil gesamt %	20,5942	27,7377	11,7981	20,4203	8,5957

Tabelle 35: Vergleich der Faktorenanalyse mit den Einzelsensoren bezüglich Krank vs. Gesund mit Einschluss der Raucher (Darstellung analog Tabelle 34); Symbole: O: Faktorladung  $> 0,7$ , X: signifikanter Sensor  $p > 0,05$  (Mann-Whitney-U-Test)

**C.6.9. Diskussion**

Bereits in den letzten Jahren wurde die Cyranose 320<sup>®</sup> erfolgreich in der diagnostischen Atemgasanalyse eingesetzt (Tabelle 36). Die vorliegenden Daten bestätigen die Eignung dieses Polymersensors. Das Gerät ist vor allem leicht handhabbar, portabel und erlaubt eine online-Messung am Patienten.

Anwendungen der Cyranose 320 <sup>®</sup>	Referenzen
Lungenkrebs	(Dragonieri et al., 2009, Machado et al., 2005)
Asthma	(Dragonieri et al., 2007)
COPD	(Hattesoehl et al., 2011)
Unterscheidung COPD versus Asthma	(Fens et al., 2009)
Profile der Ausatemluft nach Ozon-Inhalation	(Biller et al., 2011)
Pleuramesotheliom	(Chapman et al., 2012)
Staphylococcus-Infektion	(Dutta et al., 2005)
Infektion im HNO-Bereich	(Shykhon et al., 2004)
Schlafapnoe	(Greulich T, 2012)
Refluxerkrankung	(Timms et al., 2012)
Diabetes	(Thome, 2013) bzw. Hofbauer 2010

**Tabelle 36: Bisherige diagnostische und klinisch-experimentelle Anwendungen der Cyranose 320<sup>®</sup>**

Eine Reihe von Arbeitsgruppen konzentrierte sich bei der Untersuchung der Atemluft auf Atemwegs- und Lungenerkrankungen, wie Asthma, COPD und Lungenkrebs, und somit primär auf die Detektion von Komponenten, die auf lokale Veränderungen in den Bronchien zurückzuführen sind (vgl. Tabelle 36). Jedoch gibt es auch Studien zu systemischen Veränderungen. So zeigte eine Studie die Korrelation der Signale bei Diabetes-Patienten mit dem HbA1c-Wert (Thome 2013). Ebenso konnte eine Differenzierung zwischen COPD-Patienten mit und ohne Alpha-1-Antitrypsin-Mangel erfolgen.

Diese Beobachtungen geben einen Hinweis darauf, dass es möglich sein könnte, neben lokalen Veränderungen der Lunge auch Aussagen über pathologische Veränderungen anderer Organe zu machen. Diese endogen erzeugten VOCs befinden sich in der systemischen Zirkulation und werden über die Alveolen abgeatmet. Die elektronische Nase könnte so als diagnostisches Instrument auch für Systemerkrankungen fungieren.

Eine Jenaer Arbeitsgruppe stellte im Jahre 2011 auf dem Kongress der European Society of Cardiology (ESC) in Kurzform eine Studie vor (Voss et al., 2012) in der die Diagnose sowie Differenzierung einer Herzinsuffizienz durch Hautuntersuchungen gezeigt wurde. Mit einer elektronischen Nase wurden Ausdünstungen der Haut untersucht. Dazu wurde der Sensorkopf direkt in der Armbeuge des Patienten platziert. Das Nachweissystem bestand aus einem halbableitenden

Metalloxidgassensor mit drei unterschiedlich sensitiven Schichten. Durch das Einwirken der Gase auf die Oberfläche der sensitiven Schichten kommt es zu oxidierenden und reduzierenden Vorgängen, bei denen sich die elektrische Leitfähigkeit in Abhängigkeit von der Temperatur ändert. Die Datenanalysen erfolgten im offline-Modus, dabei wurden, wie auch in dieser Arbeit, die statistischen Verfahren der Hauptkomponentenanalyse (PCA – Principal Component Analysis), sowie die Diskriminanzanalyse angewandt. In einer weiteren aktuellen Studie wurden in der Ausatemluft von Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt, erhöhte Aceton und Pentanwerte mittels Massenspektrometrie gemessen (Samara et al., 2013).

Diese Arbeiten bestätigte die Annahme, dass eine kardiale Erkrankung durch systemische Marker diagnostiziert werden kann. Diese Erkenntnis unterstützte unseren Versuch, mit Hilfe einer elektronischen Nase eine kardiale Erkrankung anhand der Atemluft zu detektieren.

Die hier durchgeführten Analysen zeigten die Unterscheidbarkeit zwischen der kardial erkrankten Gruppe und der gesunden Gruppe anhand einer elektronischen Nase. Beide Gruppen unterschieden sich allerdings in Alter und im BMI; die Unterschiede hätten folglich auch auf diese Faktoren zurückzuführen sein können. Die Analysen mit Hilfe stratifizierter Subgruppen zeigten jedoch, dass die beobachteten Unterschiede nicht alleine durch Alter oder BMI erklärbar waren. Demzufolge waren sie zumindest teilweise auf eine vorliegende kardiale Erkrankung zurückzuführen. Darüber hinaus waren diese Unterschiede nicht durch weitere mögliche Confounder wie Rauchen und Geschlecht bedingt. Neben der Differenzierung Krank vs. Gesund war es möglich, innerhalb der Gruppe der Erkrankten einzelne Subtypen sowie Medikamente mit Sensorsignalen zu assoziieren.

Als möglicher Störfaktor denkbar war eine Beeinflussung der Messergebnisse durch vorherige Nahrungszufuhr. Jedoch hatten alle Patienten und Kontrollen in dieser Studie mindestens zwei Stunden vor der Messung keine Nahrung mehr zu sich genommen. Thome (2013) verglich im Rahmen ihrer Atemgasuntersuchungen Patienten mit einer Essensaufnahme von länger als 2 Stunden vs. kürzer als 2 Stunden. Die Sensorsignale dieser beiden Gruppen waren nicht signifikant unterschiedlich. Daher wurde ein Einfluss dieses möglichen Störfaktors in der gegenwärtigen Studie als vernachlässigbar angesehen.

Die übersichtlichsten Ergebnisse wurden mit der Faktorenanalyse erhalten. Hiermit war es möglich, die Information der Daten von 32 Sensoren auf 5 Faktoren (im Sinne gewichteter Linearkombinationen von Sensoren) zu komprimieren. Die Faktoren 3 und/oder 5 differenzierten den Status krank vs. gesund und erlaubten sogar Differenzierungen innerhalb der Gruppe der Erkrankten. Ebenfalls konnte die Einnahme von ASS 100 durch die Faktoren 1, 2 und 4 erkannt werden. Die Ergebnisse sind allerdings insofern nur als statistischer Zusammenhang zu werten, als zum die Kongruenz des Faktorenvergleichs mit dem Vergleich der Einzelsensoren nur begrenzt bestand, zum anderen die Streuung groß war. Aus diesem Grunde sowie der Tatsache, dass kein unabhängiger Datensatz zur Überprüfung zur Verfügung stand, verzichteten wir auch auf eine Diskriminanzanalyse zum Vergleich der Gruppen und Parameter.

Die Größe der Patientengruppe erlaubte die Aufteilung in die Subgruppen dekompensiert, kompensiert sowie Kardiomyopathien. Die Faktorenanalyse zeigte die Differenzierbarkeit dieser Subgruppen mittels Cyranose 320<sup>®</sup>. Zwar gelang die Unterscheidung einer dekompensierten Kardiomyopathie von einem akuten Herzinfarkt nur tendenziell, doch war dies wohl auf eine zu geringe Größe der Untergruppen zurückzuführen. Im Rahmen dieser Doktorarbeit war die vorliegende Fallzahl das Maximum, das innerhalb eines überschaubaren Zeitraums erzielt werden konnte; in einer Folgestudie könnten die genannten Fragen mit einer höheren Patientenzahl untersucht werden. Bei wesentlich größerer Fallzahl der Subgruppen könnten diese auch klinisch homogener gewählt werden und würden vermutlich homogenere Muster ergeben. Damit wäre möglicherweise zugleich eine höhere Überlappung der Einzelsensor-Muster mit den Ergebnissen der Faktorenanalyse zu erzielen. Eine höhere Fallzahl würde ferner eine weitere Unterteilung gemäß Komorbiditäten erlauben. Diese konnten nicht berücksichtigt werden, da aufgrund der Fallzahl eine Unterteilung nicht sinnvoll war. Die statistischen Analysen zeigten jedoch ungeachtet der Komorbiditäten, die klare und statistisch signifikante Unterscheidbarkeit der Gruppen und Untergruppen mit kardialer Erkrankung.

Die Analyse der Atemluft mittels der Cyranose 320<sup>®</sup> erlaubte es somit prinzipiell, durch spezifische Atemmuster Patienten mit Herzinsuffizienz von Gesunden abzugrenzen. Auch gelang es, innerhalb der Erkrankten zwischen dem Status kompensiert und dekompensiert zu unterscheiden, unabhängig von den Confoundern Alter oder Medikation. Die Studie hatte primär das Ziel zu eruieren, ob überhaupt eine Unterscheidung der untersuchten Gruppen mittels der Cyranose 320<sup>®</sup> möglich war. Für eine individuelle Prädiktion - und damit einen klinisch sinnvollen Einsatz - sind die Zuordnungen zumindest derzeit nicht verlässlich genug und weitere Arbeiten erforderlich. Ob die Methode beispielsweise klinisch hinreichend verlässliche Hinweise auf Komorbiditäten liefern kann, muss sich noch herausstellen.

### Teil D.7. Zusammenfassung

Derzeit besteht ein großer Bedarf an nichtinvasiven Methoden zur Diagnostik und zum Monitoring von Atemwegserkrankungen, sowie Erkrankungen anderer Organe. Die Analyse der Ausatemluft stellt eine solche nichtinvasive Methode dar. Die Zusammensetzung flüchtiger Komponenten der Atemluft spiegelt nicht nur deren Produktion in den Atemwegen wider, sondern auch die im Blut bestehenden Konzentrationen dieser Komponenten, basierend auf dem Gasaustausch in den Alveolen. Die Zusammensetzung könnte somit einen Hinweis auch auf Erkrankungen anderer Organe als der Lunge geben, soweit diese mit systemischen Änderungen einhergehen. In den letzten Jahren wurden zu diesem Zweck vermehrt sogenannte „elektronische Nasen“ eingesetzt, um die menschliche Ausatemluft zu analysieren. Die eingesetzten Verfahren unterscheiden sich allerdings erheblich in Hinsicht auf den apparativen Aufwand und die analytische Aussage.

Die vorliegende Arbeit beinhaltete einen methodologischen Teil, sowie zwei Untersuchungen an Probanden bzw. Patienten. Im Methodenteil erfolgte erstmalig ein methodisch-technischer Vergleich von drei Verfahren, die als elektronische Nasen derzeit zu wissenschaftlichen Fragestellungen eingesetzt werden. Ausgewählt wurden hierfür (1) ein portables differenzielles Ionenmobilitäts-Spektrometer (DIMS, Sionex), (2) die Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC-MS) in Kombination mit einer SPME-Faser (Solid Phase Microextraktion) als Methode der Voranreicherung, (3) ein Array von 32 Polymersensoren (Cyrano<sup>®</sup> 320). Der Vergleich beinhaltete die Untersuchung von fünf in der Atemluft vorkommenden flüchtigen, organischen Verbindungen (Ethanol, Aceton, Xylol, Heptan, Decan), jeweils als Einzelstoff und im Gemisch. Unter identischen Bedingungen sollten Identifizierbarkeit, Kalibrierbarkeit, Detektionsgrenze und Präzision bestimmt und miteinander verglichen werden.

Für die Anwendungen wurde der Polymersensor Cyrano<sup>®</sup> 320 gewählt. In der ersten Studie wurde an freiwilligen Probanden die Ausatemluft vor und nach Gebrauch von E-Zigaretten bzw. Shiao analysiert. Die Analyse sollte zeigen, ob sich die inhalative Belastung in der Ausatemluft widerspiegelt. In der zweiten Studie wurde untersucht, ob Patienten mit kardialen Erkrankungen spezielle Muster aufweisen, die eine Abgrenzung zu Gesunden, sowie eine Differenzierung zwischen kompensierter und dekomensierter Herzinsuffizienz ermöglichen.

Der Methodenvergleich zeigte, dass mit den drei Verfahren gute Ergebnisse bei Präzision und Kalibrierung erzielt werden konnten. Auch die Identifizierung der Einzelstoffe und Gemische war mit allen Geräten möglich. Das portable Ionenmobilitäts-Spektrometer war mit einer Detektionsgrenze im unteren ppb-Bereich [ $\mu\text{L}/\text{m}^3$ ] das empfindlichste Gerät. Alle Einzelstoffe sowie Gemische ergaben charakteristische und reproduzierbare zweidimensionale Muster, so dass eine Identifizierung möglich war. Xylol wies auch in niedriger ppb-Konzentration eine sehr hohe Affinität zur eingebauten Chromatographiesäule auf; daher waren für die Kalibrierung viele Reinigungszyklen notwendig. Heptan wurde bei der Ionisierung in Fragmente aufgetrennt, die ein charakteristisches Bild ergaben;

bei der Kalibrierung zeigte sich allerdings, dass einige Fragmente nicht anzureichern waren. Die Variationskoeffizienten der DIMS bewegten sich zwischen 11 und 20 %.

Der Gaschromatograph mit Massenspektrometer erreichte durch die vorangehende Mikroextraktion ebenfalls eine Detektionsgrenze im ppb-Bereich. Alle fünf Analyten konnten als Einzelstoff und im Gemisch eindeutig nach Abgleich der Spektren mit einer Datenbank identifiziert werden. Für die Analyse der Analyten erwies sich die Faser mit 65 µm Polydimethylsiloxan-Divinylbenzen (CAR-PDMS) bei einer Expositionszeit von 2 Minuten als am besten geeignet. Die Methode erzielte Variationskoeffizienten von 5-16 %. Ein Nachteil war die begrenzte Lebensdauer einer Faser. Ferner bestanden chargenspezifisch starke Abweichungen in der Empfindlichkeit der Faser. Die SPME-Faser ist portabel, so dass theoretisch eine Probennahme vor Ort am Patienten mit anschließender Analyse am stationären Massenspektrometer erfolgen könnte.

Der Polymersensor Cyranose 320<sup>®</sup> ermöglicht Untersuchungen im ppm-Bereich [mL/m<sup>3</sup>]. Bei einer Probennahmezeit von 30 s konnten anhand der sogenannten „smell-prints“ die Einzelstoffe identifiziert werden. Auch das Gemisch aus den fünf Analyten ergab einen reproduzierbaren „smellprint“. Anders als bei den beiden vorher genannten Methoden lieferte dieses Verfahren primär allerdings nur ein Muster von Aktivierungen, das aus Gründen der Auflösung nur begrenzt die Identifizierung von Einzelsubstanzen erlaubte. Für die kurzpolaren Analyten, Ethanol und Aceton konnten gemeinsame, strukturspezifische Muster festgestellt werden. Die 32 Sensoren wiesen stark voneinander abweichende Variationskoeffizienten von 2-25 % auf; die Mehrzahl bewegte sich im Bereich 2,2-10 %. Die Aufsummierung aller 32 Signale und Bestimmung der Präzision des Gesamtsignals ergab schließlich einen mittleren Variationskoeffizienten von 4,64 %.

Für die Messungen am Menschen fiel die Wahl auf den Polymersensor Cyranose 320<sup>®</sup> aufgrund der einfachen Handhabung, der Portabilität und der Möglichkeit, bei den gewählten Fragestellungen mit einer Detektionsschwelle im ppm-Bereich auszukommen.

In der ersten Anwendungsstudie wurde die Ausatemluft von 11 Probanden untersucht, nachdem diese über zwei Stunden nikotinhaltige und nikotinfreie Liquids mittels E-Zigarette oder Shiao geraucht hatten. Zur Probennahme atmeten sie 10 s durch ein Mundstück bei einer Ausatemrate von 10 L/min in einen Sammelbeutel (Bag-in-Box-System). Das Rauchen von nikotinfreiem Liquid führte zu signifikanten Änderungen gegenüber der Referenzluft in 10 Sensoren im Vergleich zur nikotinhaltigen Variante, die mit signifikanten Änderungen in 8 Sensoren einherging. Lediglich Sensor 6 zeigte einen Effekt nach nikotinhaltigem Liquid im Vergleich zum nikotinfreiem Liquid und könnte theoretisch für die Identifizierung von Nikotin herangezogen werden. Die Änderungen in der Ausatemluft nach Exposition waren im Wesentlichen auf den Trägerstoff Propylenglykol zurückzuführen, dessen Konzentration sich sowohl durch einen Vergleich mit der separaten Messung von Propylenglykol als auch durch eine Expositionsabschätzung im unteren ppm-Bereich abschätzen ließ. Dagegen war eine Detektion von Nikotin in der Ausatemluft unwahrscheinlich, da selbst unter der unrealistischen Annahme, vollständig und sofort wieder abgeatmet zu werden, die zu erwartende Konzentration zu gering wäre, um vom Polymersensor erfasst zu werden. Der Einfluss von Wasserdampf auf die Sensoren war

substanzspezifisch. So zeigte Nikotin nahezu unveränderte smellprints, während bei Propylenglykol die Erhöhung der Feuchte eine Zunahme der Antwort von Sensor 23 bewirkte; dies beeinflusste jedoch nicht die Abschätzung der Konzentration in der Ausatemluft.

Die zweite Anwendungsstudie ergab, dass die Ausatemluft von 56 Patienten mit einer kardialen Erkrankung signifikante Unterschiede gegenüber der Gruppe der Kontrollpersonen (n=43), sowie Unterschiede innerhalb der Gruppe der Kranken aufwies. Durch eine Hauptkomponentenanalyse und Faktorenanalyse konnte die Datendimension von 32 Sensoren auf 5 Faktoren („Hypersensoren“) reduziert werden. Auf der Basis dieser Faktoren konnte unabhängig von Confoundern wie Alter, Medikation und Geschlecht der Status krank/gesund durch zwei Faktoren differenziert werden; darüber hinaus waren Differenzierungen innerhalb der Gruppe der Erkrankten möglich, vor allem die Unterscheidung kompensierte versus nicht kompensierte Herzinsuffizienz. Ferner spiegelte sich die Einnahme von ASS 100 in drei weiteren Faktoren wider.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass dem sehr unterschiedlichen Aufwand der drei miteinander verglichenen Methoden auch sehr unterschiedliche Möglichkeiten zur Detektion und Identifikation von flüchtigen Komponenten der Ausatemluft entsprechen. Die Methode mittels Polymersensor-Array ist zwar am besten praktikabel, allerdings auch am wenigsten empfindlich und spezifisch. Dennoch könnte sie für praktische Anwendungen gut geeignet sein, sofern man sich auf systemische Komponenten im ppm-Konzentrationsbereich beschränkt. Die Studie zur E-Zigarette zeigte in der Tat, dass eine in großer Menge eingeatmete Komponente wie Propylenglykol tatsächlich mit hoher Sicherheit spezifisch und in dem erwarteten Konzentrationsbereich in der Ausatemluft zu finden war. Bei der Anwendung auf Patienten mit kardialen Erkrankungen fanden sich zwar deutliche Unterschiede, auch innerhalb der Gruppe der Erkrankten, eine Identifikation einzelner Substanzen war jedoch nicht möglich. Daher beschränkte sich die Analyse auf den Vergleich einzelner Sensoren und der mittels Faktorenanalyse daraus extrahierten bzw. kondensierten Muster. Im Prinzip könnte auch eine solche Methode klinisch anwendbar sein, sofern sie verlässlich genug ist. Ob und inwieweit die Verfahren der elektronischen Nase die klinische Abklärung, beispielsweise beim Verdacht auf Komorbiditäten, unterstützen können und welche Verlässlichkeit hierbei mit welchem Aufwand zu erzielen ist, muss in prospektiven Untersuchungen an großen unabhängigen Patientenkollektiven geklärt werden. Die vorliegende Arbeit weist darauf hin, dass auch jenseits der Lungen- und Atemwegserkrankungen, inhalative Belastungen sowie Erkrankungen anderer Organe als der Lunge und systemische Änderungen sinnvolle Zielgrößen sind.

## Teil E.8. Verwendete Literatur

- Al, J. 1997. Solid phase microextraction for quantitative analysis in nonequilibrium situations. *Analytical Chemistry*, 69, 1230-1236.
- BAJTAREVIC, A., AGER, C., PIENZ, M., KLIEBER, M., SCHWARZ, K., LIGOR, M., LIGOR, T., FILIPIAK, W., DENZ, H., FIEGL, M., HILBE, W., WEISS, W., LUKAS, P., JAMNIG, H., HACKL, M., HAIDENBERGER, A., BUSZEWSKI, B., MIEKISCH, W., SCHUBERT, J. & AMANN, A. 2009. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *Bmc Cancer*, 9.
- BAUMBACH, J. I., SIELEMANN, S., XIE, Z. Y. & SCHMIDT, H. 2003. Detection of the gasoline components methyl tert-butyl ether, benzene, toluene, and m-xylene using ion mobility spectrometers with a radioactive and UV ionization source. *Analytical Chemistry*, 75, 1483-1490.
- BILLER, H., HOLZ, O., WINDT, H., KOCH, W., MULLER, M., JORRES, R. A., KRUG, N. & HOHLFELD, J. M. 2011. Breath profiles by electronic nose correlate with systemic markers but not ozone response. *Respir Med*, 105, 1352-63.
- BORSODORF, H. 2006. Ion Mobility Spectrometry: Principles and Applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, 323-375.
- BRUDZEWSKI, K., OSOWSKI, S. & PAWLOWSKI, W. 2012. Metal oxide sensor arrays for detection of explosives at sub-parts-per million concentration levels by the differential electronic nose. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 161, 528-533.
- BRUINS, M., BOS, A., PETIT, P. L. C., EADIE, K., ROG, A., BOS, R., VAN RAMSHORST, G. H. & VAN BELKUM, A. 2009. Device-independent, real-time identification of bacterial pathogens with a metal oxide-based olfactory sensor. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28, 775-780.
- BUNKOWSKI, A., BODEKER, B., BADER, S., WESTHOFF, M., LITTERST, P. & BAUMBACH, J. I. 2009. MCC/IMS signals in human breath related to sarcoidosis-results of a feasibility study using an automated peak finding procedure. *Journal of Breath Research*, 3.
- CAMPAGNOLI, A., CHELI, F., SAVOINI, G., CROTTI, A., PASTORI, A. G. M. & DELL'ORTO, V. 2009. Application of an electronic nose to detection of aflatoxins in corn. *Veterinary Research Communications*, 33, S273-S275.
- CHAMBERS, S. T., BHANDARI, S., SCOTT-THOMAS, A. & SYHRE, M. 2011. Novel diagnostics: progress toward a breath test for invasive *Aspergillus fumigatus*. *Medical Mycology*, 49, S54-S61.
- CHAPMAN, E. A., THOMAS, P. S., STONE, E., LEWIS, C. & YATES, D. H. 2012. A breath test for malignant mesothelioma using an electronic nose. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*, 40, 448-54.
- CHEN, C., DONG, C., DU, Y., CHENG, S., HAN, F., LI, L., WANG, W., HOU, K. & LI, H. 2010. Bipolar Ionization Source for Ion Mobility Spectrometry Based on Vacuum Ultraviolet Radiation Induced Photoemission and Photoionization. *Analytical Chemistry*, 82, 4151-4157.
- CHEN, X., XU, F., WANG, Y., PAN, Y., LU, D., WANG, P., YING, K., CHEN, E. & ZHANG, W. 2007. A study of the volatile organic compounds exhaled by lung cancer cells in vitro for breath diagnosis. *Cancer*, 110, 835-44.
- CHO, J., HOWARD, Z. & KURUP, P. 2011. Electronic nose system combined with membrane interface probe for detection of VOCs in water. In: GOUMA, P. (ed.) *Olfaction and Electronic Nose: Proceedings of the 14th International Symposium on Olfaction and Electronic Nose*.
- COHEN, M. J. & KARASEK, F. W. 1970. PLASMA CHROMATOGRAPHY - A NEW DIMENSION FOR GAS CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY. *Journal of Chromatographic Science*, 8, 330-&.
- COOK, G. W., LAPUMA, P. T., HOOK, G. L. & ECKENRODE, B. A. 2010a. Using Gas Chromatography with Ion Mobility Spectrometry to Resolve Explosive Compounds in the Presence of Interferents. *Journal of Forensic Sciences*, 55, 1582-1591.
- COOK, G. W., LAPUMA, P. T., HOOK, G. L. & ECKENRODE, B. A. 2010b. Using gas chromatography with ion mobility spectrometry to resolve explosive compounds in the presence of interferents. *J Forensic Sci*, 55, 1582-91.

- D'AMICO, A., BONO, R., PENNAZZA, G., SANTONICO, M., MANTINI, G., BERNABEI, M., ZARLENGA, M., ROSCIONI, C., MARTINELLI, E., PAOLESSE, R. & DI NATALE, C. 2008. Identification of melanoma with a gas sensor array. *Skin Research and Technology*, 14, 226-236.
- DE GENNARO, G., DRAGONIERI, S., LONGOBARDI, F., MUSTI, M., STALLONE, G., TRIZIO, L. & TUTINO, M. 2010. Chemical characterization of exhaled breath to differentiate between patients with malignant pleural mesothelioma from subjects with similar professional asbestos exposure. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398, 3043-3050.
- DE MARTINIS, B. S. & MARTIN, C. C. S. 2002. Automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography analysis of ethanol in postmortem specimens. *Forensic Science International*, 128, 115-119.
- DENG 2004. Determination of acetone in human breath by gas chromatography-mass-spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *Journal of chromatography*, 269-275.
- DENG, C. H., ZHANG, J., YU, X. F., ZHANG, W. & ZHANG, X. M. 2004. Determination of acetone in human breath by gas chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 810, 269-275.
- DI NATALE, C., MACAGNANO, A., MARTINELLI, E., PAOLESSE, R., D'ARCANGELO, G., ROSCIONI, C., FINAZZI-AGRO, A. & D'AMICO, A. 2003. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 18, 1209-1218.
- DRAGONIERI, S., ANNEMA, J. T., SCHOT, R., VAN DER SCHEE, M. P., SPANEVELLO, A., CARRATU, P., RESTA, O., RABE, K. F. & STERK, P. J. 2009. An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung Cancer*, 64, 166-70.
- DRAGONIERI, S., SCHOT, R., MERTENS, B. J. A., LE CESSIE, S., GAUW, S. A., SPANEVELLO, A., RESTA, O., WILLARD, N. P., VINK, T. J., RABE, K. F., BEL, E. H. & STERK, P. J. 2007. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120, 856-862.
- DUTTA, R., HINES, E. L., GARDNER, J. W. & BOILOT, P. 2002. Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose. *Biomed Eng Online*, 1, 4.
- DUTTA, R., MORGAN, D., BAKER, N., GARDNER, J. W. & HINES, E. L. 2005. Identification of Staphylococcus aureus infections in hospital environment: electronic nose based approach. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 109, 355-362.
- EHMANN, R., BOEDEKER, E., FRIEDRICH, U., SAGERT, J., DIPPON, J., FRIEDEL, G. & WALLEES, T. 2012. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *Eur Respir J*, 39, 669-76.
- EMMEL, C. 2010. Permeationsuntersuchungen an Stoffgemischen und Produkten mittels automatisierter Festphasenmikroextraktion. *Gefahrstoffe Reinhaltung der Luft*, 25-30.
- ETTER, J.-F. & BULLEN, C. 2011. Electronic cigarette: users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy. *Addiction*, 106, 2017-2028.
- EZQUERRO, O., PONS, B. & TENA, M. T. 2003. Direct quantitation of volatile organic compounds in packaging materials by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 985, 247-257.
- FENS, N., DE NIJS, S. B., PETERS, S., DEKKER, T., KNOBEL, H. H., VINK, T. J., WILLARD, N. P., ZWINDERMAN, A. H., KROUWELS, F. H., JANSSEN, H. G., LUTTER, R. & STERK, P. J. 2011a. Exhaled air molecular profiling in relation to inflammatory subtype and activity in COPD. *European Respiratory Journal*, 38, 1301-1309.
- FENS, N., ROLDAAN, A. C., VAN DER SCHEE, M. P., BOKSEM, R. J., ZWINDERMAN, A. H., BEL, E. H. & STERK, P. J. 2011b. External validation of exhaled breath profiling using an electronic nose in the discrimination of asthma with fixed airways obstruction and chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical and Experimental Allergy*, 41, 1371-1378.
- FENS, N., ZWINDERMAN, A. H., VAN DER SCHEE, M. P., DE NIJS, S. B., DIJKERS, E., ROLDAAN, A. C., CHEUNG, D., BEL, E. H. & STERK, P. J. 2009. Exhaled Breath Profiling Enables Discrimination of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 180, 1076-1082.
- FLOURIS, A. D., POULIANITI, K. P., CHORTI, M. S., JAMURTAS, A. Z., KOURETAS, D., OWOLABI, E. O., TZATZARAKIS, M. N., TSATSAKIS, A. M. & KOUTEDAKIS, Y. 2012. Acute effects of electronic and tobacco cigarette smoking on complete blood count. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3600-3603.

- GARDNER, J. W. 2004. *Review of conventional electronic noses and their possible application to the detection of explosives.*
- GASPAR, A., KUNENKOV, E. V., LOCK, R., DESOR, M., PERMINOVA, I. & SCHMITT-KOPPLIN, P. 2009. Combined utilization of ion mobility and ultra-high-resolution mass spectrometry to identify multiply charged constituents in natural organic matter. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 23, 683-8.
- GEY 1998. *Instrumentelle Bioanalytik.*
- GONIEWICZ, M. L. & ZIELINSKA-DANCH, W. 2012. Electronic Cigarette Use Among Teenagers and Young Adults in Poland. *Pediatrics*, 130, E879-E885.
- GREITER, M. B., KECK, L., SIEGMUND, T., HOESCHEN, C., OEH, U. & PARETZKE, H. G. 2010. Differences in Exhaled Gas Profiles Between Patients with Type 2 Diabetes and Healthy Controls. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 12, 455-463.
- GREULICH T, H. A., GRABISCH A, KOEPKE J, SCHMID S, NOESKE S, NELL C, WENCKER M, JÖRRES RA, VOGELMEIER CF, KÖHLER U, KOCZULLA AR 2012. Detection of obstructive sleep apnoea by an electronic nose. *Eur Respir J*, Epub ahead of print.
- GROTE, C. 1999. Entwicklung und Validierung eines automatisierten Systems zur quasi-kontinuierlichen Analyse organischer Wasserinhaltsstoffe mittels Festphasenmikroextraktion (SPME).
- GUO, D. M., ZHANG, D., LI, N. M., ZHANG, L. & YANG, J. H. 2010. Diabetes Identification and Classification by Means of a Breath Analysis System. *Medical Biometrics, Proceedings*, 6165, 52-63.
- HATTESOHL, A. D., JORRES, R. A., DRESSEL, H., SCHMID, S., VOGELMEIER, C., GREULICH, T., NOESKE, S., BALS, R. & KOCZULLA, A. R. 2011. Discrimination between COPD with and without alpha 1-antitrypsin deficiency using an electronic nose. *Respirology*.
- HOFBAUER, J. D. 2010. Analyse der Ausatemluft mittels elektronischer Nase bei Patienten mit Diabetes mellitus. *Pneumologie*, 64, S206.
- IONESCU, R., BROZA, Y., SHALTIELI, H., SADEH, D., ZILBERMAN, Y., FENG, X., GLASS-MARMOR, L., LEJBKOWICZ, I., MUELLEN, K., MILLER, A. & HAICK, H. 2011. Detection of Multiple Sclerosis from Exhaled Breath Using Bilayers of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Single-Wall Carbon Nanotubes. *Acs Chemical Neuroscience*, 2, 687-693.
- KANG, N. K., JUN, T. S., LA, D.-D., OH, J. H., CHO, Y. W. & KIM, Y. S. 2010. Evaluation of the limit-of-detection capability of carbon black-polymer composite sensors for volatile breath biomarkers. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 147, 55-60.
- KOCZULLA, A. R., HATTESOHL, A., BILLER, H., HOFBAUER, J., HOHLFELD, J., OESER, C., GESSNER, C., VOGELMEIER, C., BAUMBACH, J. I., WIRTZ, H. & JORRES, R. A. 2011. Smelling diseases? A short review on electronic noses. *Pneumologie (Stuttgart, Germany)*, 65, 401-5.
- KROMIDAS 2011. Methodvalidierung in der Analytik. *Novia GmbH*, 1-33.
- KUMAR, B., PARK, Y. T., CASTRO, M., GRUNLAN, J. C. & FELLER, J. F. 2012. Fine control of carbon nanotubes-polyelectrolyte sensors sensitivity by electrostatic layer by layer assembly (eLbL) for the detection of volatile organic compounds (VOC). *Talanta*, 88, 396-402.
- LARROQUE, V., DESAUZIERS, V. & MOCHO, P. 2006. Comparison of two solid-phase microextraction methods for the quantitative analysis of VOCs in indoor air. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 1457-1464.
- LEWIS, N. S. 2004. Comparisons between mammalian and artificial olfaction based on arrays of carbon black-polymer composite vapor detectors. *Accounts of Chemical Research*, 37, 663-672.
- LI, C., HEINEMANN, P. H. & IRUDAYARAJ, J. 2007. Detection of apple deterioration using an electronic nose and zNose (TM). *Transactions of the Asabe*, 50, 1417-1425.
- LIGOR, M., LIGOR, T., BAJTAREVIC, A., AGER, C., PIENZ, M., KLIEBER, M., DENZ, H., FIEGL, M., HILBE, W., WEISS, W., LUKAS, P., JAMNIG, H., HACKL, M., BUSZEWSKI, B., MIEKISCH, W., SCHUBERT, J. & AMANN, A. 2009. Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 47, 550-560.

- LIGOR, T., LIGOR, M., AMANN, A., AGER, C., BACHLER, M., DZIEN, A. & BUSZEWSKI, B. 2008. The analysis of healthy volunteers' exhaled breath by the use of solid-phase microextraction and GC-MS. *Journal of Breath Research*, 2.
- LLOMPART, M., LI, K. & FINGAS, M. 1999. Headspace solid phase microextraction (HSSPME) for the determination of volatile and semivolatile pollutants in soils. *Talanta*, 48, 451-459.
- LUO, J., LUO, J., WANG, L., SHI, X., YIN, J., CREW, E., LU, S., LESPERANCE, L. M. & ZHONG, C.-J. 2012. Nanoparticle-structured thin film sensor arrays for breath sensing. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 161, 845-854.
- MACHADO, R. F., LASKOWSKI, D., DEFFENDERFER, O., BURCH, T., ZHENG, S., MAZZONE, P. J., MEKHAIL, T., JENNINGS, C., STOLLER, J. K., PYLE, J., DUNCAN, J., DWEIK, R. A. & ERZURUM, S. C. 2005. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171, 1286-1291.
- MCAULEY, T. R., HOPKE, P. K., ZHAO, J. & BABAIAAN, S. 2012. Comparison of the effects of e-cigarette vapor and cigarette smoke on indoor air quality. *Inhalation Toxicology*, 24, 850-857.
- MCCULLOCH, M., JEZIERSKI, T., BROFFMAN, M., HUBBARD, A., TURNER, K. & JANECKI, T. 2006. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integrative Cancer Therapies*, 5, 30-39.
- MCGRATH, L. T., PATRICK, R. & SILKE, B. 2001. Breath isoprene in patients with heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 3, 423-427.
- MIKI, A. 1996. Application of ion mobility spectrometry to the rapid screening of methamphetamine incorporated hair. *Journal of chromatography B*, 319-328.
- NITSCHKE, L., GÖEN, T. & VÖLKE, W. 2010. Belastung der allgemeinen Bevölkerung mit Glykolen / Glykolethern Im Auftrag. LGL.
- PATTERSON, S. G., BAYER, C. W., HENDRY, R. J., SELLERS, N., LEE, K. S., VIDAKOVIC, B., MIZAIKOFF, B. & GABRAM-MENDOLA, S. G. A. 2011. Breath Analysis by Mass Spectrometry: A New Tool for Breast Cancer Detection? *American Surgeon*, 77, 747-751.
- PAWLISZYN 1997a. Solid Phase Microextraction (SPME). *The chemical educator*.
- PAWLISZYN 1997b. *Solid phase microextraction theory and practice*, Wiley-VCH.
- PELLEGRINO, R. M., TINGHINO, B., MANGIARACINA, G., MARANI, A., VITALI, M., PROTANO, C., OSBORN, J. F. & CATTARUZZA, M. S. 2012. Electronic cigarettes: an evaluation of exposure to chemicals and fine particulate matter (PM). *Annali di igiene : medicina preventiva e di comunita*, 24, 279-88.
- PENG, G., HAKIM, M., BROZA, Y. Y., BILLAN, S., ABDAL-BORTNYAK, R., KUTEN, A., TISCH, U. & HAICK, H. 2010. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *British Journal of Cancer*, 103, 542-551.
- PHILIPPS 1997. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Analytical Chemistry*, 272-278.
- PHILLIPS, M., CATANEO, R. N., CHEEMA, T. & GREENBERG, J. 2004. Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus. *Clinica Chimica Acta*, 344, 189-194.
- PING, W., YI, T., XIE, H. B. & SHEN, F. R. 1997. A novel method for diabetes diagnosis based on electronic nose. *Biosensors & Bioelectronics*, 12, 1031-1036.
- PLEIL, J. D. & LINDSTROM, A. B. 1997. Exhaled human breath measurement method for assessing exposure to halogenated volatile organic compounds. *Clinical Chemistry*, 43, 723-730.
- POLI, D., GOLDONI, M., CORRADI, M., ACAMPA, O., CARBOGNANI, P., INTERNULLO, E., CASALINI, A. & MUTTI, A. 2010. Determination of aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer by means of on-fiber-derivatization SPME-GC/MS. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878, 2643-2651.
- POLOSA, R., CAPONNETTO, P., MORJARIA, J. B., PAPALE, G., CAMPAGNA, D. & RUSSO, C. 2011. Effect of an electronic nicotine delivery device (e-Cigarette) on smoking reduction and cessation: a prospective 6-month pilot study. *Bmc Public Health*, 11.

- POZZI, R., BOCCHINI, P., PINELLI, F. & GALLETTI, G. C. 2006. Rapid analysis of tile industry gaseous emissions by ion mobility spectrometry and comparison with solid phase micro-extraction/gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Environmental Monitoring*, 8, 1219-1226.
- PRESTON, D. 1977. Plasma chromatography of Phosphorus esters. *Analytical Chemistry*, 49.
- PRETI, G., THALER, E., HANSON, C. W., TROY, M., EADES, J. & GELPERIN, A. 2009. Volatile compounds characteristic of sinus-related bacteria and infected sinus mucus: Analysis by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877, 2011-2018.
- RUDNICKA, J., KOWALKOWSKI, T., LIGOR, T. & BUSZEWSKI, B. 2011. Determination of volatile organic compounds as biomarkers of lung cancer by SPME-GC-TOF/MS and chemometrics. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879, 3360-3366.
- RÜCKER 2008. Instrumentelle pharmazeutische Analytik. *Buch*.
- RUZSANYI, V. 2005. Analyse flüchtiger Metaboliten von der Atemluft mittels Ionenmobilitätspektrometer.
- SAMARA, M., TANG, W. & CIKACH, F. 2013. Single exhaled breath metabolomic analysis identifies unique breathprint in patients with acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 61, 1463-4.
- SCHRIPP, T., MARKEWITZ, D., UHDE, E. & SALTHAMMER, T. 2013. Does e-cigarette consumption cause passive vaping? *Indoor air*, 23, 25-31.
- SCOTT-THOMAS, A. J., SYHRE, M., PATTEMORE, P. K., EPTON, M., LAING, R., PEARSON, J. & CHAMBERS, S. T. 2010. 2-Aminoacetophenone as a potential breath biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the cystic fibrosis lung. *BMC Pulm Med*, 10, 56.
- SENESAC, L. & THUNDAT, T. G. 2008. Nanosensors for trace explosive detection. *Materials Today*, 11, 28-36.
- SHYKHON, M. E., MORGAN, D. W., DUTTA, R., HINES, E. L. & GARDNER, J. W. 2004. Clinical evaluation of the electronic nose in the diagnosis of ear, nose and throat infection: a preliminary study. *Journal of Laryngology and Otology*, 118, 706-709.
- SI, P., MORTENSEN, J., KORNOLOV, A., DENBORG, J. & MOLLER, P. J. 2007. Polymer coated quartz crystal microbalance sensors for detection of volatile organic compounds in gas mixtures. *Analytica Chimica Acta*, 597, 223-230.
- SIEGEL, M. B., TANWAR, K. L. & WOOD, K. S. 2011. Electronic Cigarettes As a Smoking-Cessation Tool Results from an Online Survey. *American Journal of Preventive Medicine*, 40, 472-475.
- SIELEMANN, S. 1995.
- SIONEX 2005. Sionex Corporation:MicroAnalyzer Sereis Product Manual. 1-73.
- SMITHDETECTION 2004. The practical guide to the Cyranose 320. Part number 02-40152.
- SONG, G., QIN, T., LIU, H., XU, G. B., PAN, Y. Y., XIONG, F. X., GU, K. S., SUN, G. P. & CHEN, Z. D. 2009. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients. *Lung Cancer*, 67, 227-231.
- SUPELCO 2009/2010. Chromatographieprodukte für Analytik und Aufreinigung. *Sigma Aldrich*.
- SYHRE, M., SCOTTER, J. M. & CHAMBERS, S. T. 2008. Investigation into the production of 2-Pentylfuran by *Aspergillus fumigatus* and other respiratory pathogens in vitro and human breath samples. *Medical Mycology*, 46, 209-215.
- SZCZUREK, A., MACIEJEWSKA, M., FLISOWSKA-WIERCIK, B. & BODZOJ, L. 2009. Application of a sensor system for determining the kind and quantity of two component VOC mixtures in air after the use of solvents. *Journal of Environmental Monitoring*, 11, 1942-1951.
- TAURINO, A. M., CAPONE, S., SICILIANO, P., TOCCOLI, T., BOSCHETTI, A., GUERINI, L. & IANNOTTA, S. 2003. Nanostructured TiO<sub>2</sub> thin films prepared by supersonic beams and their application in a sensor array for the discrimination of VOC. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 92, 292-302.
- THOME 2013. Messung der Ausatemluft mittels elektronischer Nase: Etablierung der

Methode und Anwendung bei Patienten mit Diabetes mellitus. *Dissertation*.

- TIEBE, C., MIESSNER, H., KOCH, B. & HUEBERT, T. 2009. Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) by ion-mobility spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 2313-2323.
- TIMMS, C., THOMAS, P. S. & YATES, D. H. 2012. Detection of gastro-oesophageal reflux disease (GORD) in patients with obstructive lung disease using exhaled breath profiling. *Journal of Breath Research*, 6.
- TUDURI, L., DESAUZIERS, V. & FANLO, J. L. 2001. Potential of solid-phase microextraction fibers for the analysis of volatile organic compounds in air. *Journal of Chromatographic Science*, 39, 521-529.
- TUDURI, L., DESAUZIERS, V. & FANLO, J. L. 2002. Dynamic versus static sampling for the quantitative analysis of volatile organic compounds in air with polydimethylsiloxane - Carboxen solid-phase microextraction fibers. *Journal of Chromatography A*, 963, 49-56.
- TUMBIOLO, S., GAL, J. F., MARIA, P. C. & ZERBINATI, O. 2005. SPME sampling of BTEX before GC/MS analysis: Examples of outdoor and indoor air quality measurements in public and private sites. *Annali Di Chimica*, 95, 757-766.
- ULANOWSKA, A., KOWALKOWSKI, T., HRYNKIEWICZ, K., JACKOWSKI, M. & BUSZEWSKI, B. 2011a. Determination of volatile organic compounds in human breath for *Helicobacter pylori* detection by SPME-GC/MS. *Biomedical Chromatography*, 25, 391-397.
- ULANOWSKA, A., KOWALKOWSKI, T., TRAWINSKA, E. & BUSZEWSKI, B. 2011b. The application of statistical methods using VOCs to identify patients with lung cancer. *Journal of Breath Research*, 5.
- ULANOWSKA, A., LIGOR, M., AMANN, A. & BUSZEWSKI, B. 2008. Determination of Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath by Ion Mobility Spectrometry. *Chemia Analityczna*, 53, 953-965.
- VARDAVAS, C. I., ANAGNOSTOPOULOS, N., KOUGIAS, M., EVANGELOPOULOU, V., CONNOLLY, G. N. & BEHRAKIS, P. K. 2012. Short-term Pulmonary Effects of Using an Electronic Cigarette Impact on Respiratory Flow Resistance, Impedance, and Exhaled Nitric Oxide. *Chest*, 141, 1400-1406.
- VAUTZ, W. & BAUMBACH, J. I. 2008. Analysis of bio-processes using ion mobility spectrometry. *Engineering in Life Sciences*, 8, 19-25.
- VAUTZ, W., BAUMBACH, J. I. & UHDE, E. 2006a. Detection of emissions from surfaces using ion mobility spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384, 980-986.
- VAUTZ, W., NOLTE, J., FOBBE, R. & BAUMBACH, J. I. 2009. Breath analysis-performance and potential of ion mobility spectrometry. *Journal of Breath Research*, 3.
- VAUTZ, W., ZIMMERMANN, D., HARTMANN, M., BAUMBACH, J. I., NOLTE, J. & JUNG, J. 2006b. Ion mobility spectrometry for food quality and safety. *Food Additives and Contaminants*, 23, 1064-1073.
- VEREB, H., DIETRICH, A. M., ALFEELI, B. & AGAH, M. 2011. The Possibilities Will Take Your Breath Away: Breath Analysis for Assessing Environmental Exposure. *Environmental Science & Technology*, 45, 8167-8175.
- VOSS, A., WITT, K. & FISCHER, R. S., POITZ, W., KECHAGIAS, V., SURBER, R., FIGULLA, H. R. 2012. Smelling heart failure from human skin odor with an electronic nose. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.*
- WANG, V. S. & LU, M. Y. 2009. Application of solid-phase microextraction and gas chromatography- mass spectrometry for measuring chemicals in saliva of synthetic leather workers. *Journal of Chromatography B- Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877, 24-32.
- WEBER, J. 2003. Entwicklungen zur Festphasenextraktion für flüchtige Verbindungen unter Einsatz der Gaschromatographie/Massenspektrometrie. 12-16.
- WESTHOFF, M., LITTERST, P., FREITAG, L., URFER, W., BADER, S. & BAUMBACH, J. I. 2009. Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: results of a pilot study. *Thorax*, 64, 744-748.
- XIE, H. F., YANG, Q. D., SUN, X. X., YANG, J. J. & HUANG, Y. P. 2006. Gas sensor arrays based on polymer-carbon black to detect organic vapors at low concentration. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 113, 887-891.
- XIE, Z., SIELEMANN, S., SCHMIDT, H., LI, F. & BAUMBACH, J. I. 2002. Determination of acetone, 2-butanone, diethyl ketone and BTX using HSCC-UV-IMS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 372, 606-610.

- 
- YOUNG, H., ROSSITER, K., WANG, M. & MILLER, M. 1999. Characterization of Royal Gala apple aroma using electronic nose technology-potential maturity indicator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5173-5177.
- YU, H., XU, L. & WANG, P. 2005a. Solid phase microextraction for analysis of alkanes and aromatic hydrocarbons in human breath. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 826, 69-74.
- YU, J. B., BYUN, H. G., SO, M. S. & HUH, J. S. 2005b. Analysis of diabetic patient's breath with conducting polymer sensor array. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 108, 305-308.

**Teil F.9. Anhang**

**A1: Fragebogen Patient**

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname ID-Nummer

\_\_\_\_\_  
Geburtsdatum Telefon Größe Gewicht

Erste Zigarette (Jahr)\_\_\_\_\_ letzte Zigarette (Datum) \_\_\_\_\_ Zigaretten/Tag:\_\_\_\_\_

**Diagnosen (seit):**

**aktuelle Medikamente (seit):**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Aktuelle Befunde:**

Ödeme peripher  
Lungenödem  
Sinusrhythmus  
Ventr. Extrasystolen


AV-Block (Grad)

arterieller Blutdruck


Supraventr. ES

Arrythmia absoluta

Herzschrittmacher

Linksherzhypertrophie

Rechtsherzhypertrophie


Pulmonalarterieller Druck

pro-BNP [pg/mL]


weitere Befunde / Bemerkungen:

--

## A2: Faktorladungen

	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5
S1	0,870005	-0,012805	0,250582	0,323930	-0,017266
S2	0,806611	-0,031279	-0,037213	0,507848	-0,031812
S3	0,717343	0,017104	0,177417	0,351613	0,444676
S4	0,070051	0,065636	-0,392297	0,900665	0,117672
S5	0,186463	-0,006883	-0,110579	0,090750	0,732136
S6	0,646180	-0,047176	-0,296342	-0,431489	-0,324923
S7	0,025022	0,998181	0,000045	0,009618	0,012641
S8	-0,072158	-0,012772	-0,269400	0,029047	0,403325
S9	0,645665	-0,029942	0,573910	-0,172461	0,331740
S10	0,945773	-0,011740	-0,021741	0,010380	0,176098
S11	-0,059624	0,991834	0,011967	-0,095819	-0,047922
S12	0,849865	-0,054058	0,229933	0,102115	-0,294118
S13	0,029164	0,997571	0,006821	-0,007736	-0,047219
S14	0,361178	0,057025	-0,151513	0,869996	0,134084
S15	-0,024431	0,993938	0,036312	-0,089750	-0,031264
S16	0,844103	0,021520	-0,181346	0,315746	0,325075
S17	-0,020885	0,998875	0,003260	-0,023516	-0,024996
S18	0,206712	-0,043923	0,864297	-0,357380	-0,085951
S19	-0,048960	0,984884	-0,066924	0,145086	0,010257
S20	-0,111457	-0,014717	0,905172	-0,207722	-0,032860
S21	0,123791	0,970567	0,017003	0,167321	0,089507
S22	-0,039769	0,060251	-0,405037	0,900303	0,101891
S23	-0,018349	-0,075781	-0,177466	-0,670759	-0,530438
S24	0,285047	0,082988	0,112483	0,642423	0,570628
S25	-0,028913	0,990615	-0,053029	0,119485	0,001429
S26	-0,115487	-0,018556	0,914198	-0,298327	0,071947
S27	-0,047603	0,985779	-0,080999	0,137375	-0,012486
S28	-0,153343	0,068280	-0,203789	0,942966	0,086154
S29	-0,471476	0,005078	0,266005	-0,691803	0,224041
S30	0,118440	-0,089447	0,258273	0,115815	0,763699
S31	-0,435289	-0,025815	0,173531	-0,845745	-0,010484
S32	0,837338	0,046046	-0,282137	-0,122628	0,309400

## Signifikante Sensoren mit p-Wert>0,5 sind grau markiert

### A3: Faktorenanalyse: Krank vs. Gesund

	N1	N2	Exact p
Faktor 1	56	43	0,743836
Faktor 2	56	43	0,221745
Faktor 3	56	43	0,000025
Faktor 4	56	43	0,759842
Faktor 5	56	43	0,000124

### A4: Faktorenanalyse:

#### Nur kranke Gruppe: Kompensiert vs. nicht-kompensiert

	N1	N2	Exact p
Faktor 1	39	17	0,087223
Faktor 2	39	17	0,249441
Faktor 3	39	17	0,548185
Faktor 4	39	17	0,724128
Faktor 5	39	17	0,000015

### A5: Faktorenanalyse

#### Nur kranke Gruppe: Einnahme ASS 100

	N1	N2	Exact p
Faktor 1	30	25	0,024265
Faktor 2	30	25	0,005072
Faktor 3	30	25	0,465252
Faktor 4	30	25	0,004796
Faktor 5	30	25	0,089469

**A6: Faktorenanalyse****Nur kranke Gruppe: Kardiomyopathie kompensiert vs. Herzinfarkt**

	N1	N2	Exact p
Faktor 1	34	9	0,281195
Faktor 2	34	9	0,566711
Faktor 3	34	9	0,042457
Faktor 4	34	9	0,988302
Faktor 5	34	9	0,000001

**A7: Vergleich Mann Whitney U Test****Krank, kompensiert versus dekompenziert**

	N1	N2	Exact p
S1	39	17	0,479704
S2	39	17	0,457939
S3	39	17	0,005264
S4	39	17	0,160675
S5	39	17	0,000000
S6	39	17	0,043268
S7	39	17	0,000129
S8	39	17	0,010993
S9	39	17	0,249441
S10	39	17	0,155373
S11	39	17	0,189205
S12	39	17	0,887768
S13	39	17	0,804900
S14	39	17	0,008827
S15	39	17	0,060884
S16	39	17	0,037858
S17	39	17	0,049303
S18	39	17	0,901722
S19	39	17	0,242166
S20	39	17	0,818589
S21	39	17	0,026115
S22	39	17	0,017612
S23	39	17	0,037858
S24	39	17	0,000002
S25	39	17	0,140248
S26	39	17	0,468753
S27	39	17	0,242166
S28	39	17	0,621078
S29	39	17	0,596323
S30	39	17	0,000000
S31	39	17	0,513362
S32	39	17	0,000250

**A8: Vergleich Mann Whitney U Test****Gesund, Geschlecht**

	N1	N2	Exact p
S1	30	13	0,455951
S2	30	13	0,906513
S3	30	13	0,539046
S4	30	13	0,455951
S5	30	13	0,666522
S6	30	13	0,300376
S7	30	13	0,647607
S8	30	13	0,592215
S9	30	13	0,592215
S10	30	13	0,927224
S11	30	13	0,193130
S12	30	13	0,784013
S13	30	13	0,844806
S14	30	13	0,824423
S15	30	13	0,947983
S16	30	13	0,455951
S17	30	13	0,804154
S18	30	13	0,394884
S19	30	13	0,647607
S20	30	13	0,151242
S21	30	13	0,628911
S22	30	13	0,647607
S23	30	13	0,221930
S24	30	13	0,521856
S25	30	13	0,471986
S26	30	13	0,325741
S27	30	13	0,338917
S28	30	13	0,380407
S29	30	13	0,380407
S30	30	13	0,647607
S31	30	13	0,221930
S32	30	13	0,906513

## A9: Vergleich Mann Whitney U Test

### Krank versus gesund

	N1	N2	Exact p
S1	56	43	0,471046
S2	56	43	0,116561
S3	56	43	0,126827
S4	56	43	0,046569
S5	56	43	0,000827
S6	56	43	0,000124
S7	56	43	0,065759
S8	56	43	0,675817
S9	56	43	0,000361
S10	56	43	0,479758
S11	56	43	0,006404
S12	56	43	0,258491
S13	56	43	0,121610
S14	56	43	0,125069
S15	56	43	0,333282
S16	56	43	0,506408
S17	56	43	0,000322
S18	56	43	0,595614
S19	56	43	0,035302
S20	56	43	0,991591
S21	56	43	0,161818
S22	56	43	0,096544
S23	56	43	0,001259
S24	56	43	0,000058
S25	56	43	0,238216
S26	56	43	0,615261
S27	56	43	0,030594
S28	56	43	0,991591
S29	56	43	0,000042
S30	56	43	0,208650
S31	56	43	0,001360
S32	56	43	0,002538

## Teil G.10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. med. Dennis Nowak für die Möglichkeit meine Arbeit am Institut der Arbeits-Sozial- und Umweltmedizin durchzuführen, sowie für die Bereitstellung der Geräte, die die Anfertigung dieser Dissertation ermöglichten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. rer. nat. Dipl.-Biol. Rudolf Jörres für die Überlassung des interessanten Themas und die freundliche Unterstützung, sowie humorvolle Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Herrn Dr. Rudolf Schierl für die hervorragende Betreuung. Seine stetige Hilfsbereitschaft und Ideen haben die Arbeit wesentlich bereichert.

Danken möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts der Arbeits-Sozial- und Umweltmedizin, die mich in der gesamten Zeit fachlich und darüber hinaus, sehr unterstützt haben. Insbesondere bedanke ich mich bei Frau Kronseder für die Hilfestellung und Unterstützung bei den Messungen mit der Ionenmobilitäts-Spektrometrie. Sowie bei Frau Elke Fischer für die Hilfe und Unterstützung bei den GC-MS Messungen. Bei Bettina, Elke, Gisela und Ina bedanke ich mich für die Freundschaft, die sich in dieser Zeit entwickelt hat.

Ein spezieller Dank gilt Herrn Dr. med. Philipp Jung für die Bereitschaft seine Patienten an dieser Studie teilnehmen zu lassen. In diesem Zusammenhang bedanke ich mich herzlich bei Gordana und Marlies, die mich während der ganzen Zeit in der Ambulanz unterstützt haben und mich reibungslos für die Messungen in den klinischen Ablauf integriert haben.

Überdies hinaus bedanke ich mich bei Herrn Dr. Schober vom Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) für die Zusammenarbeit bei der E-Zigaretten-Studie.

Besonderer Dank gilt Michael, sowie allen Patienten, Freunden und meinen Kolleginnen/Kollegen der PARI GmbH für die Teilnahme an den Messungen. Ohne sie wäre die Durchführung nicht möglich gewesen.

In Andenken und Dankbarkeit an Irene.

Meiner Schwester Mandy danke ich von Herzen für ihr allseits offenes Ohr, ihre Unterstützung, Motivation und für all die lustigen und verrückten Momente, die mir alle sehr kostbar sind.

In Liebe bedanke ich mich bei Chris-für alles.

Zuletzt danke ich meinen Eltern für ihre Liebe und liebevolle Unterstützung und dafür, dass sie mir das alles ermöglicht haben und immer für mich da sind.

## Teil H.11. Lebenslauf

### Angaben zur Person

Name: Kim-Dung Nguyen-Huu  
Geburtsdatum/ort: 14.09.1984 in Mannheim

### Schulbildung

1991–1995 Grundschule Nordendorf  
1995–2004 Gymnasium Wertingen  
Abschluss Abitur

### Berufsausbildung

2005-2009 Studium der Pharmazie  
an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
10/2009 Abschluss zur Pharmazeutin  
12/2010 Approbation zur Apothekerin

### Praktische Berufsausbildung

11/2009–04/2010 Pharmaziepraktikantin bei bene-Arzneimittel; München  
5/2010–10/2010 Pharmaziepraktikantin in der Ammer-Apotheke; Weilheim

Seit 2011

Tätigkeit als Offizin-Apothekerin; Peißenberg

Seit 2011

Tätigkeit als Medical Affairs Assistant bei der PARI GmbH;  
Starnberg

### Wissenschaftliche Tätigkeit

Seit 01/2011

Doktorarbeit am Institut und Poliklinik für Arbeits- und  
Umweltmedizin der LMU München unter Leitung von Priv.  
Doz. Dr. rer. nat. Dipl.-Biol. Rudolf Jörres

## **Eidesstattliche Versicherung**

Ich erkläre hiermit ausdrücklich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

*Technischer Vergleich dreier elektronischer Nasen und ihre Anwendung in Diagnostik und Monitoring*

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Peißenberg, 03.09.2013

Kim-Dung Nguyen-Huu