

Mikrobiologische und chemische Schnellnachweise – eine Alternative?

Dr. Anke Sies und Karl-Heinz Focke*

Mikrobiologie

Die Produkt- und Verpackungslandschaft in der Mineralbrunnen-Branche hat sich in den letzten Jahren stark gewandelt. Getränkesorten, wie Wellness-Getränke, „Near-Water“-Produkte und Kohlensäurefreie Wässer sind in den Markt eingeführt worden. Die Unternehmen haben neue Verpackungsarten, Verschlussformen und Produktionstechniken, wie die Aseptik-Abfüllung, entwickelt. Diese Entwicklungen stellen neue Anforderungen an die mikrobiologische Qualitätskontrolle.

Zur mikrobiologischen Kontrolle stehen dem Betriebslabor die bewährten „klassischen“ Verfahren, wie sie in der Mineral-, Quell- und Tafelwasserverordnung (MTV) Anlage 2 zu § 4 oder im Lebensmittel- u. Futtermittelgesetzbuch (LFGB) § 64 festgelegt werden, zur Verfügung.

Daneben wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl von Schnellnachweisen entwickelt, die die oben genannten Methoden in der Nachweissicherheit und vor allem beim Zeitfaktor unterstützen sollen. Der Faktor Zeit gewinnt bei der Freigabeentscheidung von Produktchargen eine zunehmend wichtige Rolle, um die Lager- und Logistikkosten zu minimieren.

Im Folgenden werden einige aktuelle Schnellmethoden und ihre praktische Einsetzbarkeit im Betriebslabor beschrieben und bewertet.

Biolumineszenz-Verfahren

Das Biolumineszenz-Verfahren hat sich in den letzten Jahren im Bereich des Hygienemonitoring, wie zum Beispiel bei der Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektionsprozessen an Oberflächen, etabliert. Die Methode beruht auf dem Nachweis bzw. der Umsetzung von Adenosintriphosphat (ATP) als Parameter

für das Vorhandensein von Verschmutzungen in Form von Mikroorganismen, wie Bakterien und Hefen, oder anderem organischem Material, wie Lebensmittelrückstände.

ATP ist die chemische Form der Energie, welche durch den Stoffwechsel (Photosynthese, Atmung oder Gärung) der Zelle verfügbar gemacht und verwertet wird. Das heißt, jede Stoffwechselakti-

vität erfordert ATP-Bildung und dessen Umsetzung. Bringt man ATP mit dem so genannten „Leuchtkäfer-Reagenz“ (Luciferin/Luciferase-Komplex) in Reaktion, entsteht freie Lichtenergie. Dieses freigesetzte Licht entspricht der Menge des umgesetzten ATPs und kann mit einem Luminometer gemessen werden.

Die Vorteile dieser Methode liegen in der einfachen Durchführung vor Ort, in der Ergebnisverfügbarkeit in ca. zwei bis

* Institut Romeis Bad Kissingen GmbH
Der Artikel basiert auf einem Vortrag, den die Autoren auf dem Brunnenfachgespräch 2005 gehalten haben.



drei Minuten und in der guten Dokumentierbarkeit durch Schnittstellen mit Drucker/PC.

Die Nachteile liegen in der Unspezifität der Methode. Durch die unterschiedlichen ATP-Gehalte von verschiedenen Mikroorganismen kann kein Rückschluss auf die Art des Mikroorganismus geschlossen werden. Ebenso kann nicht zwischen pflanzlichem und mikrobiologischem ATP unterschieden werden. Das Auftreten von substratabhängigem Grundrauschen kann im Bereich des Spurennachweises zu Schwierigkeiten führen.

Durch die Störung der Enzymreaktion durch Reste von Reinigungs- u. Desinfektionsmitteln („Quenching-Effekte“) kann es zu Ungenauigkeiten und Problemen in der Praxis kommen.

Die Methode ist zur Umfeldkontrolle geeignet, kann aber nicht zur Produktkontrolle eingesetzt werden.

Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die PCR ist eine biochemische Technik, um Kopien von spezifischen DNA-Segmenten herzustellen, also im Prinzip ein „DNA-Photokopierer“. Die Desoxyribonucleinsäure (DNA) ist ein hochmolekulares fadenförmiges Polynucleotid. Es liegt in der Natur als doppelsträngiges Molekül vor und dient als Speicher für die Erbinformationen eines Individuums.

Bei der PCR wird die DNA mechanisch oder durch Hitze aus der Zelle extrahiert, anschließend erfolgt die Denaturierung der doppelsträngigen DNA in beiden Einzelsträngen bei 95 °C. Beim Abkühlen hybridisieren die im Überschuss zugegebenen „Primer“ (Startsequenzen) an den Zielsequenzen (Annealing, bei 55 °C) und markieren den gesuchten DNA-Abschnitt.

Ausgehend von den Primern wird durch das Enzym Polymerase dieser Abschnitt verlängert, so dass Kopien der Ausgangs-DNA (Extension, bei 72 °C) entstehen. Durch erneute Erhitzung des Gemisches in ungefähr 20–40 Zyklen entstehen millionenfache Kopien des gesuchten DNA-Abschnittes, die dann mittels geeigneter Mess-Systeme erfasst werden können.

Der Vorteil dieser Methode ist die hohe Sensivität, die je nach Einsatz der gewählten Primer zum Tragen kommt. Seit der Entwicklung sogenannter Real-Time-PCR-Systeme ist diese Methode auch routinetauglich. Sie ist sehr zuverlässig und liefert nach ungefähr drei Stunden (eingeschlossen Probenvorbereitung) ein Ergebnis. Allerdings wird für den sicheren Nachweis der Keime eine gewisse Mindestzellzahl benötigt.

Um diese zu erreichen, sind konventionelle Anreicherungsverfahren einzusetzen, die entsprechend dem nachzuweisenden Keim 24 bis 72 Stunden in An-

spruch nehmen können. Mit der PCR-Methode wird auch die DNA in abgestorbenen Zellen nachgewiesen. Das kann bei bestimmten Aufgabestellungen zu Nachteilen führen. Die Investitionskosten für eine Real-Time-PCR-Anlage liegen im Bereich von etwa 45.000 bis 55.000 Euro, für laufende Material-/Reagenzienkosten muss mit 8 bis 15 Euro pro Probe gerechnet werden.

„FISH“-Gensondentechnik

Grundlage dieser molekular-biologischen Methode ist die Einführung von keimspezifischen Gensonden in die Zelle, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sind. Diese Gensonden binden sich an spezifische Regionen der ribosomalen Nucleinsäure (rRNA) nach dem Schlüssel/Schloss-Prinzip. Nach Anregung mit einem hochenergetischen Licht kann die Zelle, welche gebundene Gensonden besitzt, sichtbar gemacht werden (Abb. 1). Nicht gebundene Gensonden werden in einem Waschschrift entfernt. Die Auswertung geschieht mit dem Fluoreszenzmikroskop, wobei die gesuchten Zellen im mikroskopischen Bild grün oder rot leuchten. Die Zellformen bleiben erhalten.

Auch bei dieser Methode liegt der große Vorteil in der hohen Sensivität, je nach Einsatz der Gensonden. Auf Grund des „Angriffspunkts“ rRNA werden nur lebende Zellen nachgewiesen. Das Ergebnis liegt nach etwa drei Stunden vor. Die Dokumentation kann über eine angeschlossene Digitalkamera erfolgen. Die Methode ist einfach durchzuführen (Mikroskopierung) und gut im Routinebetrieb anzuwenden. Bei hohem Probenaufwand ist ein gewisser Zeitaufwand beim Mikroskopieren zu berücksichtigen.

Ein Nachteil ist, dass eine gewisse Mindestzellzahl nötig ist, um eine ausreichende Nachweissicherheit zu gewährleisten. Das heißt, je nach nachzuweisender Keimart muss über 24 bis 72 Stunden vorangereichert werden. Die Investitionskosten für ein geeignetes Fluoreszenzmikroskop liegen bei über 10.000 Euro, für laufende Material- und Reagenzienkosten müssen etwa 10 bis 20 Euro pro Probe angesetzt werden.

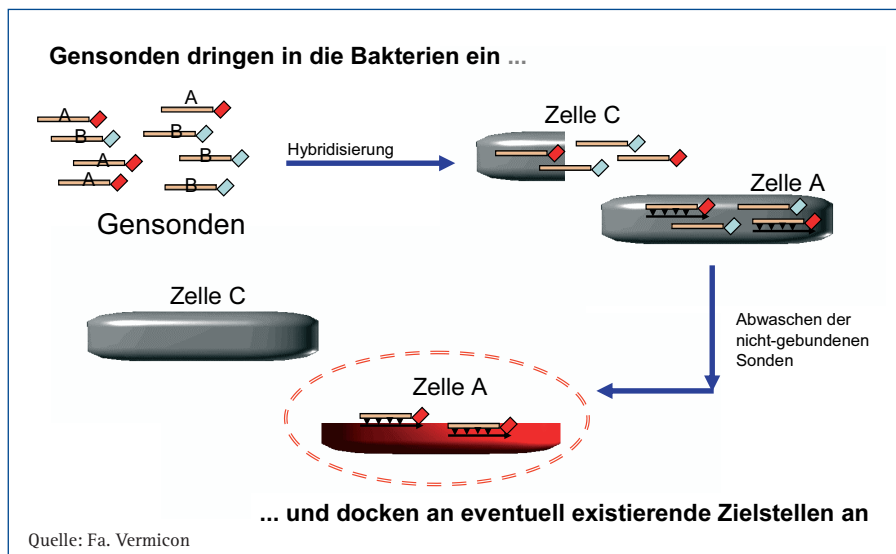


Abbildung 1: FIS-Gensonden-Technik

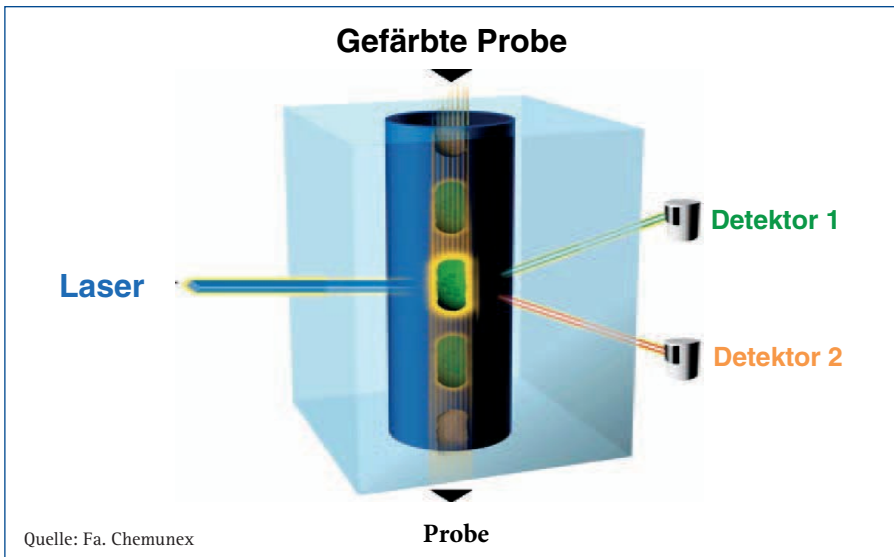


Abbildung 2: Durchflusszytometer-Messung

Zellfärbung mit fluorogenen Farbstoffen am Beispiel der Durchfluss-Cytometrie

Grundlage dieser Methode ist die Einführung eines nicht fluoreszierenden Färbesubstrats in die Zelle. Durch Enzymaktivität innerhalb der lebenden Zelle wird die fluoreszierende Komponente abgespalten. Es erfolgt eine Anhäufung dieses freien Fluorochroms in der Zelle. Die markierten Zellen werden durch eine Durchflussküvette in einem laminaren Strom geleitet und mit einem Diodenlaser angeregt. Die entstehenden Lichtblitze werden von Photodetektoren erfasst (Abb. 2) Jede einzelne, lebende Zelle wird gezählt. Das Ergebnis kann in Zellen pro Milliliter oder Zellen pro Gramm des analysierten Produkts angegeben werden.

Die Durchflusszytometrie ist sehr gut automatisierbar. Die Methode kann auf Grund der Zellgrößen zwischen Hefen und Bakterien unterscheiden. Die Spezifität ist aber bei weitem nicht so hoch wie bei den molekular-biologischen Methoden. Bei einem positiven Befund muss in der Regel mit klassischen Methoden weiterdifferenziert werden. Vor der eigentlichen Messung muss produktspezifisch zwischen 24 und 72 Stunden angereichert werden. Durchflusszytometer werden je nach Größe des Gerätes zwischen 40.000 und 120.000 Euro angeboten. Die laufenden Material-/Reagenzienkosten liegen bei etwa vier bis acht Euro pro Probe.

Chromocult/Fluorocultnährmedien für coliforme Keime

Das Prinzip dieser Methode beruht auf dem indirekten Nachweis von Keimen durch spezifische bakterielle Enzyme. Im Fall der gesamtcoliformen Keime ist dies das Enzym β -D-Galaktosidase, bei Escherichia coli das Enzym β -D-Glucuronidase. Bei Anwendung als Flüssignährmedium ergeben sich Befunde an Hand der Umfärbung des Nährmediums. Beim Nachweis von E.coli zeigt sich zusätzlich Fluoreszenz. Bei der Anwendung als fester Nährboden ergeben sich für coliforme

Keime und E.coli charakteristische Koloniefarben. Mit dieser Methode lassen sich nach einer Bebrütungszeit von 24 Stunden sichere Aussagen über die Beschaffenheit der Probe hinsichtlich coliformer Keime treffen. Eine weitere Differenzierung ist nicht mehr nötig. Der Kostenaufwand ist nur geringfügig höher als bei den „klassischen“ Methoden.

Zusammenfassung

Die mikrobiologische Qualitätskontrolle befasst sich mit dem Problem des Spurennachweises von Mikroorganismen auf allen Herstellungsstufen. Mit diesem Problem setzen sich auch die Schnellmethoden auseinander. Sie können im Bereich einer geringen Spurenkontamination nicht direkt eingesetzt werden. Es sind immer Voranreicherungen zwischen 24 und 72 Stunden nötig. Das führt zum Verlust eines großen Teils des erzielten Zeitvorsprungs, den diese Methoden an sich vorweisen.

Der Einsatz von mikrobiologischen Schnellmethoden im Betriebslabor hängt stark von den nachzuweisenden Keimen ab. Wie Abbildung 3 zeigt, ist im Falle der schnellwachsenden coliformen Keime die Chromocult/Fluorocult-Methode den aufwendigeren molekularbiologischen Methoden durchaus ebenbürtig. Es kann festgestellt werden, dass bei langsamwachsenden Keimen, wie



	PCR	FISH	Cytometrie	Chromocult/ Fluorocult	„Klassisch“
Coliforme Keime	3h + 24h Anreicherung	3h + 24h Anreicherung	Kein spezifischer Nachweis möglich	24h	24h-48h ja/nein + evtl. Differenz. 24h-48h
Hefen	3h + 48h-72h Anreicherung	3h + 48h-72h Anreicherung	1/2h (ja/nein) + 48h-72h Anreicherung	---	72h ja/nein + evtl. Differenz. 3-4Tage
Milchsäurebakterien	3h + 48h-72h Anreicherung	3h + 48h-72h Anreicherung	Kein spezifischer Nachweis möglich	---	5-7 Tage ja/nein + evtl. Differenzierung 3-5 Tage

Abbildung 3: Vergleich Schnelligkeit „Klassisch/Schnell“

Hefen und Milchsäurebakterien, im Vergleich mit klassischen Methoden die Vorteile in Richtung Schnellmethoden deutlich überwiegen.

Da die Investitionskosten und der Aufwand für die laufenden Material-/Reagenzienkosten bei den Schnellmethoden im Vergleich zu den klassischen Methoden sehr hoch sind, beschränkt sich der Einsatz von mikrobiologischen Schnellmethoden zurzeit auf bestimmte Probensegmente. Hierzu zählen die Endkontrollen zur Freigabe von sensiblen

Produkten, sowie Proben aus dem direkten Herstellungsprozess, bei denen die Möglichkeit besteht, aufgrund der Ergebnisse noch zeitnah in den Prozess und damit in die Wertschöpfungskette steuernd einzugreifen.

Die Entscheidungsfindung zur Einführung eines Schnellnachweisverfahrens im Betriebslabor ist komplex. Unternehmen sollten hinsichtlich Probenmatrix und Keimgruppe, die Probenzahl, die räumlichen und personellen Möglichkeiten und die Kostenaspekte berücksichtigen.

Chemie

Der Mineralbrunnen ist verpflichtet, eine einwandfreie Qualität seiner Produkte gemäß den Anforderungen des Gesetzes zur Neuordnung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts (LFGB) sowie den daraus abgeleiteten Rechtsnormen zu garantieren. Das seit 7. September 2005 in Kraft getretene LFGB löst das vormals gültige Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetz (LMBG) ab. Die Neuordnung wurde zur Anpassung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts an die Vorgaben der unmittelbar geltenden Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 durchgeführt. Wichtige Änderungen des Gesetzes betreffen beispielsweise das Risikomanagement.

Die spezifischen Anforderungen an ein Mineralwasser werden durch die Mine-

ral und Tafelwasserverordnung (MTV) geregelt. Zur Prüfung der Quelle und der Produkte sind allgemein anerkannte, national bzw. international normierte Verfahren aber auch vollständig validierte Prüfverfahren, die so genannten „Hausmethoden“, anzuwenden. Als anerkannte Verfahren im Bereich der Wasseruntersuchungen sind beispielsweise die Sammlungen der Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DEV) sowie die bisher als amtliche § 35 LMBG-Methodensammlung, nach neuem Recht nunmehr § 64 LFGB-Methodensammlung, zu nennen.

Die Anwendung der Normverfahren erfordert geeignete Laborausstattungen. Sie erlauben in der Regel keine direkten Untersuchungen der Parameter am

Brunnenkopf bzw. im Produktionsablauf. Um die Qualität der Produkte vor Ort zu überprüfen, werden häufig Schnellnachweise in Form von Teststreifen und colorimetrischen Küvettentests eingesetzt. Der Umfang der Untersuchungen beschränkt sich auf die Parameter Nitrit, Nitrat, Eisen, Mangan, Chlordioxid, Ammonium, Calcium, Magnesium und die Summenparameter Säurekapazität (S_K 4,3) sowie Härte, Färbung (SAK 436 nm), Leitfähigkeit, pH-Wert, Oberflächenspannung und Sensorik.

Bei der Anwendung von Teststreifen ist darauf zu achten, dass die gemäß Herstellerangaben ausgewiesenen Nachweisgrenzen (NG) die Mindestanforderungen an die jeweils durchzuführenden Analysen erfüllen. In Anlage 5 Nr. 2 der TrinkwV 2001 werden für die dort aufgeführten Parameter Nachweisgrenzen definiert, die 10 Prozent bzw. 25 Prozent des einzuhaltenden Grenzwertes betragen. Ein Beispiel: Der Grenzwert für Nitrit beträgt 0,1 mg/l. Die Nachweisgrenze der Teststreifen muss dann mindestens 0,01 mg/l betragen.

Werden für die Parameter Nitrit, Nitrat und Ammonium am Brunnenkopf steigende Gehalte nachgewiesen, deutet dies möglicherweise auf mikrobiologische Stoffwechselprozesse oder Fremdstoffeinträge hin. Die Ursachen liegen möglicherweise in Einträgen von Oberflächenwasser oder von oberflächennahen Aquifären, die auf Grund zu hoher Förderleistungen bzw. Schüttungen in den Wasserleiter eindringen. Auch technische Unzulänglichkeiten an der Brunnenfassung können zu Einträgen führen.

Meist ändern sich mit dem Eintrag von Fremdwasser auch Leitfähigkeit und Temperatur. Aus praktischen Beispielen zeigt sich, dass die Variationskoeffizienten v_k (v_k = prozentuale Streuung der Messwerte um seinen Mittelwert) für die elektrische Leitfähigkeit sowie für die Temperatur bei einem normalen Brunnenbetrieb unterhalb 10 Prozent liegen.

Änderungen des pH-Wertes im Verlauf der Produktion weisen möglicherweise auf Rückstände von Reinigungsmitteln hin. Bei der Beurteilung der Ergebnisse ist die Pufferkapazität des Wassers, insbesondere der CO_2 -Gehalt, mit einzubeziehen. Praktische Beispiele zeigen, dass

für den pH-Wert im Routinebetrieb eine Streuung der Messwerte bis zu drei Prozent auftreten kann.

Die Oberflächenspannung wird meist mit dem Ringverfahren nach Lecomte du Noüy bestimmt: ein Platin/Iridium-Ring bekannten Umfangs wird in die zu untersuchende Flüssigkeit eingetaucht bis die Ringoberfläche vollständig benetzt ist. Der Ring wird anschließend gegen die Flüssigkeitsoberfläche gezogen und das Kräfte maximum gemessen, welches direkt proportional zur Oberflächenspannung ist. Ein Einsatzbeispiel der Methode ist die Kontrolle des Haftwassers in den gereinigten Flaschen nach der Waschmaschine.

Mit der Bestimmung der Oberflächenspannung wird die Summe aller oberflächenaktiven Substanzen erfasst, in erster Linie sind dies Tenside aus Reinigungs- und Desinfektionsmitteln. Des Weiteren nehmen Rückstände organischer Lösungsmittel, Säuren und Laugen Einfluss auf das Messergebnis der Oberflächenspannung. Der Vorteil der Methode liegt in der erheblichen Zeit- und Kostenersparnis, im Vergleich zur direkten Bestimmung von Tensiden mittels Flüssig/Flüssig-Extraktion mit anschließender photometrischer- oder HPLC-Bestimmung (DIN-Verfahren DEV H 16, H 20 und H 23). In Abhängigkeit der Beschaffenheit des untersuchten Wassers und der Polarität der eingesetzten Tenside können weitestgehend alle anionischen Tenside im Milligrammbe reich mit der Oberflächenspannung nachgewiesen werden. Der Variationskoeffizient für die Oberflächenspannung im Routinebetrieb sollte bei einwandfreien Wasserproben ca. 1 Prozent betragen. Zu beachten ist die Temperaturabhängigkeit der Messung, daher sind die Proben vor der Messung zu temperieren.

Als weitere sehr wichtige „Vor Ort-Prüfung“ ist die sensorische Untersuchung zu nennen. Sie ist ein Paradebeispiel für ein normiertes, schnelles und zugleich sehr empfindliches Verfahren. Beispielsweise wird Acetaldehyd in Wasser bereits ab einer Konzentration von ca. 10 µg/l sensorisch wahrgenommen. Der Aldehyd entsteht als unerwünschtes Nebenprodukt bei der Herstellung von Polyethylenterephthalat

(PET) aus der Veresterung von Ethylen glykol und Terephthalsäure. Auf Grund der Flüchtigkeit und Polarität des Aldehyds treten bei höheren Konzentrationen Migrationen aus dem Verpackungsmaterial in das Produkt auf, welche ab der o. g. Konzentration als sensorische Abweichungen wahrgenommen werden können.

Bei der Durchführung sensorischer Untersuchungen sind die Vorschriften der Prüfverfahren streng einzuhalten. Bekanntermaßen nehmen die Umgebung und die Konstitution der Prüfer einen erheblichen Einfluss auf das Ergebnis. Zu berücksichtigen sind auch spezifische Unterschiede in den Empfindlichkeiten der Sinneswahrnehmung der Prüfer. Hier sei angemerkt, dass das Fehlen einzelner Geruchsrezeptoren – und somit die Möglichkeit der sensorischen Wahrnehmung einzelner Verbindungen – oftmals unbekannt ist. Auch ein fehlendes Vokabular zur Beschreibung der Abweichung kann zu einem negativen Ergebnis führen.

Welche Herausforderungen an den analytischen Nachweis identifizierter Abweichungen gestellt werden, zeigt das Beispiel des Stoffwechselproduktes Geosmin mit einem Geruchsschwellenwert von 0,01 µg/l. Das 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin gehört mit einem Geruchsschwellenwert von 0,002 µg/l zu

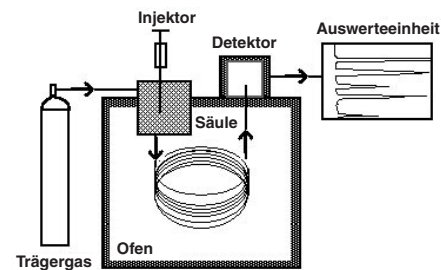


Abbildung 1: Prinzip der gaschromatographischen Trennung komplexer Analysengemische

den am empfindlichsten wahrgenommenen geruchsaktiven Verbindungen. Derartige Stoffe lassen sich nur nach vorheriger Anreicherung mit einer geeigneten Laborausstattung analytisch nachweisen. Für die Anreicherung aus wässrigen Medien stehen im Wesentlichen fünf Verfahren zur Verfügung: die Flüssig/Flüssig-Anreicherung, die statische Headspace, die dynamische Headspace als Purge and Trap-Technik, die Solid Phase Mikroextraktion (SPME) und der Twister. Im Anschluss an die Anreicherung erfolgt eine gaschromatographische Trennung der Zielanalyten (Abbildung 1).

Die Anreicherung über Flüssig/Flüssig-Extraktion mit anschließender Destillation ist im Vergleich zu den anderen Verfahren erheblich arbeitsintensiver und führt meist zu hohen Verlusten der Zielanalyten.



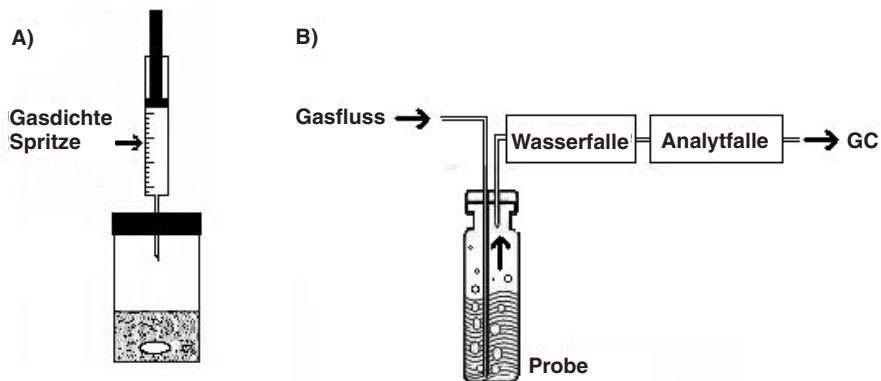


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Headspace-Anreicherung
A) Statische Headspace, B) Dynamische Headspace

Bei der statischen Headspace wird ein Aliquot der Gasphase über dem Kopfraum der Probe entnommen und analysiert (Abbildung 2). Das in Abhängigkeit von der Temperatur eingestellte Gleichgewicht der Zielanalyten zwischen Gasphase und Flüssigkeit sowie das maximal zu injizierende Volumen der Gasphase bestimmen die Nachweisgrenzen der Analyten. Beispielsweise kann Acetaldehyd mit einer Nachweisgrenze (NG) von ca. 100 µg/l detektiert werden. Anwendung findet das Verfahren u. a. zur Untersuchung von Gärungsnebenprodukten, zur Analyse von Acetaldehyd in Mineralwasser aus PET-Flaschen ist das Verfahren nicht geeignet.

Die im Vergleich zur statischen Headspace je nach Substanz z. T. um den Faktor bis ca. 500 niedrigeren Nachweisgrenzen der dynamischen Headspace werden bei der „Purge and Trap-Technik“ durch das überwiegend quantitative Austreiben der Proben mit einem Gasstrom erreicht (Abbildung 2). Mit dem Austreiben der Analyten wird ein erhöhter Wasseranteil der Proben ausgetrieben, welche die gaschromatographische Trennung stören kann. Durch eine Optimierung der Methode bezüglich des „Purge-Flusses“ und der „Purge-Zeit“ sowie dem Einbau geeigneter Wasserfallen wird der Wassereintrag verringert. Die Analyten werden auf einer Kühlfalle fokussiert und durch schlagartiges Verdampfen auf die GC-Säule gegeben. Für Acetaldehyd wird mit diesem Verfahren eine Nachweisgrenze von NG = 0,500 µg/l erzielt; auf die statische Headspace bezogen, wird somit eine um den Faktor 200 niedrigere Nachweisgrenze erreicht.

Während bei der „Headspace-Anreicherung“ die Verteilung der Analyten zwi-

schen Gasphase und Flüssigkeit überwiegend durch die Flüchtigkeit der Verbindungen bestimmt wird, nutzt das Prinzip der Festphasenextraktion mittels SPME und Twister die Polarität der Verbindungen zur Gleichgewichtseinstellung zwischen einem Polymermaterial und der wässrigen Phase aus (Abbildung 3). Demgemäß werden neben flüchtigen

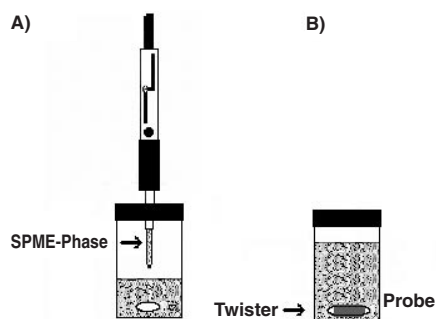


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Festphasenextraktion
A) SPME-Anreicherung
B) Twister-Anreicherung

Verbindungen auch nichtflüchtige Komponenten erfasst. Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Verfahren besteht im Aufbau des Operators und der Art des Polymermaterials. Während das Polymer bei der SPME auf eine Fused Silica-Faser aufgezogen wird, umschließt dieses beim Twister einen Glaskörper, welcher mit einem Magnetkern ausgerüstet ist. Nach erfolgreicher Extraktion der Analyten, wird der Twister direkt in den Injektorkopf des GC installiert und die Analyten thermisch desorbiert.

Der Vorteil des Twisters liegt in der größeren Phasenmenge, welches eine gesteigerte Empfindlichkeit um den Faktor

ca. 100 im Vergleich zur SPME liefert. Dieser Nachteil wird bei der SPME-Anwendung z. T. durch eine größere Auswahl der Phasenmaterialien kompensiert. Bei beiden Verfahren hängt der Erfolg der Analyse von der Polarität der Zielanalyten ab.

Wenngleich das freie Kohlendioxid carbonisierter Proben die Bestimmungen stören kann, so ist mit Blick auf die hohe Flüchtigkeit der Zielanalyten sowie der Lösungsmitelegenschaften des Kohlendioxids auf eine Entgasung der Proben möglichst zu verzichten. Alternativ kann diese durch Zugabe von Natronlauge als Carbonat gebunden werden.

Zur Identifizierung und Quantifizierung der Analyten werden im Anschluss an die gaschromatographische Trennung massenspektrometrische Detektoren, Flammenionisationsdetektoren und der so genannte Sniffingdetektor eingesetzt (Abbildung 3). Beim Sniffingdetektor wird die menschliche Nase als Messinstrument eingesetzt.

Mit den beschriebenen „Vor Ort-Prüfungen“ werden eine Vielzahl möglicher Produktabweichungen frühzeitig erkannt. Als Schnellmethoden liefern die Ergebnisse der Teststreifen und Summenparameter hilfreiche Informationen zur Ursachenermittlung. Empfehlenswert ist die Einführung von Mittelwertskontrollkarten, mit denen Kontroll- und Warngrenzen über der Standardabweichung s (Kontrollgrenze $2s$; Warngrenze $3s$) festgelegt werden. Mit der Führung der MW-Kontrollkarten werden sowohl Grenzwerte oder Grenzbereiche festgelegt, auch werden Tendenzen und Messfehler frühzeitig erkannt.

Durch die konsequente Weiterentwicklung instrumenteller Analytik ist der Nachweis von Kontaminationen geruchsaktiver Verbindungen auch im ppt-Spurenbereich, d. h. die zwölfte Stelle* nach dem Komma möglich. Für die routinemäßigen Untersuchungen flüchtiger bzw. geruchsaktiver Verbindungen stehen somit eine Reihe geeigneter Analyseverfahren zur Verfügung. Darüber hinaus wird bei der Ursachenklärung sensorisch wahrnehmbarer Produktabweichungen die Aufklärungsquote durch verbesserte Nachweisgrenzen signifikant erhöht. ■