МЕТОД РАЗДЕЛЕНИЯ ПО ИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ ВОЗМОЖНОСТИ И ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

УДК 543.42
БАК 02.00.02

Капшук В.Н., ООО "АкваХром", vladimir.kapshukov@aquachrom.ru

Спектрометрия ионной подвижности (IMS) – высокочувствительный метод, который применяется для повышения селективности аналитической системы, уточнения результатов анализа сложных образцов, включая обнаружение токсичных, наркотических и взрывчатых веществ, а также для изучения различных химических и биохимических процессов. IMS основан на определении фронтального сечения молекулы, от размера которого зависит скорость движения ионизованных молекул в буферном газе. В статье рассматриваются основы метода и примеры его применения для решения практических задач аналитической химии.

Одним из параметров иона, который позволяет идентифицировать химическое вещество, является величина так называемого сечения столкновения (Collision Cross-Section, CCS). CCS зависит от структуры и пространственной формы иона и влияет на скорость его перемещения под действием электрического поля через среду, заполненную нейтральным газом. Значение CCS используется в качестве критерия для разделения ионов разных веществ в спектрометрии ионной подвижности (Ion Mobility Spectrometry, IMS) [1]. CCS может быть измерено экспериментально или рассчитано теоретически, если известна структура молекулы [2].

На рисунке 1 показан принцип разделения двух молекул, имеющих одинаковые заряд и массу, но разные пространственные структуры. При движении через систему IMS они будут иметь разные скорости и, соответственно, разные времена прохождения пути до детектора. Большую скорость будет иметь ион с более компактной структурой и меньшей величиной CCS.

В начале 2010-х годов приборы, использующие принцип разделения по ионной подвижности, начала поставлять компания Waters. Система Waters SYNAPT G2-Si HDMS, оснащенная высокоэффективным устройством IMS – ячейкой T-Wave (рис.2), позволила сделать измерение величины CCS рутинной задачей [3].

УЛУЧШЕНИЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Разделение по ионной подвижности дополняет методы идентификации молекул по массе, изотопному составу и времени выхода в хроматографии.

Селективность аналитического метода зависит от способности аналитической системы различать компоненты образца, число которых может исчисляться сотнями и тысячами. Современные приборы сверхпроизводительной высокоэффективной жидкостной хроматографии, соединенные с масс-спектрометрами

Рис.1. CCS иона можно определить по времени его движения через систему IMS

Рис.2. Схема ячейки T-Wave

высокого разрешения (СВЭЖХ/МС), обеспечивают очень высокий уровень селективности, однако некоторые способы генерации ионов не могут использоваться в СВЭЖХ-системах (MALDI [4], DART, DESI [5]), а для ряда аналитических задач не хватает даже возможностей СВЭЖХ/МС. В таких случаях разделение по ионной подвижности обеспечивает дополнительные возможности идентификации аналитов, увеличивая селективность системы [6].

Применение IMS позволяет легче различать молекулы аналитов и матрицы, а также разделять изомеры [7], конформеры и протомеры [8]. При использовании MALDI-масс-спектрометрии для сложных образцов, когда не применима хроматография, разделение по ионной подвижности позволяет получить достоверную информацию об анализируемых молекулах [9].

ИЗМЕРЕНИЕ CCS ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ТОЧНОСТИ АНАЛИЗА

Поскольку в системе IMS измерения выполняются в газовой среде вдали от источника ионизации, матрица не влияет на их результаты и достигаются высокие точность и повторяемость для различных условий анализа. Поэтому величина CCS может использоваться как дополнительный эффективный идентификатор молекул.

На рисунке 3 сравниваются результаты анализа широкой номенклатуры пестицидов, полученных из различных экстрактов. Эксперимент показал, что CCS может

быть измерено с точностью до 2% вне зависимости от природы и сложности образца.

При анализе образцов пестицидов в системах высокого разрешения, определяющих точную массу аналитов, возможны ситуации, когда отклик от компонентов с высокой концентрацией затеняет отклик от компонентов в следовых количествах (ложная отрицательная детекция) или происходит ложная положительная идентификация веществ, которые на самом деле отсутствуют в образце. В этих случаях определение CCS как дополнительной характеристики может повысить точность идентификации аналитов.

Рассмотрим пример такого использования разделения по ионной подвижности. В лабораториях EURL (European Union Reference Laboratories) на масс-спектрометрах Waters SYNAPT было проведено исследование состава экстракта мандаринов. Полученные данные сравнивались с библиотекой, содержащей информацию о 480 пестицидах. В общей сложности было обнаружено и проверено около 50 тыс. разнообразных компонентов. Анализ по времени выхода, массам основных ионов и фрагментов с точностью 5 ppm позволил выявить девять пестицидов при одной ложной отрицательной и двух ложных положительных идентификациях. Повышение допуска по массе до 10 ppm привело к 10 идентификациям, включая две ложные положительные. Дальнейший анализ с определением величин CCS позволил выявить и исключить два ложных положительных результата (табл.).

Рис.3. Данные измерений CCS для широкой номенклатуры пестицидов при разных матрицах отклоняются не более чем на 2% от значений, измеренных при использовании стандартных растворителей

Рис.4. Использование CO_2 вместо азота обеспечивает повышение эффективности разделения N-бутиланилина и 4-бутиланилина

Рис.5. Разделение фенилаланина и протомеров бензокаина в атмосферах гелия, азота и CO_2

СПЕКТРОМЕТРИЯ ИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ В ИЗУЧЕНИИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Теоретические величины CCS, рассчитанные при молекулярном моделировании, могут сравниваться с экспериментальными данными измерений методом IMS для получения ценной информации о структуре и форме больших белковых молекул и белковых комплексов, пептидов и органометаллических комплексов, а также небольших молекул. Эти данные используются для глубокого изучения химических и биохимических процессов. В частности, устройства IMS с ячейкой T-Wave позволили значительно расширить знания в таких областях, как картирование распределения размеров молекул в образцах нефти [10], определение архитектуры белковых комплексов [11, 12], изучение биотрансформации при метаболизме лекарственных препаратов [13] и др.

ОПТИМИЗАЦИЯ СПЕКТРОМЕТРИИ ИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ

Как было указано выше, разделение по ионной подвижности производится в газонаполненной среде, как правило, в азоте. Однако эксперименты показали, что разделение некоторых компонентов может быть улучшено при применении других газов. В частности, при анализе алкилзамещенных анилинов целесообразно использование CO_2 вместо азота (рис.4).

Другой пример – идентификация бензокаина [14], который является действующим веществом обезболивающих препаратов. В молекуле этого вещества протон может сое-

Результаты анализа содержания пестицидов в экстракте мандаринов

Параметр	Без измерения CCS		С измерением CCS
Допуск по отношению массы к заряду (m/z), ppm	5	10	10
Допуск по времени выхода, %	2,5	2,5	2,5
Допуск по CCS, %	–	–	2
Правильные идентификации	7	8	8
Ложные отрицательные идентификации	1	0	0
Ложные положительные идентификации	2	2	0

диняться с одной из двух функциональных групп, образуя две различные ионные формы. Рисунок 5 иллюстрирует разделение этих двух форм и еще одной структурной изоформы – фенилаланина. Как видно на графиках, переход от гелия к азоту, а затем – к CO₂ позволяет добиться четкого разделения всех трех компонентов.

Описанные эксперименты проводились на серийном приборе SYNAPT G2-Si HDMS, в котором замена газов может выполняться пользователем без необходимости доработки аналитической системы. Возможно использование аргона, CO, CO₂, водорода, неона, NO₂, NO, N₂O, SF₆, кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kanu A.B., Dwivedi P., Tam M., Martz L., Hill H.H. Ion mobility-mass spectrometry // J. Mass Spectrom. 2008. V. 43. P. 1–22.
2. Wyttenbach T., Bleiholder C., Bowers M.T. Factors contributing to the collision cross-section of polyatomic ions in the kilodalton to gigadalton range: Application to ion mobility measurements // Anal. Chem. 2013. V. 85, N 4. P. 2191–2199.
3. Triwave – more complete characterization of mixtures and molecules. Waters Application Note. URL: <http://www.waters.com/waters/library.htm?cid=134663660&lid=134678884&locale=ru> (дата обращения: 15.09.2018).
4. Unparalleled specificity using HDMS technology in a MALDI imaging experiment. Waters Application Note. URL: <http://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=134678702&locale=172> (дата обращения: 15.09.2018).
5. Investigation of applicability of direct analysis and ion mobility TOF MS for environmental analysis. Waters Application Note. URL: http://www.waters.com/waters/library.htm?locale=ko_KR&lid=134708478&cid=10011439 (дата обращения: 15.09.2018).
6. Blech S., Lau R. Resolving the microcosmos of complex samples: UPLC/travelling wave ion mobility separation high resolution mass-spectrometry for the analysis in vivo drug metabolism studies // Int. J. Ion Mobil. Spec. 2013. V. 16. P. 5–17.
7. Fasciotti M., Sanvido G.B., Santos V.G., Lalli P.M., McCullagh M., de Sa G.F., Daroda R.J., Petera M.G., Eberlin M.N. Separation of isomeric disaccharides by travelling wave ion mobility mass-spectrometry by using CO₂ as drift gas // J. Mass Spectrom. 2012. V. 47. P. 1643–1647.
8. Lalli P.M., Iglesias B.A., Toma H.E., de Sa G.F., Daroda R.J., Filho J.C.S., Szulejko J.E., Arakib K., Eberlin M.N. Protomers: formation, separation and characterization via travelling wave ion mobility mass-spectrometry // J. Mass Spectrom. 2012. V. 47. P. 712–719.
9. Stauber J., MacAleesea L., Frank J., Claude E., Snel M., Kaletas B.K., Wiel I., Wisztorski M., Fournier I., Heeren R.M.A. On tissue protein identification and imaging by MALDI-ion mobility mass-spectrometry // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2010. V. 21. P. 338–347.
10. Ponthus J., Riches E. Evaluating the multiple benefits offered by ion mobility mass-spectrometry in oil and petroleum analysis // Int. J. Ion Mobil. Spec. 2013. V. 16. P. 95–103.
11. Politis A., Park A.Y., Hyung S.-J., Barsky D., Ruotolo B.T., Robinson C.V. Integration ion mobility mass-spectrometry with molecular modelling to determine the architecture of multiprotein complexes // PLoS ONE. August 2010. V. 5, N 8. e12080.
12. Ruotolo B.T., Giles K., Campuzano I., Sandercock A.M., Bateman R.H., Robinson C.V. Evidence for macromolecular protein rings in the absence of bulk water // Science. 2005. V. 310. N 5754. P. 1658–1661.
13. Cuycens F., Wassvik C., Mortishire-Smith R.J., Tresadern G., Campuzano I., Claereboudt J. Product ion mobility as a promising tool for assignment of positional isomers of drug metabolites // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2011. V. 25. P. 3497–3503.
14. Gas phase separation of benzocaine protonation site isomers and phenylalanine using travelling wave ion mobility MS. Waters Application Note. URL: http://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=134844042&locale=ko_KR (дата обращения: 15.09.2018).