

## 2 Literaturübersicht

In diesem Kapitel werden für das Verständnis des näheren Vorgehens die wesentlichen wissenschaftlichen Grundlagen zu parodontalpathogenen Keimen und den technischen Möglichkeiten von Multigassensensorsystemen dargelegt und in das wissenschaftliche Umfeld eingeordnet.

### 2.1 Definition Parodontitis marginalis

Die Grenzflächen des Körpers sind das ganze Leben der Kolonisierung durch eine große Anzahl von Mikroorganismen ausgesetzt. Im apathogenen Zustand lebt der Organismus mit dieser Flora im Gleichgewicht. Ein zu starker Anstieg der Keimzahlen wird durch die Erneuerung der Oberfläche der regenerierenden Weichgewebe verhindert. In der Mundhöhle bieten die Zähne als Hartgewebe jedoch eine Oberfläche, die keine Erneuerung gegen die Entwicklung von extensivem bakteriellem Wachstum zulässt. Die Ansammlung von Bakterien und ihr Metabolismus auf diesen Hartgeweben sind neben anderen Faktoren der Grund für die Entstehung der parodontalen Erkrankung (LANG et al. 1997).

Die Parodontitis ist eine entzündlich bedingte Veränderung des Zahnhalteapparates. Bakterielle Noxen und die entzündlichen und immunologischen Antworten des Wirtabwehrsystems auf die lokalen Angriffe der Mikroorganismen bewirken einen Zerstörungsprozess des Parodonts (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, WILLIAMS und PAQUETTE 1997). Nur eine kleine Gruppe von gramnegativen, anaeroben oder mikroaerophilen Bakterien, die das subgingivale Gebiet kolonisieren, verursacht diesen Entzündungsprozeß.

### 2.2 Mikrobiologie der parodontalen Erkrankung

Man schätzt heute, dass zwischen 300 und 400 Spezies fähig sind, die Gewebe in der Mundhöhle zu besiedeln. Sie bewohnen die ökologischen Nischen, die sich durch die Zähne und das sie umgebende gingivale und mukosale Gewebe ergeben (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, LISTGARTEN 1986, MOORE und MOORE 1994). Nur einige wenige, allein oder in Kombination, gelten als Auslöser der Parodontitis. Zu den bedeutendsten vermuteten parodontalen Pathogenen gehören *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus intermedius*, *Selenomonas*, *Eubacterium* Spezies.

In der vorliegenden Arbeit wird die Anwendung eines Multigassensensorsystems an Kulturen folgender fünf Parodontopathogene vorgestellt:

### 2.2.1 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

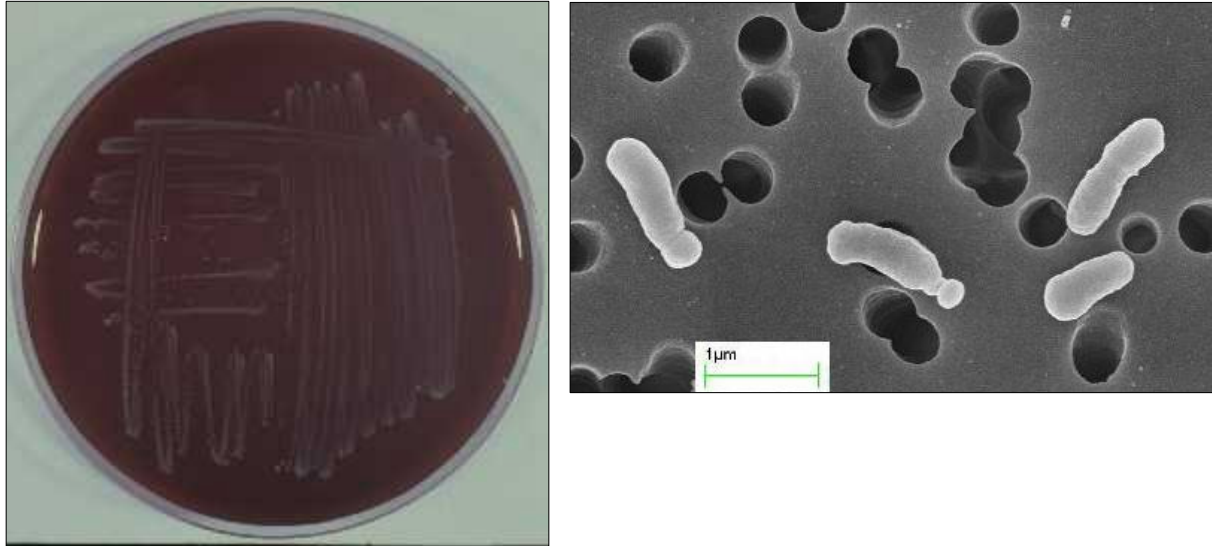


Abb. 1 Bild einer *A. actinomycetemcomitans* Kultur

links: Kultur auf Columbia-Blutagarplatte

rechts: rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (SCHAUDINN 2003)

Die Spezies *Actinobacillus actinomycetemcomitans* gehört zu der Gruppe der Parodontalpathogene, die am stärksten mit der parodontalen Erkrankung in Verbindung gebracht wird. Es handelt sich um schmale, nicht bewegliche, gramnegative, saccharolytische, kapnophile, rund endende Stäbchen. Sie bilden kleine, konvexe Kolonien auf Blutagarplatten (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994). Durch ihr häufiges und erhöhtes Vorkommen in Läsionen lokalisierter aggressiver Parodontitis (ARMITAGE 1999) (nach der alten Klassifikation der lokalisierten juvenilen Parodontitis (ATTSTRÖM und VAN DER VELDEN 1993)) wurde diese Spezies als mögliches parodontales Pathogen erkannt (MANDELL und SOCRANSKY 1981, SLOTS et al. 1980). Als weitere Hinweise für die pathogene Rolle gelten spezifische Antikörper, die in Patienten mit lokalisierter aggressiver Parodontitis nachgewiesen werden konnten (ALTMAN et al. 1982, EBERSOLE et al. 1987). In entzündeten parodontalen Läsionen können im Vergleich zu inaktiven erhöhte Keimzahlen gefunden werden (HAFFAJEE et al. 1984). *A. actinomycetemcomitans* produziert eine Anzahl von potentiell schädigenden Substanzen, wozu auch das Leukotoxin gehört (BAEHNI et al. 1979). In vitro ist die Spezies fähig, in epitheliale Zellen einzudringen (BLIX et al. 1992). In experimentell infizierten Tieren

induziert sie eine Parodontitis (IRVING et al. 1978). Das lässt Assoziationen zwischen einer parodontalen Erkrankung und diesen Keimen vermuten.

### 2.2.2 *Porphyromonas gingivalis*

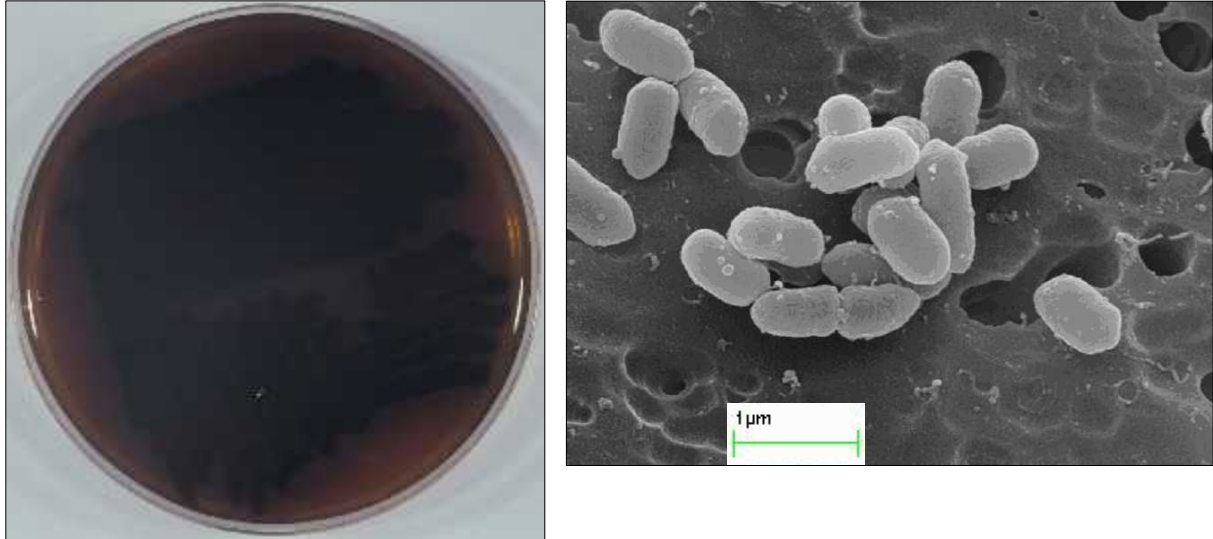


Abb. 2 Bild einer *P. gingivalis* Kultur

links: Kultur auf Columbia-Blutagar

rechts: rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (SCHAUDINN 2003)

Bei der zweiten intensiv studierten Spezies, *Porphyromonas gingivalis*, handelt es sich um gramnegative, anaerobe, nicht bewegliche, Fimbrien tragende, asaccharolytische Stäbchen mit Kokken-, bzw. kurzer Stäbchenmorphologie. Die Keime bilden schwarze bis braune Kolonien auf Blutagarplatten. *P. gingivalis* Spezies produzieren eine große Zahl von Virulenzfaktoren. Dazu gehören die Kollagenase, eine Reihe von Proteasen, auch solche, die Immunglobuline zerstören können, Endotoxin, Fettsäuren, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Indol und weitere Substanzen (SOCRANSKY und HAFFAJEE 1997).

Untersuchungen, die Antikörper gegen *P. gingivalis* nachwiesen, und tierexperimentelle Infektionen, die eine Erkrankung hervorbrachten, verstärken die Bedeutung dieser bakteriellen Spezies im Prozess der parodontalen Pathogenese (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, SOCRANSKY und HAFFAJEE 1997).

### 2.2.3 *Prevotella intermedia*



Abb. 3 Bild einer *P. intermedia* Kultur

links: Kultur auf Columbia-Blutagar

rechts: rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (SCHAUDINN 2003)

Bei der Spezies *Prevotella intermedia* handelt es sich um gramnegative, kurze, rund endende, anaerobe Stäbchen. Sie wurden mit verschiedenen Formen der Parodontitis in Verbindung gebracht, besonders stark mit der akut nekrotisierenden ulzerierenden Gingivitis (DZINK et al. 1983, LOESCHE et al. 1982). Erhöhte Serumantikörperkonzentrationen in Patienten mit refraktärer Parodontitis und tierexperimentelle Infektionen bestätigen seine pathogene Rolle (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, SOCRANSKY und HAFFAJEE 1997).

### 2.2.4 *Fusobacterium nucleatum*

Bei *Fusobacterium nucleatum* handelt es sich um gramnegative, spindelförmige, anaerobe Stäbchen. Diese Spezies wird am häufigsten aus subgingivalen Plaqueproben kultiviert. Sie wird unter verschiedenen klinischen Bedingungen gefunden (DZINK et al. 1988, HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994).

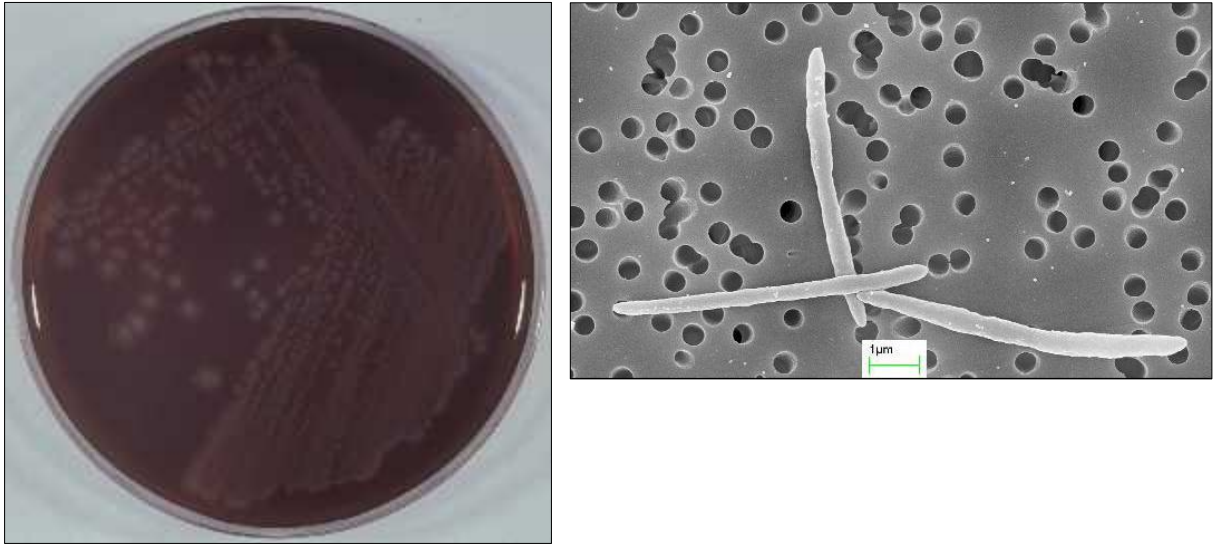


Abb. 4 Bild einer *F. nucleatum* Kultur

links: Kultur auf Columbia-Blutagar

rechts: rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (SCHAUDINN 2003)

## 2.2.5 *Eikenella corrodens*

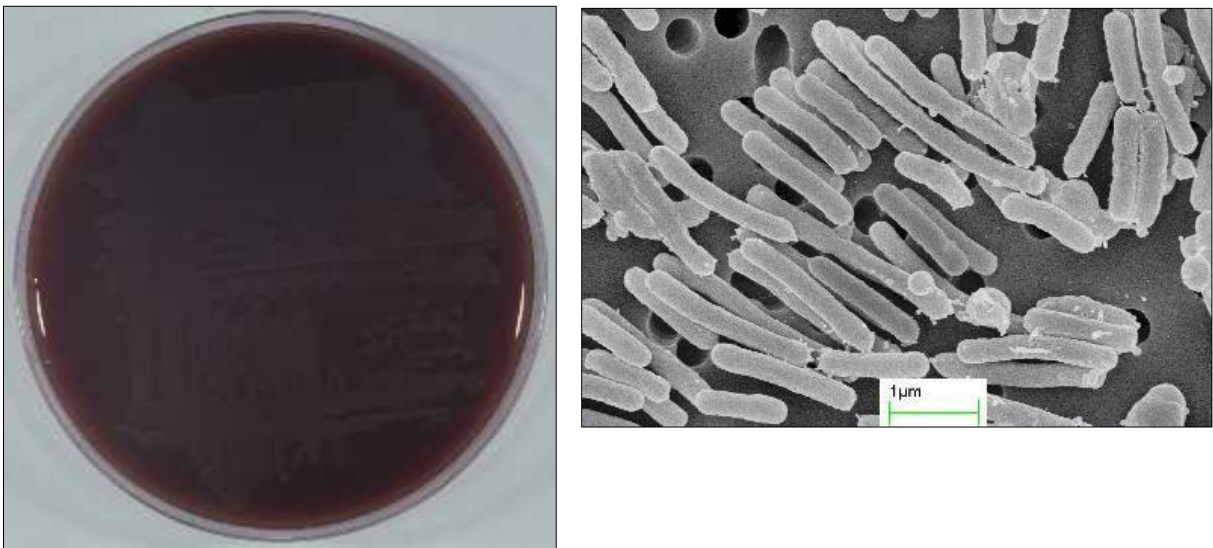


Abb. 5 Bild einer *E. corrodens* Kultur

links: Kultur auf Columbia-Blutagar

rechts: rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (SCHAUDINN 2003)

Die Spezies *Eikenella corrodens* sind gramnegative, fakultativ anaerobe, kapnophile, asaccharolytische, reguläre, kleine Stäbchen mit stumpfem Körperende. Zu den Virulenzfaktoren der Spezies *E. corrodens* zählen Lipopolysaccharide, äußere Membranproteine, Adhäsine und eine Exopolysaccharidschicht (CHEN und WILSON 1992). Die Induktion der Sekretion proinflammatorischer Zytokine von epithelialen Zellen durch *E. corrodens* wurde aufgezeigt

(YUMOTO et al. 1999). *E. corrodens* wird nicht nur in parodontalen Läsionen isoliert, sondern auch in systemischen Infektionen, wie Bisswunden oder Osteomyelitis (SUDA et al. 2002). Einige Studien zeigen ein Auftreten der Spezies in Formen der juvenilen Parodontitis (MANDELL 1984, MANDELL et al. 1987, SAVITT und SOCRANSKY 1984) oder aktiven Läsionen (TANNER et al. 1987), andere eine schwache Relation zur adulten Parodontitis (SOCRANSKY et al. 1998). Erhöhte Keimzahlen werden häufiger in aktiven als in inaktiven Läsionen gefunden (HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994). Eine erfolgreiche Therapie der Parodontitis zeigt eine nachweisbare Reduktion der Keimzahl (SOCRANSKY und HAFFAJEE 1997).

### **2.3 Mikrobiologische Evaluation**

Die mikrobiologische Evaluation der Plaqueproben von Parodontitispatienten erfolgte lange Zeit durch kulturelle Techniken (GREENSTEIN 1988, HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, SOCRANSKY und HAFFAJEE 1992). Diese Methoden wurden jedoch als zeitaufwendig, laborintensiv und kostengünstig angesehen. Alternative Methoden, die Pathogene ohne Kulturen identifizieren können wie die DNA-Sondentechnologien (FRENCH et al. 1986), Immunfluoreszenz-Mikroskopie (WOLFF et al. 1991), immunologische (EBERSOLE et al. 1984, GREENSTEIN 1988) und Enzym-Assays (BRETZ und LOESCHE 1987, LOESCHE et al. 1990b, YOSHIMURA et al. 1984) wurden entwickelt. Sie sollen für die mikrobiologische Diagnostik der parodontalen Erkrankung sensitiver und spezifischer sein als kulturelle Methoden.

### **2.4 Gaschromatographie**

Die Gaschromatographie (GCR) ist ein Verfahren, mit dem die einzelnen Bestandteile eines Gasgemisches voneinander getrennt werden können. Die molekularen Komponenten können identifiziert, extrem niedrige Konzentrationen bestimmt und quantitativ ausgewertet werden. Die Methode wird in der mikrobiologischen Diagnostik zur Analyse der flüchtigen Verbindungen von bakteriellen Spezies eingesetzt.

Ein definierter Trägergasstrom (Helium) bringt eine bestimmte Menge des Probengases in eine temperierte Trennsäule, die mit Aktivkohle, Kieselgel oder Ähnlichem gefüllt ist. Verschiedene Gaskomponenten eines bestimmten Volumens können durch ihre unterschiedliche Verweildauer in der Trennsäule getrennt werden. Die Substanz, die am wenigsten fest adsorbiert, erscheint

zuerst am Ende der Säule. Sie wird dort aufgefangen oder in einem Detektor nachgewiesen (ATKINS 1993, JENTZSCH et al. 1984).

Die GCR wird mit unterschiedlich sensitiven Detektoren kombiniert. Die Flammenphotometrie und der Schwefellumineszenz-Detektor identifizieren Schwefel enthaltende Verbindungen. Beide Kombinationen wurden erfolgreich angewendet in Studien, die sich mit der Halitosis beschäftigt haben (AWANO et al. 2002, AWANO et al. 2004, KOSHIMUNE et al. 2003, PERSSON et al. 1989, TONZETICH 1977, YAEGAKI und SANADA 1992b). Der dritte Detektor ist der Massenspektrometer, mit dem alle möglichen, nicht nur Schwefel enthaltende Verbindungen, nachgewiesen werden können (GREENMAN 1999, KOSTELC et al. 1981, KOSTELC et al. 1980). Diese Methode ist sehr störanfällig gegenüber Feuchtigkeit, Kohlendioxid und Luft. Deshalb ist die routinemäßige Anwendung für Atemgasanalysen sehr schwierig. Eine praxisnahe Nutzung der gaschromatographischen Technik ist aufgrund der Instrumente, die sehr hohe Anschaffungs- und Instandhaltungskosten notwendig machen und schlecht transportierbar sind, nicht möglich. Es handelt sich hier um labortechnisch aufwendige Methoden, die ausgebildetes Fachpersonal und besondere Pflege benötigen. Die Durchführung der Probenmessung ist sehr zeitaufwendig (ROSENBERG und MC CULLOCH 1992).

## 2.5 Multigassensensoren

Seit mehreren Jahren versuchen Wissenschaftler, biologische Prinzipien in der Entwicklung von technischen Geräten und Systemen umzusetzen. Ein Beispiel dafür sind Multigassensensoren, elektronische oder künstliche Nasen. In diesen Geräten, deren Entwicklung noch nicht ausgereift ist, sind nicht spezifische, elektrochemische Sensorarrays mit Mustererkennungsprogrammen gekoppelt.

Aufgrund der Ergebnisse zahlreicher gaschromatographischer Untersuchungen kann vermutet werden, dass bakterielle Gasgemische für die Untersuchung von Bakterien nutzbar sein können. Die gaschromatographischen Untersuchungen von Atemluft und Speichelproben (AWANO et al. 2002, AWANO et al. 2004, GREENMAN 1999, PERSSON et al. 1989, TONZETICH 1971, 1977, YAEGAKI und SANADA 1992b) sowie mikrobiologischer Kulturen subgingivaler Proben (PERSSON et al. 1990) konnten eine Reihe flüchtiger Verbindungen nachweisen, die in engem Zusammenhang zum Auftreten von Mundgeruch stehen. Die flüchtigen Verbindungen entstehen als Produkte des bakteriellen Stoffwechsels (AWANO et al. 2002, CLAEISSON et al. 1990, GREENMAN 1999, LEE 2003, PERSSON et al. 1990, TONZETICH 1971, 1977, TONZETICH und MC BRIDE 1981, YAEGAKI und SANADA 1992a, 1992b). Als

---

Hauptkomponenten dieser Gasgemische werden die flüchtigen Schwefel enthaltenden Verbindungen Methylmerkaptan und Schwefelwasserstoff angesehen. Neben diesen sind auch Indol und Amine, wie Kadaverin, Putrescin und Trimethylamin sowie flüchtige Säuren als Bestandteile nachweisbar (GOLDBERG et al. 1994, KOSTELC et al. 1981, KOSTELC et al. 1980). Zahlreiche Studien konnten einen engen Zusammenhang zwischen der erhöhten Konzentration der flüchtigen schwefelhaltigen Verbindungen und dem Vorhandensein einer Parodontitis darstellen (AWANO et al. 2002, CLAESSON et al. 1990, MIYAZAKI et al. 1996, MORITA und WANG 2001a, 2001b, PERSSON et al. 1989, PERSSON et al. 1990, RIZZO 1967, SOLIS-GAFFAR et al. 1979, TONZETICH 1971, 1978, TONZETICH und MC BRIDE 1981, YAEGAKI 1989, YAEGAKI und SANADA 1992a, 1992b). Die dargestellten Aspekte und zahlreiche Veröffentlichungen über Anwendungen von Multigassensystemen lassen ein Potential für die mikrobiologische Diagnostik von parodontalen Spezies vermuten.



## 2.5.1 Grundprinzip von Multigassensystemen

Multigassensysteme werden seit dem Beginn der 80iger Jahre entwickelt. In diesen Systemen erfüllen unspezifische, gassensitive, chemische Sensorfelder die Rolle der olfaktorischen Rezeptorzellen. Die Sensorfelder, Gassensorarrays, sind mit einem Computer gekoppelt, mit dem die Daten gesammelt und analysiert werden. Im Computer übernehmen Mustererkennungsalgorithmen die Funktion des neuronalen Kreislaufs des Gehirns. Ähnlich dem natürlichen System ist es möglich, mit einem Multigassensystem zu differenzieren und zu quantifizieren. Jedes chemische Sensorelement des Gassensorarrays antwortet stärker selektiv auf eine bestimmte chemische Stoffgruppe. Aber dennoch zeigt es auch eine breite und überlappende Antwort auf andere chemische Verbindungen (Kreuzselektivität). Für jedes komplexe Aroma produziert das Gassensorarray aus allen Sensorantworten ein einzigartiges Antwortmuster, ähnlich einem Fingerabdruck. Vergleicht man diese Systeme mit anderen gassensitiven Techniken, wie der Gaschromatographie, werden jedoch keine Informationen über die Quantität der individuellen Aromakomponenten ermittelt. Es findet mehr eine globale und qualitative Analyse des Aromaprofils statt. Darin ähneln sie dem menschlichen Geruchssinn (PINHEIRO et al. 2002).

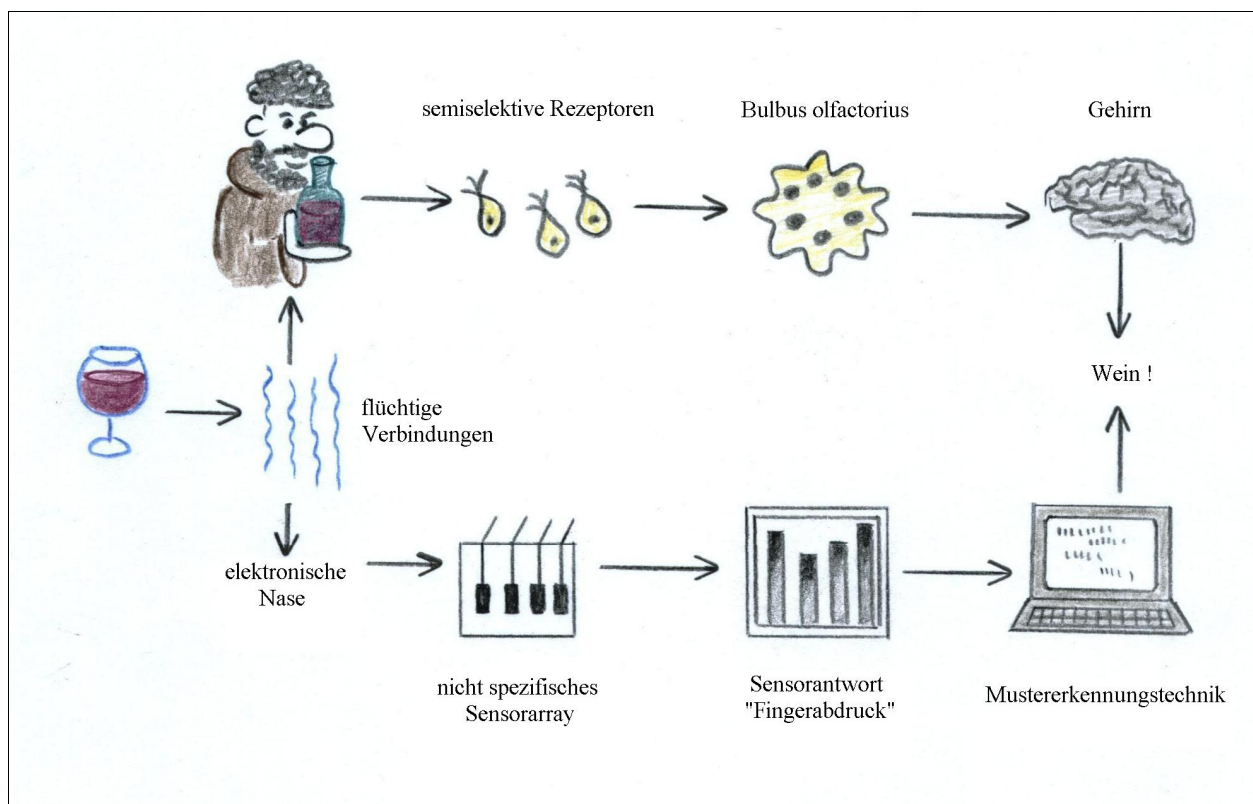


Abb. 6 Funktionsprinzip eines Multigassensystems im Vergleich zum humanen Geruchssinn (PINHEIRO et al. 2002)

## 2.5.2 Signalübersetzungsmechanismen der Multigassensensorsysteme

Für die Gassensorarrays können verschiedene physikalische und chemische Eigenschaften genutzt werden, um messbare Signale entstehen zu lassen. Zu den Möglichkeiten gehören Metalloxid-Silizium-Feldeffekt-Transistoren (MOSFET`s), leitende Polymere, akustische Geräte, piezoelektrische und fiberoptische chemische Systeme sowie Metalloxidsensoren. Alle Anwendungen haben zum Ziel, ein Sensorfeld mit unterschiedlich sensitiven Sensorelementen zu entwickeln. Im Folgenden werden die einzelnen Sensorsysteme kurz vorgestellt:

### **Metalloxid-Silizium-Feldeffekt-Transistoren (MOSFET`s)**

Bei Metalloxid-Silizium-Feldeffekt-Transistoren werden die Metalle der Gates eines Transistors durch katalytische Metalle oder Metall-Legierungen ersetzt. In sauerstoffhaltiger Atmosphäre oxidieren sie zu Metalloxiden. Durch die Adsorption eines Probengases auf der Oberfläche des Transistors verändert sich seine Ladungsdichte. Eine Leitfähigkeitsänderung des Gerätes wird messbar (DICKINSON et al. 1998).

### **Leitende Polymere**

Sensoren auf Basis von leitenden Polymeren bestehen aus polymeren Dünnschichten. Durch die Adsorption von Gasmolekülen wird die Anzahl aktiver Ladungsträger innerhalb der Polymerstruktur des Dünnschichtes verändert. Eine temporäre elektrische Leitfähigkeitsänderung des Films wird messbar. Organische Polymere können eine größere Anzahl an Sensorfunktionalitäten vermitteln als Metalloxide. Durch den Einbau zusätzlicher funktioneller Gruppen in das chemische Grundgerüst des Polymers sind sie modifizierbar. Diese Sensoren sind auch bei Raumtemperatur anwendbar. Jedoch haben sie lange Antwortzeit und zeigen zeit- und temperaturabhängiges Abdriften der Sensorantworten. (DICKINSON et al. 1998).

### **Oberflächen-akustische-Wellen-Sensoren**

Bei Oberflächen-akustische-Wellen-Sensoren werden piezoelektrisch erzeugte, akustische Oberflächenwellen über eine aktive Oberfläche geschickt, die mit einem gassensitiven Polymer beschichtet ist. Die Adsorption von zugeführten Gasmolekülen an der aktiven Oberfläche führt zu einer Veränderung ihrer charakteristischen Eigenfrequenz. Man misst die Differenz zwischen der Frequenz eines unbeschichteten Referenzoszillators und der Resonanzfrequenz, die durch die Gasexposition bei dem beschichteten Oszillator entsteht. Diese Differenzfrequenz ist charakteristisch für die jeweilige Kombination aus Polymerschicht und Zufuhrgas (KÖRBER und GOSCHNICK 2002).

### **Piezelektrische Sensoren**

Piezelektrische Sensoren bestehen aus piezelektrischen Kristallen wie Quarz. Durch das Anlegen einer Wechselspannung werden Schwingquarze zum Schwingen angeregt. Dabei entstehen aufgrund des piezelektrischen Effektes Resonanzen im Bereich von Radiofrequenzen. Um die Selektivität des Sensors zu regulieren, wird die Kristalloberfläche mit unterschiedlichen Sorbensmaterialien, wie sie in der Chromatographie verwendet werden, beschichtet. Probengase werden sowohl an der Oberfläche adsorbiert als auch im Sorbensvolumen absorbiert. Durch die Absorption ändert sich die Masse des Beschichtungsmaterials, was wiederum zu einer Veränderung der Schwingungsfrequenz des Kristalls führt. Mit der Differenz der Änderung der Oszillationsfrequenz kann die Masse oder die Konzentration des absorbierten Gases berechnet werden (KÖRBER und GOSCHNICK 2002, WU 1999).

### **Faseroptische Sensoren**

Bei den Faseroptischen Systemen ist ein solvatochromer fluoreszierender Farbstoff in unterschiedliche Polymere eingegliedert, um ein Sensorfeld zu erzeugen. Durch die Zufuhr von Gasmolekülen werden im Farbstoff Polaritätsänderungen verursacht, die zu einer Veränderung des Fluoreszenzemissionsspektrums führen. Zusätzlich kommt es durch die Interaktion mit den Gasmolekülen zu einer Schwellung der Polymere. Diese Sensoren zeigen sehr schnelle Antwortzeiten, sind sehr klein, durch Beschichtungen vielfältig modifizierbar, einfach und preiswert herstellbar. Nachteile sind ihre kurze Lebenszeit durch Fotobleichende Prozesse und zusätzlich erforderliches aufwendiges Instrumentarium, wie spezielle lichtempfindliche Kameras und optische Präzisionskomponenten (WALT et al. 1998).

### **Metalloxidsensoren**

Sensoren auf Basis von halbleitenden Metalloxiden verändern ihre elektrische Leitfähigkeit in Anwesenheit von Gasen. Wechselwirkungen im Grenzschichtbereich des Sensors führen zu einer Oberflächenreaktion, die eine Anreicherung oder Verminderung von Ladungsträgern verursacht. Eine Änderung der Leitfähigkeit, abhängig von Art und Konzentration des Gases, wird messbar (ZUDOCK 1998). Die Sensorselektivität kann durch die Betriebstemperatur und Modifikationen des Metalloxidfilmes durch Katalysatoren oder verschiedene sensitive Schichten auf der Sensoroberfläche beeinflusst werden. Metalloxidsensoren sind die am häufigsten verwendeten Materialien im gassensitiven Bereich. Ihre Nachteile liegen im hohen Energieverbrauch und einer relativ hohen Empfindlichkeit gegenüber Verschmutzungen durch irreversibel bindende Komponenten. (DICKINSON et al. 1998).

### **2.5.3 Datenverarbeitung und Mustererkennung von Multigassensoren**

Beim menschlichen Geruchssinn wird die Sensitivität der Nase nicht durch die Bindung von Geruchsmolekülen an die primäre Sinneszelle erreicht, sondern durch den Erweiterungsprozess innerhalb der neuronalen Vorgänge in höheren Regionen des Gehirns. Innerhalb dieser Regionen existieren ausgeprägte Hemmmechanismen und eine efferente Kontrolle der einlaufenden Erregungen. Die Sensitivität wird dadurch erhöht, dass Rauschen und Abdriften von Impulsen entfernt werden (DICKINSON et al. 1998, SCHMIDT und THEWS 1993).

Ähnlich dem menschlichen Geruchssinn müssen die Daten von Multigassensoren vorbehandelt und weiterverarbeitet werden, bevor damit eine Klassifizierung von Aromen möglich ist.

Die meisten der verfügbaren Systeme von Multigassensoren basieren auf steady-state-Messungen. Die Sensoren erreichen nach einer gewissen Zeit der Gasexposition eine stationäre Phase. Die Intensität dieser Signale wird gemessen. Die resultierenden Werte sind Zeit-unabhängige Größen und definieren die absolute Änderung im Sensorsignal bei einer Gasexposition. Die Daten werden visuell auf einem Computerbildschirm inspiziert, um abdriftende Sensorsignale zu identifizieren. Verschiedenartige Gasatmosphären führen zu unterschiedlichen Leitfähigkeitsmustern des Sensorarrays. Die Daten sind multivariater Natur. Sie werden mit Mustererkennungsprogrammen, die entweder auf statistischen Methoden oder auf künstlichen neuronalen Netzen basieren, ausgewertet. Zu den statistischen Methoden gehören die lineare Diskriminanzanalyse (LDA), die Hauptkomponentenanalyse (PCA), die Partial-Least-Square-Methode (PLS).

Bei allen Verfahren wird mit einem Lerndatensatz ein Modell der zu unterscheidenden Klassen gebildet. Mit einem zweiten, unbekanntem Testdatensatz wird geprüft, ob unbekannte Proben in diesem Modell der korrekten Klasse zugeordnet und damit erkannt werden können.

### **2.5.4 Anwendungen von Multigassensoren**

Kommerziell verfügbare Multigassensoren werden hauptsächlich in der Nahrungsmittelindustrie zur Qualitätskontrolle angewendet. Bei Prozessen, in denen es zur Entstehung von Aromen kommt, wird häufig die sensorische Methode für die Prozesskontrolle genutzt. Trainierte Experten ordnen Aromen bestimmten Mustertabellen zu. Die Nachteile dieser sensorischen Methode liegen in der Subjektivität der menschlichen Geruchsempfindung, Ermüdungs- und Adaptationserscheinungen des Geruchssinnes, der schlechten Vergleichbarkeit

der Prüfergebnisse aufgrund unterschiedlicher Sinnesempfindungen und Erfahrungen unterschiedlicher Prüfer. Emotionale und mentale Einflüsse sowie altersbedingte physiologische Veränderungen können Sensitivitätsänderungen bedingen. Zusätzlich besteht häufig ein Gesundheitsrisiko durch die betreffenden Komponenten selbst. Um diese genannten Aspekte zu vermeiden, wurden künstliche Nasen, bzw. Multigassensoren, entwickelt (DICKINSON et al. 1998).

Roter Pfeffer, ein in vielen Teilen der Welt populäres Gewürz, kommt in mehr als 200 Variationen vor. Abhängig von den Wachstumsbedingungen unterscheiden sie sich in Farbe, Schärfe und Aroma. Die Schärfe des Gewürzes ist auf die chemische Stoffgruppe der Capsaicinoide zurückzuführen. Für die Qualitätskontrolle wird die Konzentration dieser Substanzen chemisch, instrumentell oder sensorisch überprüft, was lange und schwierige Probenvorbereitungen erfordert und ein Gesundheitsrisiko in sich birgt. Durch die Anwendung eines Multigassensoren können diese Nachteile vermieden werden. Die Gruppe um KOREL et al. (2002) erreichte eine Differenzierbarkeit von bis zu 91 % zwischen verschiedenen Pfefferproben durch ein Multigassensoren.

Eine weitere Studie im Nahrungsmittelbereich untersuchte die Verwendung eines Multigassensoren für die Qualitätskontrolle von Olivenölen. Durch unterschiedliche Faktoren wie Licht, Temperatur, Metalle, Mikroorganismen werden Lipide oxidiert und dadurch die Eigenschaften des Olivenöls negativ beeinflusst. Sensorische und gaschromatographische Überprüfungen sind zu langsame und zu kostenintensive Methoden für eine routinemäßige Verlaufskontrolle im Produktionsprozess der Olivenöle. Die Untersuchung von APARICIO et al. (2000) konnte zeigen, dass mit den Daten des Multigassensoren eine gute Differenzierbarkeit zwischen unterschiedlich stark ranzigen Ölproben entdeckt werden kann. Im Vergleich zur sensorischen Überprüfung war es mit dem Multigassensoren sogar möglich, sehr geringe ranzige Veränderungen des Öles festzustellen.

Die Haltbarkeit von Fleisch wird durch den Prozess des Verderbens eingeschränkt. Feststellbar ist dieser Prozess in Fleischabpackungen unter anderem durch bestimmte unangenehme, schlechte Gerüche. Diese entstehen durch anaerobe Keime, die das Fleisch besiedeln. Aktuell wird der Grad des Verderbens durch die Feststellung der Gesamtkeimzahl nach Kultivierung geprüft. Jedoch besteht in diesem Fall keine direkte Korrelation mehr zwischen der Keimzahl und dem Grad des Verderbens. Die schwedische Gruppe um BLIXT und BORCH (1999) konnte zeigen, dass mit einem Multigassensoren der Grad des Verderbens quantitativ feststellbar ist

und verschiedene Fleischabpackungen unterschiedlicher Hersteller voneinander unterschieden werden können.

Mehrere Autoren haben den Einsatz von unterschiedlichen Multigassensoren zur einfachen und schnellen Klassifikation von Getreide gezeigt. Verschiedene Pilze im Getreide produzieren Mykotoxine, welche die Gesundheit gefährden können. Qualitätskontrollen des Getreides werden sowohl durch komplexe Extraktionsprozeduren und analytische Methoden, als auch sensorisch durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass mit Multigassensoren eine schnelle und nützliche Methode vorhanden ist, um Mykotoxine zu identifizieren (JONSSON et al. 1997, KESHRI und MAGAN 2000, OLSSON et al. 2000, 2002).

Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen in der Beobachtung von biologischen Prozessen. Bei der herkömmlichen Überwachung der Joghurtfermentation wird die Qualität der Joghurtkultur sensorisch und ihr Versäuerungsgrad mit einer pH-Elektrode überprüft. Mit einem Multigassensoren-System konnte gezeigt werden, dass die entstehenden Signalmuster die unterschiedlichen Zeitpunkte der Fermentation sehr gut widerspiegeln. Die Sensorsignale zeigten eine gute Korrelation zu den analysierenden Konzentrationen der Joghurtkomponenten (CIMANDER et al. 2002a).

Schnelle Methoden für die Verlaufskontrolle bei Bioprozessen existieren bis heute kaum. Um bakterielle Kontaminationen von Zellkulturen (z. B. zur Produktion des menschlichen Blutkoagulationsfaktors VIII) nachzuweisen, werden Proben zeitaufwendig auf Nährmedien kultiviert. Schnellere Untersuchungen mit Hilfe der Gaschromatographie oder der Nutzung von Antikörperfragmenten sind sehr aufwendig sowie kostenintensiv. Im Vergleich dazu ist es möglich, mit einem den Verlauf überwachenden Multigassensoren-System schnell Informationen über eine mögliche Kontamination zu erhalten. Nach dieser Kontaminationsmeldung können dann gezielt Kultivierungen durchgeführt werden, um den verursachenden Keim zu identifizieren (BACHINGER et al. 2002).

Auch bakterielle Kulturen können mit einem Multigassensoren-System überwacht werden. CIMANDER et al. (2002b) beobachteten Tryptophan produzierende *Escherichia coli*. Die einzelnen Kulturstadien (exponentielles Wachstum, Substrat limitiertes und gehemmtes Wachstum) konnten sowohl in den Sensor-Rohsignalen als auch nach der Auswertung der Signaldaten unterschieden werden. Man kann langsames von schnellem Kulturwachstum unterscheiden. Von Vorteil ist die Prozessüberwachung zur Beurteilung des Inokulums bei der Präkultivierung von bestimmten Keimen. Denn der Optimierung der Bedingungen für die

Präkultur kommt eine bedeutende Aufgabe in der Verlaufskontrolle von Bioprocessen zu. Das Inokulum steht in direkter Beziehung zur späteren Produktivität der Kultur und deren Biomasse.

Ein weiteres Nutzungsgebiet für Multigassensensorsysteme sind Beobachtungsprozesse in der Umwelttechnologie. Von großem Interesse ist die Herstellung des Brennstoffs Alkohol in einem Fermentationsprozess. Holz und andere Lignozellulose enthaltende Quellen sind potentielle Rohmaterialien für eine alkoholische Gärung. Im ersten Schritt der Zelluloseaufbereitung entstehen Substanzgemische, die als Medium verwendet werden. Einzelne Komponenten darin können jedoch das mikrobielle Wachstum und den Gärungsprozess hemmen. Die Hemmmechanismen sind nicht vollständig geklärt und schwierig quantitativ zu beschreiben. Die chemische Bestimmung der komplexen Zusammensetzung der Medien ist nicht exakt möglich und erfordert einen hohen analytischen Aufwand. In der Untersuchung von MANDENIUS et al. (1999) erwies sich ein Multigassensensorsystem als nützliches Werkzeug für die Vorhersage der Fermentabilitätsfähigkeit der Holzhydrolysate verschiedener Hölzer und für eine bessere Kontrolle des Gärungsprozesses.

Eine weitere Studie (DEWETTINCK et al. 2001) untersuchte die Möglichkeit der Anwendung eines Multigassensensorsystems zur Kontrolle der Abwasserqualität. Es konnte gezeigt werden, dass Abwasserproben über einen Zeitraum von zwölf Wochen hinsichtlich ihrer flüchtigen Komponenten zu unterscheiden sind. Die Ergebnisse dieser Studie stellen den Einsatz eines Multigassensensorsystems als schnellen Alarmauslöser bei der Abwasserkontrolle in Aussicht.

Bisher wurden medizinische Anwendungen von Multigassensensorsystemen zum Nachweis von Bakterien (AATHITHAN et al. 2001, DUTTA et al. 2002, GARDNER et al. 2000, GARDNER et al. 1998, GIBSON et al. 1997, HOLMBERG et al. 1998, LAI et al. 2002, PAVLOU et al. 2002a, PAVLOU und TURNER 2000, PAVLOU et al. 2000, PAVLOU et al. 2002b, THALER 2002), Pilzen (MURAMATSU et al. 1986), Liquor (THALER 2002), Blut (DI NATALE et al. 1999, MANTINI et al. 2000), Diabetes (MOHAMED et al. 2002) und zur Analyse der Haut (DI NATALE et al. 2000, MANTINI et al. 2000) durchgeführt. Die Suche nach bakteriellen Spezies in klinischen Proben ist zeitaufwendig und erfordert selektive Medien, zusätzliche Isolierung, laborintensive und biochemische molekulardiagnostische Prozeduren (PAVLOU et al. 2002a). Multigassensensorsysteme bieten potentiell die Möglichkeit des schnellen Nachweises von Bakterien in Laborproben (PAVLOU et al. 2002a). In In-vitro-Versuchen wurde der Keim *Helicobacter pylori* von anderen gastroesophagealen Isolaten mit einer Vorhersage von 98 % durch die Signalmuster eines Multigassensensorsystems identifiziert (PAVLOU et al. 2000). Eine andere Untersuchung zeigte, dass bekannte bakterielle Kulturen des Respirationstraktes mit

---

einem Multigassensorsystem entdeckt und voneinander in vitro unterschieden werden können (LAI et al. 2002). Anaerobe Kulturen von *Clostridium spp.* und *Bacteroides fragilis* auf Agarplatten wurden gut und schnell von sterilen Platten durch ein Multigassensorsystem unterschieden (PAVLOU et al. 2002a). Die Untersuchung von Urinproben durch Kultivierung benötigt 24 bis 48 Stunden für die Analyse einer Infektion. AATHITAN et al. (2001) erreichten mit einem Multigassensorsystem eine Sensitivität von 83,5 % und eine Spezifität von 87,6 % für das Screening der Urinproben innerhalb der ersten 24 Stunden der Kultivierung. Die Gruppe um PAVLOU et al. (2002b) konnte 25 bakteriell infizierte Urinproben von Patienten identifizieren und die verschiedenen Keime durch ein Multigassensorsystem voneinander unterscheiden. Die Mustererkennung gekoppelt mit künstlichen neuronalen Netzen erreichte in dieser Untersuchung eine Vorhersage von nahezu 100 %.

Weiterhin war es möglich, zerebrospinalen Liquor von Blutserum in geringen Mengen durch unterschiedliche Signalmuster zu unterscheiden. Klinisch anwendbar kann dieser Test eine nicht-invasive Möglichkeit bieten, eine Rhinorliquorrhoe zu diagnostizieren (THALER 2002).