

Aus der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie
Der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Volk

**Quantifizierung von volatilen Aceton-Oligomeren in Raum- und Atemluft
mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2018

vorgelegt von: Ramona Klumpp
geb. am: 23.04.1991 in Bühl

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
1. Zusammenfassung.....	1
1.1. Zusammenfassung (Deutsch)	1
1.2. Summary (English).....	3
2. Einleitung.....	4
2.1. Ausatemluftanalyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie	4
2.1.1. Allgemeine Daten zur Atemluftanalytik und zur Ionenmobilitätsspektrometrie.....	4
2.1.2. Einblick in die Funktion der Ionenmobilitätsspektrometrie.....	5
2.2. Kalibrationsverfahren.....	6
2.2.1. Allgemeine Informationen zu verschiedenen Kalibrationsmethoden	6
2.2.2. Überblick über die Kalibration mittels HovaCAL	7
2.3. Aceton und sein medizinischer Stellenwert	8
2.3.1. Allgemeines zum Stoff Aceton	8
2.3.2. Medizinischer Stellenwert von Aceton.....	9
2.3.3. Aceton in der Ausatemluft	13
2.3.4. Aceton in der Raumluft	16
2.4. Fragestellungen der Arbeit.....	18
3. Material und Methodik	19
3.1. Multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS).....	19
3.1.1. Aufbau und Funktion des MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“	19
3.1.2. Messeinstellungen und Messprotokoll	27
3.2. Auswertung der MCC-IMS-Signale	28
3.3. Kalibration mittels HovaCAL.....	30

3.3.1.	Funktionsprinzip des HovaCAL 4836-VOC	30
3.3.2.	Messeinstellungen des HovaCAL 4836-VOC zur Kalibration von Aceton.....	34
3.4.	Messungen der Raumluft	35
3.4.1.	Messort: Intensivstation.....	35
3.4.2.	Messort: Experimentelles Labor des Center of Breath Research.....	36
3.5.	Messungen der Inspirationsluft	36
3.6.	Patientenmessungen.....	37
3.6.1.	Ethikvotum	37
3.6.2.	Patientenaufklärung und Einwilligung	37
3.6.3.	Versuchsaufbau	38
3.7.	Messungen der gesunden Probanden	39
3.8.	24-Stunden-Tagesprofil.....	40
3.9.	Messungen im Tierversuch.....	41
3.9.1.	Versuchstiere.....	41
3.9.2.	Medikamente und Chemikalien	41
3.9.3.	Anästhesie und chirurgische Vorbereitung	42
3.9.4.	Versuchsprotokoll.....	43
3.9.5.	Versuchsaufbau zur Atemluftanalyse.....	44
4.	Ergebnisse.....	47
4.1.	Kalibration mittels HovaCAL.....	47
4.2.	Messungen der Raumluft	48
4.3.	Messungen der Inspirationsluft	50
4.4.	Messungen der Ausatemluft	52
4.4.1.	Messungen der gesunden Probanden.....	52
4.4.2.	Messungen der Intensivpatienten.....	53
4.4.3.	Messungen im Tierversuch.....	53
4.4.4.	Tagesprofil eines spontanatmenden Freiwilligen	56

4.4.5.	Tagesprofile der beatmeten Versuchstiere.....	57
5.	Diskussion.....	59
5.1.	Wertung der Methodik.....	59
5.1.1.	Ausatempluftanalytik	59
5.1.2.	Kalibration mittels HovaCAL.....	61
5.1.3.	Raumluftmessungen.....	61
5.1.4.	Messungen der Inspirationsluft	62
5.1.5.	Messungen der Ausatemluft	62
5.2.	Diskussion der Ergebnisse	64
5.2.1.	Kalibration mittels HovaCAL.....	64
5.2.2.	Raumluftmessungen.....	64
5.2.3.	Messungen der Inspirationsluft	65
5.2.4.	Messungen der Ausatemluft	66
5.2.5.	Aceton-Monomer-Dimer-Verteilung.....	70
5.3.	Schlussfolgerungen.....	71
6.	Literaturverzeichnis.....	73
7.	Publikationen.....	82
8.	Danksagungen	83

Abkürzungsverzeichnis

⁶³Ni	Radioaktives 63-Nickelisotop
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body-Mass-Index
BNP	B-Natriuretisches Peptid
CBR	Center of Breath Research
CDT	Continuous dilution technique (deutsch: kontinuierliche Verdünnungsmethode)
CoA	Coenzym A
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (deutsch: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CRP	C-reaktives Protein
EEG	Elektroenzephalogramm
FN	Feuchte Nullmessung
HME	Heat and Moisture Exchanger (deutsch: Wärme- und Feuchtigkeitstauscher)
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
HovaCAL	Hot-Vapor-Calibration
ICU	Intensive Care Unit (deutsch: Intensivstation)
IMS	Ionenmobilitätsspektrometer, bzw. Ionenmobilitätsspektrometrie
IOI	Interdisziplinäre operative Intensivstation der Universitätsklinik des Saarlandes
$\frac{1}{K_0\text{-Wert}}$	Driftzeit
keV	Kiloelektronenvolt
kg KG	Kilogramm Körpergewicht
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MBq	Megabecquerel

MCC	Multikapillarsäule
MCC-IMS	Multikapillarsäulengekoppeltes Ionenmobilitätsspektrometer
MIMA	MS-IMS-Mapper (Software zu VOC-Identifizierung)
N₂	Stickstoff
O₂	Sauerstoff
pCO₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck
PFA	Perfluoralkoxy-Polymere
pO₂	Sauerstoffpartialdruck
ppb	Parts per billion
ppm	Parts per million
ppt	Parts per trillion
RT	Retentionszeit
TN	Trockene Nullmessung
V	Volt
VOCs	Volatile organic compounds (deutsch: flüchtige organische Stoffe)
ZVK	Zentralvenöser Katheter

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: 3D-Modell von Aceton	8
Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung des Stoffwechsels der Ketonkörper	10
Abbildung 3: Reaktionsschritte der Ketonkörpersynthese	12
Abbildung 4: Reaktionsschritte des Abbaus von 3-Hydroxybutyrat zu Acetyl-CoA	13
Abbildung 5: MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“, Vorderansicht	19
Abbildung 6: MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“, Rückansicht.....	19
Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Ionenmobilitätsspektrometers	20
Abbildung 8: Querschnitt durch eine Multikapillarsäule	22
Abbildung 9: Übersicht des Versuchsaufbaus der vorliegenden Arbeit.....	23
Abbildung 10: Schematische Darstellung zur Monomer- und Dimer-Bildung	25
Abbildung 11: Darstellung des Messprotokolls für Raumluft- und Patientenmessungen	27
Abbildung 12: Darstellung eines 2D-Spektrogramms	28
Abbildung 13: Darstellung eines 3D-Spektrogramms	29
Abbildung 14: Schematische Darstellung des HovaCAL	32
Abbildung 15: Experimentelles Setting zur Nutzung des HovaCAL 4836-VOC.....	32
Abbildung 16: Benutzeroberfläche ViewCAL4836	33
Abbildung 17: Versuchsaufbau der Raumluftmessungen	35
Abbildung 18: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Inspirationsluftmessungen.....	37
Abbildung 19: Versuchsaufbau eines Intensivarbeitsplatzes bei laufender Patientenmessung	38
Abbildung 20: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Patientenmessungen	39
Abbildung 21: Spirometer zur Probeentnahme bei spontanatmenden Probanden.....	40
Abbildung 22: Schematische Darstellung des Messprotokolls der Tierversuche	44
Abbildung 23: Darstellung des zeitlichen Ablaufs der Tierversuche	44
Abbildung 24: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Tiermessungen	45
Abbildung 25: Experimenteller MCC-IMS-Arbeitsplatz des Tierlabors	46

Abbildung 26: Kalibrationsfunktion der totalen Aceton-Konzentration	47
Abbildung 27: Kalibrationsebene der Aceton-Konzentration	48
Abbildung 28: Boxplot der totalen Aceton-Konzentrationen in der Raumluft	49
Abbildung 29: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentrationen in der Raumluft	50
Abbildung 30: Boxplot der totalen Aceton-Konzentration in der Inspirationsluft.....	51
Abbildung 31: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Inspirationsluft.....	52
Abbildung 32: Boxplot der totalen Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft	54
Abbildung 33: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft I.....	55
Abbildung 34: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft II.....	55
Abbildung 35: 24-Stunden-Tagesprofil eines freiwilligen Probanden.....	56
Abbildung 36: Tagesprofile der totalen Aceton-Konzentrationen beatmeter Ratten	57
Abbildung 37: Tagesprofile beatmeter Ratten.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Steckbrief von Aceton.....	9
Tabelle 2: Orientierungswerte für Aceton in der Innenraumluft.....	17
Tabelle 3: Betriebsparameter des MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“.....	21
Tabelle 4: Betriebsparameter der Multikapillarsäule MCC-OV5.....	22
Tabelle 5: Einstellungen des HovaCAL.....	34
Tabelle 6: Einstellungen des zur Vermessung der Testgase genutzten MCC-IMS	34
Tabelle 7: Im Tierversuch verwendete Medikamente	41
Tabelle 8: Aceton in der Raumluft.....	49
Tabelle 9: Aceton in der Inspirationsluft	51
Tabelle 10: Aceton in der Ausatemluft.....	54

1. Zusammenfassung

1.1. Zusammenfassung (Deutsch)

Nicht invasive Diagnosemöglichkeiten, die sich die menschliche Ausatemluft zunutze machen, stellen eine Weiterentwicklung der seit Jahrhunderten bekannten Diagnostik über die Geruchswahrnehmung dar. Neue Analysemethoden sollen die Analysezeiten verringern, eine schnellere Diagnose und ein frühzeitiges Einleiten einer Therapie ermöglichen. Die Ausatemluftanalyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS) stellt ein solches Verfahren dar. Sie bietet Vorteile durch den kostengünstigen, bettseitigen Einsatz, sowie kurze Analysezeiten, wodurch serielle Online-Messungen mit unmittelbarer Darstellung der detektierten flüchtigen organischen Verbindungen (VOCs) ermöglicht werden.

In der vorliegenden Arbeit soll das Verhalten von Aceton in der Raum- und in der Ausatemluft mittels MCC-IMS erörtert werden. Aceton stellt einen wichtigen Biomarker dar, der bei unterschiedlichen Krankheiten und Stoffwechselzuständen erhöht ist. Es erfolgt die Untersuchung der Raumluft eines experimentellen Labors und einer Intensivstation. Im Vergleich wird die Inspirationsluft der Intensivpatienten nach Passage eines Intensivrespirators und eines Filtersystems betrachtet. Es werden Ausatemluftproben von 100 gesunden Probanden, von zehn beatmeten, kritisch kranken Intensivpatienten und von zehn narkotisierten, maschinell beatmeten Sprague-Dawley-Ratten untersucht. Zur Kalibration wird reinstes Aceton in Konzentrationen von 5 – 45 ppb_v mittels des Gasgenerators HovaCAL verdampft und anschließend mit dem MCC-IMS analysiert.

Die Raumluft der Intensivstation (4,1 ppb_v ± 95% KI 4,01-4,14; p <0,001) weist signifikant niedrigere Aceton-Konzentrationen auf als die Raumluft des experimentellen Labors (5,6 ppb_v ± 95% KI 5,1-6,2). In der Inspirationsluft der Intensivpatienten kann ebenfalls eine niedrigere mittlere Aceton-Konzentration von 3,7 ppb_v ± 95% KI 3,68 – 3,71 festgestellt werden. Gesunde Probanden (10,7 ppb_v ± 95% KI 9,7-11,7) atmen vergleichbare Aceton-Konzentrationen wie kritisch kranke Patienten (9,5 ppb_v ± 95% KI 7,9-11,1) und narkotisierte Sprague-Dawley-Ratten (10,3 ppb_v ± 95% KI 9,7-10,9; p <0,001) ab. Der Dimeranteil in der Raumluft liegt auf der Intensivstation im Mittel bei 23% und im Labor bei 44%, wohingegen in der Ausatemluft von Tier und Mensch ein Dimeranteil von 90 – 95% nachgewiesen werden kann. Die Verdampfung von reinstem Aceton zur Kalibration ergibt ebenfalls Monomere (1,3-5,3 mV) und Dimere (1,4-621 mV). Es besteht eine positive Korrelation der Aceton-Konzentrationen und der entsprechenden Aceton-Monomer- und Dimer-Intensitäten ($R^2 = 0,96$). Die Kalibrierungskurve der Aceton-Konzentration und der Gesamt-Aceton-Intensität kann durch eine Exponentialfunktion mit $R^2 = 0,98$ beschrieben werden.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass mittels MCC-IMS und einer Kalibration durch einen HovaCAL eine Messung der Aceton-Konzentrationen in Raum- und Ausatemluftproben möglich ist. In den durchgeführten Messungen wird deutlich, dass die Gesamtkonzentration von Aceton, ebenso wie die Konzentration von Aceton-Monomer und -Dimer betrachtet werden muss. Es besteht die Möglichkeit, dass bisher unbekannte Informationen im Aceton-Monomer-Dimer-Muster liegen.

1.2. Summary (English)

Non-invasive diagnostic methods that exploit human exhaled air represent a further development of the odour perception diagnostics that have been known for centuries. New methods of analysis are designed to reduce analysis times, enable faster diagnosis and early initiation of therapy. Exhaled air analysis using multicapillary column-coupled ion mobility spectrometry (MCC-IMS) is such a method. It offers advantages through cost-effective bedside use, as well as short analysis times, allowing online serial measurements with immediate visualization of the detected volatile organic compounds (VOCs).

In the present work, the behaviour of acetone in the room and in the exhaled air is to be investigated by means of MCC-IMS. Acetone is an important biomarker that is elevated in various diseases and metabolic states. The room air of an experimental laboratory and an intensive care unit is examined. The inspiratory air of intensive care patients after passage of an intensive care ventilator and a filter system is assessed in comparison. Exhaled air samples from one hundred healthy volunteers, ten ventilated, critically ill intensive care patients and ten anesthetized, mechanically ventilated Sprague-Dawley rats are explored. For calibration, pure acetone in concentrations of 5-45 ppb_v is vaporized by means of the gas generator HovaCAL and then analysed with the MCC-IMS.

ICU room air (4.1 ppb_v ± 95% CI 4,01-4,14, p <0.001) has significantly lower acetone concentrations than indoor laboratory air (5.6 ppb_v ± 95% CI 5.1-6,2). In the inspiratory air of intensive care patients, a significantly lower mean acetone concentration of 3.7 ppb_v ± 95% CI 3.68 - 3.71 can be determined. Healthy subjects (10.7 ppb_v ± 95% CI 9.7-11.7) exhale comparable acetone concentrations similar to critically ill patients (9.5 ppb_v ± 95% CI 7.9-11.1) and anesthetized Sprague-Dawley rats (10.3 ppb_v ± 95% CI 9.7-10.9, p <0.001). The dimer content in indoor air is 23% on average in the intensive care unit and 44% in the laboratory, whereas in the exhaled air of animals and humans, a dimer content of 90-95% can be detected. The evaporation of pure acetone for calibration also produces monomers (1.3-5.3 mV) and dimers (1.4-621 mV). There is a positive correlation of the acetone concentrations and the corresponding acetone monomer and dimer intensities ($R^2 = 0.96$). The calibration curve of the acetone concentration and the total acetone intensity can be described by an exponential function with $R^2 = 0.98$.

The investigations carried out show that it is possible to measure the acetone concentrations in room and exhaled air samples with MCC-IMS and calibration by HovaCAL. In the measurements made it becomes clear that the total concentration of acetone as well as the concentration of acetone monomer and dimer must be considered. There is a possibility that previously unknown information lies in the acetone monomer-dimer pattern.

2. Einleitung

2.1. Ausatemluftanalyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie

2.1.1. Allgemeine Daten zur Atemluftanalytik und zur Ionenmobilitätsspektrometrie

Mit jedem Atemzug gibt der Mensch zahlreiche flüchtige organische Verbindungen (VOCs) ab. Sie bestehen aus Metaboliten des Stoffwechsels jedes einzelnen Individuums, können aber auch aus der Raumluft stammen und nach ihrer Inspiration unverändert abgeatmet werden [38]. Die flüchtigen organischen Verbindungen können wichtige Hinweise auf die Stoffwechsellage und diverse pathologische Prozesse in einem Organismus liefern [8, 28, 34].

VOCs lassen sich zum Teil mit der menschlichen Nase wahrnehmen. Ein Beispiel ist die Geruchswahrnehmung von Aceton bei einer ketogenen Stoffwechsellage. Seit Jahrhunderten ist bekannt, dass im diabetischen Koma die menschliche Ausatemluft einen süßlichen und aromatischen Geruch, verursacht durch Aceton, annimmt [14, 19]. In neueren Studien konnte die Detektion von Lungenkarzinomen [34] und das Erkennen einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) [9] über die Ausatemluft ermöglicht werden. Dank neuer Methoden zur Ausatemluftanalyse können immer mehr potentielle Biomarker bestimmten krankhaften Prozessen zugeordnet werden.

Die Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) stellt ein physikalisch-chemisches Analyseverfahren dar, mit dem die menschliche Ausatemluft analysiert werden kann. Sie dient der Charakterisierung von gasförmigen Stoffen, beruhend auf der Mobilität ihrer ionisierten Form im elektrischen Feld. Die IMS zeichnet sich vor allem durch die Messung im Spurenbereich, mit einer Nachweisgrenze im unteren ppb_v- bis ppt_v-Bereich (ppb= parts per billion; ppt = parts per trillion, V = in Bezug auf das Volumen einer Probe), kurze Analysezeiten und die Messung unter Umgebungsdruck aus [8].

Die Methodik des IMS wurde erstmals 1903 von *Paul Langevin* beschrieben [52] und in den 1970er Jahren von *Francis W. Karasek* und *Martin J. Cohen* als Ionenmobilitätsspektrometer etabliert [13, 45]. Das IMS gewann ab den 70er Jahren zunehmend an Bedeutung. Durch hohe Sensitivität und kurze Analysezeiten wurde es zu einem geeigneten Mittel im militärischen Nutzungsbereich. Es wurde zur Sprengstoffdetektion [23] und zur Detektion chemischer Kampfstoffe [75] eingesetzt und hat heute noch seinen Nutzen in diesen Bereichen. Im Laufe der Zeit hielt das IMS zunehmend Einzug in zivile Bereiche. Hierzu zählen zum Beispiel der Einsatz in der Sicherheitstechnik an Flughäfen [23], in der Lebensmittelindustrie zur Qualitätsüberwachung und Ermittlung verdorbener Lebensmittel [104], zum Nachweis von Drogen [46], sowie in der Umweltanalytik zur Entdeckung von Schadstoffen und Schimmelpilzen [12].

Durch diverse Vorteile gewinnt das IMS immer mehr Bedeutung im Bereich der Medizin. Es stellt ein nicht-invasives Analyseverfahren dar, welches kostengünstig und risikofrei am Patienten angewendet werden kann. Das IMS kann als Online-Analyseverfahren dienen, das unmittelbar die detektierten VOCs mit Hilfe einer Software darstellt. Durch den platzsparenden Aufbau kann es direkt am Patientenbett eingesetzt werden [92]. Die verzögerungsfreie Untersuchung ermöglicht so eine rasche Diagnosefindung. Weiterhin kann mittels IMS der Therapieerfolg einer Behandlung abgeschätzt werden, da der Organismus auf Veränderungen durch eine Therapie reagiert und diese sich im Exhalom widerspiegeln. Ein Beispiel hierfür ist die Therapie einer Sepsis mit Antibiotika. Es konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass sich nach Gabe eines Antibiotikums bei septischen Ratten die Zusammensetzung der Ausatemluft signifikant verändert [25].

Ein weiteres mögliches Einsatzgebiet der IMS im medizinischen Bereich stellt das nichtinvasive Drug-monitoring dar. Beispielsweise kann durch die Messung volatilen Propofols unter totalintravenöser Narkose eine Verbesserung der Steuerung der Anästhetikadosierung ermöglicht werden [11, 72]. Weiterhin wäre eine bettseitige Anwendung zur Überwachung von Intensivpatienten denkbar [38]. Der mobile Einsatz und die schnellen Analysezeiten, sowie der lautlose Betrieb des IMS, bieten dabei Vorteile gegenüber anderen Messverfahren.

2.1.2. Einblick in die Funktion der Ionenmobilitätsspektrometrie

Die Detektion volatiler organischer Substanzen im Spurenbereich wird vom IMS unter Umgebungsdruck realisiert [8]. Hierzu werden die Analyten in der Probenluft durch ein Trägergas in das System eingebracht und unter Atmosphärendruck direkt ionisiert. Es entstehen Ionenschwärme, die in der Driftröhre in einem elektrischen Feld gegen einen erzeugten Luftstrom wandern und dabei hinsichtlich ihrer Struktur und Größe aufgetrennt werden. Am Ende der Driftröhre ist eine Faraday-Platte als Detektor angebracht. Die Zeit, die von einem Analyten gebraucht wird, um die Faraday-Platte zu erreichen, wird als Driftzeit bezeichnet. Die Menge der Analyten, die an der Detektorplatte registriert wird, wird als Intensität bezeichnet. Eine dritte Dimension, die Retentionszeit, ergibt sich durch das Vorschalten einer Multikapillarsäule vor die IMS-Einheit (MCC-IMS) [8]. Durch die Multikapillarsäule kommt es zu einer Vorauftrennung der Analyten, bevor diese dem IMS zugeführt werden. Dies geschieht durch unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen dem Material der Kapillaren und den Analyten. Das Vorschalten einer Multikapillarsäule vor die IMS-Einheit ergibt zwei wesentliche Vorteile. Einerseits wird die Spezifität der Analyse durch die Vorauftrennung erhöht. Andererseits können Luftproben mit hoher Luftfeuchtigkeit, wie sie in Ausatemproben herrscht, analysiert werden, da die Multikapillarsäule die Feuchtigkeit der Probe reguliert [8, 103]. Um die Substanz, die sich hinter einem

einzelnen Signalpeak im Spektrogramm verbirgt zu identifizieren, wird der Abgleich mit einer Datenbank genutzt. Diese Substanzdatenbank wurde mit Hilfe unabhängiger Messmethoden, wie z.B. der Gaschromatographie oder der Massenspektrometrie, erstellt und validiert [42, 59]. In einem zweiten Schritt erfolgt die Verifizierung mittels Vaporisation und Messung der gesuchten Reinsubstanz.

2.2. Kalibrationsverfahren

2.2.1. Allgemeine Informationen zu verschiedenen Kalibrationsmethoden

Die Detektion der Analytmenge im IMS erfolgt in Form eines elektrischen Signals durch das Auftreffen ionisierter Moleküle auf einer Detektorplatte. Das Resultat ist die Ausgabe eines elektrischen Summensignals in Volt. Es können daher keine direkten Rückschlüsse von der Signalstärke auf die tatsächliche Konzentration eines Analyten in der Probenluft gezogen werden. Um einen Rückschluss auf die Konzentration zu ermöglichen, bedient man sich verschiedener Kalibrationsverfahren. Diese dienen der Erstellung eines gerätespezifischen mathematischen Modells, das für einen spezifischen Stoff den Zusammenhang von Signalstärke und tatsächlicher Konzentration des Analyten beschreibt.

Zur externen Kalibration stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung. Die Kalibration kann mit Testgasen, mit Hilfe von Permeationsröhrchen oder mittels Techniken zur kontinuierlichen Verdünnung durchgeführt werden. Darüber hinaus stehen Prüfgasgeneratoren zur Herstellung präzise konzentrierter Testgase zur Verfügung.

Der Einsatz vorgefertigter Testgase stellt eine sehr einfache und unkomplizierte Methode zur Kalibration dar [74]. Die vorgefertigten Testgase unterschiedlicher Konzentration werden dem MCC-IMS zugeführt und analysiert. Anschließend wird aus diesen Messungen eine Kalibrationsfunktion berechnet. Die Kalibration mittels Testgasen ist jedoch nur begrenzt einsetzbar, da nicht alle Substanzen als Testgase verfügbar sind und die Testgase nur in bestimmten Konzentrationen vorliegen.

Eine potentiell praktikablere Lösung bieten dagegen Permeationsverfahren mittels Permeationsröhrchen oder Permeationspatronen. Sie ermöglichen eine Herstellung von Gasmischungen definierter Zusammensetzung [56, 69, 91]. Die Permeationsröhrchen enthalten eine genau definierte Menge einer volatilen Reinsubstanz, die sich im Phasengleichgewicht zwischen gasförmiger und flüssiger Phase befindet. Aus dem Röhrchen tritt sukzessiv eine genau festgelegte Menge des Stoffes aus und wird mit einem Trägergas abtransportiert. Das angefertigte Gas kann anschließend mit verschiedenen Analysegeräten, wie zum Beispiel dem MCC-IMS untersucht werden.

Einem ähnlichen Funktionsprinzip liegt die Kalibration mittels kontinuierlicher Verdünnung in einem definierten Volumen zu Grunde. Sie ist auch bekannt als „continuous dilution technique“ (CDT). Hierzu wird ein definierter Anteil einer Reinsubstanz mit bekanntem volatilen Potential in ein verschlossenes Gefäß mit bekanntem Gesamtvolumen gegeben und darin verdampft. Das Gefäß ist während des gesamten Versuches luftdicht abgeschlossen, damit nichts nach außen entweichen kann. Nach vollständiger Verflüchtigung der Reinsubstanz wird aus dem hergestellten Gasgemisch im kontinuierlichen Zeitintervall eine Probe definierten Volumens entnommen und analysiert. Die Messung wird so lange fortgeführt, bis kein vom Hintergrundrauschen sich abhebendes Signal mehr vorhanden ist. In dieser Messanordnung kommt es zur kontinuierlichen Verdünnung der Probe, was sich das Kalibrationsverfahren zu Nutzen macht. Mit einem Rechenmodell wird die über die Zeit abnehmende Reinsubstanzkonzentration mit dem IMS-Signal korreliert und so eine Kalibrationsfunktion erstellt.

2.2.2. Überblick über die Kalibration mittels HovaCAL

Die Kalibration der MCC-IMS-Messungen der vorliegenden Arbeit wurden mit dem Gasgenerator HovaCAL durchgeführt. Der HovaCAL ist ein Prüfgasgenerator und dient der Herstellung von Kalibrationsgasen mit genau definierter Zusammensetzung und präziser Konzentration [39, 40, 102]. Durch Mikrodosierpumpen und einen Verdampfer können dynamische Prüfgase verschiedener Zusammensetzung hergestellt werden. Der HovaCAL ist in der Lage, organische und anorganische Substanzen mit volatilen Potential zu verdampfen und diese mit synthetischer Luft als Trägergas in einem definierten Luftstrom zusammenzuführen. Durch ein komplexes System von Kapillaren und zuschaltbaren Trägergasströmen ist es möglich das Prüfgas bis in den ppt-Bereich zu verdünnen. Trotz dieser geringen Konzentration wird eine präzise Steuerung der Verdünnung gewährleistet. Weiterhin besteht die Möglichkeit, die Luftfeuchtigkeit des Prüfgases zu variieren. Bei der Erstellung der Kalibrationsfunktion können so Bedingungen simuliert werden, die auch in der Ausatemluft anzutreffen sind. Das gefertigte Prüfgas kann mittels in Reihe geschaltetem MCC-IMS analysiert werden. Aus den Intensitäten der Analyten bei der jeweiligen Prüfgaskonzentration kann dann eine Kalibrationsfunktion errechnet werden.

2.3. Aceton und sein medizinischer Stellenwert

2.3.1. Allgemeines zum Stoff Aceton

Aceton ist eine organisch-chemische Verbindung aus der Gruppe der Ketone, mit der Summenformel C_3H_6O . Der systematische Name lautet Propanon. Aceton ist eine farblose, flüchtige Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch. Sie ist in jedem Verhältnis mit Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln mischbar und bildet leicht entzündliche Dampf-Luftgemische. Aceton stellt ein Lösungsmittel für Harze, Fette, Öle und Lacke dar und ist daher im Alltag zum Beispiel als Nagellackentferner bekannt.

In der Natur kommt Aceton in geringen Mengen in Pflanzen vor und wird bei Fermentationsprozessen gebildet und freigesetzt. Es verleiht fermentierendem Obst einen charakteristischen süßlichen Geruch. Weiterhin kommt Aceton im menschlichen und tierischen Organismus vor. Es ist physiologisch in einer geringen Dosis im Blut und Urin des Menschen enthalten.

In niedrigen Dosen ist Aceton nicht schädlich. Hoch dosiert hat es allerdings toxische Wirkungen. Bei längerer Einwirkung der Chemikalie auf die Haut kann es entzündliche Erytheme hervorrufen. Die Dämpfe können Kopfschmerzen, Müdigkeit und eine Reizung der Atemwege bewirken. Dies sind Symptome, die sich auch bei einer Raumluftbelastung mit Aceton zeigen können. [93].

Abbildung 1 zeigt die dreidimensionale Darstellung von Aceton.

Tabelle 1 fasst die physikalischen Eigenschaften und Kenndaten von Aceton zusammen.

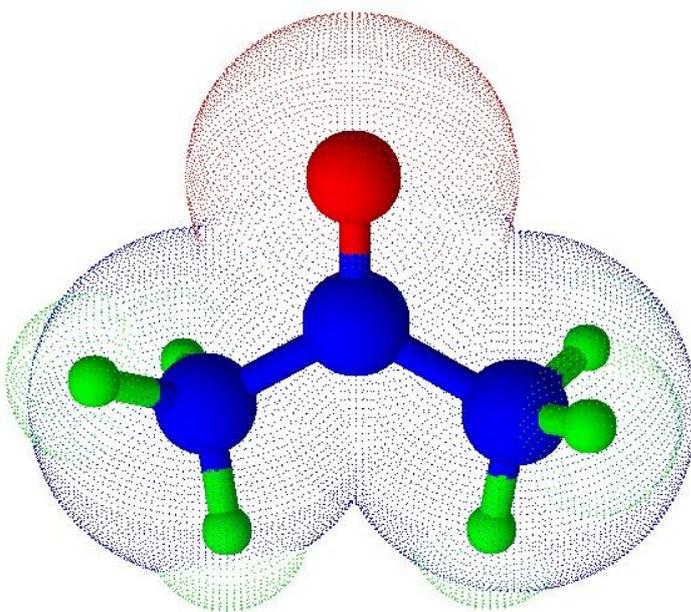
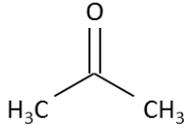


Abbildung 1: 3D-Modell von Aceton

Tabelle 1: Steckbrief von Aceton
 Nach [93]

Trivialname	Aceton
Synonyme	Propanon Propan-2-on 2-Propanon Dimethylketon
CAS-Registrierungsnummer	67-64-1
Chemische Gruppe	Ketone
Summenformel	C ₃ H ₆ O
Strukturformel	
Molare Masse	58,08 $\frac{g}{mol}$
Aggregatzustand	flüssig
Dichte	0,79 $\frac{g}{cm^3}$ (bei 20°C)
Schmelzpunkt	-95 °C
Siedepunkt	56 °C
Flammpunkt	-20 °C
Dampfdruck	246 hPa (bei 20°C)

2.3.2. Medizinischer Stellenwert von Aceton

Aceton ist ein Nebenprodukt des menschlichen Stoffwechsels und findet sich daher physiologischer Weise in geringen Mengen im Blut und im Urin. Pathologisch stark erhöht ist die Aceton-Konzentration bei dysreguliertem Diabetes mellitus, wobei es in größeren Mengen zur Acetonurie kommen kann [93]. Die Stoffwechsellage und der glykämische Status des Organismus scheinen eng mit dem Acetongehalt im Blut und in der Ausatemluft zusammenzuhängen [96]. Bereits 1798 wurde von *John Rollo* der Geruch von faulen Äpfeln bei Patienten mit Diabetes Mellitus beschrieben [78], der 1857 von *W. Petters* als abgeatmetes Aceton identifiziert werden konnte [14, 73].

Aceton zählt zusammen mit Acetoacetat und 3-Hydroxybutyrat zu den Ketonkörpern. Ketonkörper werden vom menschlichen Körper immer dann vermehrt freigesetzt, wenn es zu einer ausgeprägten

Mobilisierung von Fettreserven kommt. Dies geschieht zum Beispiel bei Hungerzuständen oder bei einer mangelhaften Kohlenhydratverwertung, wie sie bei Insulinmangel im Rahmen eines Diabetes mellitus auftritt [76]. Die Bildung von Ketonkörpern ist notwendig, da Fettsäuren nicht zum Energiestoffwechsel der Nervenzellen im Gehirn beitragen können. Die Blut-Hirn-Schranke stellt für Fettsäuren eine nicht zu überwindende Barriere dar. Die gebildeten Ketonkörper können die Blut-Hirn-Schranke hingegen überwinden und den Nervenzellen zugeführt werden [76]. Den Zielzellen dienen die Ketonkörper als Energieträger, wenn nicht genügend Glucose vorhanden ist oder diese nicht in die Zelle gelangen kann. Ketonkörper stellen auch für andere extrahepatische Gewebe wichtige Energielieferanten im Hungerzustand dar. Neben den Nervenzellen des Gehirns werden sie vor allem von den Zellen der Skelettmuskulatur, den Herzmuskelzellen und den Zellen des Nierenkortexes genutzt [76].

Als Energielieferanten können lediglich Acetoacetat und 3-Hydroxybutyrat genutzt werden. Die Funktion von Aceton im Stoffwechsel ist weitgehend unbekannt. *M. Kalapos et al.* postulierten 1999 drei Funktionen für Aceton im menschlichen Stoffwechsel. Erstens die Beteiligung von Aceton am Säure-Basen-Haushalt und dessen Gleichgewicht. Zweitens ist ein Beitrag zum Glucosehaushalt der Leber anzunehmen. Drittens werden durch die Leber C3-Fragmente, ausgehend von Aceton bereitgestellt, die als zusätzliche Energiequelle für periphere Gewebe dienen und Insulin-unabhängig aufgenommen werden können [43].

Eine vereinfachte Darstellung des Stoffwechsels der Ketonkörper im menschlichen Organismus wird in Abbildung 2 gezeigt.

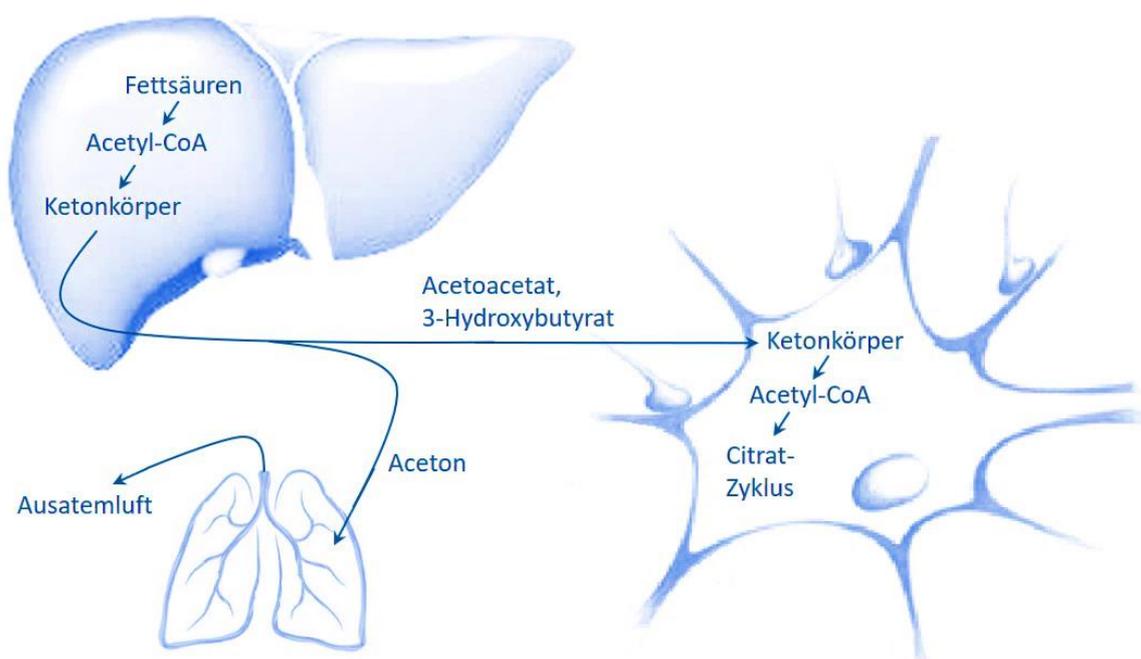


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung des Stoffwechsels der Ketonkörper
Acetyl-CoA steht für Acetyl-Coenzym-A

Die Ketonkörpersynthese findet in den Mitochondrien der Hepatozyten, ausgehend von Fettsäuren, in Form von Acetyl-CoenzymA (Acetyl-CoA) statt. Auslöser für die Ketonkörpersynthese bei Energiemangel ist eine erhöhte Acetyl-CoA-Konzentration in den Hepatozyten. Diese resultiert aus der Mobilisierung von Fettreserven im Rahmen des Energiemangels. Zur Synthese werden zwei Acetyl-CoA unter Freisetzung eines CoenzymAs zu Acetoacetyl-CoA verbunden. Acetoacetyl-CoA reagiert mit einem weiteren Acetyl-CoA zu 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). Von HMG-CoA wird Acetyl-CoA abgespalten, wodurch Acetoacetat entsteht. Der Großteil des Acetoacetats wird zu β -Hydroxybutyrat reduziert. Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat werden schließlich ins Blut abgegeben. β -Hydroxybutyrat ist hierbei der Ketonkörper mit der höchsten Konzentration im Blut [76].

Aceton entsteht durch spontane Decarboxylierung und durch Abspaltung von CO_2 mittels der Acetoacetat-Decarboxylase von Acetoacetat. Die Acetoacetat-Decarboxylase wird durch hohe Acetoacetat-Konzentrationen aktiviert und durch eine erhöhte Aceton-Konzentration gehemmt [43, 44, 49]. Darüber hinaus ist bekannt, dass eine geringe Menge Aceton beim Abbau von Isopropanol durch ein Isoenzym der hepatischen Alkoholdehydrogenase entsteht [44]. Aceton wird nach seiner Synthese ins Blut abgegeben und über den Urin und die Ausatemluft ausgeschieden [107, 108].

Abbildung 3 zeigt die Schritte der Ketonkörpersynthese und die Bildung von Aceton.

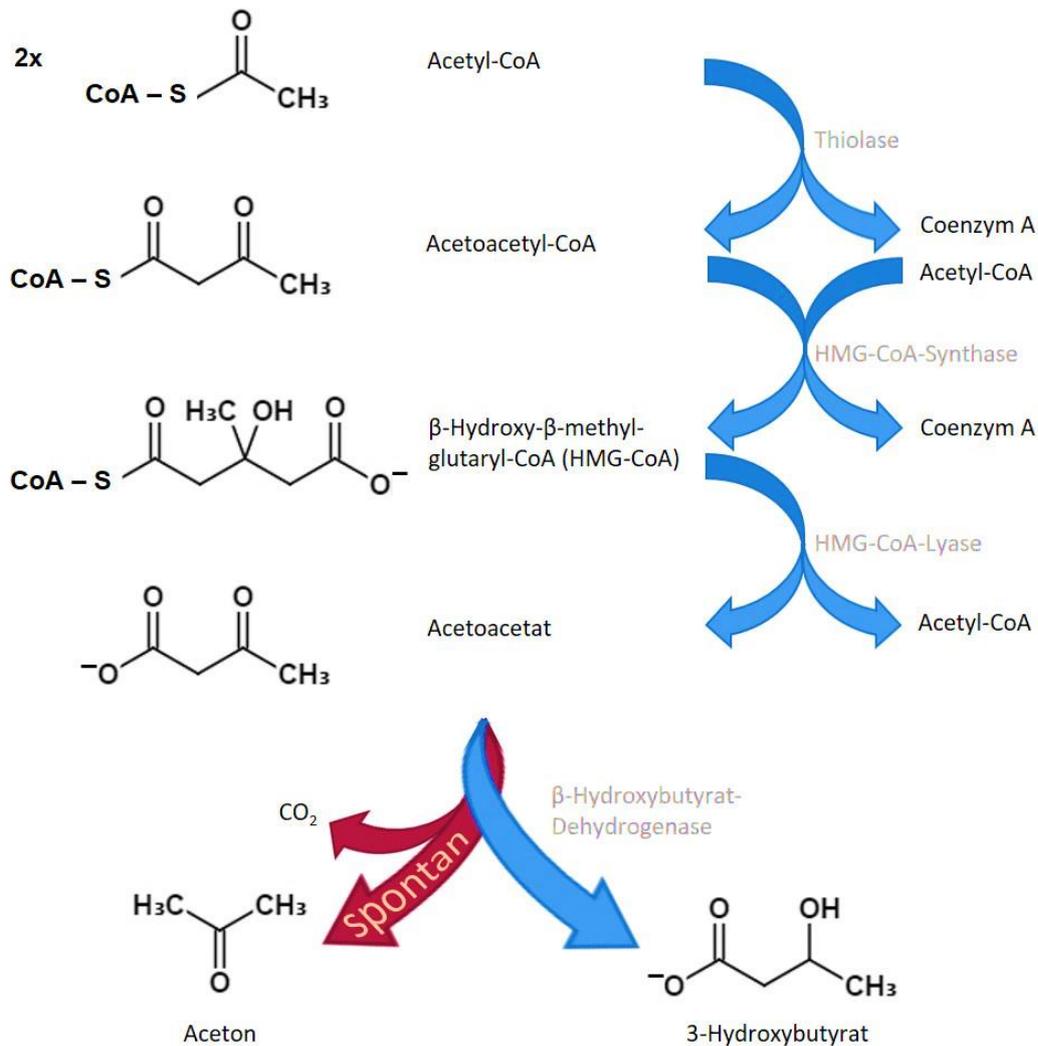


Abbildung 3: Reaktionsschritte der Ketonkörpersynthese
Nach [76]

Die für den Energiestoffwechsel verwertbaren Ketonkörper, Acetoacetat und 3-Hydroxybutyrat werden vor allem von den Zellen des Gehirns, der Skelettmuskulatur, des Herzmuskels und des Nierenkortexes als Energielieferant genutzt. Dafür werden sie in die jeweiligen Zellen geschleust und abgebaut.

Der Abbau der Ketonkörper entspricht der β -Oxidation. 3-Hydroxybutyrat wird zu Acetoacetat oxidiert, welches dann mit Coenzym A zu Acetoacetyl-CoA reagiert. Das freie Coenzym A wird an der Carboxylgruppe in β -Stellung angelagert und es kommt zur Spaltung mittels dem Enzym Thiolase. Durch diese Reaktion kommt es zur Bildung zweier Acetyl-CoA, die zur Energiegewinnung in den Citratzyklus eingeschleust werden können [76]. Abbildung 4 zeigt die einzelnen Schritte des Ketonkörperabbaus.

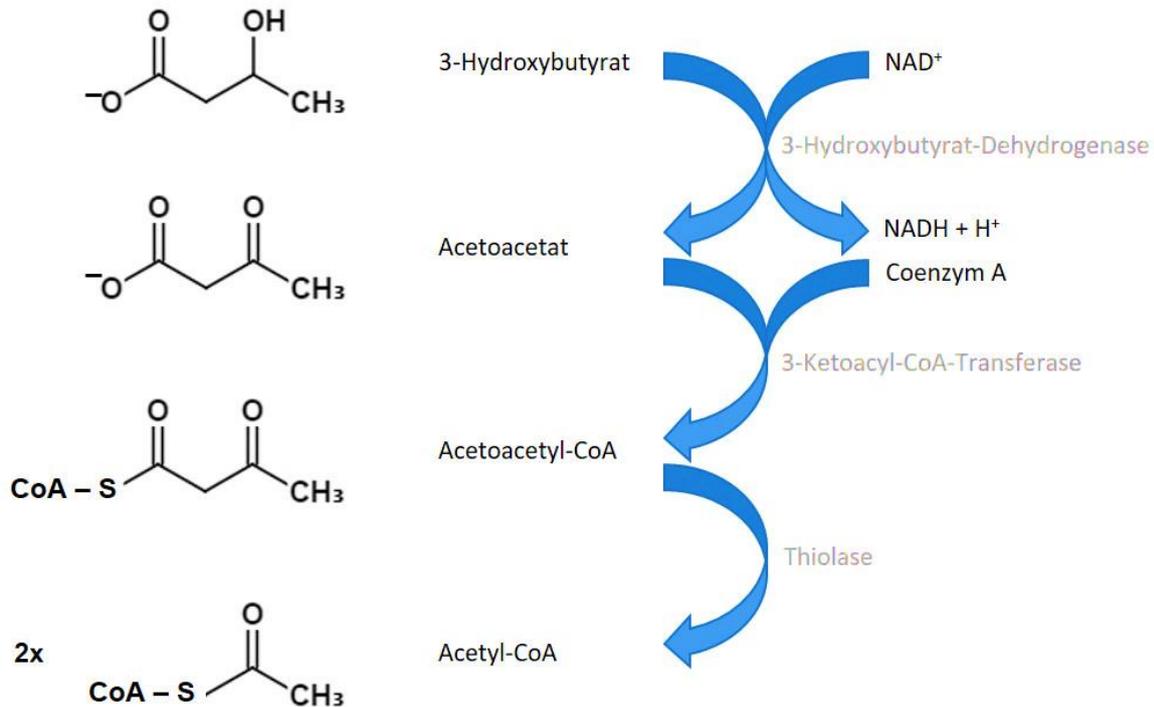


Abbildung 4: Reaktionsschritte des Abbaus von 3-Hydroxybutyrat zu Acetyl-CoA
Nach [76]

Aceton hingegen wird nicht durch β -Oxidation abgebaut. Es erfolgt eine Metabolisierung zu Laktat, Pyruvat oder Acetyl-CoA und somit eine Einschleusung in den Stoffwechsel der Aminosäuren, der Fettsäuren oder in den Cholesterinstoffwechsel [57].

Die gebildeten Ketonkörper, die den Zielzellen nicht zur Energiegewinnung dienen, werden im Harn ausgeschieden, was als Ketonurie bezeichnet wird [107], oder reichern sich im Gewebe an, wodurch es zu einer Ketoazidose kommt [94]. Vor allem Acetoacetat und 3-Hydroxybutyrat haben saure Eigenschaften, da es sich bei ihnen um Carbonsäuren handelt. Darüber hinaus werden Ketonkörper, vor allem Aceton als kleinstes Molekül der Gruppe, auch abgeatmet [108]. Dies bildet die Grundlage zur Detektion mittels MCC-IMS in der Ausatemluft.

2.3.3. Aceton in der Ausatemluft

Aceton ist das Keton mit der höchsten Konzentration in der Ausatemluft [31, 55, 81]. Die mittlere Aceton-Konzentration im Atem gesunder Menschen beträgt 0,39 ppm - 1,09 ppm [106]. Es werden 2% - 30% des im menschlichen Körper anfallenden Acetons über die Lunge abgeatmet oder über den Urin ausgeschieden. Das restliche Aceton wird endogenen Abbaumechanismen zugeführt [77]. Zwischen der Blut-Aceton-Konzentration und der Konzentration des abgeatmeten Acetons in Bezug auf die Aceton-Produktions-Rate, besteht eine positive lineare Korrelation. Bei niedrigen Aceton-Plasmaspiegeln

werden etwa 20% des produzierten Acetons abgeatmet, bei hohen Plasmaspiegeln hingegen bis zu 80% [70]. Die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft wird durch multiple Faktoren beeinflusst, wie zum Beispiel Fasten oder diätische Ernährung, wobei vor allem ketogene Diäten eine große Rolle spielen. Weiterhin beeinflussen körperliche Anstrengung und diverse Krankheiten, wie Diabetes mellitus die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft.

Der Einfluss von Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index (BMI) auf die Konzentration des Acetons in der Ausatemluft wurde in mehreren unabhängigen Studien untersucht. *Turner et al.* stellten fest, dass Männer eine höhere Aceton-Konzentration in der Ausatemluft aufweisen als Frauen [95]. Darüber hinaus fanden die Autoren eine geringe positive Korrelation der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft mit dem Alter der Probanden. Ein Zusammenhang zwischen BMI und ausgeatmetem Aceton wurde nicht festgestellt. Die Unterschiede der Aceton-Konzentration bei Männern und Frauen konnte von *Schwarz et al.* nicht belegt werden [81]. In dieser Studie konnte ebenfalls kein Zusammenhang von BMI und Aceton-Konzentration festgestellt werden. Auch das Alter der erwachsenen Probanden hatte in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration des ausgeatmeten Acetons. Allerdings konnte nachgewiesen werden, dass sich die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft von Kindern und Jugendlichen von der bei Erwachsenen und älteren Probanden unterscheidet. *Schwarz et al.* wiesen hierbei nach, dass Kinder eine um etwa die Hälfte niedrigere Aceton-Konzentration in der Ausatemluft aufweisen als Erwachsene [81]. *Španěl et al.* zeigten, dass die Aceton-Konzentration bei jungen, gesunden Probanden geringer ist als bei Erwachsenen hohen Alters [85, 86].

Gesichert ist, dass Diäten und Fasten den Acetongehalt in der Ausatemluft beeinflussen. *Schwarz et al.* stellten fest, dass die Aceton-Konzentration nach einer Zeit des Fastens oder einer diätischen Behandlung signifikant erhöht ist [81]. Dies zeigt sich auch in anschaulicher Weise während des nächtlichen Schlafens. Hierbei steigt die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft an, was unter anderem an der fehlenden Nahrungszufuhr währenddessen liegt [47]. *Smith et al.* zeigten in diesem Zusammenhang, dass eine erhöhte Aceton-Konzentration durch Fasten und niedrige Kalorienzufuhr schnell durch Essen ausgeglichen wird und sich nach einer Mahlzeit zeitnah einem normalen Level annähert [83, 95]. Steigt also die Blutglukose-Konzentration nach diätischer Ernährung, sinkt daraufhin unverzüglich die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft [95]. Dies zeigt sich auch unter einem oralen Glukosetoleranztest. Nach oraler Aufnahme der Glukose sinkt die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft [30]. Die Aceton-Konzentration der Ausatemluft scheint also mit dem metabolischen Status der Patienten zu korrelieren [67]. Ketogene Mahlzeiten, sowie ketogene Diäten erhöhen die Konzentration an ausgeatmetem Aceton [64–66]. Unter einer ketogenen Diät versteht man eine kohlenhydratreduzierte, proteinarme aber sehr fettreiche Ernährung. Sie ist kalorisch knapp bemessen und führt dadurch zu einer

kontrollierten Ketoazidose [29, 48]. Bei der Untersuchung der Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft fiel allerdings auf, dass die einzelnen Probanden verschieden hohe Konzentrationen von ausgeatmetem Aceton aufwiesen, selbst wenn sie die selbe Diät erhielten [95].

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass körperliche Anstrengung einen Einfluss auf das abgeatmete Aceton hat. Aceton wird nicht nur zwischen der Luft der Alveolen und dem arteriellen Blut ausgetauscht, sondern auch zwischen der Luft der Bronchiolen und deren Schleimhaut, sowie zwischen der Bronchialschleimhaut und dem arteriellen Blut. Bei körperlicher Anstrengung mit dadurch erhöhter Atemarbeit steigt die Austauschrate durch Auswaschung von Aceton aus der Schleimhaut der Atemwege. Dies führt zu einer Erhöhung der Aceton-Konzentration unter Anstrengung [63].

Diverse Pathologien beeinflussen ebenfalls den Acetongehalt in der Ausatemluft. In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine bis zu viermal höhere Aceton-Konzentration in der Ausatemluft aufweisen als gesunde Probanden [51, 58]. Patienten mit einer akut dekompensierten Herzinsuffizienz weisen hierbei höhere Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft auf als stabile Herzinsuffizienzpatienten [58]. *Marcondes-Braga et al.* konnten eine positive Korrelation der Konzentration von Aceton in der Ausatemluft und dem B-natriuretischen Peptid (BNP) im Blut nachweisen, welches ein Biomarker für Herzinsuffizienz darstellt [58]. Weiterhin erkannten sie eine positive Korrelation der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft und dem C-reaktiven Protein (CRP), einem Akute Phase Protein und dem Serumtroponin-T, einem Marker für Herzmuskelschädigung [71].

Wie sich die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft bei Patienten mit Diabetes mellitus verhält, ist ebenfalls von besonderem Interesse. Die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft von Diabetikern ist höher als bei gesunden Probanden, wie es erstmals von *Henderson et al.* im Jahre 1952 berichtet wurde [36] und in mehreren Studien belegt werden konnte [17, 79, 105]. Bei Typ-1-Diabetikern wurden dabei höhere Aceton-Konzentrationen als bei Typ-2-Diabetikern detektiert [79]. Weiterhin weisen vor allem Diabetespatienten mit erhöhten Blutglukosewerten eine erhöhte Aceton-Konzentration in der Ausatemluft auf [90]. Durch Senkung der Blutglukosewerte mittels Insulingabe kam es in Studien zu einem Abfall der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft [96]. *Wang et al.* erkannten eine lineare Korrelation von Blutglukosewerten und der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft [105]. Aus diesem Grund haben Diabetiker, die selten zu hyper- und hypoglykämien Stoffwechsellagen neigen, nahezu normale Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft [96, 99]. *Ueta et al.* und weitere Arbeitsgruppen zeigten in diesem Zusammenhang, dass die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft mit dem HbA_{1c} korreliert [99, 105]. Der HbA_{1c} ist ein nicht-enzymatisch glykiertes Hämoglobinmolekül. Die Höhe des HbA_{1c} im Blut gibt Auskunft über die in den letzten vier bis zwölf Wochen herrschenden Blutzuckerwerte und wird daher als Langzeit-Blutzuckerwert bezeichnet [76].

Weitere Krankheiten, bei denen erhöhte Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft nachgewiesen wurden, sind Infektionen [84], Lungentumore [61] und Isopropanolintoxikationen [41].

Der Literatur zufolge ist Aceton ein geeigneter Biomarker für Diabetes mellitus und für chronische Herzinsuffizienz. Der Acetongehalt der Ausatemluft reagiert sehr schnell auf eine Änderung der Blutglukosewerte und korreliert stark mit dem HbA_{1c}, was eine Untersuchung von Diabetikern ermöglichen würde. Im Falle der chronischen Herzinsuffizienz bietet sich die Messung der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft an, da eine positive Korrelation mit BNP und Serumtroponin T vorliegt, was eine Abschätzung der Schwere der Herzinsuffizienz und der Herzmuskelschädigung zulässt. Die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft korreliert jedoch sehr eng mit der Stoffwechsellage des jeweiligen zu untersuchenden Patienten und ist durch variable Parameter, wie zum Beispiel die Ernährung, leicht beeinflussbar. Auf Grund dieser Tatsache ist Aceton als alleinige Substanz nur wenig ausschlaggebend für eine sichere und gezielte Diagnosestellung. Durch eine Kombination mit der Messung weiterer volatiler Substanzen in der Ausatemluft könnte die Spezifität allerdings erhöht werden.

2.3.4. Aceton in der Raumluft

Das Verhalten von Aceton in der Raumluft wird im Rahmen von Raumluftmessungen zur Detektion potentiell gesundheitsgefährdender Substanzen untersucht. In vielen Fällen liegen bereits Gesundheitsgefährdungen vor, bevor Gefahrstoffe in der Raumluft mit den Sinnesorganen wahrgenommen werden [97]. Daher werden Innenraumluftmessungen in Wohn- und Arbeitsräumen durchgeführt, um eine Belastung von organischen und anorganischen Verbindungen aufzusuchen. Dies geschieht, wenn der Verdacht auf eine Belastung vorliegt oder wenn konkrete Gesundheitsbeschwerden bei den Menschen auftreten, die die Räumlichkeiten regelmäßig betreten. Mögliche gesundheitliche Beeinträchtigungen zeigen sich oft durch unspezifische Symptome wie Kopfschmerzen, chronische Müdigkeit, Antriebslosigkeit, Reizung der Atemwege und der Schleimhäute, Allergien und Konzentrationsstörungen [4, 98].

Die VOCs einer Luftprobe werden in den meisten Fällen über Passivsammler mit Aktivkohle erfasst und ausgewertet [4, 97]. Die Sammlung findet über einen definierten Zeitraum statt, wobei eine durchschnittliche Belastung mit inhalierbaren flüchtigen Luftschadstoffen ermittelt wird [4].

Mit wenigen Ausnahmen gibt es keine gesetzlich festgelegten Grenzwerte für Innenraumschadstoffe [2]. Die Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute e. V. (AGÖF) legte daher im Jahre 2004 Orientierungswerte für Innenraumschadstoffe fest. Für Aceton in der Raumluft wurden dabei folgende Werte festgelegt: Der „Hintergrundwert“ liegt für Aceton bei 10 µg/m³. Er wird durch die konsequente Vermeidung von Emissionsquellen erreicht und ist daher grundsätzlich anzustreben. Der „Normalwert“

für Aceton ist bei $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$ festgelegt. Der „Normalwert“ stellt die durchschnittliche Belastung in einem Innenraum dar. Der „Auffälligkeitswert“ ist bei $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ eingeordnet und beschreibt die Überschreitung der normalen Konzentration in Innenräumen und legt nahe, dass eine Schadstoffquelle vorhanden ist [2]. Die genannten Werte sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Orientierungswerte für Aceton in der Innenraumluft
Nach [2]

Aceton	Werte
Hintergrundwert	$10 \mu\text{g}/\text{m}^3$
Normalwert	$60 \mu\text{g}/\text{m}^3$
Auffälligkeitswert	$150 \mu\text{g}/\text{m}^3$

Aceton und andere VOCs in der Raumluft haben verschiedene potentielle Quellen [20]. Hierzu zählen die Ausatemluft des Menschen und die sekundäre Oxidation von Fetten der Haut durch Ozonolyse [20]. Des Weiteren kommt es durch den Konsum von Zigaretten, Essen und Getränken zu einer Belastung der Raumluft mit VOCs [24]. Die Nutzung von Pflegeprodukten wie Hautlotionen, Shampoos und Parfums verursacht ebenfalls VOCs [6]. Tätigkeiten wie z.B. Kochen [24], das Aufbewahren von Abfall, v. a. in Form von Haushaltsmüll [1], aber auch Baumaterialien [97, 98] und Einrichtungsgegenstände [97, 98] geben Aceton und andere VOCs in die Umgebungsluft ab.

Aceton ist das Keton mit der höchsten Konzentration in Ausatemluft- und Raumluftmessungen [55, 81]. Lü *et al.* konnten bereits zeigen, dass die Konzentration von Aceton in der Raumluft in Gebäuden höher ist als außerhalb von Gebäuden [55]. Weiterhin konnte in verschiedenen Studien aufgezeigt werden, dass der Acetongehalt in der Raumluft von medizinischen Gebäuden höher ist als in öffentlichen Gebäuden [10, 31].

Die Darstellung eines Raumluft-VOCs, beziehungsweise eines Acetonprofils in der Raumluft kann hilfreich sein, um eine Quantifizierung des Acetongehaltes außerhalb eines Organismus zu ermöglichen. Dies kann dann zur Abgrenzung des aus dem Organismus freigegebenen Acetons dienen, quasi als Hintergrundprofil. Hierdurch könnten mögliche Ursachen einer Konzentrationssteigerung über das Basalmaß hinaus detektiert werden, wenn „Organismusquellen“ hinzukommen.

2.4. Fragestellungen der Arbeit

Die Ausatemluftanalyse mittels MCC-IMS stellt eine vielversprechende Methode zur nicht-invasiven, bettseitigen Onlineüberwachung von Patienten dar. Die notwendige Praktikabilität des Ionenmobilitätsspektrometers im Rahmen eines experimentell-diagnostischen Arbeitsplatzes auf einer Intensivstation und im OP wurde bereits in Vorarbeiten nachgewiesen [11, 38].

Die dargestellte Literatur legt nahe, dass Aceton als potentieller Biomarker in der Ausatemluft von Menschen fungieren kann.

Ziel der Arbeit ist es, das Verhalten von Aceton in der Raum- und Ausatemluft näher zu untersuchen. Hierbei sollten folgende Fragestellungen näher betrachtet werden:

- Kann mittels HovaCAL eine übertragbare und geeignete Kalibrationsfunktion für die mit dem MCC-IMS gemessenen Aceton-Intensitäten erstellt werden?
- Spielt die Monomer- und Dimer-Bildung bei Aceton in der Atemluft oder in der Raumluft eine Rolle?
- Wie verhält sich Aceton in der Raumluft? Gibt es Unterschiede zwischen einer Intensivstation mit schwer kranken Patienten und der normalen Raumluft eines Labors?
- Wie verändert sich der Acetongehalt der Ausatemluft eines gesunden Probanden über den Tag gesehen? Gibt es tageszeitliche Schwankungen?
- Ist der Acetongehalt in der Ausatemluft intubierter, schwer kranker Patienten vergleichbar mit dem Acetongehalt von gesunden Probanden?
- Wie verhält sich der Acetongehalt der Ausatemluft im Tiermodell? Können tageszeitliche Schwankungen bei narkotisierten, beatmeten Ratten festgestellt werden?

3. Material und Methodik

3.1. Multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS)

3.1.1. Aufbau und Funktion des MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“

Die Messungen der vorliegenden Arbeit wurden mit einem multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometer vom Typ „Breath Discovery“ (B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland) durchgeführt. Abbildung 5 und Abbildung 6 zeigen ein solches MCC-IMS.



Abbildung 5: MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“, Vorderansicht



Abbildung 6: MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“, Rückansicht

3.1.1.1. Aufbau des Ionenmobilitätspektrometers

Das Ionenmobilitätspektrometer setzt sich aus vier Hauptkomponenten zusammen. Den ersten Teil stellt der Ionisationsraum dar. Auf ihn folgt ein Schaltgitter, welches den Ionisationsraum von der Driftregion, der dritten Komponente, trennt. Die letzte Komponente ist eine Faraday-Platte, die als Detektor am Ende der Driftregion dient. Der schematische Aufbau des genutzten IMS ist in Abbildung 7 dargestellt.

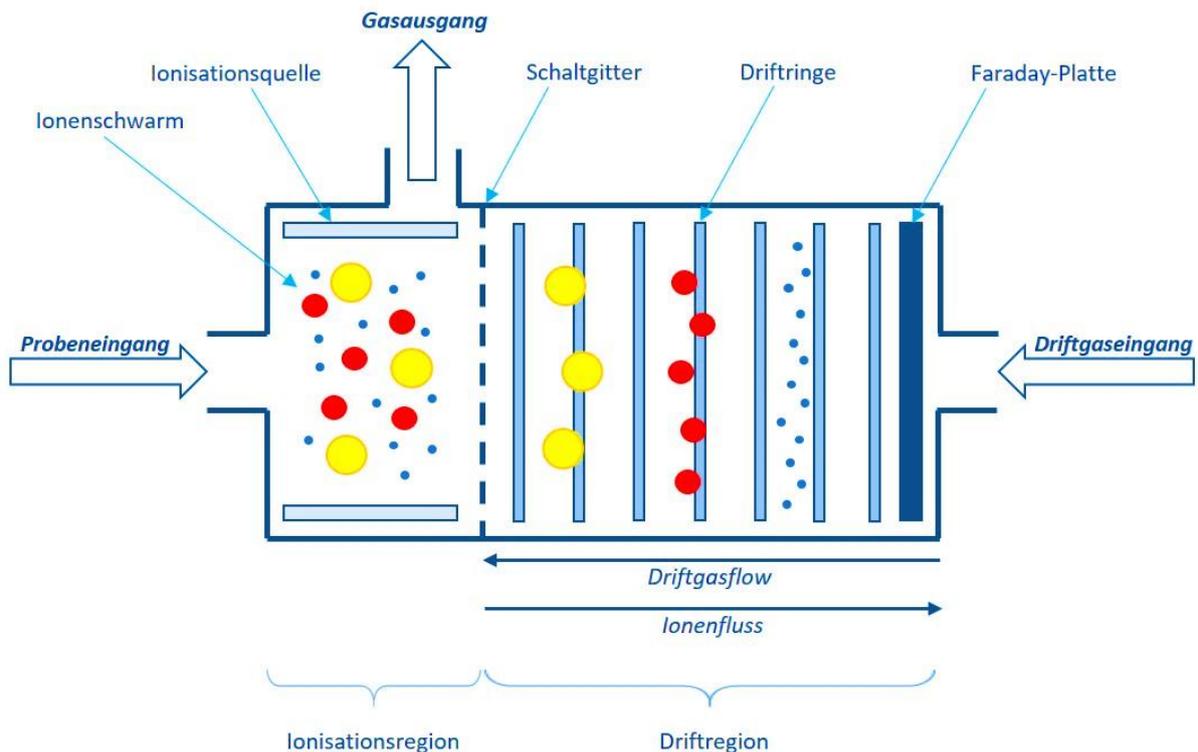


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Ionenmobilitätspektrometers

Das eingesetzte Ionenmobilitätspektrometer vom Typ „Breath-Discovery“ enthält als Ionisationsquelle einen β -Strahler. Hierfür dienen synthetische radioaktive ^{63}Ni mit einer Aktivität von 550 MBq. Ein Schaltgitter trennt die Ionisationsregion von der Driftkammer. Dieses besteht aus zwei Einzelgittern mit parallel angeordneten Drähten, die in einem Abstand von 1 mm platziert sind. Die dahinterliegende Driftkammer wurde mit einer Länge von 12 cm und einem Durchmesser von 15 mm gewählt. Die gesamte zylindrische Röhre besteht im Inneren aus Teflon. Außen sind Driftringe, auch Feldstabilisierungsringe genannt, auf den Zylindermantel aufgesetzt. Innerhalb der Driftkammer herrscht ein elektrisches Feld mit einer Feldstärke von $300 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$.

Durch die Driftkammer strömt ein Trägergas entgegen der Driftrichtung der gebildeten Ionen. Als Trägergas dient synthetische Luft höchster Reinheit (ALPHAGAZ™ 1 LUFT, AIR LIQUIDE, Düsseldorf, Deutschland), um eine mögliche Verunreinigung durch das zugeführte Trägergas zu verhindern. Das

Trägergas setzt sich aus 20 % Sauerstoff ($20,5 \pm 0,5\% \text{ O}_2$ in N_2) und 80 % Stickstoff zusammen. Die Reinheit beträgt $\geq 99,999 \text{ mol}\%$ [3].

Auf der Rückseite des MCC-IMS vom Typ „Breath-Discovery“ finden sich genormte, aus Edelstahl gefertigte Anschlüsse, die eine luftdichte Zuleitung der Gase gewährleisten. Es werden drei Hauptanschlüsse unterschieden. Der erste Anschluss ist der Probeneingang für die aspirierten Luftproben. Der zweite Anschluss stellt den Gaseingang für das Trägergas dar, welches gleichzeitig als Driftgas eingesetzt wird. Der dritte Anschluss dient als Eingang für die sogenannten „Feuchten Nullmessungen“. Sie werden durchgeführt, um das System ergänzend zu den „Trockenen Nullmessungen“ mit feuchter Luft zu spülen. Durch diesen Anschluss wird Luft aus einer mit Wasser gefüllten Glasflasche gezogen. Das genutzte Wasser ist von höchster Reinheit, um Verunreinigungen zu vermeiden. Die Anschlüsse des MCC-IMS, einschließlich der Wasserquelle sind in Abbildung 6 näher verdeutlicht.

Eine Zusammenfassung der Betriebsparameter der IMS-Einheit wird in Tabelle 3 gegeben.

Tabelle 3: Betriebsparameter des MCC-IMS vom Typ „Breath Discovery“

Parameter	Einstellung
Ionisationsquelle	β -Strahler (^{63}Ni , 550 MBq)
Elektrische Feldstärke	$300 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$
Driftstrecke (entspricht der Länge der Driftkammer)	12 cm
Durchmesser der Driftkammer	15 mm
Öffnungszeit des Schaltgitters	300 μs
Trägergasfluss	$150 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$
Driftgasfluss	$100 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$
Betriebstemperatur	40 °C
Druck	Umgebungsdruck
Volumen der Probeschleife	10 ml
Probenfluss	$75 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$

3.1.1.2. Aufbau der Multikapillarsäule

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Multikapillarsäule vom Typ MCC-OV5 der Firma Multichrom (Moskau, Novosibirsk, Russland) eingesetzt. Diese besteht aus etwa 1.000 gebündelten Kapillaren mit einem Gesamtdurchmesser von 3 mm. Der Innendurchmesser jeder einzelnen Kapillare liegt bei 43 μm , wobei die Filmdicke der stationären Phase 200 nm beträgt. Der Trägergasfluss ist auf $5 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ bis $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ beschränkt und weitgehend unempfindlich gegenüber Flussschwankungen im Trägergas. Tabelle 4 fasst die Betriebsparameter der Multikapillarsäule MCC-OV5 zusammen. Abbildung 8 zeigt den Querschnitt durch eine solche Multikapillarsäule.

Tabelle 4: Betriebsparameter der Multikapillarsäule MCC-OV5

Parameter	Einstellung
Temperaturbereich	maximal 250 °C
Trägergasfluss	$5 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ - $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$
Säulenlänge	bis 100 cm
Anzahl der gebündelten Kapillaren	ca. 1.000
Innendurchmesser der Kapillaren	43 μm
Gesamtdurchmesser	3 mm
Filmdicke	200 nm

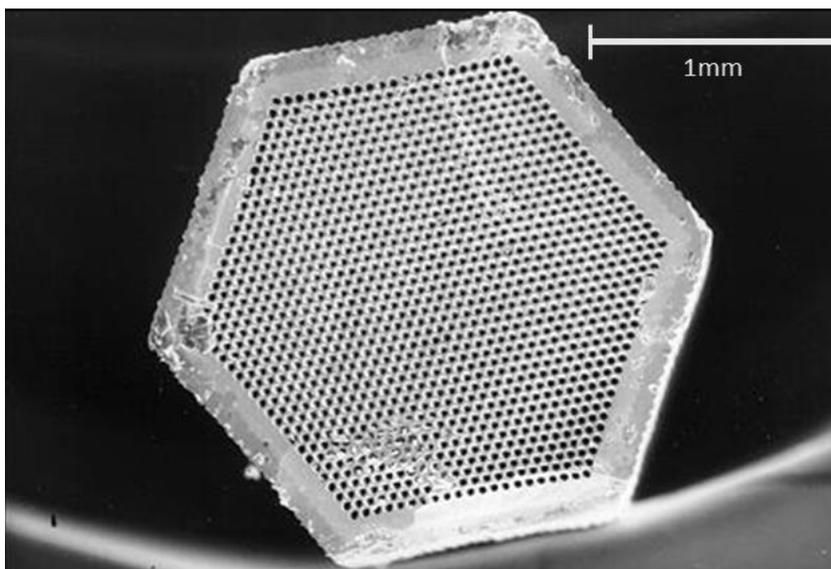


Abbildung 8: Querschnitt durch eine Multikapillarsäule
Nach [8].

3.1.1.3. Funktionsprinzip des MCC-IMS

Das MCC-IMS vom Typ „Breath-Discovery“ stellt eine Kombination aus einer Multikapillarsäule und einem Ionenmobilitätsspektrometer dar, wobei die Multikapillarsäule vor das IMS geschaltet ist. Durch das Vorschalten der Multikapillarsäule kann eine Vorauftrennung der Analyten erreicht werden [80]. Da die Ausatemluft eine sehr komplexe Zusammensetzung aufweist, dient die Vorauftrennung als Mittel zur Erhöhung der Trennschärfe der einzelnen VOCs im späteren IMS-Spektrum [8]. Weiterhin dient die Multikapillarsäule der Abtrennung von Luftfeuchtigkeit aus den Atemluftproben [8, 101]. Das Funktionsprinzip des IMS basiert auf der Wanderung von Ionen in einem elektrischen Feld unter Umgebungsdruck [7]. Durch eine erhöhte Wassermenge im Probegas verändert sich das Ionisationsverhalten der radioaktiven Strahlenquelle. Die Kombination mit einer Multikapillarsäule ermöglicht so erst die Analyse von Atemluftproben, da diese eine sehr hohe Luftfeuchtigkeit enthalten [103]. Bei hoher Luftfeuchtigkeit werden mehr Ionen gebildet. Daraus resultiert eine Verlängerung der Driftzeit und somit eine Verschiebung des Signalpeaks der einzelnen Analyten im Spektrogramm. Durch dieses Phänomen ist die Vergleichbarkeit der einzelnen Messungen nicht mehr gewährleistet und eine korrekte Zuordnung der Signalpeaks zu den einzelnen Substanzen ist nur erschwert möglich.

Abbildung 9 zeigt schematisch den Versuchsaufbau der durchgeführten Messungen.

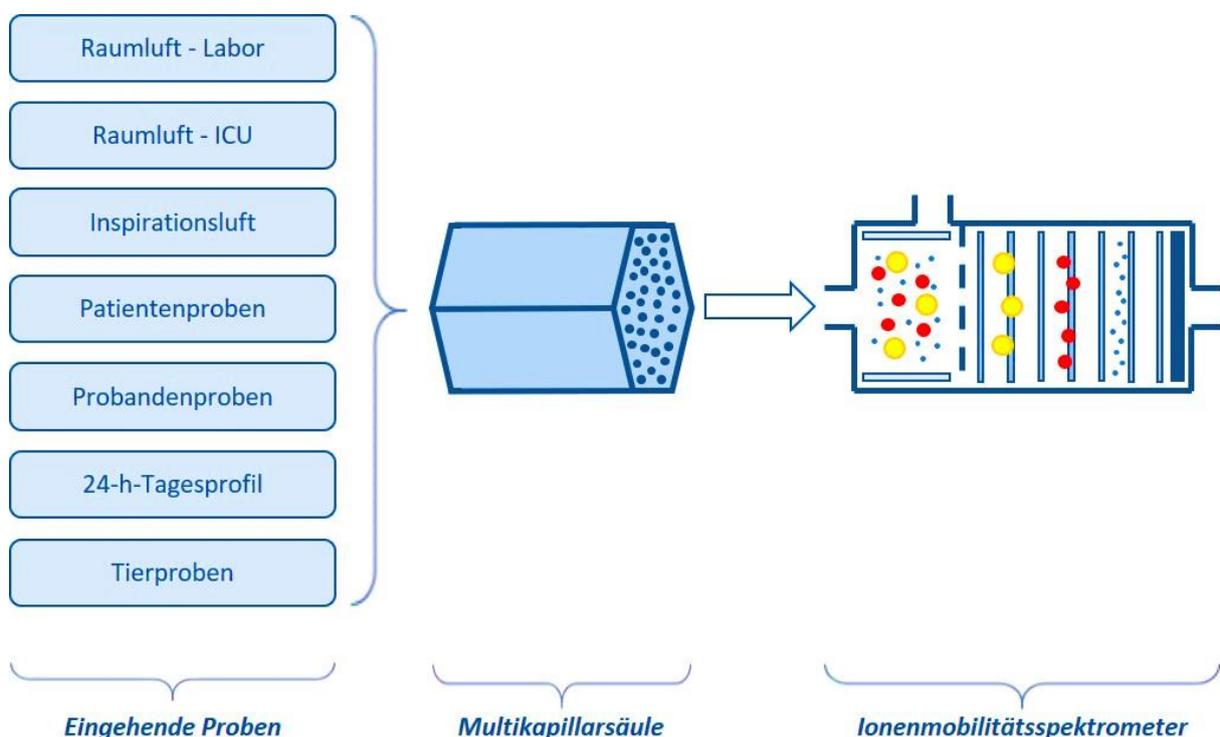


Abbildung 9: Übersicht des Versuchsaufbaus der vorliegenden Arbeit

ICU steht in der Abbildung für Intensive Care Unit, also die Intensivstation, auf der die Raumluchtproben erhoben wurden.

Das MCC-IMS aspiriert Atemluft- oder Raumluftproben nach einem definierten Zeitintervall. Die Analyten strömen gemeinsam mit dem Trägergas in die Kapillaren der Multikapillarsäule. Das Trägergas fungiert hierbei als mobile Phase, welche die Analyten durch die Kapillaren „schwemmt“. Die Kapillaren selbst dienen als stationäre Phase. Die gewählten Kapillaren besitzen einen schwach polaren Charakter und können daher mit den unterschiedlichen Analyten verschieden stark interagieren und sie so zurückhalten. Durch die Wechselwirkungen der Analyten mit der stationären Phase kommt es zu einer Verzögerung des Flusses durch die Kapillare und somit zu einer Verlängerung der Retentionszeit. Da jeder Stoff auf eine andere Weise mit der stationären Phase interagiert, hat jeder Analyt eine spezifische Retentionszeit, was zu einer chromatographischen Vorauftrennung der Analyten führt.

Nach dieser Vorauftrennung gelangen die Analyten zusammen mit dem Trägergas in die IMS-Einheit. Durch das Probeneinlasssystem strömen die Analyten in den Ionisationsraum. Im Ionisationsraum werden sie durch chemische Ionisation indirekt ionisiert [7]. Als radioaktive Strahlenquelle dient hierbei eine ^{63}Ni -Folie. Die emittierten β -Strahlen kollidieren mit einer maximalen Energie von 67 keV mit den Trägergasmolekülen und führen vor allem zu einer Ionisation der darin enthaltenen Stickstoffmoleküle [7]. Der ionisierte Stickstoff initiiert eine Kaskade an Reaktionen mit anderen im Luftstrom enthaltenen Molekülen, wodurch es zur Bildung von sogenannten Reaktionsionen kommt. Die gebildeten Reaktionsionen sind nicht stabil. Durch ihren Zerfall werden weitere Reaktionen initiiert. Im Folgenden kommt es durch Protonen- und Elektronentransfer zur Ionisation der Analyten [7]. Die Gesamtladung der Reaktionsionen hängt von der Stärke der Ionisationsquelle ab. Daher wird eine Sättigungsgrenze für die Anzahl der ionisierbaren Ionen verzeichnet. Die Anzahl der verfügbaren Ionen spiegelt sich im Reaktionsionen-Peak wieder [7]. Bei geringer Analytmenge werden vorwiegend Monomere gebildet. Das bedeutet, dass jedem Analyten ein eigenes Proton zur Ionisation zur Verfügung steht. Bei hoher Analytmenge werden zusätzlich Dimere gebildet, da nicht genügend Protonen für die einzelnen Analyten bereitgestellt werden können. Daher „teilen“ sich zwei Analytmoleküle ein Proton zur Ionisation. Die Dimere werden im Spektrogramm als zusätzlicher, eigenständiger Signalpeak dargestellt. Die Dimer-Bildung wird neben der Analytmenge durch die Zusammensetzung der Probenluft beeinflusst. Hierbei spielt hauptsächlich das Vorhandensein von Wassermolekülen in Form von Feuchtigkeit, aber auch der Stickstoffgehalt der Probenluft und die Temperatur eine wichtige Rolle [15, 22, 101].

Abbildung 10 zeigt schematisch die Monomer- und Dimer-Bildung im IMS.

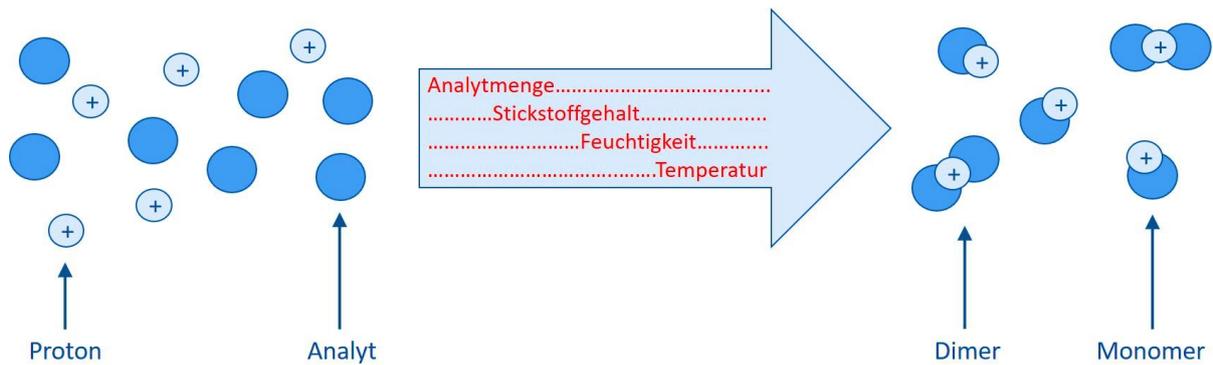
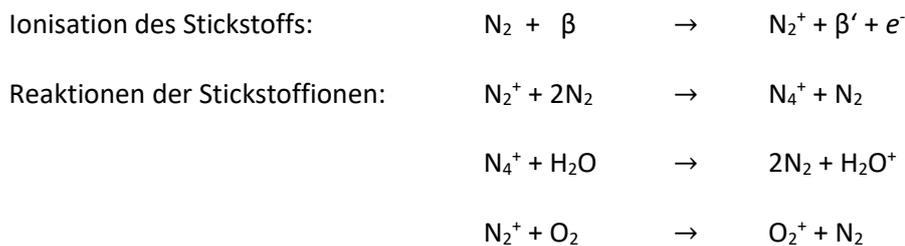


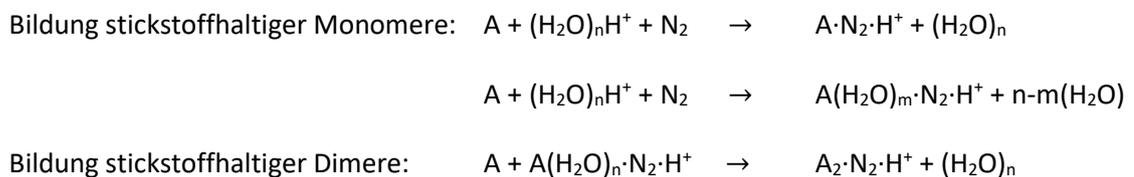
Abbildung 10: Schematische Darstellung zur Monomer- und Dimer-Bildung

Monomer- und Dimer-Bildung in Abhängigkeit der Stickstoffkonzentration:

Durch die Kollision von β -Strahlen mit den im Trägergas enthaltenen Stickstoffmolekülen kommt es zu deren Ionisation. Der ionisierte Stickstoff initiiert eine Kaskade an Reaktionen mit den im Luftstrom enthaltenen Molekülen. Diese Reaktionen werden in den folgenden Gleichungen gezeigt [82, 87]:



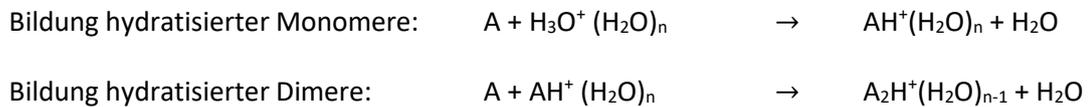
Die folgenden Reaktionsgleichungen veranschaulichen die Monomer- und Dimer-Bildung mit den Stickstoffmolekülen aus der Probenluft bzw. aus dem Driftgas:



Monomer- und Dimer-Bildung in Abhängigkeit der Feuchtigkeit:

Bei der Ionisation durch eine radioaktive Strahlenquelle spielt die Anwesenheit von Wasser eine wesentliche Rolle. Durch die erhöhten Wassermengen kommt es zu einem veränderten Ionisationsver-

halten der Moleküle. Bei hoher Feuchtigkeit werden daher vermehrt hydratisierte Monomere und Dimere gebildet [22]. Die folgenden Reaktionsgleichungen verdeutlichen die Bildung hydratisierter Monomere und Dimere:



Die im Ionisationsraum gebildeten Ionen gelangen durch ein Schaltgitter in die Driftregion. Das Schaltgitter besteht aus zwei Einzelgittern mit parallel angeordneten Drähten. Zwischen den Drähten wird ein elektrisches Feld erzeugt, welches senkrecht zur Driftstrecke steht, um ein „Durchkommen“ der Analyten zu verhindern. Wird das elektrische Feld kurz aufgehoben, können die Analyten das Gitter passieren und in die Driftkammer eindringen. Das entgegenströmende Driftgas verhindert dabei ein Eindringen neutraler Moleküle in die Driftkammer [5].

Nach Passage des Schaltgitters befinden sich die ionisierten Analyten in der Driftregion. In der Driftregion herrscht ein elektrisches Feld entlang der Längsrichtung. Die Homogenität des elektrischen Feldes wird durch Feldstabilisierungsringe ermöglicht. Die Analyten wandern entlang des elektrischen Feldes in Richtung der Faraday-Platte. Währenddessen strömt ihnen ein Driftgas entgegen. Die Analytionen stoßen dadurch mit den neutralen Molekülen des Driftgases zusammen und werden so abgebremst. Die Anzahl der Zusammenstöße ist abhängig von der Größe und der molekularen Struktur der Analyten. Es resultiert daher eine charakteristische Driftzeit für jeden einzelnen Analyten, da diese durch die Anzahl der Zusammenstöße unterschiedlich stark ausgebremst werden. Die Driftzeit ist somit abhängig von der molekularen Masse und der Größe der Substanz und daher spezifisch für jeden Analyten.

Am Ende der Driftregion befindet sich eine Faraday-Platte, die als Detektor fungiert. Treffen die Ionen auf die Faraday-Platte, wird ein elektrisches Signal erzeugt, welches durch einen Spannungswandler verstärkt wird. Das erfasste Signal wird als Signalintensität in Volt angegeben. Es ist daher kein direkter Rückschluss auf die tatsächliche Konzentration des jeweiligen Analyten möglich. Daher bedarf es einer Kalibration mit der Reinsubstanz. Ein entsprechendes Verfahren zur Kalibration ist in Kapitel 3.9 dargestellt.

Das von der Faraday-Platte registrierte Messsignal, also die erzeugte Spannung der einzelnen Ionschwärme, kann gegen die Driftzeit aufgetragen werden. Dadurch erhält man ein zweidimensionales IMS-Spektrogramm. Trägt man als dritte Dimension die Retentionszeit der Multikapillarsäule auf, ergibt sich ein dreidimensionales IMS-Spektrogramm. Die einzelnen IMS-Spektren und deren Auswertung werden in Kapitel 3.8 näher beschrieben.

3.1.2. Messeinstellungen und Messprotokoll

Die Steuerung der Messintervalle und die Aufzeichnung der Signale des MCC-IMS erfolgte mit der Software VOCan (Version 3.4.1, B&S Analytic GmbH, Dortmund, Deutschland). Mit dieser Software konnten Voreinstellungen zur Anzahl der gewünschten Messzyklen und deren Abstand zueinander festgelegt werden.

Es wurde für alle Messungen ein standardisiertes Messprotokoll entworfen. Dazu wurde eine konstante Temperatur des MCC-IMS von 40 °C gewählt. Das Messprotokoll der Raumluft- und Patientenmessungen setzt sich aus drei Teilen zusammen. Den ersten Teil stellte die Messung der Probenluft dar, welche 16 Minuten dauerte. Das MCC-IMS aspirierte eine Luftprobe von 10 ml Volumen über den Probenschlauch. Anschließend folgte eine sogenannte „Feuchte Nullmessung“, die 12 Minuten andauerte. Hierzu wurde Luft aus einem verschlossenen, mit destilliertem Wasser höchster Reinheit gefüllten Gefäß aspiriert und analysiert. Als dritter und somit letzter Teil des Messprotokolls folgte eine „Trockene Nullmessung“. Diese wurde ebenfalls mit einer Dauer von 12 Minuten durchgeführt. Es wurde dabei synthetische Luft der Firma AirLiquide (ALPHAGAZ™ 1 LUFT, AIR LIQUIDE, Düsseldorf, Deutschland) aspiriert. Die Feuchte und Trockene Nullmessung dienen der Spülung und Reinigung des MCC-IMS. So soll verhindert werden, dass Rückstände der vorherigen Probeluftmessung im System verbleiben und die künftigen Messungen verunreinigen.

Eine schematische Darstellung des Messprotokolls der Patienten- und Raumluftmessungen zeigt Abbildung 11.

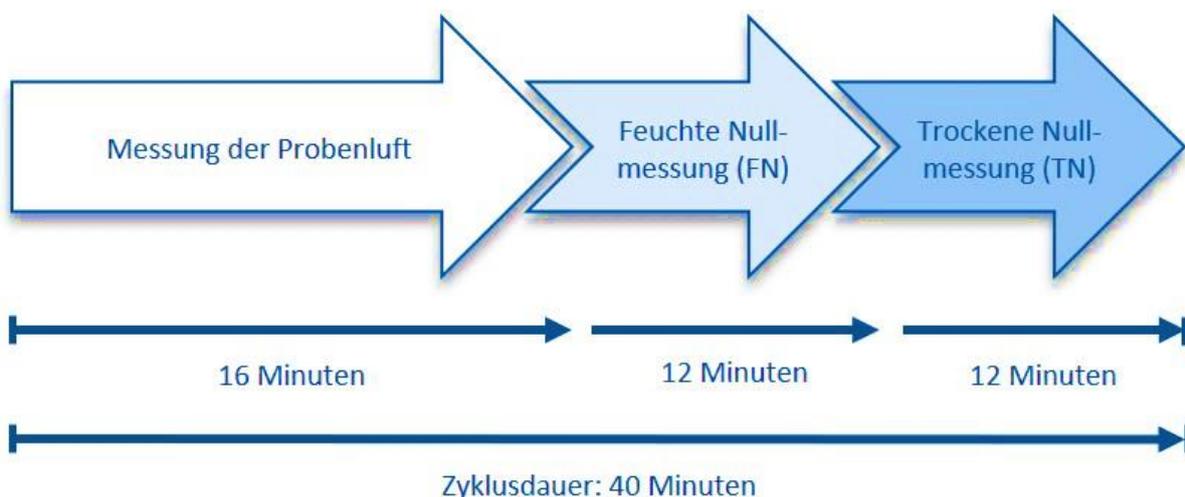


Abbildung 11: Darstellung des Messprotokolls für Raumluft- und Patientenmessungen

In den Tierversuchen wurde ein modifiziertes Messprotokoll verwendet (vgl. Kapitel 3.7.4).

3.2. Auswertung der MCC-IMS-Signale

Die graphische Darstellung und Auswertung der MCC-IMS-Signale erfolgte mit der Software Visual-Now, Version 3.6 (B&S Analytik, Dortmund, Deutschland). Mit Hilfe dieser Software wurde eine Quantifizierung und Identifizierung der gefundenen Analyten ermöglicht. Die Signale wurden als Signalstärke bei einer bestimmten Retentionszeit (RT) und einer bestimmten Driftzeit ($\frac{1}{K_0-Wert}$) angegeben.

Die Retentionszeit ist die spezifische Zeit eines Stoffes, die er benötigt, um die Multikapillarsäule zu passieren. Die Driftzeit ist die mittlere Geschwindigkeit des Analyten beim Durchqueren der Driftkammer bis zum Auftreffen auf die Faraday-Platte. Die Signalstärke entspricht der Spannung, die beim Auftreffen des ionisierten Analyten auf die Faraday-Platte erzeugt wird. Sie repräsentiert die Analytmenge. Die graphische Darstellung erfolgte je nach Fragestellung zwei- oder dreidimensional.

Bei der zweidimensionalen Darstellung wird auf der x-Achse die Driftzeit dargestellt und auf der y-Achse erfolgt die Darstellung der Retentionszeit. Die Intensitäten werden als sogenannte Heatmap farblich dargestellt, wobei blau einer niedrigen und gelb einer hohen Intensität entspricht. Abbildung 12 zeigt exemplarisch ein solches zweidimensionales Spektrogramm.

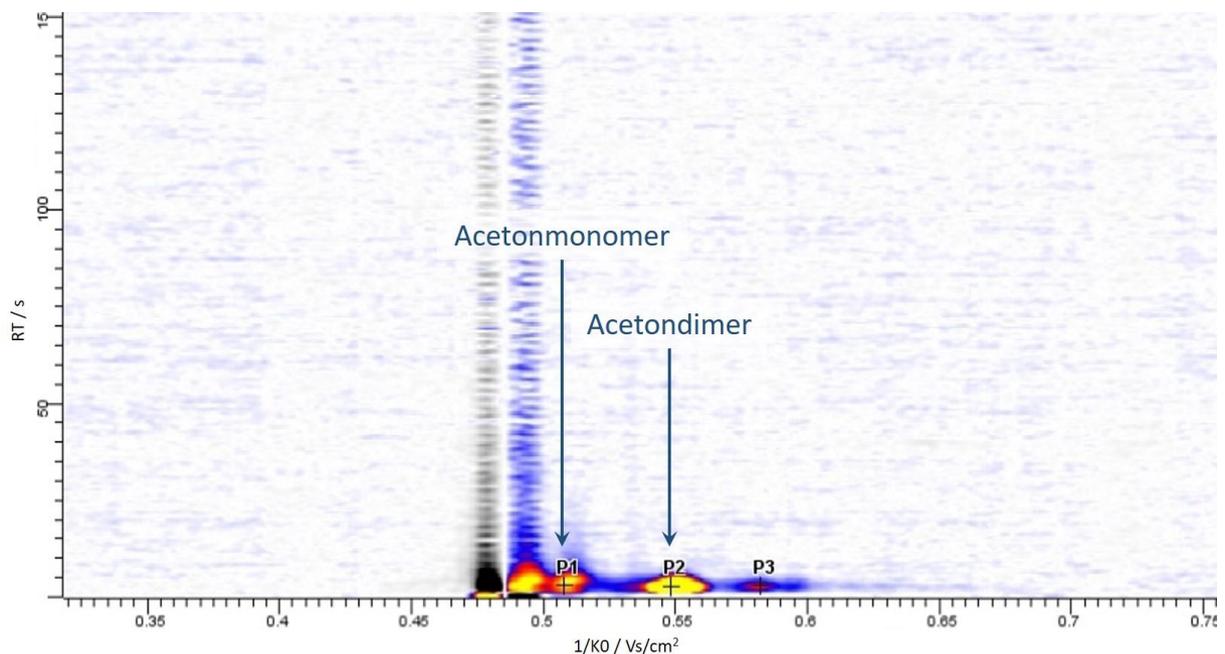


Abbildung 12: Darstellung eines 2D-Spektrogramms

Bei der dreidimensionalen Darstellung wird auf der x-Achse die Driftzeit aufgetragen. Auf der y-Achse erfolgt die Darstellung der Retentionszeit und die z-Achse entspricht der Signalintensität. Die dreidimensionale Darstellung ermöglicht eine Beurteilung der räumlichen Beziehungen einzelner Signalpeaks zueinander. Ein dreidimensionales Spektrogramm wird in Abbildung 13 gezeigt.

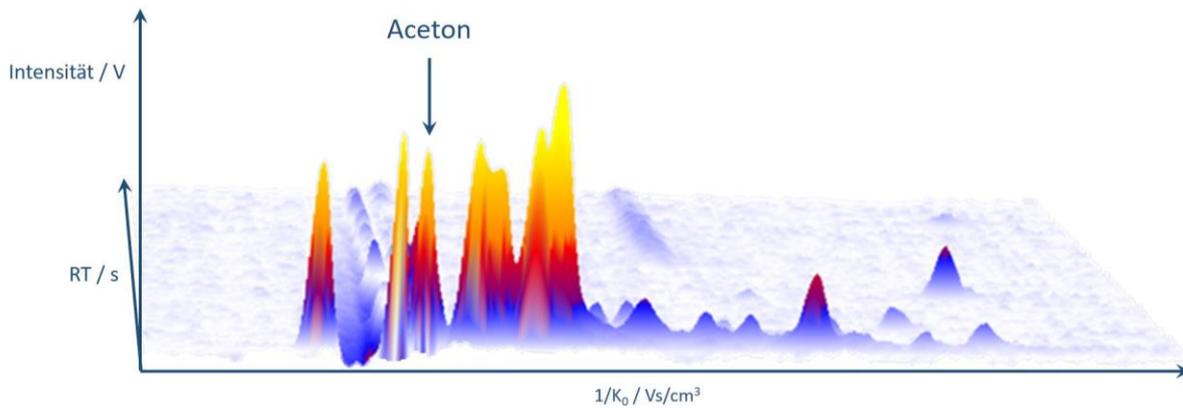


Abbildung 13: Darstellung eines 3D-Spektrogramms

Die gefundenen Signale zwischen 1 mV und 5 V Signalstärke wurden als Signalpeak definiert. Die untere Grenze wurde bei 1 mV festgelegt, da sie das Fünffache über dem Hintergrundrauschen der IMS-Signale lag. 5 V wurde als obere Grenze definiert, da hier die maximal mögliche Ionisation der Strahlenquelle erreicht ist.

Die Identifikation der Aceton-Peaks erfolgte mit der anwendergeführten, halbautomatischen Software MIMA (MS-IMS-Mapper, KIST Europe, Saarbrücken, Deutschland) [59] und der MCC/IMS-Analytes Database Version 1209 (B&S Analytik, Dortmund, Deutschland), welche eine gaschromatographisch erstellte Reinsubstanz-Datenbank darstellt. Die Vergleichbarkeit der Messungen des MCC-IMS mit den Daten von Messungen der Massenspektrometrie-Gaschromatographie konnte 2010 von *Jünger et. al.* gezeigt werden [42]. Die Software MIMA erfasst für jeden Signalpeak die Retentionszeit, die Driftzeit und den Radius der Peak-Ausdehnung und gleicht ihn mit der Reinsubstanz-Datenbank ab. Die Peak-Ausdehnung stellt dabei den Schwankungsbereich dar, in dem sich der Peak einer volatilen Substanz, in diesem Falle Aceton, typischerweise erstreckt. MIMA überprüft, welche Einzelsubstanz die größte Übereinstimmung mit dem Peak aufweist und gibt diese als Ergebnis aus. Weiterhin wird der Grad der Überschneidung der Einzelsubstanz mit dem Peak angegeben. Ein Peak wurde nur einer flüchtigen organischen Verbindung zugeordnet, wenn die Übereinstimmung mindestens 10 % betrug. Alle Zuordnungen von Peaks zu volatilen organischen Verbindungen wurden zusätzlich einer visuellen Plausibilitätsprüfung unterzogen.

Die statistischen Berechnungen, sowie die Erstellung der Diagramme und Graphen erfolgte mit der Software SigmaPlot (Version 12.5, Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland). Die Korrelation zwischen Voltwerten und Aceton-Konzentrationen wurde mittels Pearson-Korrelation bestimmt. Zum Vergleich der Aceton-Konzentrationen der Raumluft im Labor und auf Intensivstation wurden der t-Test und der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Zum Vergleich der Aceton-Konzentrationen von ge-

sunden Probanden, beatmeten Intensivpatienten und Versuchstieren wurde eine einfaktorische Varianzanalyse (one-way ANOVA) eingesetzt. Der p-Wert wurde als statistisch signifikant gewertet, wenn er Werte von kleiner 0,05 annahm.

3.3. Kalibration mittels HovaCAL

In der vorliegenden Arbeit wurde die externe Kalibration mittels HovaCAL 4836-VOC (INSPIRE ANALYTICAL SYSTEMS IAS, Oberusel, Deutschland) durchgeführt. HovaCAL steht für Hot-Vapor-Calibration und dient der Erzeugung präziser Gas-Dampf-Gemische zur Kalibration des MCC-IMS. Durch besondere Verdampfungstechnik können neben Wasser, Säuren und Laugen auch organische Lösungen kontinuierlich und pulsationsfrei vaporisiert und in ein Trägergas eingebracht werden [39]. Durch kontinuierliche Dosierung und dynamische Verdampfung der Prüfflüssigkeit, sowie eine gleichzeitige präzise gesteuerte Zuführung eines Trägergases, kann die Konzentration des Prüfgases genau bestimmt und gesteuert werden. Weiterhin ist mit dem HovaCAL VOC die Generierung von Prüfgasen mit verschiedenen Reinsubstanzkonzentrationen bis hin zum ppt-Bereich möglich. Aus den mit dem MCC-IMS gemessenen Signalen kann dann eine Kalibrationsfunktion erstellt werden. Die jeweilige Kalibrationsfunktion ist allerdings nur im Rahmen des eingesetzten Gerätes und für den gemessenen Stoff bei gleichen Bedingungen gültig, da veränderte Parameter ein verändertes IMS-Spektrum nach sich ziehen.

3.3.1. Funktionsprinzip des HovaCAL 4836-VOC

Der Gasgenerator HovaCAL erzeugt dynamische Prüfgase unterschiedlicher, genau definierter Zusammensetzung [39]. Am Anfang der Prüfgasherstellung steht die Dosierung von Prüfflüssigkeit und Trägergas. Der verwendete HovaCAL enthält sechs Mikrodosierpumpen, von denen immer zwei miteinander gekoppelt sind und zu einer Komponente gehören. Es können daher Prüfgase mit drei unterschiedlichen Komponenten hergestellt werden. Von den Mikrodosierpumpen aus werden die zu verdampfenden Substanzen kontinuierlich in den Verdampfer eingespritzt. Die Verdampfung muss vollständig und gleichmäßig erfolgen, da ansonsten die Dampfkonzentration zu gering oder der zeitliche Konzentrationsverlauf nicht gleichmäßig wäre [39]. Der eingebaute Verdampfer HovaPOR (INSPIRE ANALYTICAL SYSTEMS IAS, Oberusel, Deutschland) bedient sich einer thermischen Verdampfungsmethode. Hierzu wird durch eine Heizspirale die Temperatur im Inneren des Verdampfers erhöht, was zu einer Verflüchtigung der volatilen Substanzen führt. Gleichzeitig strömt das Trägergas in einer zuvor festgelegten Flussgeschwindigkeit durch den Verdampfer und vermischt sich mit dem entstandenen Dampf.

Die Konzentration des im Verdampfer erzeugten Prüfgases ist abhängig von der Relation zwischen der Menge der eingespritzten Substanz und dem währenddessen herrschenden Gasfluss [102].

Wird eine niedrige Konzentration einer Substanz im Prüfgas gefordert, kann dies über zwei weitere Verdünnungsstufen realisiert werden. Zur weiteren Verdünnung wird das bereits gebildete Prüfgas mit einem definierten Luftstrom aus synthetischer Luft verdünnt [102]. Durch die eingesetzten beheizten und druckkontrollierten Kapillaren, die mit Durchflussreglern kombiniert sind, kann ein korrektes Verdünnungsverhältnis erreicht werden [40].

Durch einen zweiten Verdampfer kann das erzeugte Gemisch aus synthetischer Luft und der verdampften Substanz mit Feuchtigkeit angereichert werden. Dies geschieht über eine weitere Mikrodosierpumpe, die mit reinstem Wasser versorgt wird. Die Mikrodosierpumpe gibt eine definierte Menge an Wasser an einen zweiten Verdampfer ab, der dieses vaporisiert und mit einer vorgegebenen Menge an Trägergas mischt. Der so gebildete Wasserdampf wird dann der Prüfluft zugeführt und reichert diese mit Luftfeuchtigkeit an.

Sämtliche Systeme des HovaCAL sind von einem Heizmantel umgeben, um eine konstante Temperatur des Prüfgases gewährleisten zu können. Das gebildete Prüfgas kann über drei separate Ausgänge aus dem System des HovaCAL abgenommen werden. Jeder Ausgang entspricht hierbei einer Dosierstufe. Dementsprechend wird über den Prüfgasausgang I eine Dosierung im Bereich von ppm erreicht, über den Prüfgasausgang II im Bereich ppb und über den Prüfgasausgang III eine Dosierung im ppt-Bereich.

Eine schematische Darstellung des Aufbaus des HovaCAL wird in Abbildung 14 gezeigt. Das experimentelle Setting ist in Abbildung 15 dargestellt.

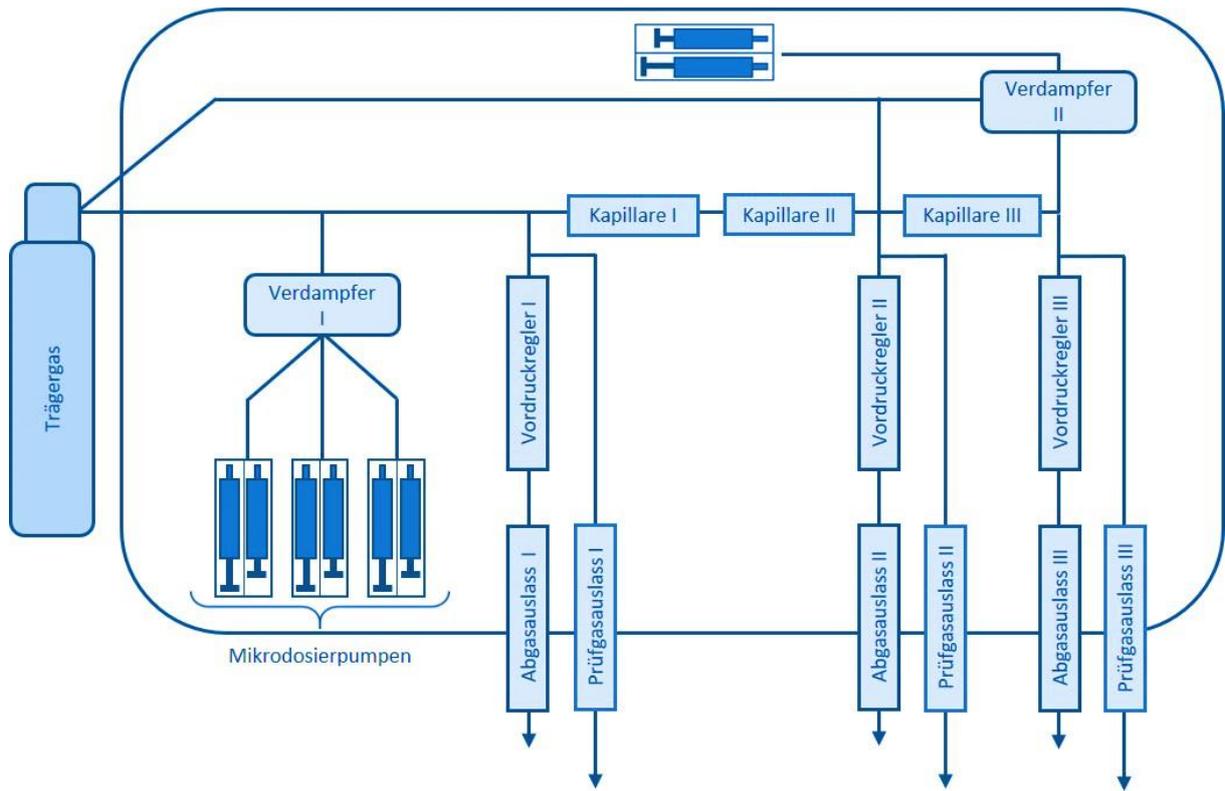


Abbildung 14: Schematische Darstellung des HovaCAL

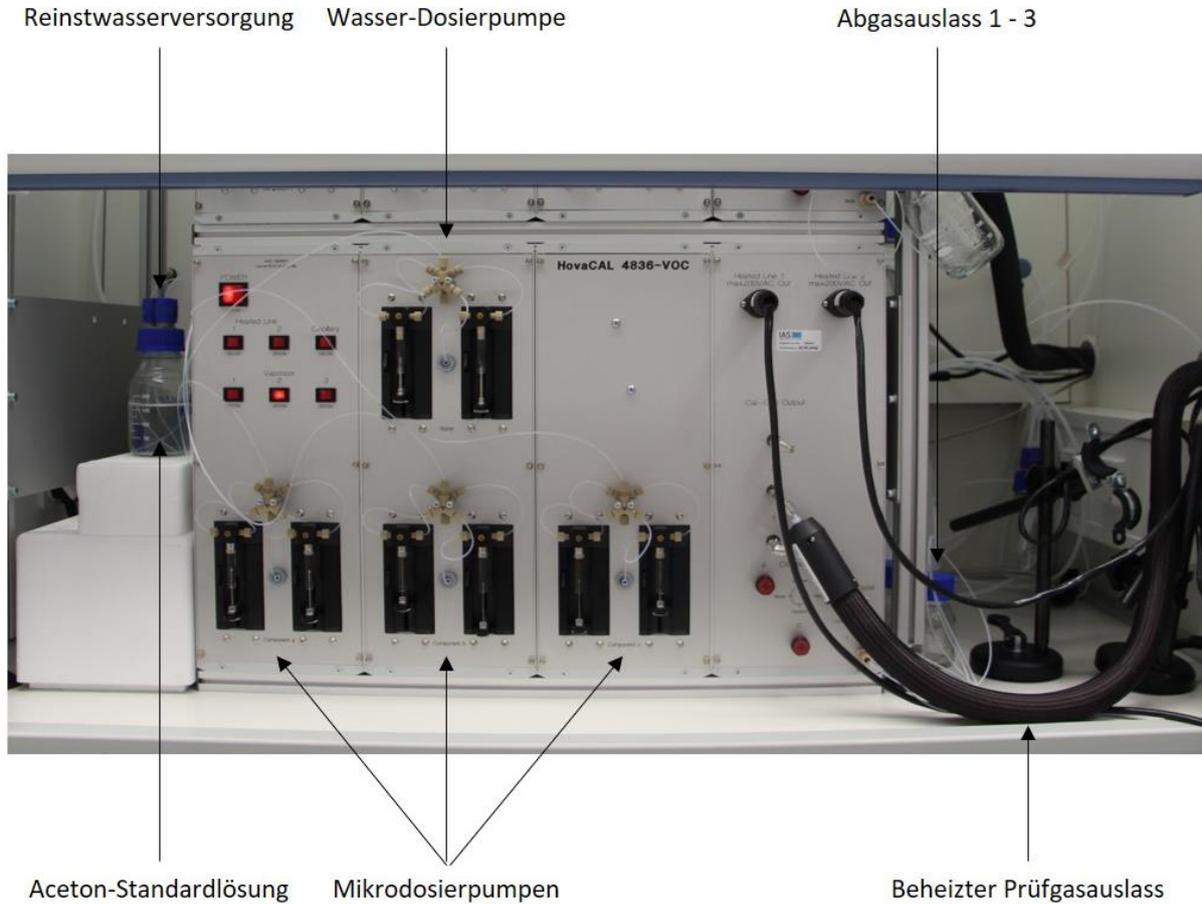


Abbildung 15: Experimentelles Setting zur Nutzung des HovaCAL 4836-VOC

Die Steuerung des HovaCAL erfolgt mit der Software ViewCAL4836 (INSPIRE ANALYTICAL SYSTEMS IAS, Oberusel, Deutschland). Die Software ermöglicht eine Steuerung der Zielkonzentrationen der drei zuzuführenden Komponenten, der Verdünnungsstufe, der Luftfeuchte, sowie die Steuerung der Temperatur von Verdampfer, Kapillaren und Heizmantel. Weiterhin können die Bezugstemperatur, das Messintervall und der Trägergasfluss eingestellt werden.

Abbildung 16 zeigt die Benutzeroberfläche der Software ViewCAL 4836 mit den Einstellungen, die zur Herstellung der Aceton-Prüfgase genutzt wurden.

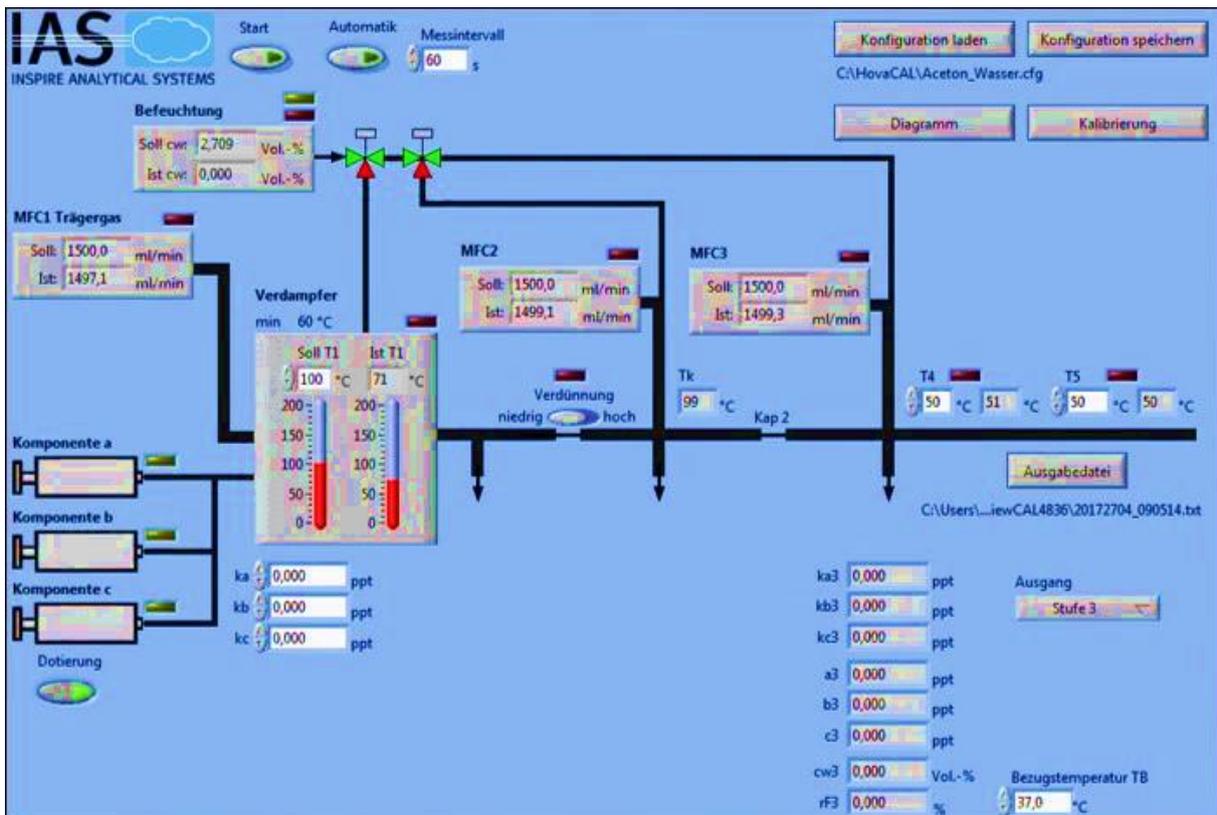


Abbildung 16: Benutzeroberfläche ViewCAL4836

3.3.2. Messeinstellungen des HovaCAL 4836-VOC zur Kalibration von Aceton

Zur Erstellung einer Kalibrationsfunktion wurde Aceton (99,9%, Sigma Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Deutschland) als Reinsubstanz in verschiedenen Konzentrationen zwischen 5 ppb und 45 ppb in 5 ppb Schritten verdampft. Das hergestellte Testgas wurde durch ein am dritten Prüfgasauslass angeschlossenes MCC-IMS vermessen. Hierbei wurden von jedem Konzentrationsschritt fünf Messungen angefertigt. Nach jedem Konzentrationsschritt erfolgte eine fünf-minütige Vermessung ohne Verdampfen von Aceton, um eine Verunreinigung des Systems und daher rührende falsche Testgaskonzentrationen auszuschließen.

Vor jeder Probenmessung wurden die Mikrodosierspritzen und das System des HovaCAL fünf Minuten lang gespült. Ferner wurde ausgeschlossen, dass sich Luftblasen in den Mikrodosierspritzen befanden, welche eine Ungenauigkeit der Aceton-Reinsubstanz-Dosierung verursachen könnten.

Die Einstellungen des HovaCAL werden in Tabelle 5 näher erläutert. Die Einstellungen des zur Vermessung der Testgase genutzten MCC-IMS werden in Tabelle 6 dargelegt.

Tabelle 5: Einstellungen des HovaCAL

Parameter	Einstellung
HovaCAL-Sequenz	Standardsequenz
Befeuchtung	0 % Luftfeuchte
Temperatur der Kapillaren (Tk)	100°C
Temperatur der Gasausgabe (T4 und T5)	50°C
Temperatur des Verdampfers	100°C

Tabelle 6: Einstellungen des zur Vermessung der Testgase genutzten MCC-IMS

Parameter	Einstellung
MCC-IMS Typ	„Breath Discovery“
Dauer des Samplings	100 s
Trägergasfluss	150 $\frac{ml}{min}$
Driftgasfluss	100 $\frac{ml}{min}$
Betriebstemperatur	40°C
Druck	Umgebungsdruck

3.4. Messungen der Raumluft

3.4.1. Messort: Intensivstation

Die Messungen erfolgten auf der interdisziplinären operativen Intensivstation (IOI) der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie der Universitätsklinik des Saarlandes. Sie verfügt über 26 Intensiv- bzw. Intermediate-Care-Betten und behandelt Patienten aus verschiedenen operativen Fächern, vorwiegend aus dem Bereich der Allgemein- und Unfallchirurgie.

Die Raumluftmessungen wurden an drei unterschiedlichen Tagen in einem Patientenzimmer der Intensivstation für jeweils 24 Stunden durchgeführt. Es wurde nach standardisiertem Messprotokoll (siehe Kapitel 3.1.2) vorgegangen. Das MCC-IMS aspirierte alle 40 Minuten die zu prüfende Luft durch einen frei hängenden Probeschlauch und analysierte sie anschließend. Es wurde sichergestellt, dass der Probeschlauch keinen Kontakt zu Fußboden oder anderen Einrichtungsgegenständen hatte.

Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 17 dargestellt.

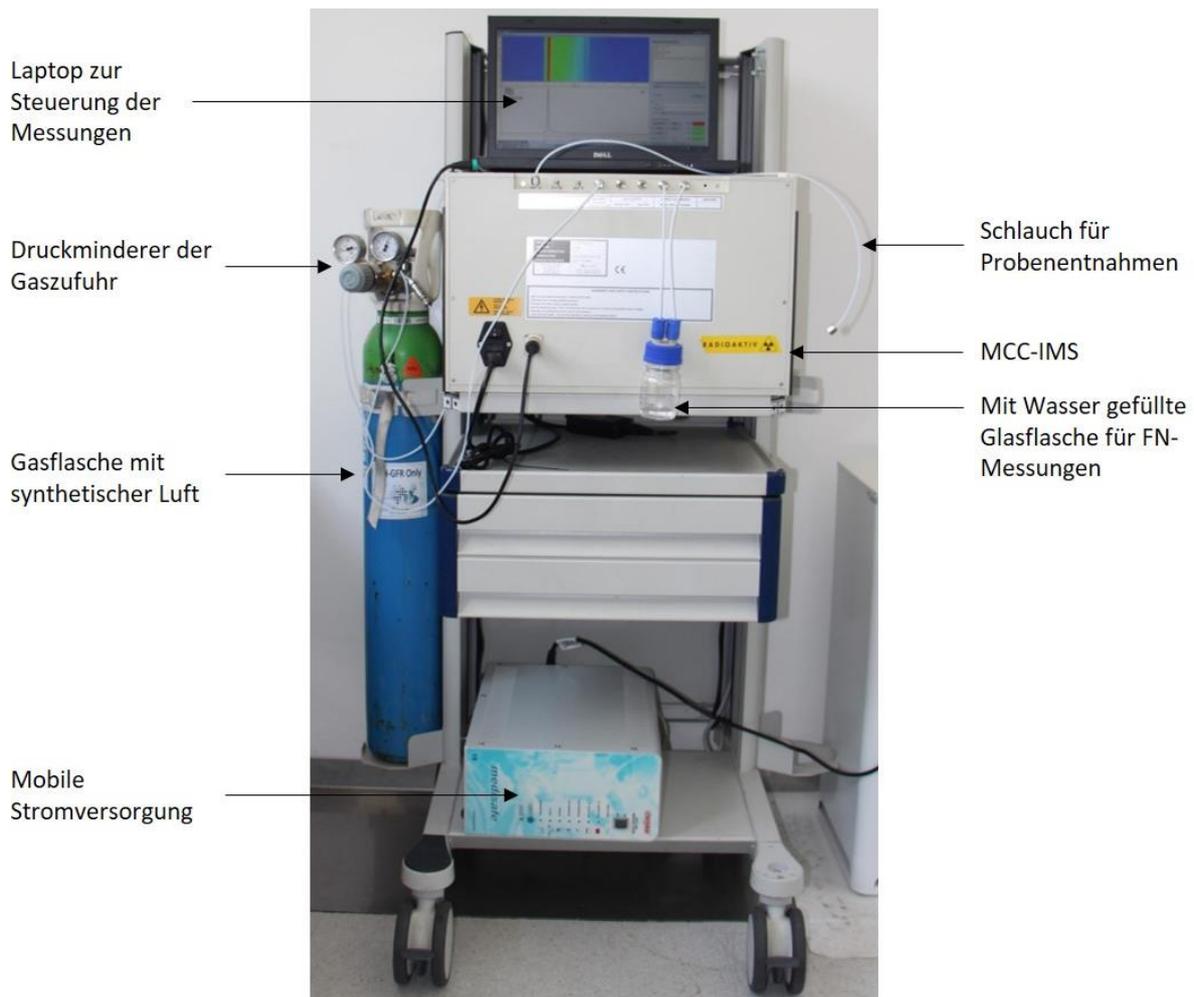


Abbildung 17: Versuchsaufbau der Raumluftmessungen

Aufbau des IMS und des notwendigen Zubehörs auf einem mobilen Wagen. Als FN-Messungen werden die „Feuchte Null“-Messungen bezeichnet.

3.4.2. Messort: Experimentelles Labor des Center of Breath Research

Das Center of Breath Research (CBR) verfügt über ein experimentelles Labor der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie der Universitätsklinik des Saarlandes. Es befasst sich mit unterschiedlichen Fragestellungen aus dem Bereich der Atemluftanalytik.

Das MCC-IMS wurde in den Räumlichkeiten des CBR installiert und in Betrieb genommen. Die Proben wurden, analog zu den Raumlufmessungen auf der Intensivstation, über einen frei im Raum hängenden Probenschlauch aspiriert. Kontakte des Probenschlauchs zu Einrichtungsgegenständen und zum Fußboden wurden vermieden. Darüber hinaus wurde die Messapparatur fern von Abzugseinrichtungen und Lagerungsplätzen für Chemikalien aufgestellt.

Die Durchführung der Messungen erfolgte nach standardisiertem Messprotokoll, wie in Abbildung 11 dargestellt. Es handelte sich hierbei um Einzelmessungen, die an verschiedenen Tagen zu unterschiedlichen Tageszeiten durchgeführt wurden.

Der Messaufbau der Raumlufmessungen ist in Abbildung 17 dargestellt.

3.5. Messungen der Inspirationsluft

Die Messungen der Inspirationsluft erfolgten auf derselben Intensivstation des Universitätsklinikums des Saarlandes, wie auch die Raumluf- und Patientenmessungen. Alle Messungen wurden an Intensivrespiratoren vom Typ EVITA 4 (Dräger Medical, Lübeck, Deutschland) realisiert. Die Entnahme der Luftproben erfolgte über ein T-Stück zwischen einem Beatmungsfilter (Humid-Vent Filter Compact S, Teleflex Medical, Athlone, Irland) am Ausgang des Respirators und dem Beatmungsschlauch. Durch diesen Aufbau wurde gewährleistet, dass die Messungen der tatsächlichen Inspirationsluft, wie sie auch dem Patienten zugeführt wird, entsprechen. Eine maschinelle Beatmung zur Erfassung der Inspirationsproben wurde mit Hilfe einer Testlunge (Testlunge, zwei Liter, Dräger Medical, Lübeck, Deutschland) simuliert. Die Einstellungen des Beatmungsgerätes wurden mit einem Minutenvolumen von acht Litern pro Minute und einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 21% gewählt.

Abbildung 18 zeigt die schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Inspirationsmessungen.

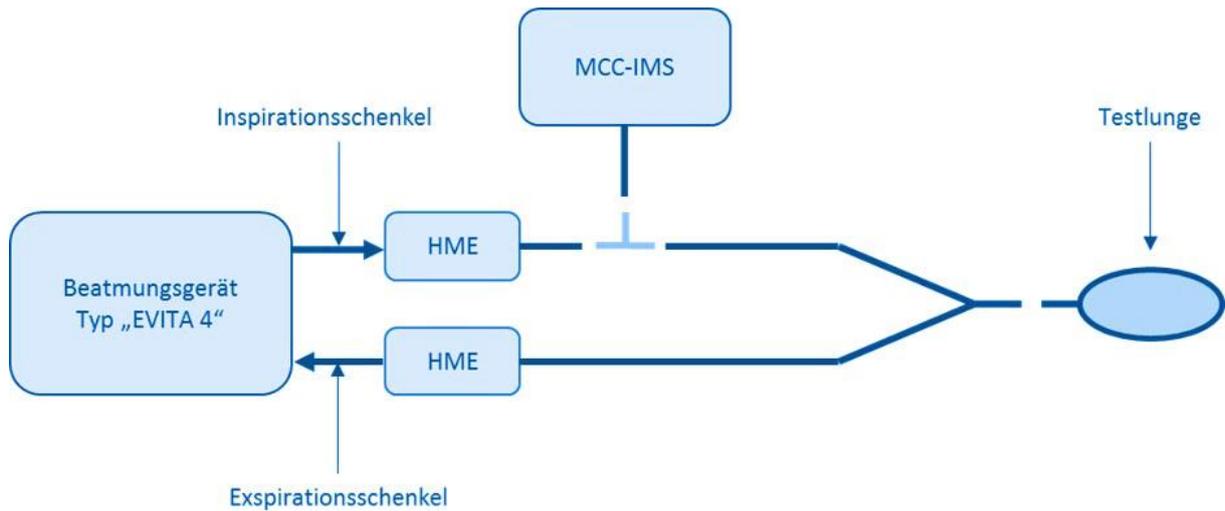


Abbildung 18: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Inspirationsluftmessungen
 Hierbei steht HME für „Heat and Moisture Exchanger“ und stellt den verwendeten Beatmungsfilter dar.

3.6. Patientenmessungen

3.6.1. Ethikvotum

Vor Beginn der Patientenmessungen wurde bei der zuständigen Ethikkommission das Einverständnis erbeten. Die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes erteilte hierzu ein Votum für „Inspiratorische und expiratorische Luftanalysen bei beatmeten Intensivpatienten“. Diesem wurde am 22.12.2014 unter dem Aktenzeichen 232/14 stattgegeben.

3.6.2. Patientenaufklärung und Einwilligung

Das Einverständnis wurde von allen untersuchten Patienten eingeholt. Es beinhaltete die Einwilligung zur Auswertung der von ihnen gewonnenen Ausatemluftproben gemäß den Vorgaben der Ethikkommission. Dies geschah entweder stellvertretend durch einen gesetzlichen Betreuer oder nachträglich nach Beendigung der Beatmung durch den Patienten selbst. Weiterhin wurde eine schriftliche Patienteninformation zur Erläuterung der Untersuchung an die Patienten übergeben.

3.6.3. Versuchsaufbau

Es wurden zehn Patienten nach standardisiertem Messprotokoll untersucht. Hierfür wurde über einen Zeitraum von 12 Stunden alle 40 Minuten eine Ausatemluftprobe entnommen.

Voraussetzung für den Einschluss der Patienten in die vorliegende Studie waren eine maschinelle Beatmung und deren geplante Fortführung für mindestens zwölf Stunden. Ausschlusskriterien stellten geplante Interhospitaltransporte und die absehbare Notwendigkeit von Interventionen, wie zum Beispiel Operationen in den kommenden zwölf Stunden, dar. Weiterhin wurden keine Patienten eingeschlossen, die mit Hilfe eines balancierten Sedierungsverfahrens analgosediert wurden, da inhalative Anästhetika die hier angewandten Messverfahren möglicherweise durch Interaktionen beeinflussen könnten.

Der Versuchsaufbau erfolgte standardisiert. Das MCC-IMS wurde auf einem mobilen Wagen mit allen benötigten Arbeitsmitteln installiert, wie in Abbildung 17 gezeigt wurde. Unter anderem wurden auf dem Wagen ein Laptop zur Steuerung der Messungen mittels der Software „VOCan“ (Version 3.4.1, B&S Analytic GmbH, Dortmund, Deutschland) und eine Gasflasche mit synthetischer Luft (ALPHAGAZ™ 1 LUFT, AIR LIQUIDE, Düsseldorf, Deutschland) platziert. Nach Auswahl der Patienten wurde der mobile Wagen am Kopfende des Patientenbetts positioniert. Diese Platzierung erfolgte bewusst, um die Patientenversorgung möglichst wenig zu beeinträchtigen.

Abbildung 19 veranschaulicht die Integration des MCC-IMS in einen Intensivarbeitsplatz.

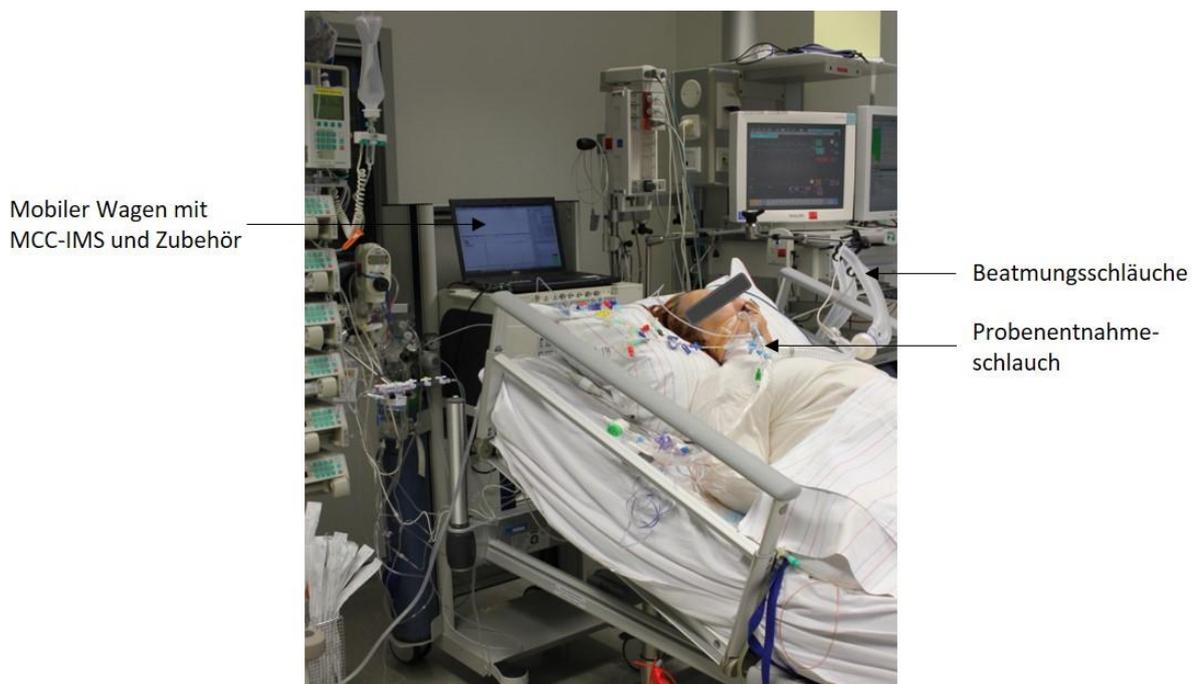


Abbildung 19: Versuchsaufbau eines Intensivarbeitsplatzes bei laufender Patientenmessung
Ein herzlicher Dank gilt Herrn M. Wachowiak für die Bereitstellung des Bildes.

Der Probenschlauch wurde mittels eines T-Stücks konnektiert. Dieses T-Stück wurde zwischen Endotrachealtubus und Beatmungsschlauch eingebracht. Diese Platzierung stellte die kürzest mögliche Strecke zwischen Patient und Probenschlauch dar. Durch die direkte Nähe zum Patienten wurde ein potentieller Einfluss durch die Kunststoffschläuche minimiert.

Die Beatmungfilter (Humid-Vent Filter Compact S, Teleflex Medical, Athlone, Irland) wurden, analog zu den Inspirationsluftmessungen am Eingang, sowie am Ausgang des Beatmungsgeräts angebracht. Dies sollte einer Fehlplatzierung des Beatmungsfilters zwischen Patienten und Probenschlauch entgegenwirken, da durch eine Platzierung vor der Probeentnahmestelle die Zusammensetzung der Expirationsluft potentiell verändert werden könnte.

Abbildung 20 gibt einen Überblick über den Versuchsaufbau der Patientenmessungen.

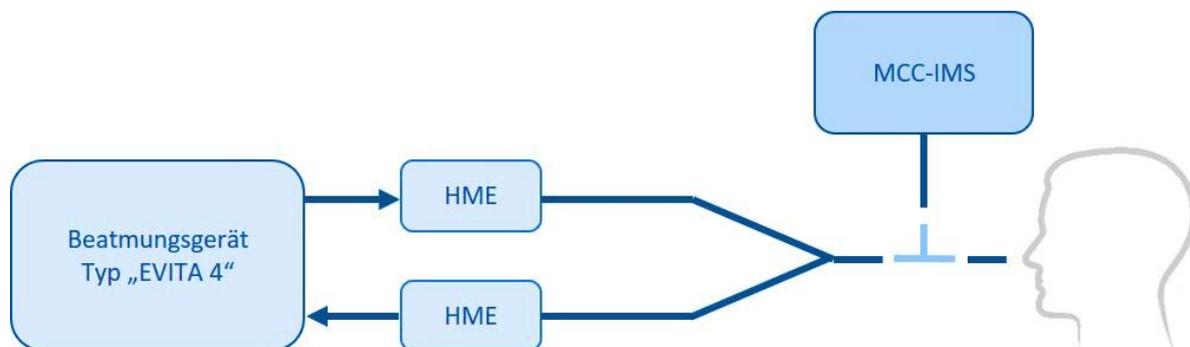


Abbildung 20: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Patientenmessungen

HME steht hierbei für „Heat and Moisture Exchanger“ und stellt den verwendeten Beatmungfilter dar.

3.7. Messungen der gesunden Probanden

Es wurden 100 gesunde Freiwillige im Sinne einer Querschnittstudie untersucht. Die Probanden waren allesamt Mitarbeiter oder Studierende des Lehrstuhls für analytische Chemie in Reutlingen. Diese erklärten sich bereit, Ausatemproben abzugeben und diese untersuchen zu lassen. Nach standardisiertem Messprotokoll erfolgte eine einmalige Probeentnahme und deren Messung. Die Probanden befanden sich in ihrem alltäglichen Zustand, es wurden keine Voraussetzungen an die Teilnahme gestellt und es wurden keine näheren Bekundungen zum aktuellen Zustand der Probanden eingeholt.

Das MCC-IMS wurde zur Probeentnahme mit einem Spirometer (SpiroScout, Ganzhorn Medizin Electronic, Niederlauer, Deutschland) verbunden, dessen Mundstück ein Einmalprodukt darstellt und nach jeder Messung ausgetauscht wurde. Die Probanden führten das Mundstück selbständig in ihren Mund ein und verschlossen es nach außen hin mit ihren Lippen. Sie wurden dazu angehalten normal zu atmen. Eine forcierte Ausatmung war zur Gewinnung der Ausatemluftproben nicht notwendig. Nach

Start der Software VOCan aspirierte das MCC-IMS eine Luftprobe von 10 ml Volumen. Durch die Koppelung von Spirometer und MCC-IMS wurde das Erkennen der Ausatemphase gewährleistet und es konnte so eine kumulierte Messung des endtidalen Volumens mehrerer Ausatemzüge sichergestellt werden.

Abbildung 21 zeigt das verwendete Spirometer, das zur Probenentnahme mit dem MCC-IMS gekoppelt wurde.



Abbildung 21: Spirometer zur Probeentnahme bei spontanatmenden Probanden

3.8. 24-Stunden-Tagesprofil

Um den tageszeitlichen Verlauf der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft untersuchen zu können, wurde exemplarisch ein 24-Stunden-Tagesprofil eines Mitarbeiters erstellt.

Es wurde ein Spirometer (SpiroScout, Ganzhorn Medizin Electronic, Niederlauer, Deutschland) mit dem MCC-IMS gekoppelt, über das die Ausatemluftproben entnommen wurden. Die Entnahme der Ausatemluftproben wurde analog zu den Entnahmen bei den gesunden Probanden durchgeführt. Die Messungen erfolgten nach standardisiertem Messprotokoll. Die Ausatemluftproben wurden tagsüber stündlich erfasst, während nachts auf eine zweistündige Erfassung gewechselt wurde.

3.9. Messungen im Tierversuch

3.9.1. Versuchstiere

Eine Genehmigung durch die zuständige Tierschutzkommission (Landesamt für Gesundheit und Verbraucherschutz, Saarbrücken, Deutschland) wurde vor Beginn der Versuche eingeholt. Sie wurde unter dem Aktenzeichen 41/2014 erteilt. Hierbei handelte es sich um ein anderes Versuchsvorhaben, das unabhängig von dieser Arbeit durchgeführt wurde. Untersucht wurden im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit lediglich Ausatemluftproben der Kontrollgruppe.

Es wurden männliche Sprague-Dawley Ratten (Charles River, Sulzfeld, Deutschland) mit einem Gewicht von 200 - 300 g und einem Alter von 8 - 10 Wochen verwendet. Die Unterbringung der Tiere erfolgte bis zum Versuchstag im Tierstall der Universitätsklinik des Saarlandes unter klimatisch standardisierten Bedingungen (Lufttemperatur 20 ± 2 °C, relative Luftfeuchte 50 ± 5 %). Als Futter diente Standardlaborfutter sowie Wasser nach eigenem Ermessen der Tiere. Zwölf Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren das Futter entzogen, um ihre Nüchternheit bei Versuchsbeginn zu gewährleisten. Wasser wurde ihnen weiterhin zur Verfügung gestellt.

3.9.2. Medikamente und Chemikalien

Die im Tierversuch verwendeten Medikamente werden in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: Im Tierversuch verwendete Medikamente

Medikament	Hersteller	Funktion
Sevofluran	AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Ludwigshafen, Deutschland	Narkoseeinleitung
Pentobarbital	Merial, Hallbergmoos, Deutschland	Narkoseaufrechterhaltung
Bupivacainhydrochlorid (Bucain-Actavis 0,5%)	Actavis Deutschland GmbH & Co. KG, München Deutschland	Lokalanästhesie
Atracurium	Hexal, Holzkirchen, Deutschland	Relaxation
Sterofundin BG5	B. Braun, Melsungen, Deutschland	Basisinfusion
NaCl 0,9%	B. Braun, Melsungen, Deutschland	Verdünnung und Herstellung injektionsfähiger Lösungen
Heparin-Natrium	B. Braun, Melsungen, Deutschland	Benetzung von Kathetern und Spritzen

3.9.3. Anästhesie und chirurgische Vorbereitung

Die Narkoseeinleitung der Versuchstiere erfolgte inhalativ mit Sevofluran. Hierzu wurde Sevofluran in einem luftdicht verschlossenen Becherglas verflüchtigt, in das die Tiere gesetzt wurden bis sie sicher eingeschlafen waren. Anschließend wurden zur Aufrechterhaltung der Narkose $60 \frac{mg}{kg KG}$ Pentobarbital intraperitoneal in den linken unteren Quadranten des Abdomens verabreicht. Unter dieser Dosierung konnte eine erhaltene Spontanatmung gewährleistet werden. Eine ausreichende Oxygenierung und Decarboxylierung wurde somit sichergestellt, ebenso eine Abatmung des initial verabreichten volatilen Anästhetikums Sevofluran. Um eine ausreichende Narkosetiefe sicherzustellen, wurden auditorische Reize und Schmerzreize gesetzt. Erst wenn hierauf keine Reaktion mehr folgte, wurde mit der chirurgischen Präparation begonnen. Nach Anlage des zentralvenösen Katheters (ZVK) erfolgte die Narkoseaufrechterhaltung mit intravenösen Pentobarbital-Bolusgaben in einer Dosierung von 3,2 mg alle 30 Minuten und zusätzlichen Bolusgaben bei Bedarf.

Zu Beginn der chirurgischen Maßnahmen wurden die Tiere in Rückenlage auf einer Wärmeplatte fixiert, um einem Abfall der Körperkerntemperatur entgegenzuwirken. Die Körperkerntemperatur wurde während der chirurgischen Präparation mittels rektaler Temperatursonde (Philips IntelliVue MP20 Junior, Philips MedizinSysteme, Boeblingen, Deutschland) überwacht.

Zur Sicherung der Atemwege und zur späteren maschinellen Beatmung wurden die Tiere tracheotomiert. Hierzu wurde nach medianem Hautschnitt zwischen Mandibula und Manubrium sterni eine Trachealkanüle aus Edelstahl im oberen Drittel der Trachea platziert und fixiert.

Anschließend wurde die rechte Vena jugularis interna mittels Polyethylen-Katheter (PE-50 0,4 x 0,8 mm, Braun, Melsungen, Deutschland) katheterisiert. An den ZVK wurde nach erfolgter Anlage eine Spritzenpumpe (Fresenius Kabi, Injectomat, TIVA Agilia, Bad Homburg, Deutschland) angeschlossen, über die kontinuierlich eine Vollelektrolytlösung (Sterofundin BG5, B. Braun, Melsungen, Deutschland) infundiert wurde. Die Infusionsrate wurde auf $10 \frac{ml}{kg KG}$ pro Stunde festgelegt, um den Flüssigkeitsbedarf und den Energiebedarf der Tiere zu decken.

Im weiteren Verlauf wurde die Arteria femoralis über einen Hautschnitt im Bereich des linken Leistenbands präpariert und katheterisiert. Über den arteriellen Katheter der Arteria femoralis wurde eine kontinuierliche Aufzeichnung des arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz ermöglicht. Während der operativen Vorbereitungen wurde die Überwachung mittels Patientenmonitor (Philips IntelliVue MP20 Junior, Philips MedizinSysteme, Boeblingen, Deutschland) gewährleistet. Während der Beatmung wurden die Tiere mit der Software PowerLab (PowerLab 8/35, LabChar V7, ADInstruments Oxford, Großbritannien) überwacht. Weiterhin konnten über den arteriellen Katheter der Arteria femoralis die regelmäßigen Blutentnahmen für die Blutgasanalyse durchgeführt werden.

Nach operativer Vorbereitung wurden die Tiere relaxiert, um eine maschinelle Beatmung einleiten zu können. Zur Relaxierung wurde das Muskelrelaxans Atracurium in einer Dosis von 1,5 mg als Bolus verabreicht.

Das Beatmungsgerät (KTR-5 small animal ventilator, Hugo Sachs Elektronik-Harvard Apparatus, March-Hugstetten, Deutschland) wurde immer mit den gleichen Grundeinstellungen gestartet. Es wurde eine Atemfrequenz von 65 Atemzügen pro Minute, eine Inspirations-Ratio von 45 %, ein Positiver Endexpiratorische Druck (PEEP) von 1-2 cm H₂O und ein Tidalvolumen von $8 \frac{ml}{kg KG}$ voreingestellt. Die Beatmung wurde im Verlauf durch regelmäßige Blutgasanalysen überwacht und angepasst.

Nach Beginn der maschinellen Beatmung wurde Atracurium kontinuierlich über den kompletten Untersuchungszeitraum mittels einer Spritzenpumpe verabreicht. Dafür wurde ein Perfusor mit $3 \frac{mg}{ml}$ Atracurium hergestellt und mit einer Laufrate von $5 \frac{mg}{kg KG}$ pro Stunde gestartet.

Es folgte eine 30-minütige Adaptationsphase, bevor mit dem eigentlichen Versuchsprotokoll und dem Untersuchungszeitraum von 24 Stunden begonnen wurde.

3.9.4. Versuchsprotokoll

Es wurde eine kontinuierliche digitale Erfassung der hämodynamischen Parameter mittels PowerLab (PowerLab 8/35, LabChart V7, ADInstruments, Oxford, Großbritannien) realisiert. Diese umfasste die Herzfrequenz, den arteriellen Blutdruck mit Systole, Diastole und Mittlerem Arteriellem Blutdruck (MAP), sowie den Kurvenverlauf des Blutdrucks und die zentrale Temperatur der Versuchstiere.

Es wurden regelmäßige Blutentnahmen zur Blutgasanalyse (BGA) durchgeführt. Hierzu wurde alle vier Stunden 0,1 ml arterielles Blut entnommen. Mittels Blutgasanalyse (Radiometer ABL 800 Basic, Willich, Deutschland) wurden der Sauerstoffpartialdruck pO₂, der Kohlenstoffdioxidpartialdruck pCO₂, Laktat und weitere Parameter des Säure-Basen-Haushalts bestimmt. Abhängig von den Ergebnissen der BGA wurde die Beatmung der Versuchstiere angepasst.

Eine Entnahme von Atemluftproben für die Analyse mittels IMS wurde alle 20 Minuten durchgeführt. Dabei aspirierte das MCC-IMS jeweils 10 ml Probenluft kumulativ aus dem Expirationsschenkel. Der verwendete Zyklus setzte sich aus dem Sampling, einer Flushing- Phase zur Spülung und 420 Sekunden Pause zusammen. Der Ablauf des Zyklus ist in Abbildung 22 dargestellt.

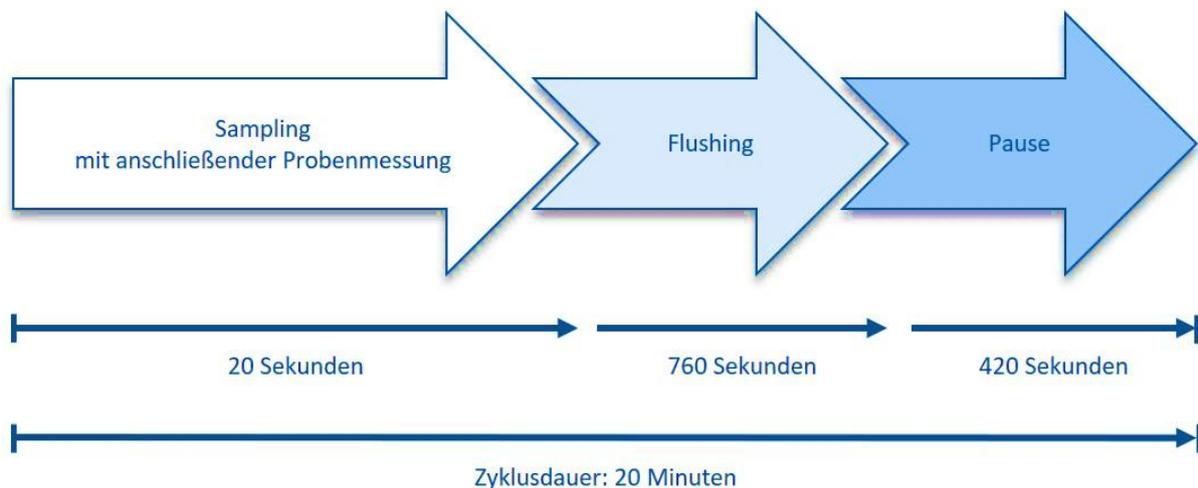


Abbildung 22: Schematische Darstellung des Messprotokolls der Tierversuche

Die Dauer des Untersuchungszeitraums betrug 24 Stunden. Überlebten die Tiere die vollen 24 Stunden, wurden sie in tiefer Narkose nach Abschluss der Untersuchungen getötet.

In Abbildung 23 findet sich eine schematische Darstellung des zeitlichen Ablaufs der Tierversuche.



Abbildung 23: Darstellung des zeitlichen Ablaufs der Tierversuche

Die regelmäßigen, alle vier Stunden stattfindenden Blutgasanalysen werden durch „BGA 0h“ bis „BGA 24h“ visualisiert.

3.9.5. Versuchsaufbau zur Atemluftanalyse

Es wurde ein standardisierter Versuchsaufbau genutzt, der bereits zuvor etabliert und validiert wurde [110]. Die narkotisierten Tiere wurden während des kompletten Untersuchungszeitraums maschinell beatmet. Eine ausreichende Narkosetiefe und Muskelrelaxation wurde dabei kontinuierlich sichergestellt. Das Beatmungsgerät (KTR-5 small animal ventilator, Hugo Sachs Elektronik-Harvard Apparatus, March-Hugstetten, Deutschland) wurde mit synthetischer Luft (ALPHAGAZ™ 1 LUFT, AIR LIQUIDE, Düsseldorf, Deutschland) höchsten Reinheitsgrades betrieben, um Störsignale durch die Raumluft gering zu halten. Es wurde bereits eine Stunde vor Beatmungsbeginn der Tiere gestartet, um Rückstände der Raumluft auszuwaschen und deren Einflüsse so zu verringern. Die Entnahme der Atemluftproben er-

folgte am Expirationsschenkel. Als Proben- und Beatmungsschläuche wurden Schläuche aus Perfluoralkoxy-Polymeren (PFA) gefertigt. Als Konnektoren dienten Verbindungsstücke aus Edelstahl. Die Wahl von PFA und Edelstahl wurde getroffen, um den Einfluss durch die Materialien selbst gering zu halten und um eine Anheftung oder Resorption der VOCs durch das verwendete Material zu verhindern. PFA und Edelstahl gelten als inerte Materialien und verhalten sich reaktionsträge gegenüber in Kontakt tretenden Substanzen. Im Gegensatz zu den Materialien herkömmlicher Beatmungsschläuche wird daher eine geringere Interaktion der VOCs mit dem Material erwartet. Eine Interaktion des Kunststoffes konventioneller Beatmungsschläuche und abgeatmetem Propofol konnte bereits nachgewiesen werden [54, 60].

Es erfolgte alle 20 Minuten eine automatisierte Atemluftaspiration durch das MCC-IMS. Dafür entnahm das IMS über einen Zeitraum von 20 Sekunden eine Atemluftprobe aus dem Expirationsschenkel von insgesamt 10 ml Volumen. Das IMS-Sampling-Protokoll führte zu keiner hämodynamischen oder pulmonalen Beeinträchtigung der Versuchstiere.

Eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus ist in Abbildung 24 gezeigt. Abbildung 25 zeigt den experimentellen MCC-IMS-Arbeitsplatz des Tierlabors.

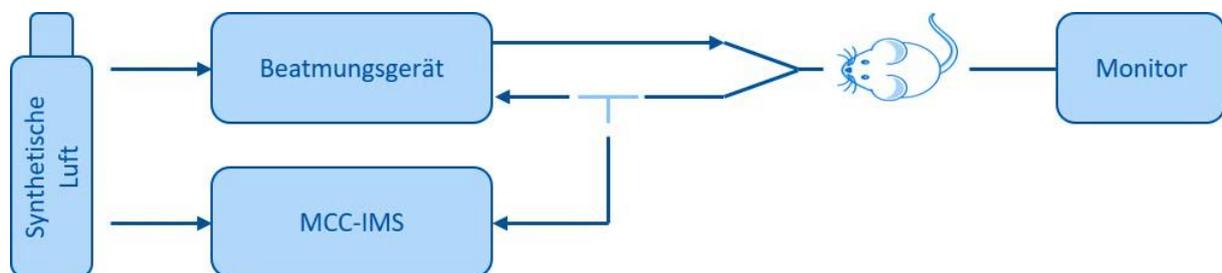


Abbildung 24: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Tiermessungen

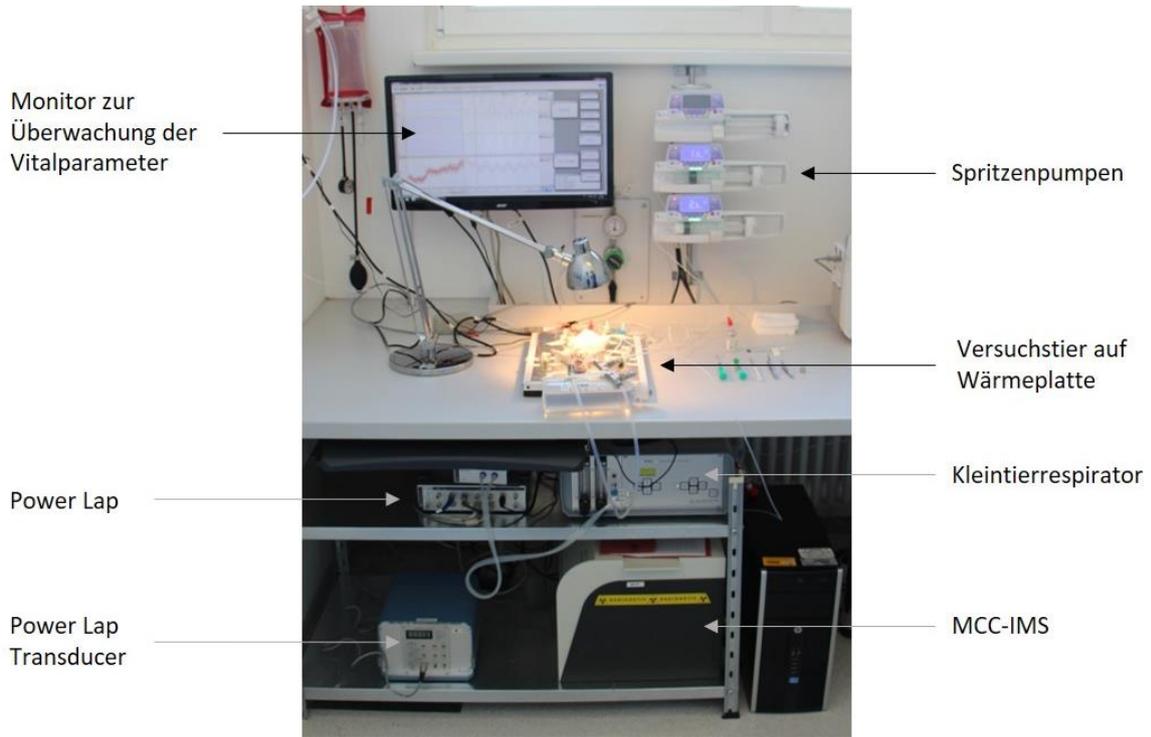


Abbildung 25: Experimenteller MCC-IMS-Arbeitsplatz des Tierlabors

4. Ergebnisse

4.1. Kalibration mittels HovaCAL

Zur Kalibration der MCC-IMS-Messwerte, welche elektrische Signale in Volt darstellen, wurden 45 Messungen mittels HovaCAL bei neun verschiedenen Konzentrationsstufen von 5 – 45 ppb_v in 5 ppb_v Schritten durchgeführt. Dies diente der Ermittlung tatsächlicher Konzentrationsverhältnisse in den Proben volumina.

Zur Erstellung der Kalibrationskurve wurden die Aceton-Konzentrationen in ppb_v gegen die gemessene Spannung in Volt aufgetragen. Hierbei wurden Aceton-Monomer und -Dimer gesammelt betrachtet. Zur Ermittlung der totalen Spannung für Aceton wurde folgende Formel genutzt:

$$\text{Aceton}_{\text{Gesamt}} = \text{Aceton}_{\text{Monomer}} + 2 \text{Aceton}_{\text{Dimer}}$$

Die Kalibrationsfunktion, dargestellt in Abbildung 26, kann durch eine Exponentialfunktion mit $R^2 = 0,98$ beschrieben werden.

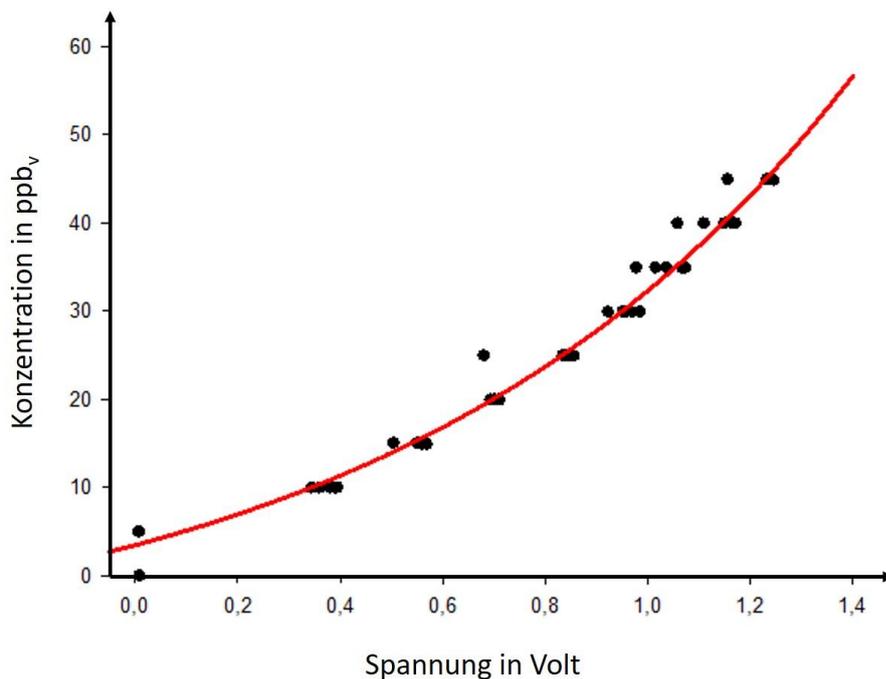


Abbildung 26: Kalibrationsfunktion der totalen Aceton-Konzentration

$R^2 = 0,98$. $\text{Konzentration} = -10,3 + 13,8 \cdot e^{1,1 \cdot \text{Spannung}}$

Betrachtet man die gemessenen Voltwerte von Monomer und Dimer getrennt in einem dreidimensionalen Modell abhängig von der Konzentration, ergibt sich eine Ebene mit $R^2 = 0,96$. Hierbei lagen die gemessenen Intensitäten des Aceton-Monomers zwischen 1,3 mV und 5,3 mV. Die Intensitäten des Aceton-Dimers lagen zwischen 1,4 mV und 631 mV. Dies ist in Abbildung 27 gezeigt. Auch hierbei wurde die Intensität des Aceton-Dimers mal zwei genommen, um die korrekte Intensität zu ermitteln.

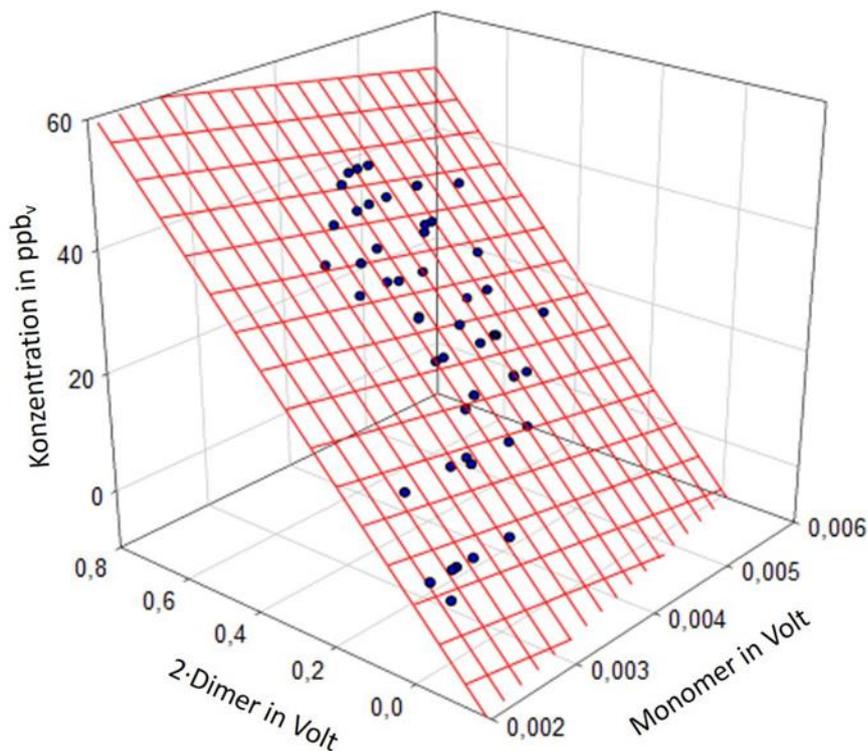


Abbildung 27: Kalibrationsebene der Aceton-Konzentration

Aceton-Konzentration in ppb_v aufgetragen gegen die Peakintensität von Aceton-Monomer und 2·Dimer in Volt.
 $R^2 = 0,96$. Konzentration = $8,41 - 2928 \cdot \text{Monomer} + 74 \cdot \text{Dimer}$

4.2. Messungen der Raumluft

Zur Untersuchung der Raumluft wurden Messungen auf einer Intensivstation und in einem experimentellen Labor der Universitätsklinik des Saarlandes durchgeführt und analysiert. Dabei zeigte sich, dass die Raumluft auf der Intensivstation eine signifikant niedrigere Aceton-Konzentration aufwies als die Raumluft des experimentellen Labors ($p < 0,001$). Die mittlere totale Aceton-Konzentration der Raumluft auf der Intensivstation lag bei 4,1 ppb_v bei Werten zwischen 3,8 ppb_v und 4,7 ppb_v (Range: 0,9 ppb_v). Die Raumluft im Labor wies hingegen eine mittlere totale Aceton-Konzentration von 5,6 ppb_v auf bei Werten von 3,7 ppb_v bis 12,9 ppb_v (Range: 9,2 ppb_v). Der Dimeranteil der Raumluft lag auf der Intensivstation im Mittel bei 23%. In der Raumluft des experimentellen Labors konnte ein signifikant höherer Dimeranteil von 44% nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Tabelle 8 fasst die Messwerte der Aceton-Peakintensitäten und der Aceton-Konzentrationen zusammen.

Tabelle 8: Aceton in der Raumluft

ICU steht für Intensive Care Unit. 95% KI steht für das 95% Konfidenzintervall.

$p < 0,001$ Aceton-Konzentration Labor vs. Aceton-Konzentration ICU nach Mann-Whitney-U-Test.

	Peakintensität			Konzentration	Dimer %
	Monomer In volt	Dimer In volt	Total In volt		
Raumluft				ppbv	% der totalen Peakintensität
ICU	0,028	0,0036	0,0356	4.1	23
[95% KI]	[0,024-0,032]	[0,0032-0,0040]	[0,0316-0,0396]	[4,01-4,14]	[20-25]
Labor	0.074	0.021	0.1157	5.6	44
[95% KI]	[0.052 – 0.096] *	[0.017-0.025]	[0.0875-0.1438] *	[5.05-6.24] *	[39-48]

Die Messwerte im Labor unterlagen hierbei einer größeren Streuung als die Messwerte auf der Intensivstation. Abbildung 28 zeigt die Streuung der gemessenen Aceton-Konzentrationen auf der Intensivstation und im Labor im Boxplot. Abbildung 29 zeigt die Verteilung von Aceton-Monomer und -Dimer in Abhängigkeit von der Konzentration in der Raumluft.

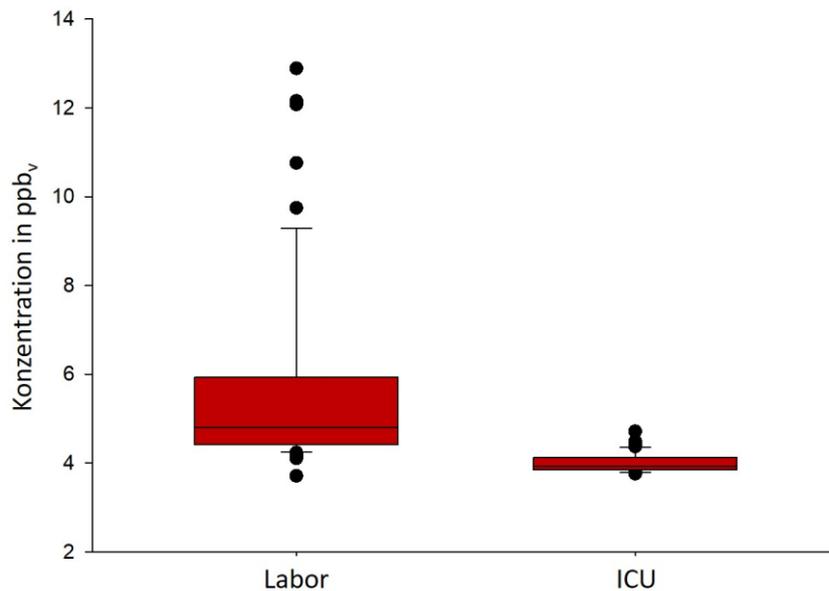


Abbildung 28: Boxplot der totalen Aceton-Konzentrationen in der Raumluft

ICU steht für Intensive Care Unit. $p < 0,001$ Labor vs. ICU nach Mann-Whitney-U-Test

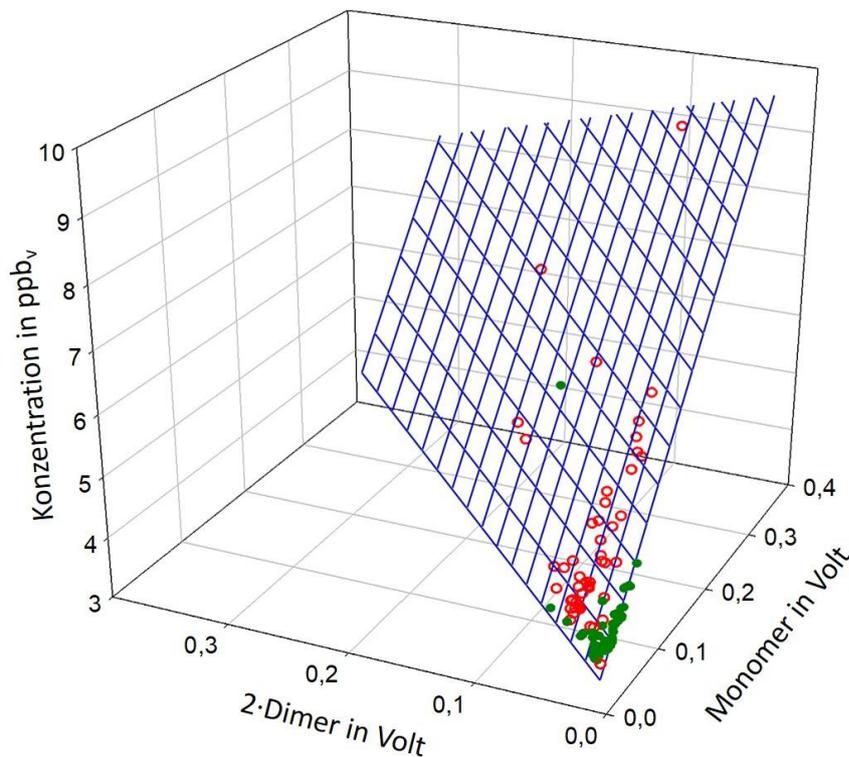


Abbildung 29: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentrationen in der Raumluft

Aceton-Konzentration in ppb_v aufgetragen gegen die Peakintensität des Monomers und 2-Dimer in Volt
 $R^2 = 0,99$. Rot – Labor, Grün – Intensivstation

4.3. Messungen der Inspirationsluft

Um differenzierte Aussagen zur Raum- und Ausatemluft auf einer Intensivstation ermöglichen zu können, wurden Inspirationsluftmessungen durchgeführt. Hierzu wurde die Inspirationsluft so vermessen wie sie auch dem Patienten zugeführt wird. Es zeigte sich eine mittlere totale Aceton-Konzentration von 3,7 ppb_v bei Werten zwischen 3,63 ppb_v und 4,28 ppb_v (Range: 0,65 ppb_v). Hierbei lag der Monomeranteil bei 53%, der Dimeranteil bei 47%. Die Monomer-Dimer-Verteilung lag also nahezu bei 1:1.

Tabelle 9 zeigt die Messwerte der Aceton-Peakintensitäten und der Aceton-Konzentrationen. Abbildung 30 zeigt die Streuung der gemessenen Aceton-Konzentrationen in der Inspirationsluft. Abbildung 31 zeigt die Verteilung von Aceton-Monomer und -Dimer in Abhängigkeit von der Konzentration in der Inspirationsluft.

Tabelle 9: Aceton in der Inspirationsluft
 95% KI steht für das 95% Konfidenzintervall.

Inspirations- luft	Peakintensität			Konzentration	Dimer %
	Monomer In volt	Dimer In volt	Total In volt	ppb _v	% der totalen Peakintensität
Mittelwert	0,0062	0,0030	0,0122	3,70	47
[95% KI]	[0,0058-0,0066]	[0,0026-0,0034]	[0,0111-0,0133]	[3,68-3,71]	[45,5-49,3]

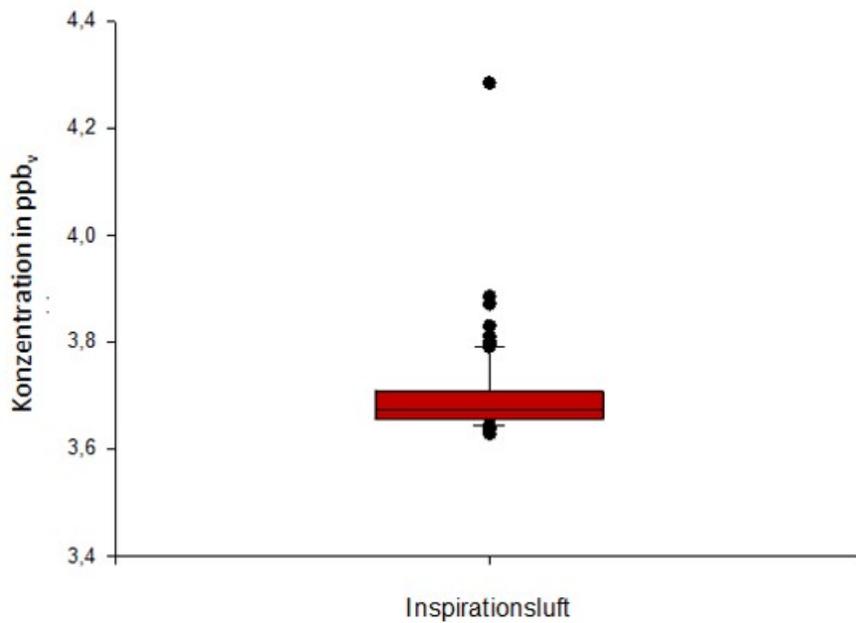


Abbildung 30: Boxplot der totalen Aceton-Konzentration in der Inspirationsluft

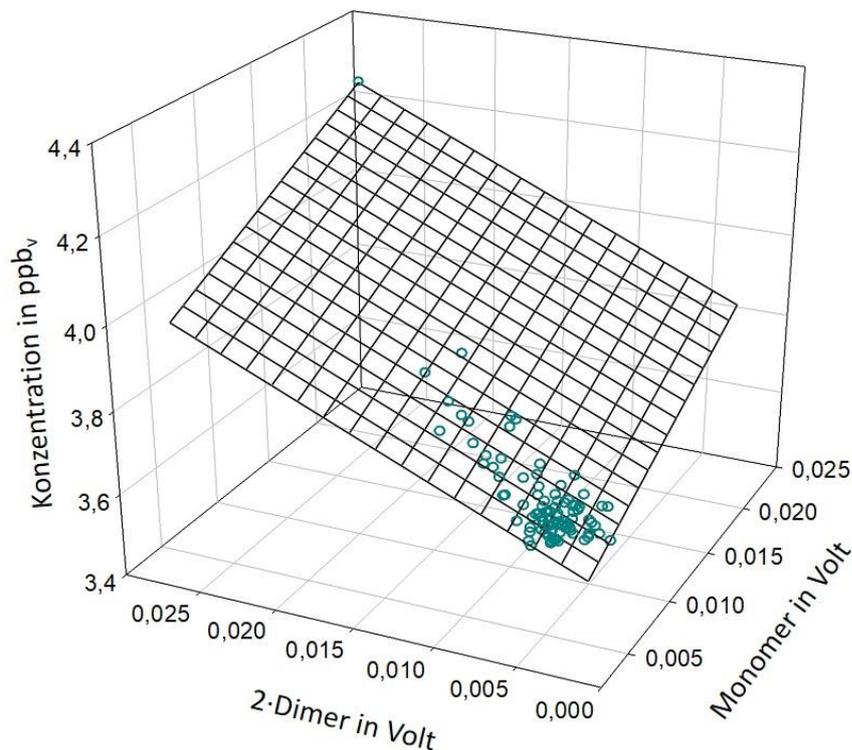


Abbildung 31: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Inspirationsluft
 Aceton-Konzentration in ppb_v aufgetragen gegen die Peakintensität des Monomers und 2-Dimer in Volt
 $R^2 = 0,99$

4.4. Messungen der Ausatemluft

4.4.1. Messungen der gesunden Probanden

Die Probanden atmeten eine normale Umgebungsluft mit 21% Sauerstoff und 100% Luftfeuchte ein. Die gemessene mittlere totale Aceton-Konzentration lag bei 10,7 ppb_v bei Werten von 4,7 ppb_v bis 31,9 ppb_v (Range: 27,2 ppb_v). Die gemessenen totalen Acetonwerte der freiwilligen Probanden unterlagen einer relativ geringen Streuung.

Der Dimeranteil der Messungen der gesunden Probanden war in 82% der gemessenen Fälle höher als 90%. Der niedrigste gemessene Dimeranteil lag bei 65%.

Die Messwerte der freiwilligen Probanden werden in Tabelle 10, Abbildung 32, Abbildung 33 und Abbildung 34 zusammengefasst.

4.4.2. Messungen der Intensivpatienten

Bei beatmeten, kritisch kranken Patienten wurde im Mittel eine signifikant niedrigere totale Aceton-Konzentration gemessen als bei den gesunden Probanden ($p < 0,001$). Die mittlere totale Aceton-Konzentration lag bei 9,5 ppb_v bei Werten zwischen 3,67 ppb_v und 97,68 ppb_v (Range: 94,01 ppb_v). Sieben der zehn Patienten wiesen Aceton-Konzentrationen zwischen 4 ppb_v und 6 ppb_v auf, wohingegen drei Patienten deutlich höhere Aceton-Konzentrationen in ihrer Ausatemluft aufwiesen. Die Mittelwerte lagen bei diesen Patienten bei 8,3 ppb_v, 12,9 ppb_v und 48,3 ppb_v. Die höchste gemessene totale Aceton-Konzentration lag bei 97,68 ppb_v und war somit mehr als dreimal höher als die höchst gemessene Aceton-Konzentration bei den freiwilligen Probanden.

Die Dimer-Konzentration von Aceton lag bei 81% der Messungen der kritisch kranken Patienten über 90%. Die niedrigste gemessene Dimer-Konzentration lag bei 50%.

Die Messwerte der kritisch kranken, beatmeten Patienten werden in Tabelle 10, Abbildung 32, Abbildung 33 und Abbildung 34 dargestellt.

4.4.3. Messungen im Tierversuch

Die mittlere totale Aceton-Konzentration bei beatmeten Versuchstieren lag bei 10,3 ppb_v bei Werten von 3,9 ppb_v bis 61,8 ppb_v (Range: 57,9 ppb_v). Es zeigte sich eine große Varianz der gemessenen Acetonwerte, trotz standardisierten Bedingungen und gleichem Genom der Tiere.

Der Monomeranteil der gemessenen Aceton-Konzentrationen war bei beatmeten Ratten am geringsten. Er lag bei etwa 5%.

Die Messwerte der beatmeten Versuchstiere werden ebenfalls in Tabelle 10, Abbildung 32, Abbildung 33 und Abbildung 34 gezeigt.

Tabelle 10: Aceton in der Ausatemluft

95% KI steht für das 95% Konfidenzintervall.

$p < 0,001$ Aceton-Konzentration Probanden vs. Patienten vs. Ratten, nach einfaktorieller Varianzanalyse (one-way ANOVA).

Versuchsgruppe	Peakintensität			Konzentration	Dimer %
	Monomer In volt *	Dimer In volt *	Total In volt *	Total In ppb _v *	% der totalen Peakintensität
Probanden	0.018	0.165	0.348	10.7	93
[95% KI]	[0.015-0.021]	[0.147-0.182]	[0.312-0.383]	[9.7-11.7]	[92-95]
Patienten	0.015	0.106	0.226	9.5	90
[95% KI]	[0.012-0.018]	[0.085-0.126]	[0.185-0.268]	[7.9-11.1]	[89-91]
Ratten	0.006	0.127	0.259	10.3	95
[95% KI]	[0.006-0.006]	[0.118-0.135]	[0.241-0.276]	[9.7-10.9]	[95-96]

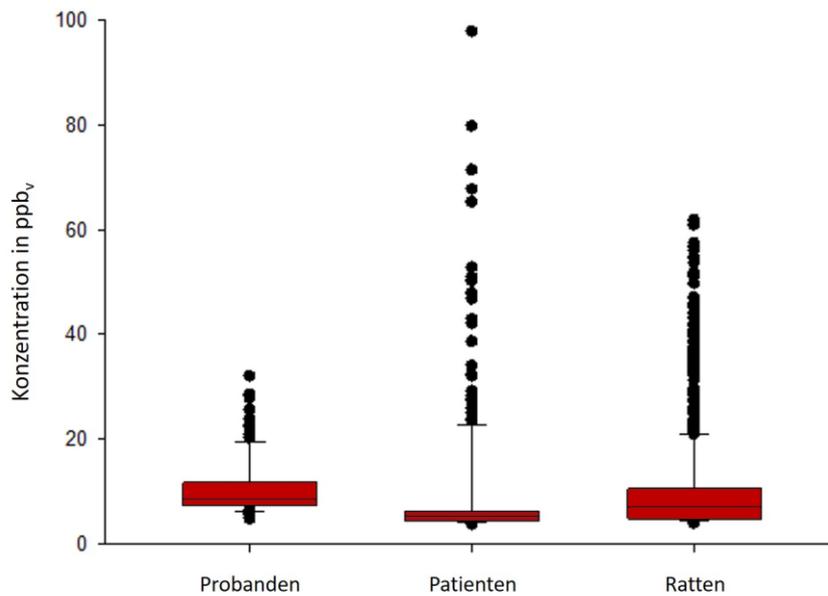


Abbildung 32: Boxplot der totalen Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft

$p < 0,001$ Probanden vs. Patienten vs. Ratten, nach einfaktorieller Varianzanalyse (one-way ANOVA)

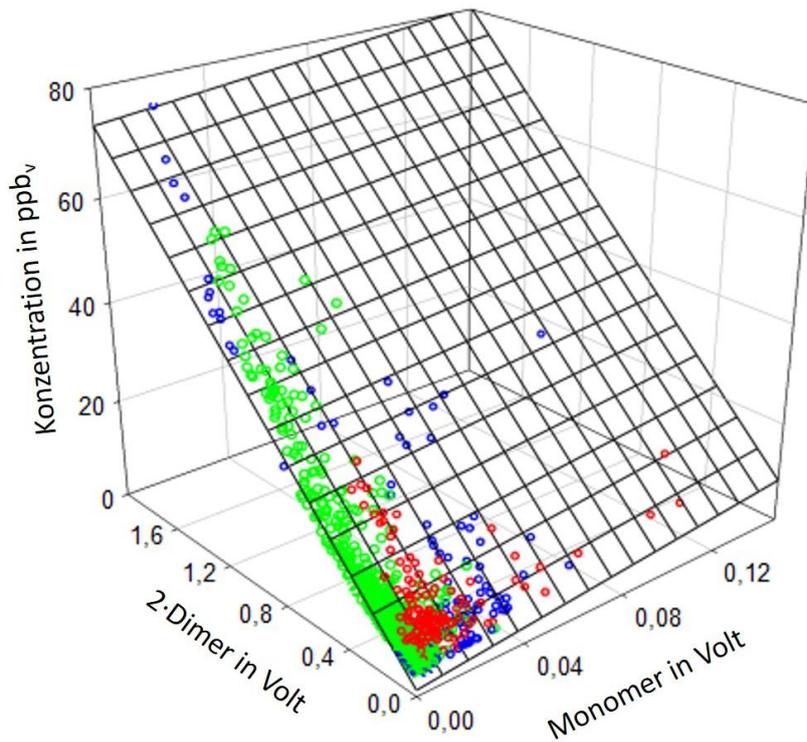


Abbildung 33: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft I
 Aceton-Konzentration in ppb_v aufgetragen gegen die Peakintensität des Monomers und 2-Dimer in Volt
 $R^2 = 0,94$. Rot – gesunde Probanden, Blau – kritisch kranke, beatmete Patienten, Grün – beatmete Ratten

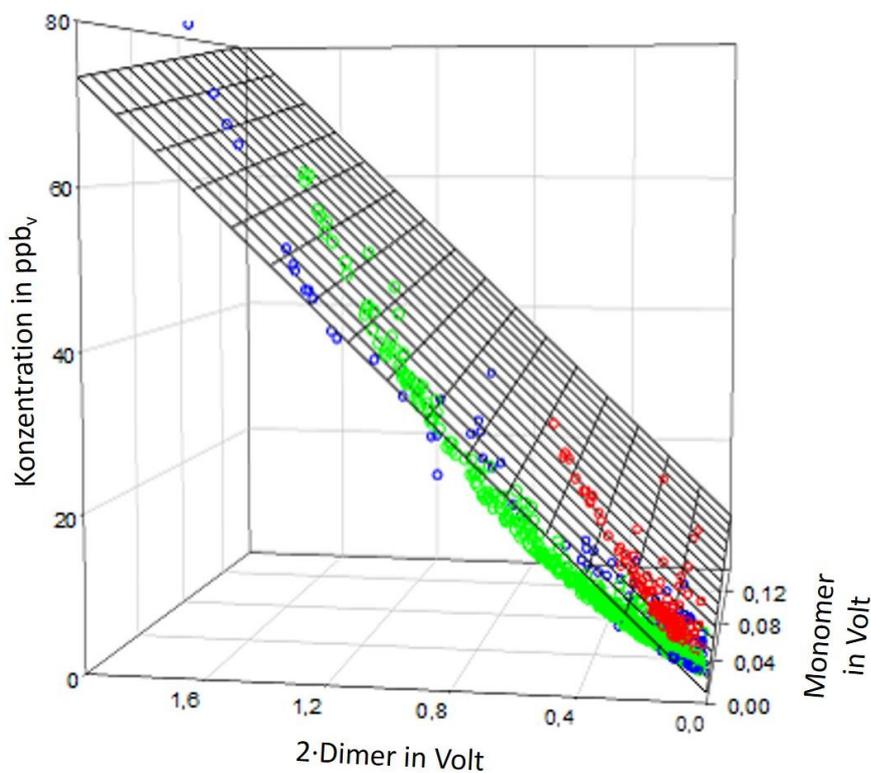


Abbildung 34: Dreidimensionale Darstellung der Aceton-Konzentration in der Ausatemluft II
 Aceton-Konzentration in ppb_v aufgetragen gegen die Peakintensität des Monomers und 2-Dimer in Volt
 $R^2 = 0,94$. Rot – gesunde Probanden, Blau – kritisch kranke, beatmete Patienten, Grün – beatmete Ratten

4.4.4. Tagesprofil eines spontanatmenden Freiwilligen

Bei der Auswertung eines 24-Stunden-Tagesprofils fiel auf, dass sich die totale Aceton-Konzentration im Verlauf des Tages zwischen 7 Uhr und 22 Uhr relativ stabil zwischen 5,83 ppb_v und 9,63 ppb_v verhielt. Nach 22 Uhr stieg die totale Aceton-Konzentration bis auf einen maximalen Wert von 22,67 ppb_v an.

Bei der Messung der Aceton-Konzentration im 24-Stunden-Tagesprofil zeigten sich deutliche Unterschiede von Monomerkonzentration und totaler Aceton-Konzentration. Vor allem im Bereich von 18 Uhr bis 19 Uhr zeigte sich ein starker Anstieg des Monomeranteils, der anschließend wieder zum ursprünglichen Monomeranteil abfiel. Während diesem Zeitraum stieg der Monomeranteil von rund 3,5 % im Mittel des Tagesverlaufs auf mehr als 30% an.

Abbildung 35 zeigt das 24-Stunden-Tagesprofil eines freiwilligen Probanden.

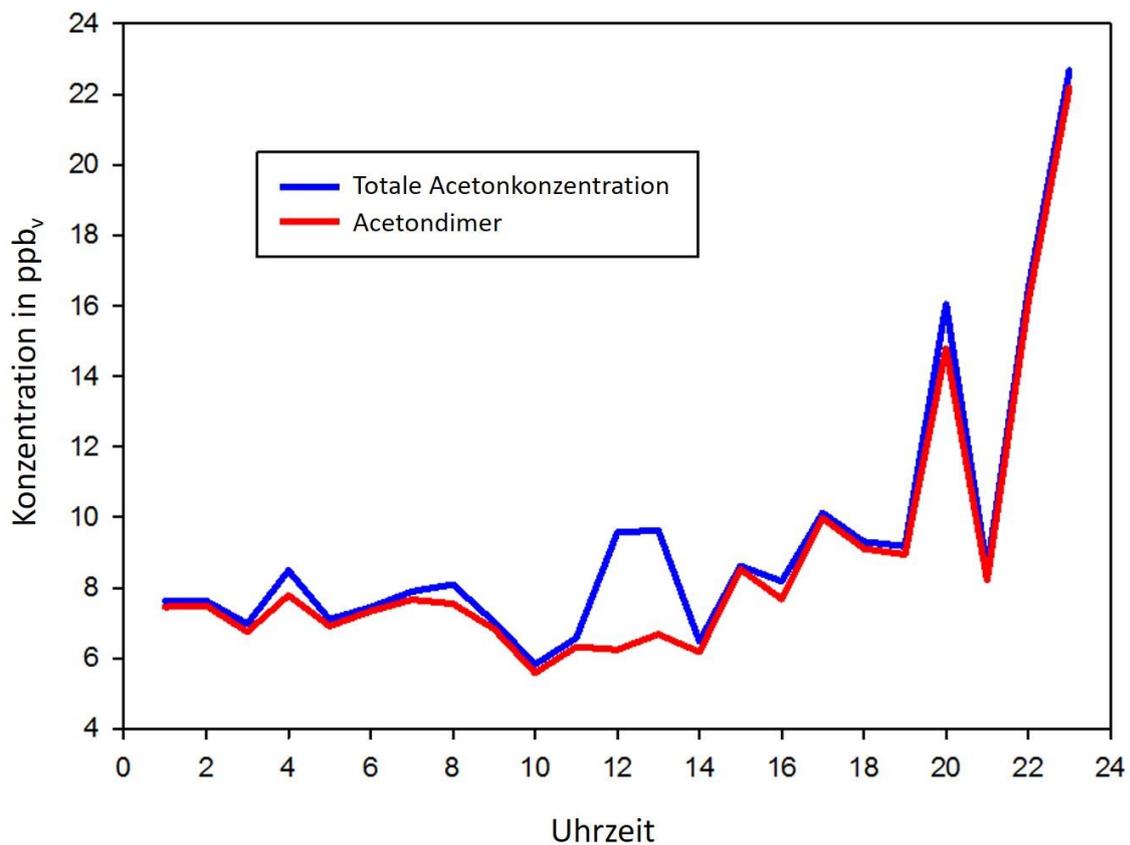


Abbildung 35: 24-Stunden-Tagesprofil eines freiwilligen Probanden

Zeitpunkt 0 des Diagramms war morgens um 6Uhr. Die erste Messung erfolgte zu Zeitpunkt 1, was 7Uhr entspricht.

4.4.5. Tagesprofile der beatmeten Versuchstiere

Aus den Messungen der Tierversuche wurden ebenfalls Tagesprofile gefertigt. Hierbei war auffällig, dass die Aceton-Konzentrationen zu Beginn der Messungen unterschiedlich hoch waren, aber im Verlauf bei allen Tieren abfielen und sich etwa ab Messzeitpunkt 20 auf einem stabilen Niveau zwischen 5 und 10 ppb_v einpendelten. Ferner fiel auf, dass sich der Monomeranteil während der gesamten Messungen stabil niedrig hielt.

Abbildung 36 und Abbildung 37 zeigen die Tagesprofile der beatmeten Versuchstiere.

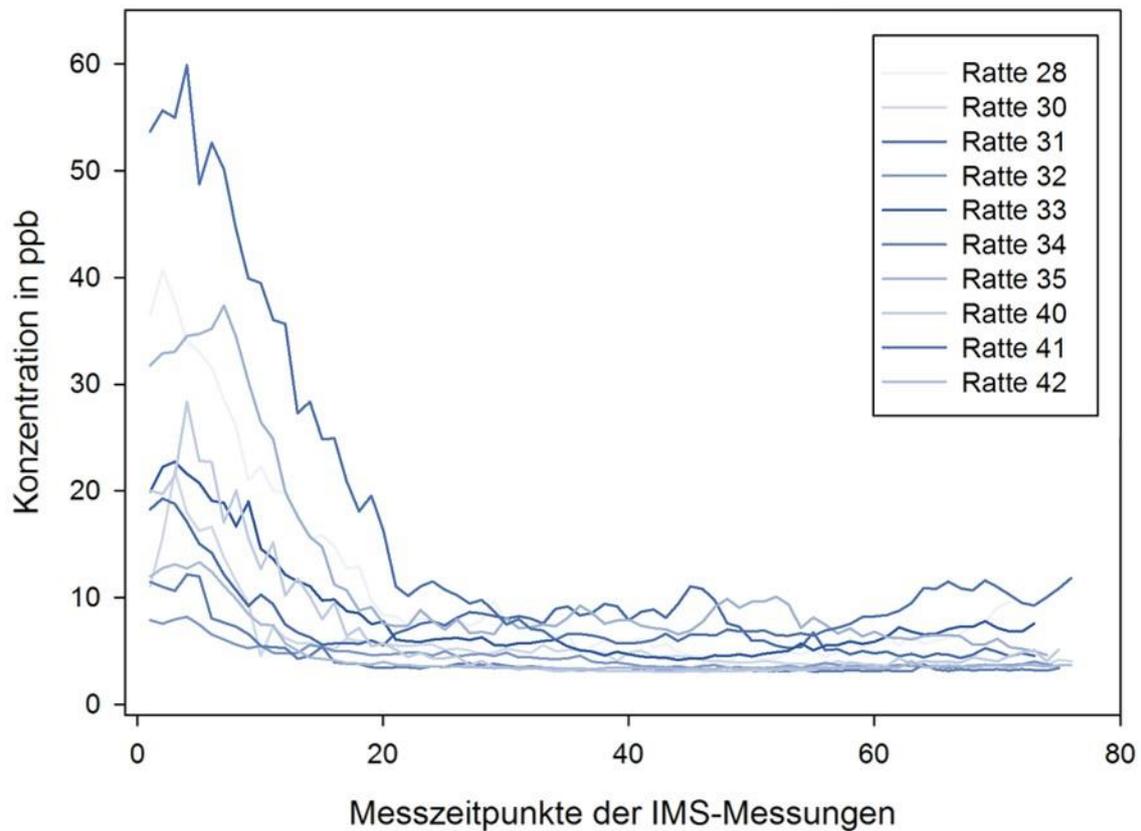


Abbildung 36: Tagesprofile der totalen Aceton-Konzentrationen beatmeter Ratten
Zeitpunkt 0 der IMS-Messungen wurde für 30 Minuten nach Beginn der Beatmung festgelegt

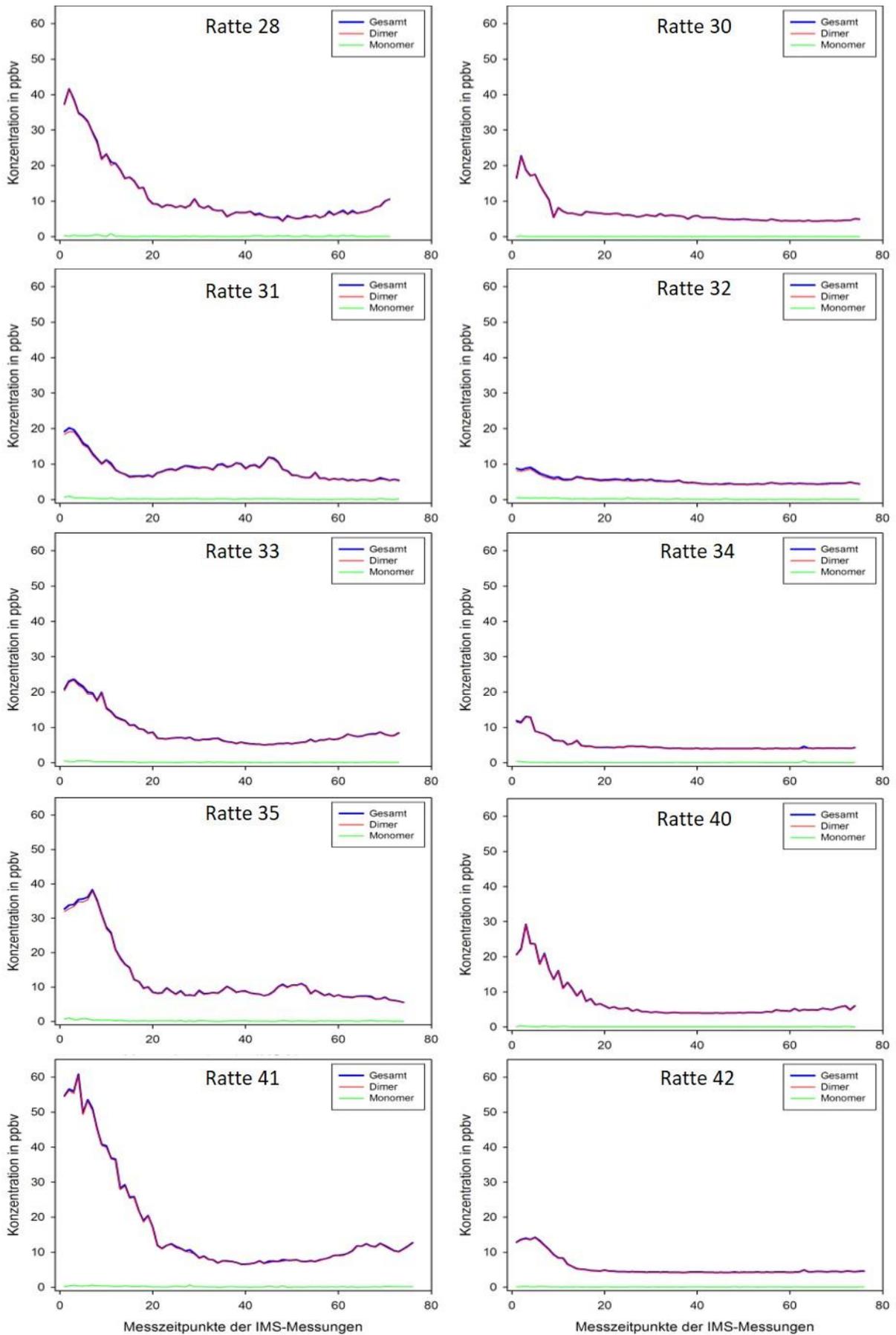


Abbildung 37: Tagesprofile beatmeter Ratten

Zeitpunkt 0 der IMS-Messungen wurde für 30 Minuten nach Beginn der Beatmung festgelegt

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Verhalten von Aceton in Raum- und in Ausatemluftproben näher zu untersuchen. Um potentielle Einflussfaktoren unterschiedlicher Messsettings differenziert untersuchen zu können, erfolgten Messungen an unterschiedlichen Orten und verschiedenen Organismustypen. Es wurden Raumluftmessungen in einem experimentellen Labor, sowie auf einer Intensivstation der Universitätsklinik des Saarlandes durchgeführt. Zur Analyse der Ausatemluft wurden drei verschiedene Versuchsgruppen betrachtet. Einerseits wurden Ausatemluftproben gesunder Probanden, im Gegenzug aber auch kritisch kranker, beatmeter Intensivpatienten untersucht. Weiterhin wurde die Ausatemluft tracheotomierter, beatmeter Ratten analysiert. Um die Einflüsse des Intensivrespirators auf die Ausatemluft der beatmeten Intensivpatienten abschätzen zu können, wurden Messungen der Inspirationsluft durchgeführt. Um mögliche tageszeitliche Schwankungen des Acetongehalts in der Ausatemluft exemplarisch darzustellen und das Verhältnis der Ionisationsprodukte über die Zeit beurteilen zu können, wurden Tagesprofile eines gesunden Freiwilligen und der beatmeten Versuchstiere erstellt. Zur Quantifizierung der gemessenen Acetonintensitäten wurden Kalibrationsfunktionen mittels HovaCAL erstellt.

5.1. Wertung der Methodik

5.1.1. Ausatemluftanalytik

Die Ausatemluft des Menschen ist ein sehr komplexes Medium und stellt daher besondere Ansprüche an das Analyseverfahren, das zu ihrer Untersuchung genutzt werden soll. Das menschliche Exhalom enthält eine Vielzahl von flüchtigen organischen Substanzen, die zum größten Teil in einer sehr geringen Konzentration vorliegen. Es bedarf daher einer Messung im unteren Spurenbereich (ppb_v bis ppt_v) und gleichzeitig einer hohen Auflösung und Trennschärfe des Analysegeräts. Weiterhin weist die Ausatemluft einen hohen Feuchtigkeitsgehalt auf, der die Genauigkeit der Messungen nicht beeinflussen darf.

Für die Analyse von Ausatemluftproben existieren verschiedene Untersuchungsverfahren, die jeweils durch Größe, Umfang der Messapparatur und ihre Technik diverse Limitationen erfahren. Ideal für eine Analyse von Ausatemluftproben ist die Möglichkeit einer bettseitigen Anwendung und einer Onlineüberwachung. Ferner sollten lange Transportwege und Verzögerungen der Probenverarbeitung und -analyse vermieden werden. Für gaschromatographische Verfahren, die aktuell als Standard für Atemluftanalysen gelten, können Proben bettseitig mit speziellen Röhrchen abgenommen und dann

zum Analysegerät transportiert werden [109]. Allerdings ergeben sich durch die Verzögerung der Probenmessung potentielle Fehlerquellen. Es kann innerhalb der Probenröhrchen zu Veränderungen der chemischen Zusammensetzung oder der Luftfeuchte kommen. Weiterhin besteht die Gefahr der Kontamination der Probe, zum Beispiel mit Raumluft. Das Entweichen von Probenmaterial nach außen, was die Zusammensetzung der Probe maßgeblich verändern könnte, ist ebenfalls nicht ausgeschlossen.

Anforderungen an die Messtechnik zur Umsetzung der vorliegenden Arbeit waren also eine hohe Auflösung und Trennschärfe, sowie eine möglichst kurze Analysedauer. Des Weiteren war ein möglichst platzsparender Aufbau zum mobilen, bettseitigen Einsatz Voraussetzung, um eine serielle Messung am Krankenbett zu gewährleisten. Es sollte eine möglichst einfache Probenentnahme sowohl bei spontanatmenden Probanden als auch bei maschinell beatmeten Patienten ermöglicht werden. Während der Analyse sollte es nicht zur Verfälschung der Ergebnisse durch die hohe Luftfeuchtigkeit kommen, die unvermeidlich in Ausatemluftproben herrscht. Ferner sollte das Messverfahren in der Anschaffung und auch im Unterhalt möglichst kostengünstig und wartungsarm sein. Unter Anbetracht dieser Anforderungen entschieden wir uns ein Ionenmobilitätsspektrometer einzusetzen, welches alle genannten Anforderungen erfüllt.

Um die Genauigkeit der Auflösung zu verbessern und eine höhere Sensitivität und Spezifität zu erreichen, bietet sich die Kopplung eines vorauftrennenden Verfahrens mit dem Ionenmobilitätsspektrometer an [8, 27]. Daher wurde für die vorgelegte Studie eine Multikapillarsäule (MCC) zur Vorauftrennung vor das Ionenmobilitätsspektrometer (IMS) geschaltet. Diese Kombination bietet diverse Vorteile im klinischen Einsatz.

Die MCC arbeitet mit unprozessierter Luft bei Umgebungsdruck. Durch sie kommt es zu einer Regulation des Feuchtegehalts der jeweiligen Probe vor Eintritt in den Ionisationsraum des Ionenmobilitätsspektrometers [8, 103]. Ohne diese Regulation hätte die hohe Feuchtigkeit der Ausatemluftproben einen negativen Einfluss auf die Messung des IMS. Die MCC ermöglicht einen hohen Luftdurchfluss bei gleichbleibender Trennungseffizienz und relativer Unempfindlichkeit gegenüber Flussschwankungen im Trägergas und kann daher ohne weitere Probleme vor ein IMS geschaltet werden. Weiterhin führt das Vorschalten der MCC zu einer Erweiterung der Messwertspektren um eine dritte Dimension. Die Retentionszeit entspricht dabei der Passagezeit der MCC. Dies verbessert die Trennschärfe der einzelnen VOCs und erleichtert so die Auswertung der IMS-Spektren.

Bei allen durchgeführten Messungen wurde das MCC-IMS mit synthetischer Luft höchster Reinheit betrieben, um Störsignale und eine Verunreinigung der Messapparatur zu vermeiden. Die notwendigen Geräte zur Probenentnahme und Analyse der Luftproben wurden auf einem mobilen Wagen aufgebaut, wodurch ein bettseitiger Einsatz ermöglicht wurde.

5.1.2. Kalibration mittels HovaCAL

Bei Messungen mit einem MCC-IMS werden für die einzelnen Analyten lediglich Intensitäten in Volt und keine absoluten Konzentrationen bestimmt. Um Rückschlüsse auf die Konzentrationen eines Analyten in einer Probe ziehen zu können, muss eine Kalibration der Intensitäten erfolgen. Hierzu bedienen wir uns im Rahmen dieser Arbeit eines HovaCALs. Mittels HovaCAL ist es möglich, präzise konzentrierte Prüfgase zu produzieren, anhand derer man Kalibrationsfunktionen errechnen kann. Diese Kalibrationsfunktionen ermöglichen einen Rückschluss von den gemessenen Intensitäten auf die Konzentration eines Analyten in einer Probe.

Um eine Verunreinigung des Systems des HovaCAL und daher rührenden falschen Testgaskonzentrationen auszuschließen, wurde bei der Kalibration mittels HovaCAL nach jedem Konzentrationsschritt eine fünfminütige Vermessung ohne Verdampfen von Aceton durchgeführt. Die Messwerte der Spülsequenzen wurden verworfen. Des Weiteren wurden die Mikrodosierspritzen und das System des HovaCAL vor jeder Probenmessung fünf Minuten lang gespült. Es wurde auch ausgeschlossen, dass sich Luftblasen in den Mikrodosierspritzen befanden, die eine Ungenauigkeit der Aceton-Reinsubstanz-Dosierung verursachen könnten.

5.1.3. Raumluftmessungen

Während der Raumluftanalysen im Labor und auf der Intensivstation wurde sichergestellt, dass die Messung der zirkulierenden Raumluft erfolgte. Der Probenschlauch, über den die Luftproben entnommen wurden, hatte keinen Kontakt zu Einrichtungsgegenständen oder zum Fußboden. Des Weiteren wurden regelmäßige Spülsequenzen, sogenannte Nullmessungen, mit synthetischer Luft durchgeführt, um Rückstände der zuvor vermessenen Probe und Verunreinigungen des MCC-IMS-Systems zu vermeiden. Die Nullmessungen verlängerten die Dauer der Probenmessung und ließen dadurch weniger Messungen im Untersuchungszeitraum zu. Welche Relevanz die Nullmessungen zur Spülung des MCC-IMS haben, ist bisher noch nicht geklärt. Bei zurückliegenden Untersuchungen kam lediglich der Verdacht auf, dass Rückstände der zuvor vermessenen Probe einen Einfluss auf die folgenden MCC-IMS-Messungen haben könnten.

5.1.4. Messungen der Inspirationsluft

Zur Analyse der Inspirationsluft wurde die Entnahmestelle der Luftproben nahe am Beatmungsgerät gewählt. Die Entnahmestelle wurde noch vor die Konnektion der Beatmungsschläuche geschaltet, lag aber hinter dem HME-Filter (vergleiche Abbildung 18). Die Position wurde gewählt, da Studien gezeigt haben, dass sich verschiedene volatile Substanzen, wie zum Beispiel Propofol an das Material der Beatmungsschläuche adhären können und dann verzögert wieder abgegeben werden [54]. Diese Tatsache könnte zu einer Verfälschung der Probenmessungen führen und kein getreues Bild der Messungen zulassen. Des Weiteren wurde die Entnahmestelle für die Probenluft hinter den HME-Filter geschaltet, da auch bei der Beatmung der Patienten immer ein HME-Filter vorgeschaltet ist. Dieser dient der Reinigung und Anfeuchtung der Inspirationsluft. Ob sich Unterschiede durch das Vorschalten des HME-Filters in der Inspirationsluft ergeben, wurde nicht näher untersucht, da Patienten aus hygienischen Gründen stets mit einem vorgeschalteten HME-Filter beatmet werden.

5.1.5. Messungen der Ausatemluft

5.1.5.1. Messungen der gesunden Probanden

Zur Probengewinnung bei gesunden Probanden wurde ein Spirometer mit der Software VOCan gekoppelt. Durch die Kopplung wurde das Erkennen der Ausatemphase gewährleistet. Es wurden kumulierte Messungen des endtidalen Volumens mehrerer endexpiratorischer Phasen vorgenommen, da das MCC-IMS nur am Ende der Ausatemphase die Luftproben aspirierte. Die Probanden wurden dazu angehalten, normal weiter zu atmen und nicht forciert auszuatmen.

5.1.5.2. Messungen der Intensivpatienten

Zur Gewinnung der Ausatemluftproben der beatmeten Intensivpatienten wurde eine tubusnahe Konnektion der Probenentnahmestelle gewählt. Dies sollte einer potentiellen Verfälschung der Intensitätswerte durch Adhäsion und Auswaschung aus dem Material der Beatmungsschläuche entgegenwirken. Allerdings birgt die direkte Konnektion am Tubus einige Probleme. Einerseits ist die Beeinflussung durch die behandelnden Ärzte und das Pflegepersonal nicht auszuschließen. Die Patienten wurden abgesaugt und auch kurzfristige Diskonnektionen von Tubus und Beatmungsgerät konnten nicht immer verhindert werden. Daher ist eine Kontamination des Gesamtsystems mit Raumluft nicht auszuschließen. Weiterhin muss bedacht werden, dass eine Probenentnahme 30 Sekunden dauerte. Die untersuchten Patienten wurden aber während der Probenentnahme normal beatmet. Es wurden somit kumulative Messungen aus Inspirations- und Expirationsphasen angefertigt. Durch die kumulative

Messung kann es zu Unterschieden der VOCs und ihrer Intensitäten kommen. *Miekisch et al.* postulieren, dass mittels rein endexpiratorischer Probenentnahme eine bessere Aussagequalität zu erreichen sei als mit einer nicht an der Expiration orientierten Probenentnahme [62]. Hierzu entnahmen *Miekisch et al.* nach Beobachtung der Kapnometriekurve ihre Proben manuell. Sie konnten in ihrer Studie zeigen, dass je nach Entnahmetechnik der Ausatemluftproben die Konzentrationen der gemessenen VOCs variierte [62]. Allerdings war die Probenentnahme mittels MCC-IMS im Rahmen dieser Studie nicht anderweitig realisierbar. Vorstellbar wäre eine am Atemzyklus orientierte Probenentnahme durch eine Synchronisierung von Beatmungsgerät und MCC-IMS.

5.1.5.3. Messungen im Tierversuch

Als Material für die Proben- und Beatmungsschläuche im Tiermodell wurde PFA gewählt. PFA gilt als inertes, reaktionsträges Material. Es wird daher vermutet, dass es zu keiner relevanten Interaktion zwischen den VOCs und dem Material der Beatmungsschläuche kommt. Als Material für die Konnektoren und die Trachealkanülen diente aus demselben Grund Edelstahl. Inwieweit diese Hypothese zutrifft, wurde bisher nicht untersucht. Es wurden lediglich Studien durchgeführt, die zeigten, dass sich flüchtiges Propofol an das Material herkömmlicher Beatmungsschläuche anheftet [54, 60].

Die Versuchstiere unterlagen einer standardisierten Behandlung. Sie bekamen vor Versuchsbeginn das gleiche Futter und es wurde bei allen Tieren darauf geachtet, dass sie zu Versuchsbeginn nüchtern waren. Weiterhin wurde ein zirkadianer Rhythmus gewährleistet. Die Narkoseeinleitung und die operative Behandlung der Tiere erfolgte standardisiert. Es wurde versucht, Störfaktoren, die die Zusammensetzung der Ausatemluft beeinflussen könnten, weitestgehend zu vermeiden.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Kalibration mittels HovaCAL

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass volatiles Aceton mit Hilfe des MCC-IMS und anschließender Kalibration mittels HovaCAL quantifizierbar ist. Monomer und Dimer haben hierbei einen signifikanten Einfluss auf die totale Aceton-Konzentration. Es zeigt sich, dass eine wesentliche Korrelation zwischen dem Monomer, dem Dimer und der Aceton-Konzentration besteht. Diese Korrelation weist einen hohen Determinationskoeffizienten von $R^2 = 0,98$ bei Betrachtung der gesamten Aceton-Konzentration und von $R^2 = 0,96$ bei getrennter Betrachtung von Monomer und Dimer auf. Unter Berücksichtigung der Gesamtintensität von Aceton, bestehend aus der Monomerintensität und der zweifachen Dimerintensität, ergab sich hierbei eine stärkere Abhängigkeit als bei getrennter Betrachtung der Monomer- und Dimerintensitäten.

5.2.2. Raumluftmessungen

Bei der Auswertung der Raumluftmessungen fiel auf, dass die gemessenen Aceton-Konzentrationen in der Raumluft des experimentellen Labors im Mittel deutlich höher waren als die mittlere Aceton-Konzentration der Raumluft auf der Intensivstation. Grund hierfür könnte die Verwendung von leicht flüchtigen Chemikalien im Labor sein [10]. Eine weitere Begründung könnte die Verwendung von „Laminar Air Flow“ kombiniert mit einer Klimaanlage auf der Intensivstation liefern. „Laminar Air Flow“ bedeutet, dass eine Art laminare Strömung in der Raumluft herrscht, die mit Hilfe von Filtern und Luftverteiltern unterhalten wird. Der Luftstrom der Raumluft ist arm an Turbulenzen, wodurch ein Rückstrom der Luft verhindert wird. So wird erreicht, dass die Raumluft staub-, keim- und partikelarm ist, da anfallende Partikel in der Luft mit dem Strom abtransportiert werden [11]. Die Raumluft im Labor unterlag hingegen kaum einer Zirkulation und es wurde keine laminare Strömung erzeugt. Das experimentelle Labor, in dem die Raumluftproben entnommen wurden, unterlag auch keiner Klimatisierung.

Weiterhin fiel auf, dass die Messwerte der Aceton-Konzentration im Labor eine deutlich größere Streuung und eine größere Spannweite als die Messwerte der Intensivstation aufwiesen (Range_{Intensivstation}: 0,9 ppb_v vs. Range_{Labor}: 9,2 ppb_v). Die bereits erwähnte fehlende Klimatisierung und die Abwesenheit einer laminaren Strömung in den Laborräumlichkeiten kommen hierbei als Erklärung in Frage. Die große Streuung der gemessenen Aceton-Konzentrationen bestätigt unsere Hypothese, dass Konzentrationen und Verteilungsmuster von flüchtigem Aceton-Oligomer in gewissem Maße variieren können. *Bessonneau et al.* berichteten über variierende Aceton-Konzentrationen zwischen verschiedenen Probenahmestellen im Krankenhaus, was unsere Ergebnisse ebenfalls unterstützt.

Darüber hinaus beobachteten *Bessonneau et al.* eine signifikante zeitliche Variabilität der Aceton-Konzentrationen aufgrund von multiplen Emissionsquellen [10]. Im Vergleich zu öffentlichen Gebäuden und Privathäusern zeigten Krankenhäuser höhere Aceton-Konzentrationen in der Umgebungsluft [31].

Bei Betrachtung der Dimerfraktionen fiel auf, dass diese auf der Intensivstation signifikant niedriger waren als im Labor. Der Unterschied der Dimerfraktionen in der Umgebungsluft kann das Ergebnis von unterschiedlicher Feuchtigkeit und Temperatur in den Räumlichkeiten des Labors und der Intensivstation, bedingt durch die Klimatisierung und die laminare Luftströmung der Intensivstation, sein.

Obwohl unsere Ergebnisse signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Umgebungen zeigen, sind diese Ergebnisse spezifisch für unser Gebäude und nicht ohne weiteres übertragbar. Sie spiegeln lediglich eine Momentaufnahme spezifischer Tageszeiten mit individuellem Personal und individueller Ausrüstung wider und können sich zu einem anderen Zeitpunkt unterscheiden und unsere Daten beschränken. Allgemein gesehen ist die Interpretation von Raumluftmessungen bezogen auf die Aceton-Konzentration schwierig, da auch Baumaterialien, Einrichtungsgegenstände, Reinigungsmittel und Personen, die die Räume betreten, Aceton und andere VOCs an die Raumluft abgeben [1, 55, 97, 98]. Um die Ergebnisse differenziert beurteilen zu können, müssten all diese Parameter erfasst und ausgewertet werden.

5.2.3. Messungen der Inspirationsluft

Die Messungen der Aceton-Konzentrationen in der Inspirationsluft zeigten niedrige Acetonwerte mit engem Konfidenzintervall. Erkennbar ist, dass die Streuung der Acetonwerte in der Inspirationsluft deutlich geringer war als in der Raumluft, obwohl die Inspirationsluftmessungen auf derselben Intensivstation getätigt wurden wie die Raumluftmessungen. Dies wird eventuell durch die Nutzung des HME-Filters begünstigt, kann aber auch auf die Verwendung der zugeführten Luft aus den Wandanschlüssen zurückzuführen sein, die sich in anderen Studien als sehr „sauber“ erwies [38].

Der Dimeranteil der Inspirationsmessungen lag bei 47%, was etwa mit den Raumluftmessungen auf Intensivstation und im Labor übereinstimmt.

5.2.4. Messungen der Ausatemluft

Die gemessenen Aceton-Konzentrationen waren bei gesunden Probanden wesentlich höher als bei den beatmeten Versuchstieren. Die niedrigste Aceton-Konzentration wurde bei den beatmeten kritisch kranken Patienten festgestellt. Dies bestätigt die Hypothese, dass sich die flüchtigen Aceton-Konzentrationen in der ausgeatmeten Luft der verschiedenen Versuchsgruppen unterscheidet. Die gemessenen Daten zeigen ein schmales Konfidenzintervall für das am meisten standardisierte Modell bei den Versuchstieren. Bei den beatmeten kritisch kranken Patienten zeigte sich hingegen eine große interindividuelle Variabilität, was zahlreiche Einflussfaktoren während kritischen Erkrankungen nahelegt.

Die gemessenen Dimerfraktionen waren in allen drei Versuchsgruppen ähnlich. Die beatmeten Patienten wiesen jedoch den höchsten Anteil an Monomer auf, die beatmeten Versuchstiere hingegen den höchsten Anteil an Dimer. Die Streuung der Monomer-Dimer-Verteilung innerhalb der Gruppen war im hoch standardisierten Tiermodell signifikant geringer als in den inhomogenen Patientengruppen.

Die Unterschiede der Aceton-Konzentrationen bei gesunden Probanden, kritisch kranken Patienten und Versuchstieren sind rein spekulativ und können von verschiedenen Einflussfaktoren abhängen.

5.2.4.1. Messungen der gesunden Probanden

Die gemessenen totalen Acetonwerte der freiwilligen Probanden waren signifikant höher als in den anderen untersuchten Gruppen, unterlagen jedoch einer sehr geringen Streuung. Das enge Konfidenzintervall könnte durch den Versuchsaufbau begründet sein. Die freiwilligen Probanden konnten nach Belieben Nahrung aufnehmen und so ihre Blutglukosewerte und ihren Stoffwechsel ausgleichen. Abnorme Stoffwechsellagen wurden somit vermieden, was sich positiv auf die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft auswirkt. Eine Fastenperiode vor der Atemprobe könnte im Vergleich zu den anderen Gruppen auch bei gesunden Probanden zu höheren Aceton-Konzentrationen führen [81, 83]. Weiterhin wiesen die Patienten keine akuten oder schweren Erkrankungen auf, die eine stark erhöhte Aceton-Konzentration in der Ausatemluft hervorrufen könnten [17, 79, 84, 105].

5.2.4.2. Messungen der Intensivpatienten

Die Aceton-Konzentrationen der untersuchten kritisch kranken Intensivpatienten waren im Mittel signifikant geringer als in den anderen Versuchsgruppen. Allerdings fiel bei der Auswertung auf, dass die gemessenen Acetonwerte einer starken Streuung unterlagen. Grund für das breite Konfidenzintervall sind vermutlich die verschiedenen Grunderkrankungen der Patienten, sowie der unterschiedliche Schweregrad der Erkrankungen und die verschiedenen medikamentösen Therapien. Weiterhin befanden sich einige der Patienten in einem Postaggressionsstoffwechsel, der sich nach Operationen, Traumatata und schweren Erkrankungen einstellt. Beim Postaggressionsstoffwechsel kommt es zu metabolischen Reaktionen des Körpers auf einen erheblichen Gewebedefekt. Hierbei entsteht eine Dysregulation der Hormonausschüttung, wodurch eine katabole Stoffwechsellage induziert wird. Folglich kommt es zu gesteigerter Glykogenolyse, Lipolyse und Proteolyse, sowie zu einer negativen Stickstoffbilanz, was die Aceton-Konzentration beeinflussen kann [50].

Die insgesamt geringe Aceton-Konzentration im Vergleich zu den übrigen Versuchsgruppen kann durch die künstliche Ernährung bedingt sein. Durch die kontinuierliche Zufuhr von Nahrung über eine Magensonde wird eine ausreichende Energieaufnahme gewährleistet und gleichzeitig eine überschießende Ketogenese und Acetonproduktion verhindert [81, 83]. Es gibt diverse Studien, die eine Korrelation zwischen den Blutzuckerspiegeln, die bei Intensivpatienten streng kontrolliert und eingestellt werden, und den Konzentrationen von ausgeatmetem Aceton belegen [53]. Das Aceton stammt in diesen Fällen vor allem aus dem Abbau von Ketonkörpern [30]. Allerdings wurden zuvor auch schon große Schwankungen der Acetonspiegel bei kritisch kranken Patienten beschrieben [17, 86, 88]. Dies begrenzt die Genauigkeit von Aceton in der Ausatemluft als Marker für die Blutzucker-Vorhersage in der Intensivmedizin. Darüber hinaus beeinflussen weitere Erkrankungen wie Diabetes mellitus [17, 79, 105] und Infektionen [84] während einer kritischen Erkrankung den Aceton-Stoffwechsel und führen so zu unvorhersehbaren Aceton-Konzentrationen.

Die beatmeten kritisch kranken Patienten wiesen verglichen mit den anderen Versuchsgruppen die höchste Monomerkonzentration auf. In der Regel werden die Beatmungsschläuche von beatmeten Patienten an einen HME-Filter angeschlossen, der als Wärme- und Feuchtigkeitsaustauscher fungiert. Dies führt zu einer erhöhten Luftfeuchtigkeit und einer höheren Temperatur der inspirierten Luft. Daraus resultiert ein höherer Anteil an Aceton-Monomer, was unsere Ergebnisse erklärt. Eine weitere Erklärung für den hohen Monomeranteil liefert die Tatsache, dass Intensivpatienten meist mit höheren Sauerstoffkonzentrationen beatmet werden als sie in der Raumluft vorkommen. Hierdurch ändert sich das Sauerstoff-Stickstoff-Verhältnis in der Atemluft. Sauerstoff weist eine höhere Feuchtigkeit im Vergleich zu Stickstoff auf, was die Bildung von Aceton-Wasserclustern beschleunigt. Daher wird eine geringere Dimer-Bildung unter Verwendung eines höheren Sauerstoffanteils beobachtet.

5.2.4.3. Messungen im Tierversuch

Bei den Messungen der Aceton-Konzentrationen im Tierversuch zeigte sich eine geringe Varianz der gemessenen Acetonwerte, aufgrund der standardisierten Bedingungen und dem nahezu gleichen Genom der Tiere.

Verglichen mit den kritisch kranken Patienten zeigte sich eine geringere Streuung der Aceton-Konzentrationen. Dies kann unter anderem auf das standardisierte und stressfreie Versuchsmodell zurückgeführt werden. Ferner bekamen alle Versuchstiere die gleiche Substitution von Glukose in Form von G5-Infusionen. Diese Infusionen enthalten neben Flüssigkeit und Elektrolyten einen definierten Anteil an Glukose und decken so den Energiebedarf der Tiere. Die Infusionsrate wurde nach dem jeweiligen Gewicht der Tiere berechnet, um eine vergleichbare Substitution zu gewährleisten und eine ketogene Stoffwechsellage zu verhindern. Allerdings zeigte sich in früheren Studien nur eine geringe Korrelation zwischen flüchtigem Aceton und den Blutzuckerspiegeln bei Ratten, jedoch konnte ein Trend zu niedrigeren Aceton-Konzentrationen nach Zufuhr von Glukose nachgewiesen werden [26]. Ein weiterer Grund für die geringe Streuung der Aceton-Konzentrationen im Tierversuch, verglichen mit kritisch kranken Patienten, ist, dass die Versuchstiere weder einem Postaggressionsstoffwechsel noch schweren Erkrankungen unterlagen.

Verglichen mit den gesunden Probanden zeigte sich jedoch eine deutlich größere Streuung der gemessenen Acetonwerte. Die Variabilität der gemessenen Acetonwerte ist eventuell durch die Narkose und die Beatmung der Tiere zu erklären. Die Narkosetiefe der Tiere konnte hierbei nicht sicher bestimmt werden. Es wurden akustische und nozizeptive Reize genutzt, um eine ausreichende Narkosetiefe zu gewährleisten. Durch den unterschiedlichen Metabolismus der Tiere kann es jedoch zu Varianzen in der Narkosetiefe bei gleicher Dosierung kommen. Um die Narkose der Versuchstiere sicher steuern zu können, müsste ein Monitoring der Narkosetiefe etabliert werden. Denkbar wäre ein Nachweisverfahren der Narkosemedikamente in der Ausatemluft. Hierzu liegen verschiedene Studien vor, die eine solche Messung, vor allem von Propofol, zu etablieren versuchen [35, 89].

Weiterhin fiel bei der Auswertung der Aceton-Konzentrationen im Tiermodell auf, dass der Monomeranteil der gemessenen Aceton-Konzentrationen bei beatmeten Ratten im Mittel geringer war als bei den beatmeten Intensivpatienten und bei den gesunden Probanden. Der Monomeranteil von Aceton lag bei den Messungen der beatmeten Ratten bei etwa 5%. Grund hierfür könnte eine geringere Luftfeuchte und eine geringere Temperatur der Atemluft sein, da in den Tiermessungen kein HME-Filter verwendet wurde. Ferner wurden die Versuchstiere mit 21% Sauerstoff beatmet. Der Stickstoffgehalt war in den Tiermessungen daher deutlich höher als in den Messungen der Intensivpatienten, wodurch die Dimer-Bildung begünstigt wird. Darüber hinaus tragen auch die höheren Aceton-Konzentrationen

im Vergleich zu beatmeten Patienten bei Versuchstieren zu diesen Ergebnissen bei. Wie bereits erwähnt ist bekannt, dass die Analytmenge, die Luftfeuchtigkeit, die Temperatur und der Stickstoffgehalt der Proben Einfluss auf die Dimer-Bildung im IMS haben [15, 22, 101].

5.2.4.4. Messung des 24-Stunden-Tagesprofils

In dem Tagesprofil des freiwilligen Probanden ist erkennbar, dass sich die Aceton-Konzentration im Verlauf des Tages relativ stabil verhält. Zur Nacht hin kommt es allerdings zum Anstieg der Aceton-Konzentrationen, wie es bereits von *King et al.* beschrieben wurde [47]. Dies ist durch die fehlende Nahrungszufuhr während der Nacht erklärbar. Weiterhin ist bekannt, dass die Lipolyse über Nacht durch die nächtliche Freisetzung von Wachstumshormonen, die während der ersten Stunden des Schlafes maximal ist, den Acetonspiegel im Atem erhöht [33, 100]. Unterbrechungen des Nachtschlafs, wie sie in unserem exemplarischen Tagesprofil vorkamen, können diesen Mechanismus beeinflussen.

Im 24-Stunden-Tagesprofil zeigten sich auch deutliche Unterschiede im Verlauf der Monomer-Konzentration und der totalen Aceton-Konzentration. Über den Zeitraum von zwei Messungen fällt ein deutlich höherer Monomeranteil auf als im restlichen Tagesverlauf. Der Monomeranteil steigt hierbei von rund 3,5% im Mittel des Tagesverlaufs auf mehr als 30% an. Über die Entstehung dieses Musters in der Monomer-Dimer-Verteilung während des Tagesverlaufs können wir nur spekulieren. Allerdings haben wir klar gezeigt, dass das Aceton-Monomer unter der Verwendung der Ionenmobilitätsspektrometrie für die Aceton-Atemgasanalyse nicht ignoriert werden kann.

Bei der Beurteilung des Tagesprofils des freiwilligen Probanden muss außerdem beachtet werden, dass es sich um ein exemplarisches Tagesprofil handelt. Bei der Messung weiterer Probanden könnte der Verlauf variieren. Die individuelle Lebensweise, Ernährung und Medikamente können den Acetongehalt der Atemluft stark beeinflussen.

5.2.4.5. Tagesprofile beatmeter Ratten

Die angefertigten Tagesprofile der beatmeten Versuchstiere zeigten alle einen ähnlichen Verlauf der Aceton-Konzentrationen über den Zeitraum von 24 Stunden. Dies ist vermutlich auf die standardisierte Behandlung zurückzuführen. Es gab keine individuellen Unterschiede in der Medikamentengabe oder der Ernährung. Die Tiere wiesen keine Grunderkrankungen und keinen Postaggressionsstoffwechsel auf.

Die initial hohe Aceton-Konzentration, die bei allen Tieren nachweisbar war, könnte eventuell darauf hinweisen, dass das 12-stündige Fasten über die Nacht vor den Versuchstagen die Aceton-Konzentrationen erhöht, wie es auch von *Schwarz et al.* beschrieben wurde [81]. Weiterhin ist vorstellbar, dass die hohen Aceton-Konzentrationen zu Beginn der 24-Stunden-Tagesprofile durch Stress verursacht werden, der durch die operative Vorbereitung entsteht. Bei Stress ändert sich die Stoffwechsellage des Organismus, was den Acetongehalt in der Ausatemluft beeinflussen kann. Eine dritte Möglichkeit wäre, dass sich noch Aceton von der Zeit vor der Beatmung im Körper und in der Lunge der Tiere befand. Die Tiere atmeten vor Versuchsbeginn und während der chirurgischen Vorbereitung normale, ungefilterte Raumluft und befanden sich in ihrem Käfig mit Einstreu. Um diesen Einfluss größtenteils zu eliminieren wurden die Tiere vor Beginn der IMS-Messungen bereits 30 Minuten maschinell mit reiner Luft beatmet.

Im Verlauf kam es bei allen Tieren zu einer Abflachung der Aceton-Konzentrationskurven. Dies könnte ein Zeichen dafür sein, dass sich der Organismus der Tiere an die Narkose und die Behandlung mit G5-Infusionen gewöhnt und sich dadurch die Stoffwechsellage der Tiere ausgleicht. Auffällig ist, dass die Aceton-Konzentrationen keinen Schwankungen unterliegen, die durch den Stoffwechsel ausgelöst werden könnten. Da die G5-Infusionen eine dauerhafte Energiezufuhr gewährleisten und den Energiebedarf der Tiere decken, werden keine Mahlzeiten benötigt. Es kommt daher zu keinen relevanten Schwankungen des Blutzuckerspiegels, die sich auf die Aceton-Konzentration in der Ausatemluft auswirken könnten. Der nächtliche Anstieg der Aceton-Konzentration, wie ihn *King et al.* beschreiben, bleibt ebenfalls aus [47]. Dies könnte durch eine fehlende zirkadiane Rhythmik unter Narkose und die bereits erwähnte dauerhafte Glukose-Substitution in Form von G5-Infusionen begründet sein.

Bei der Auswertung der Tagesprofile der beatmeten Tiere fiel ein Dimeranteil von mehr als 95% auf. Der Monomeranteil wies keine wesentlichen Veränderungen auf, wie sie im Tagesprofil eines freiwilligen Probanden zu erkennen waren. Dies ist möglicherweise auf die Beatmung mit einer hohen Stickstoffkonzentration zurückzuführen, könnte aber eventuell auch durch die fehlende Variabilität des Stoffwechsels der Tiere erklärt werden.

5.2.5. Aceton-Monomer-Dimer-Verteilung

Das Verhältnis von Monomer und Dimer hängt von diversen Einflussfaktoren ab. Hohe Analytkonzentration [15, 21], geringe Feuchtigkeit [16], und niedrige Temperaturen [32] gehen mit einer erhöhten Dimerfraktion einher. Geringe Analytkonzentrationen, hohe Feuchtigkeit, und hohe Temperaturen bedingen eine höhere Monomerfraktion. Die Bildung von protungebundenen Dimeren kann bei diversen volatilen Verbindungen beobachtet werden. Diese ist abhängig von physikalischen und chemischen

Eigenschaften, die noch nicht vollständig verstanden sind [16]. Es wird davon ausgegangen, dass das Aceton-Dimer ein protonengebundener, zweifach ionisierter Komplex ist [18]. Da die Protonierung jedoch zu höheren Carbonylaktivitäten führt, können Nebenreaktionen wie Aldoladdition und Aldolkondensation auftreten. Trotz allem wurde semi-empirisch mit ab-initio-Rechnungen gezeigt, dass das wahrscheinlichste und stabilste Isomer das protongebundene Dimer ist [68]. Es ist bekannt, dass Aceton eine höhere Protonenaffinität ($812 \frac{kJ}{mol}$) als Wasser ($697 \frac{kJ}{mol}$) aufweist. Daher kann Aceton unter Verwendung eines chemischen Ionisationsverfahrens bei Atmosphärendruck, wie es die Ionenmobilitätsspektrometrie aufweist mit hoher Empfindlichkeit nachgewiesen werden [37].

Die Auswertung der vorliegenden Ergebnisse zeigt, dass der Dimeranteil in der Raumluft der Intensivstation im Mittel bei 23% liegt und in der Raumluft des experimentellen Labors bei 44%. In der Ausatemluft von Tier und Mensch konnte ein Dimeranteil von 90 – 95% nachgewiesen werden. Dies liegt vermutlich an den höheren Aceton-Konzentrationen, aber auch an den Unterschieden des Luftfeuchtegehalts, der Temperatur und dem Stickstoff-Sauerstoff-Verhältnis der Proben. Trotz Vorherrschen der Dimer-Konzentration in den verwendeten Atemluftproben ist die Betrachtung des Monomers nicht zu vernachlässigen. Dies zeigt auch das Tagesprofil des freiwilligen Probanden, da es Situationen zu geben scheint, in denen das Monomer dominiert. Somit ist es notwendig, bei Beobachtung der Aceton-Konzentration die Peakintensität des Monomers, des Dimers und auch die Gesamtheit der Aceton-Konzentration zu beurteilen.

5.3. Schlussfolgerungen

Die Messung der Aceton-Konzentration mit dem Ionenmobilitätsspektrometer, gekoppelt mit einer Multikapillarsäule ist möglich. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, dass sich die Ionenmobilitätsspektrometrie zur bettseitigen und nahezu Echtzeit-Quantifizierung von flüchtigem Aceton in der Raumluft, aber auch in der feuchten Ausatemluft eignet. Der geringe technische und finanzielle Aufwand sowie die hohe Sensitivität mit einer Nachweisgrenze im $\frac{ng}{L}$ bis $\frac{pg}{L}$ Bereich stellen Stärken der Ionenmobilitätsspektrometrie dar. Die Möglichkeit der Echtzeitmessung, das minimale Gewicht, die geringe Größe und die geringen instrumentellen Anforderungen durch die Ionisation unter Atmosphärendruck sind ein großer Vorteil der Ionenmobilitätsspektrometrie gegenüber der Gaschromatographie-Massenspektrometrie, die aktuell als Goldstandard zur Quantifizierung von Aceton im menschlichen Atem gilt. Dieser Ansatz ermöglicht serielle Messungen am Patientenbett unter geringem Energie- und Materialaufwand. Auch Langzeitmessungen auf der Intensivstation und bei beatmeten Versuchstieren sind möglich.

Die Ionenmobilitätsspektrometrie liefert Intensitäten in Millivolt und nicht die direkten Konzentrationen. Um Rückschlüsse auf die tatsächliche Aceton-Konzentration ermöglichen zu können, müssen die Intensitäten, die mittels MCC-IMS gemessen werden, mit Hilfe eines HovaCAL kalibriert werden. Diese weist eine ausgezeichnete Korrelation zwischen der Monomer-, Dimer- und Aceton-Konzentration auf.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Dimer-Bildung, vor allem bei der Messung von Ausatemluftproben, sehr ausgeprägt und deutlich höher ist als die Dimer-Bildung in Raumluftproben. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, dass der Zustand der eingeatmeten Luft in einem beträchtlichen Ausmaß mit dem Verteilungsmuster von Monomer und Dimer in der ausgeatmeten Luft zusammenhängt. Sowohl das Stickstoff-Sauerstoff-Verhältnis als auch die Luftfeuchtigkeit und die Temperatur der eingeatmeten Luft beeinflussen die Dimer-Bildung in der Ausatemluft. Folglich könnte die Monomer-Bildung einen signifikanten Einfluss auf die Atemgasanalyse von beatmeten, kritisch kranken Patienten haben.

Dennoch hat diese Studie einige Limitationen. Erstens sind die skizzierten Kalibrationskurven und die Korrelationen zwischen Aceton-Monomer und -Dimer nur für das verwendete Gerät spezifisch und nicht übertragbar. Andere Geräte erfordern eine individuelle Kalibrierung. Verschiedene Umstände mit abweichender Feuchtigkeit, Temperatur und Gaszusammensetzung können unterschiedliche Ergebnisse liefern. Zweitens waren die Luftproben von beatmeten Menschen und Ratten nicht auf die endexpiratorische Phase synchronisiert. Die Luftproben am Respirator wurden als kumulative Messung aus inspiratorischer und expiratorischer Luft aus dem Schlauchsystem entnommen. Rein alveoläre Proben, die während der endexpiratorischen Phase entnommen werden, können zu höheren Intensitäten und zuverlässigeren Ergebnissen führen. Der Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien könnte daher eine Herausforderung darstellen. Drittens sind alle angegebenen Aceton-Konzentrationen in Umgebungs- und Expirationsluft spezifisch für die gewählten Einstellungen und abhängig von verschiedenen Einflussfaktoren. Es ist davon auszugehen, dass besonders kritisch kranke Patienten zahlreiche beeinflussende und störende Faktoren bei der Quantifizierung von flüchtigem Aceton aufweisen. Daher dürfen die Konzentrationen von Aceton nur mit Vorsicht verglichen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass flüchtiges Aceton mittels Ionenmobilitätsspektrometrie quantifiziert werden kann. Es muss allerdings die Gesamtkonzentration von Aceton ebenso wie die Konzentration von Aceton-Monomer und -Dimer berücksichtigt werden. Um den weiteren Informationsgehalt des Aceton-Monomer-Dimer-Musters zu klären, müssen weitere Studien durchgeführt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Agapiou A, Vamvakari JP, Andrianopoulos A, Pappa A (2016) Volatile emissions during storing of green food waste under different aeration conditions. *Environmental science and pollution research international* 23: 8890–8901
2. AGÖF (2004) Orientierungswerte für Inhaltsstoffe von Raumluft und Hausstaub. <http://www.iug-umwelt-gesundheit.de/htdocs/publikationen/pdf/04-1AGOEf.pdf>. Accessed 3 Nov 2016
3. Air Liquide ALPHAGAZ™ 1 LUFT - Gasekatalog. <http://produkte.airliquide.de/loesungen/produkte/gasekatalog/markengase/alphagaz1luft.html>. Accessed 16 Aug 2016
4. Apotheken-Labor Raumluft L. <http://www.apotheken-labor.de/umweltanalysen/innenraumluft/raumluftl/index.php>. Accessed 13 Nov 2016
5. Asbury GR, Hill HH (2000) Using Different Drift Gases to Change Separation Factors (α) in Ion Mobility Spectrometry. *Analytical Chemistry* 72: 580–584
6. Bartzis J, Wolkoff P, Stranger M, Efthimiou G, Tolis EI, Maes F, Nørgaard AW, Ventura G, Kalimeri KK, Goelen E, Fernandes O (2015) On organic emissions testing from indoor consumer products' use. *Journal of Hazardous Materials* 285: 37–45
7. Baumbach JI (2005) Process analysis using ion mobility spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384: 1059–1070
8. Baumbach JI (2009) Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath. *Journal of Breath Research* 3
9. Besa V, Teschler H, Kurth I, Am Khan, Zarogoulidis P, Baumbach JI, Sommerwerck U, Freitag L, Darwiche K (2015) Exhaled volatile organic compounds discriminate patients with chronic obstructive pulmonary disease from healthy subjects. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease* 10: 399–406
10. Bessonneau V, Mosqueron L, Berrubé A, Muckensturm G, Buffet-Bataillon S, Gangneux JP, Thomas O (2013) VOC Contamination in Hospital, from Stationary Sampling of a Large Panel of Compounds, in View of Healthcare Workers and Patients Exposure Assessment. *PloS one* 8
11. Buchinger H, Kreuer S, Hellbrück R, Wolf A, Fink T, Volk T, Bödeker B, Maddula S, Baumbach JI (2013) Minimal retarded Propofol signals in human breath using ion mobility spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 16: 185–190
12. Clement RE, Eiceman GA, Koester CJ (1995) Environmental Analysis. *Analytical Chemistry* 67: 221–255

13. Cohen MJ, Karasek FW (1970) Plasma Chromatography™—A New Dimension for Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatographic Science* 8: 330–337
14. Crofford OB, Mallard RE, Winton RE, Rogers NL, Jackson JC, Keller U (1977) Acetone in breath and blood. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association* 88: 128–139
15. Cumeras R, Figueras E, Davis CE, Baumbach JI, Gràcia I (2015) Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 1: current instrumentation. *The Analyst* 140(5): 1376–1390
16. Cumeras R, Figueras E, Davis CE, Baumbach JI, Gràcia I (2015) Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 2: Hyphenated methods and effects of experimental parameters. *The Analyst* 140(5): 1391–1410
17. Deng C, Zhang J, Yu X, Zhang W, Zhang X (2004) Determination of acetone in human breath by gas chromatography–mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *Journal of Chromatography B* 810: 269–275
18. Douberly GE, Ricks AM, Ticknor BW, Duncan MA (2008) The structure of protonated acetone and its dimer. Infrared photodissociation spectroscopy from 800 to 4,000 cm⁻¹. *Physical chemistry chemical physics : PCCP* 10(1): 77–79
19. Dreschfeld J (1886) The Bradshawe lecture on diabetic coma. *British medical journal* 2: 358
20. Dutta T, Kim K-H, Uchimiya M, Kumar P, Das S, Bhattacharya SS, Szulejko J (2016) The micro-environmental impact of volatile organic compound emissions from large-scale assemblies of people in a confined space. *Environmental Research* 151: 304–312
21. Eiceman GA (1991) Advances in Ion Mobility Spectrometry. 1980–1990. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 22(1-2): 471–490
22. Eiceman GA, Kelly K, Nazarov EG (2002) Nitric oxide as a reagent gas in ion mobility spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 5: 22–30
23. Ewing RG, Atkinson DA, Eiceman GA, Ewing GJ (2001) A critical review of ion mobility spectrometry for the detection of explosives and explosive related compounds. *Talanta* 54: 515–529
24. Faber P, Drewnick F, Veres PR, Williams J, Borrmann S (2013) Anthropogenic sources of aerosol particles in a football stadium: Real-time characterization of emissions from cigarette smoking, cooking, hand flares, and color smoke bombs by high-resolution aerosol mass spectrometry. *Atmospheric Environment* 77: 1043–1051
25. Fink T (2016) Exhalom Analyse bei Sepsis und Inflammation. 1. Homburger Ausatemluft-Analytik-Forum (HAAF), Homburg

26. Fink T, Albrecht FW, Maurer F, Kleber A, Hüppe T, Schnauber K, Wolf B, Baumbach JI, Volk T, Kreuer S (2015) Exhalation pattern changes during fasting and low dose glucose treatment in rats. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407(13): 3763–3773
27. Fink T, Baumbach JI, Kreuer S (2014) Ion mobility spectrometry in breath research. *Journal of Breath Research* 8(2): 27104
28. Fink T, Wolf A, Maurer F, Albrecht FW, Heim N, Wolf B, Hauschild AC, Bodeker B, Baumbach JI, Volk T, Di Sessler, Kreuer S (2015) Volatile organic compounds during inflammation and sepsis in rats: a potential breath test using ion-mobility spectrometry. *Anesthesiology* 122: 117–126
29. Freeman JM, Vining EPG, Pillas DJ, Pyzik PL, Casey JC (1998) The efficacy of the ketogenic diet—1998: a prospective evaluation of intervention in 150 children. *Pediatrics* 102: 1358–1363
30. Galassetti PR, Novak B, Nemet D, Rose-Gottron C, Cooper DM, Meinardi S, Newcomb R, Zaldivar F, Blake DR (2005) Breath ethanol and acetone as indicators of serum glucose levels: an initial report. *Diabetes technology & therapeutics* 7: 115–123
31. Geiss O, Giannopoulos G, Tirendi S, Barrero-Moreno J, Larsen BR, Kotzias D (2011) The AIRMEX study - VOC measurements in public buildings and schools/kindergartens in eleven European cities: Statistical analysis of the data. *Atmospheric Environment* 45: 3676–3684
32. Glosik J, Plasil R (2000) The recombination rate coefficient of a protonated acetone dimer with electrons: indication of a temperature dependence. *Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics* 33(20): 4483
33. Hagström-Toft E, Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P (1997) A circadian rhythm in lipid mobilization which is altered in IDDM. *Diabetologia* 40(9): 1070–1078
34. Handa H, Usuba A, Maddula S, Baumbach JI, Mineshita M, Miyazawa T (2014) Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry. *PloS one* 9: e114555
35. Harrison GR, Critchley ADJ, Mayhew CA, Thompson JM (2003) Real-time breath monitoring of propofol and its volatile metabolites during surgery using a novel mass spectrometric technique: a feasibility study. *British Journal of Anaesthesia* 91(6): 797–799
36. Henderson MJ, Karger BA, Wrenshall GA (1977) Acetone in the Breath. *Diabetes* 1
37. Hunter EPL, Lias SG (1998) Evaluated Gas Phase Basicities and Proton Affinities of Molecules. An Update. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 27(3): 413–656
38. Hüppe T, Lorenz D, Wachowiak M, Maurer F, Meiser A, Groesdonk H, Fink T, Sessler DI, Kreuer S (2017) Volatile organic compounds in ventilated critical care patients: a systematic evaluation of cofactors. *BMC Pulmonary Medicine* 17(1): 116

39. IAS INSPIRE ANALYTICAL SYSTEMS - HovaCAL - Datenblatt. http://hovacal.de/downloads/datasheets/IAS_Datenblatt_HovaCAL.pdf. Accessed 24 Aug 2016
40. IAS INSPIRE ANALYTICAL SYSTEMS - HovaCAL IMS-Gasgenerator - Datenblatt. http://hovacal.de/downloads/datasheets/IAS_Datenblatt_IMS_Gasgenerator.pdf. Accessed 24 Aug 2016
41. Jerrard D, Verdile V, Yealy D, Krenzelok E, Menegazzi J (1992) Serum determinations in toxic isopropanol ingestion. *The American Journal of Emergency Medicine* 10(3): 200–202
42. Jünger M, Bödeker B, Baumbach JI (2009) Peak assignment in multi-capillary column–ion mobility spectrometry using comparative studies with gas chromatography–mass spectrometry for VOC analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396: 471–482
43. Kalapos MP (1999) Possible physiological roles of acetone metabolism in humans. *Medical Hypotheses* 53: 236–242
44. Kalapos MP (2003) On the mammalian acetone metabolism. From chemistry to clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1621: 122–139
45. Karasek FW (1974) Plasma chromatography. *Analytical Chemistry* 46: 710A-720a
46. Karasek FW, Hill HH, Kim SH (1976) Plasma chromatography of heroin and cocaine with mass-identified mobility spectra. *Journal of Chromatography A* 117: 327–336
47. King J, Kupferthaler A, Frauscher B, Hackner H, Unterkofler K, Teschl G, Hinterhuber H, Amann A, Högl B (2012) Measurement of endogenous acetone and isoprene in exhaled breath during sleep. *Physiological Measurement* 33: 413
48. Kluthe R, Dittrich A, Everding R, Gebhardt A, Hund-Wissner E, Kasper H, Rottka H, Rabast U, Weingard A, Wild M, Wirth A, Wolfram G (2004) Rationalisation Scheme 2004 of the Association of German Nutritional Physicians, the German Obesity Association, the German Academy of Nutritional Medicine (DAEM), the German Nutrition Society (DGE), the German Society for Nutritional Medicine (DGEM), the German Association of Dieticians (VDD), the Association of Home Economists and Nutrition Scientists (VDO E). *Aktuelle Ernährungsmedizin* 29: 245–253
49. Koorevaar G, van Stekelenburg GJ (1976) Mammalian acetoacetate decarboxylase activity: Its distribution in subfractions of human albumin and occurrence in various tissues of the rat. *Clinica Chimica Acta* 71: 173–183
50. Kretz F-J, Gleiter CH, Hindley U, Krebsbach W, Remppis S, Schäffer J (2008) *Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*, 5th edn. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg

51. Kupari M, Lommi J, Ventilä M, Karjalainen U (1995) Breath acetone in congestive heart failure. *The American Journal of Cardiology* 76: 1076–1078
52. Langevin P (1903) Recombinaison et mobilités des ions dans les gaz. *Annales de Chimie* 28: 122
53. Leopold JH, van Hooijdonk RTM, Sterk PJ, Abu-Hanna A, Schultz MJ, Bos LDJ (2014) Glucose prediction by analysis of exhaled metabolites - a systematic review. *BMC anesthesiology* 14: 46
54. Lorenz D, Maurer F, Trautner K, Fink T, Hüppe T, Sessler DI, Baumbach JI, Volk T, Kreuer S (2017) Adhesion of volatile propofol to breathing circuit tubing. *Journal of Breath Research* 11(3): 36005
55. Lü H, Wen S, Feng Y, Wang X, Bi X, Sheng G, Fu J (2006) Indoor and outdoor carbonyl compounds and BTEX in the hospitals of Guangzhou, China. *Science of The Total Environment* 368: 574–584
56. Lucero DP (1971) Performance characteristics of permeation tubes. *Analytical Chemistry* 43: 1744–1749
57. Mandl J, Bánhegyi G, Kalapos MP, Garzó T (1995) Increased oxidation and decreased conjugation of drugs in the liver caused by starvation. Altered metabolism of certain aromatic compounds and acetone. *Chemico-Biological Interactions* 96: 87–101
58. Marcondes-Braga FG, Gutz IGR, Batista GL, Saldiva PHN, Ayub-Ferreira SM, Issa VS, Mangini S, Bocchi EA, Bacal F (2012) Exhaled Acetone as a New Biomarker of Heart Failure Severity. *Chest Journal* 142: 457–466
59. Maurer F, Hauschild A-C, Eisinger K, Baumbach J, Mayor A, Baumbach JI (2014) MIMA—a software for analyte identification in MCC/IMS chromatograms by mapping accompanying GC/MS measurements. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 17: 95–101
60. Maurer F, Lorenz D, Pielsticker G, Volk T, Sessler DI, Baumbach JI, Kreuer S (2017) Adherence of volatile propofol to various types of plastic tubing. *Journal of Breath Research* 11(1): 16009
61. Mazzone PJ (2008) Analysis of volatile organic compounds in the exhaled breath for the diagnosis of lung cancer. *Journal of thoracic oncology* 3(7): 774–780
62. Miekisch W, Kischkel S, Sawacki A, Liebau T, Mieth M, Schubert JK (2008) Impact of sampling procedures on the results of breath analysis. *Journal of Breath Research* 2(2): 26007
63. Mörk A-K, Johanson G (2006) A human physiological model describing acetone kinetics in blood and breath during various levels of physical exercise. *Toxicology Letters* 164: 6–15
64. Musa-Veloso K, Likhodii SS, Cunnane SC (2002) Breath acetone is a reliable indicator of ketosis in adults consuming ketogenic meals. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76: 65–70

65. Musa-Veloso K, Likhodii SS, Rarama E, Benoit S, Liu Y-mC, Chartrand D, Curtis R, Carmant L, Lortie A, Comeau FJ, Cunnane SC (2006) Breath acetone predicts plasma ketone bodies in children with epilepsy on a ketogenic diet. *Nutrition* 22: 1–8
66. Musa-Veloso K, Rarama E, Comeau F, Curtis R, Cunnane S (2002) Epilepsy and the Ketogenic Diet: Assessment of Ketosis in Children Using Breath Acetone. *Pediatric Research* 52: 443–448
67. Nelson N, Lagesson V, Nosratabadi AR, Ludvigsson J, Tagesson C (1998) Exhaled Isoprene and Acetone in Newborn Infants and in Children with Diabetes Mellitus. *Pediatric Research* 44: 363–367
68. Norrman K, Sjølling TI, McMahon TB (2005) Isomerization of the protonated acetone dimer in the gas phase. *Journal of Mass Spectrometry* 40(8): 1076–1087
69. O'Keeffe AE, Ortman GC (1966) Primary Standards for Trace Gas Analysis. *Analytical Chemistry* 38: 760–763
70. Owen OE, Trapp VE, Skutches CL, Mozzoli MA, Hoeldtke RD, Boden G, Reichard GA (1982) Acetone Metabolism During Diabetic Ketoacidosis. *Diabetes* 31: 242–248
71. Pabst F, Miekisch W, Fuchs P, Kischkel S, Schubert JK (2007) Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2: 37
72. Perl T, Carstens E, Hirn A, Quintel M, Vautz W, Nolte J, Jünger M (2009) Determination of serum propofol concentrations by breath analysis using ion mobility spectrometry. *British Journal of Anaesthesia*: aep312
73. Petters W (1857) Untersuchungen über die Honigharnruhr. *Vrtljschr Prakt Heilk* 3: 81–94
74. Pratzler S, Knopf D, Ulbig P, Scholl S (2010) Preparation of calibration gas mixtures for the measurement of breath alcohol concentration. *Journal of Breath Research* 4: 36004
75. Preston JM, Karasek FW, Kim SH (1977) Plasma chromatography of phosphorus esters. *Analytical Chemistry* 49: 1746–1750
76. Rasso J (2012) *Biochemie*, 3.th edn. Duale Reihe. Thieme, Stuttgart
77. Reichard GA, Haff AC, Skutches CL, Paul P, Holroyde CP, Owen OE (1979) Plasma acetone metabolism in the fasting human. *Journal of Clinical Investigation* 63: 619
78. Rollo J (1798) Cases of the diabetes mellitus
79. Rooth G, Östenson S (1966) Acetone in alveolar air, and the control of diabetes. *The Lancet* 288: 1102–1105

80. Ruzsanyi V, Baumbach JI, Sielemann S, Litterst P, Westhoff M, Freitag L (2005) Detection of human metabolites using multi-capillary columns coupled to ion mobility spectrometers. 12th International Symposium on Advances and Applications of Chromatography in Industry 12th International Symposium on Advances and Applications of Chromatography in Industry 1084: 145–151
81. Schwarz K, Pizzini A, Arendacká B, Zerlauth K, Filipiak W, Schmid A, Dzien A, Neuner S, Lechleitner M, Scholl-Bürgi S, Miekisch W, Schubert J, Unterkofler K, Witkovský V, Gastl G, Amann A (2009) Breath acetone—aspects of normal physiology related to age and gender as determined in a PTR-MS study. *Journal of Breath Research* 3: 27003
82. Sielemann S (2000) Detektion flüchtiger organischer Verbindungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie und deren Kopplung mit Multi-Kapillar-Gas-Chromatographie, Universität Dortmund
83. Smith D, Spanel P, Davies S (1999) Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *Journal of Applied Physiology* 87: 1584–1588
84. Sohrabi M, Zhang L, Zhang K, Ahmetagic A, Wei MQ (2014) Volatile organic compounds as novel markers for the detection of bacterial infections. *Clinical Microbiology*
85. Španel P, Dryahina K, Smith D (2007) The concentration distributions of some metabolites in the exhaled breath of young adults. *Journal of Breath Research* 1: 26001
86. Španěl P, Dryahina K, Smith D (2007) Acetone, ammonia and hydrogen cyanide in exhaled breath of several volunteers aged 4–83 years. *Journal of Breath Research* 1: 11001
87. St. Louis RH, Hill HH, Eiceman GA (2006) Ion Mobility Spectrometry in Analytical Chemistry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 21(5): 321–355
88. Storer M, Dummer J, Lunt H, Scotter J, McCartin F, Cook J, Swanney M, Kendall D, Logan F, Epton M (2011) Measurement of breath acetone concentrations by selected ion flow tube mass spectrometry in type 2 Diabetes. *Journal of Breath Research* 5(4): 46011
89. Takita A, Masui K, Kazama T (2007) On-line Monitoring of End-tidal Propofol Concentration in Anesthetized Patients. *Anesthesiology* 106(4): 659–664
90. Tassopoulos CN, Barnett D, Fraser TR (1969) Breath-acetone and blood-sugar measurements in diabetes. *The Lancet* 293: 1282–1286
91. Teckentrup A, Klockow D (1978) Preparation of refillable permeation tubes. *Analytical Chemistry* 50: 1728
92. Teepe M, Baumbach JI, Neyer A, Schmidt H, Pilzecker P (2001) Miniaturized ion mobility spectrometer. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 4(1): 60–64

93. Thieme Online-Enzyklopädie RÖMPP - Aceton. <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-01-00461>. Accessed 24 Aug 2016
94. Thieme Online-Enzyklopädie RÖMPP - Keton-Körper. <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-11-00960>. Accessed 25 Aug 2016
95. Turner C, Španěl P, Smith D (2006) A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS. *Physiological Measurement* 27: 321
96. Turner C, Walton C, Hoashi S, Evans M (2009) Breath acetone concentration decreases with blood glucose concentration in type I diabetes mellitus patients during hypoglycaemic clamps. *Journal of Breath Research* 3: 46004
97. TÜV Nord Raumluft- und Gebäudeuntersuchungen. <https://www.tuev-nord.de/de/unternehmen/umwelt/arbeitsumfeld-und-maschinen/gefaehrdungen-gefahrstoffe/>. Accessed 13 Nov 2016
98. TÜV Saar Schadstoffe in Innenräumen. <http://www.sgs-tuev-saar.com/innenraumanalytik.html>. Accessed 13 Nov 2016
99. Ueta I, Saito Y, Hosoe M, Okamoto M, Ohkita H, Shirai S, Tamura H, Jinno K (2009) Breath acetone analysis with miniaturized sample preparation device: In-needle preconcentration and subsequent determination by gas chromatography–mass spectroscopy. SPECIAL SECTION ON 11th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOCHROMATOGRAPHY AND NANOSEPARATIONS Montpellier, France, 14-16 October 2008 877: 2551–2556
100. van Cauter E, Polonsky KS, Scheen AJ (1997) Roles of Circadian Rhythmicity and Sleep in Human Glucose Regulation. *Endocrine Reviews* 18(5): 716–738
101. Vautz W, Ruzsany V, Sielemann S, Baumbach JI (2004) Sensitive ion mobility spectrometry of humid ambient air using 10.6 eV UV-IMS. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 7: 3
102. Vautz W, Schmäh M (2009) HovaCAL[®]—a generator for multi-component humid calibration gases. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 12: 139–147
103. Vautz W, Sielemann S, Baumbach JI (2004) Determination of terpenes in humid ambient air using ultraviolet ion mobility spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 513: 393–399
104. Vautz W, Zimmermann D, Hartmann M, Baumbach JI, Nolte J, Jung J (2006) Ion mobility spectrometry for food quality and safety. *Food additives and contaminants* 23: 1064–1073

105. Wang C, Mbi A, Shepherd M (2010) A Study on Breath Acetone in Diabetic Patients Using a Cavity Ringdown Breath Analyzer. Exploring Correlations of Breath Acetone With Blood Glucose and Glycohemoglobin A1C. *IEEE Sensors Journal* 10: 54–63
106. Wang Z, Wang C (2013) Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements. *Journal of Breath Research* 7: 37109
107. Widmark EM (1920) Studies in the Acetone Concentration in Blood, Urine, and Alveolar Air. II: The Passage of Acetone and Aceto-Acetic Acid into the Urine. *Biochemical Journal* 14: 364–378
108. Widmark EM (1920) Studies in the Acetone Concentration in Blood, Urine, and Alveolar Air. III: The Elimination of Acetone through the Lungs. *Biochemical Journal* 14: 379–394
109. Wilson HK, Monster AC (1999) New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring. *Occupational and Environmental Medicine* 56(11): 753–757
110. Wolf A, Baumbach JI, Kleber A, Maurer F, Maddula S, Favrod P, Jang M, Fink T, Volk T, Kreuer S (2014) Multi-capillary column-ion mobility spectrometer (MCC-IMS) breath analysis in ventilated rats: a model with the feasibility of long-term measurements. *Journal of Breath Research* 8: 16006
111. Young V, Schimpff S, Greene W, Fortner C, Jepsen L, Cusack N, Block J, Wiernik P (1975) Infection Prevention in Acute Nonlymphocytic Leukemia: Laminar Air Flow Room Reverse Isolation with Oral, Nonabsorbable Antibiotic Prophylaxis. *Annals of Internal Medicine* 82(3): 351-358

7. Publikationen

- 22.09.2015: Flüchtige organische Stoffe in der Ausatemluft der Ratte nach einer LPS-Inflam-
mationsreaktion, Vortrag auf dem 6. Symposium zum Thema „Metaboliten in Prozessabluft
und Ausatemluft“ der Hochschule Reutlingen

- Klumpp R, Lorenz D, Hüppe T, Fink T, Kreuer S (2015) Flüchtige organische Stoffe in der Ausa-
temluft der Ratte nach einer LPS-Inflamationsreaktion. Book of Abstracts des 6. Symposiums
zum Thema „Metaboliten in Prozessabluft und Ausatemluft“ der Hochschule Reutlingen

Geplante Publikationen:

- Lorenz D, Hüppe T, Fink T, Geiger M, Klumpp R, Baumbach JI, Sessler D, Volk T, Kreuer S (2018)
Quantification of Volatile Acetone Oligomers using Ion Mobility Spectrometry.

8. Danksagungen

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Kreuer für die Bereitstellung des Themas meiner Dissertation und für die wissenschaftliche und methodische Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr. Lorenz für die Betreuung meiner Arbeit. Er hat mich stets mit zielführenden Diskussionen und anhaltenden Hilfestellungen begleitet und unterstützt.

Besonders möchte ich mich auch bei allen Mitarbeitern des Center of Breath Research für die konstruktive und äußerst angenehme Zusammenarbeit, sowie die zahlreiche Unterstützung bedanken. Ein besonderer Dank gilt hier Herrn Dr. Maurer für die unzähligen fachlichen Gespräche, Ratschläge und Anmerkungen, die mir auf dem Weg zur fertigen Arbeit immer wieder geholfen haben.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei meinen Eltern Heidi und Heinrich Klumpp sowie bei meinem Freund Christoph Späth bedanken. Sie hatten stets ein offenes Ohr für meine Gedanken und haben mich unermüdlich gestärkt und motiviert.